COMPENDIO DE FISIOLOGÍA GENERAL

E. PONDER

CENTRAL DE LIBROS
VALPARAISO

NOTA BIBLIOGRÁFICA

Primera edición : 1932
Segunda edición : 1940
Tercera edición : 1944

COMPENDIO DE FISIOLOGÍA GENERAL

POR EL

Prof. ERIC PONDER, M. D., D. Sc.
Profesor de Fisiología General en la Universidad de Nueva York

VERSIÓN ESPAÑOLA DE LA PRIMERA EDICIÓN NORTEAMERICANA

Con 150 grabados

TERCERA EDICION

EDITORA NACIONAL, S. A.
MEXICO, D. F.

1947

ES PROPIEDAD

PREFACIO

Los problemas de la Fisiología General presentan especiales dificultades para el alumno, puesto que sin su comprensión no pueden abordarse las cuestiones de la Fisiología Especial humana y de los mamíferos. En parte, en ocasiones estas dificultades dimanan, a mi modo de ver, de la deficiente preparación recibida; pero también hay que tener en cuenta las que derivan de la esencia misma de estas cuestiones. Actualmente, la Fisiología General no puede circunscribirse en una "Fisiología Celular"; en efecto, los fisiólogos modernos insisten principalmente en el análisis de los fenómenos físico-químicos que integran los procesos vitales, concediéndose menos importancia a la mera descripción de estos procesos. El conocimiento incompleto que el estudiante suele tener de las cuestiones físico-químicas hace que los problemas de la Fisiología General le sean particularmente arduos.

Pensando en estas dificultades, he dedicado los cinco primeros capítulos a la descripción de los fenómenos de superficie, a las propiedades de los coloides, al estudio de la permeabilidad, a los fenómenos de disociación y acción de las enzimas, procurando en toda ocasión aducir ejemplos biológicos que ilustren cada uno de los puntos tratados. El fin perseguido al incluir estos capítulos es el de proporcionar al estudiante los conocimientos de físico-química que le son más necesarios para la comprensión de los asuntos que se tratarán en los capítulos ulteriores. Lo concerniente a la contracción muscular, conducción nerviosa, secreción, tropismos, digestión, respiración y circulación, ha sido tratado con la amplitud que permite un libro de Fisiología General. Para que el estudio resulte más sencillo, los capítulos han sido subdivididos en secciones.

He tratado especialmente de exponer las explicaciones más compartidas entre los fisiólogos, de los fenómenos fisiológicos, evitando entrar en disquisiciones puramente teóricas, y refiriéndome sólo a las absolutamente necesarias, puesto que tengo fundados motivos para creer que éstas no reportan ningún beneficio al estudiante. Sobre todo he tratado, cuando me ha parecido útil, dar varias opiniones sin decidirme por ninguna de ellas, y sin rechazar, desde luego, las teorías clásicas ante las nuevas hipótesis, cuando estas últimas, a pesar de ser más adecuadas que las antiguas, no hayan alcanzado todavía

el consenso general. No he titubeado, por otra parte, en consignar las dudas que me haya sugerido una determinada explicación, y he omitido todo lo puramente especulativo, procurando también limitar el uso de fórmulas matemáticas que suelen ser de difícil comprensión para el estudiante.

Debo hacer referencia en este lugar a ciertos trabajos ya publicados: BAYLISS, *Principios de Fisiología General;* HOGBEN, *Fisiología Comparada;* LOVATT EVANS, *Recientes Adquisiciones en Fisiología;* ROBERTSON, *Principios de Bioquímica,* y TAYLOR, *Química de los Coloides.* De todos ellos he sacado una cantidad considerable de material, pero he tenido cuidado en no sobrecargar el texto con citas de autores. Sin embargo, he incluído al final del libro una breve lista de las obras que pueden ser útiles al estudiante que desee consultar las fuentes originales de este libro.

ERIC PONDER, M. D., D. Sc.

ÍNDICE DE MATERIAS

	Págs.
I. Tensión superficial	1
Definición de superficie	1
Tensión superficial	2
Medida de la tensión superficial	3
Valores de la tensión superficial	7
Acción de la temperatura	8
Tensión superficial en la superficie de separación entre líquidos	8
Carga eléctrica	9
Energía superficial	10
Cambios de forma	11
Adsorción mecánica	15
Efecto de la temperatura sobre la adsorción	17
Adsorción y reacciones químicas	18
La adsorción y la formación de películas superficiales	19
Adsorción eléctrica	19
II. El estado coloidal	21
Soluciones coloidales	21
El ultramicroscopio	23
Condiciones de estabilidad	26
Suspensoides y emulsoides	32
Precipitación de soles	33
Protección de los soles	37
Gelificación	38
Imbibición y series de Hofmeister	40
Las proteínas	42
III. Difusión y permeabilidad	46
Difusión	46
Membranas semipermeables	47
Presión osmótica	48
Soluciones isotónicas	51
Teorías de la semipermeabilidad	54
La membrana celular	59
Las substancias que modifican la permeabilidad	70
Estructura de la membrana	74
Equilibrio de la membrana o equilibrio de Donnan	76
La difusión en los procesos fisiológicos	78
Presión osmótica de los humores orgánicos	82
Soluciones salinas fisiológicas	86
Experimentos de Leduc	88

Págs.

IV. La disociación de los electrólitos 93
Disociación electrolítica 93
Disociación y conductibilidad eléctrica 95
La conductibilidad de los líquidos orgánicos 98
La disociación del agua 99
La determinación del pH. 103
1. Indicadores 103
2. El electrodo de hidrógeno 105
Sales amortiguadoras 108
La regulación de la neutralidad en el organismo 110
La acción específica de los iones 114
Acción oligodinámica 121

V. Enzimas 122
Las enzimas como catalizadores 122
Naturaleza y clasificación de las enzimas 124
Velocidad de las reacciones 126
Reversibilidad de la acción enzimática 132
Influencia de la temperatura 133
Influencia del pH. 134
Antienzimas 136
Enzimas que intervienen en los procesos de oxidación de los tejidos. 137
Zimógenos 140
Mecanismo de la acción enzimática 141
Coagulación de la sangre 142

VI. Constitución física de los componentes celulares 148
Estructura del citoplasma 148
Modificaciones de la viscosidad del citoplasma 150
Gránulos citoplasmáticos 152
El núcleo 154
La carioquinesis como fenómeno físico 156
Mitocondrias 157
Aparato de Golgi 159
Límite del tamaño de la célula 160
Fijación celular 161
Límite de visibilidad 162
Determinación del tamaño de un objeto microscópico 165

VII. Tejido muscular 167
Estructura del músculo 167
Composición química del músculo 170
Cambios del músculo durante su contracción 173
Trabajo máximo 174
Trabajo útil 177
Cambios de forma 179
Cambios químicos durante la contracción 180
Cambios térmicos 182
Fenómenos eléctricos 186
Corriente de lesión 190
Fatiga 192
Tétanos 193

Págs.

Influencia de la temperatura 194
Teorías de la contracción 195
Músculo cardíaco 196
Tono 199

VIII. Movimiento ciliar, movimiento amiboideo y contracción de los melanóforos 204
Movimiento ciliar 204
Movimiento amiboideo 207
Movimiento de los melanóforos 210

IX. Tejido nervioso 213
Estructura de los nervios 213
La excitación en el nervio 215
La velocidad de conducción en el nervio 218
Zonas de decremento 220
Consumo de O_2 por el nervio 223
Producción de calor en el nervio 224
Variaciones eléctricas 226
Teoría de la excitación de Nernst-Hill 227
El símil del núcleo de hierro 228
Inhibición 230
El sistema nervioso sináptico 233
La sinapsis 237
Descargas 238
Inervación recíproca 240
Naturaleza de la inhibición 242
La vía común final 245
Facilitación 245
Reflejos condicionados 246
Centros nerviosos 248
El sistema nervioso autónomo 251

X. Secreción 255
I. Secreción en general 256
La secreción desde el punto de vista físico 256
Consumo de O_2 durante la secreción 258
Cambios histofisiológicos que acompañan a la secreción 259
Variaciones eléctricas 260
El mecanismo de secreción en las glándulas 261
Regulación de la secreción 262
II. Secreciones en particular 265
Estructura del riñón 265
Secreción renal. Su mecanismo 265
La secreción de ácido 269
Secreción de venenos 271
La secreción de gases 271
Secreción de substancias fosforescentes 272
Órganos eléctricos 273
III. Secreciones internas 275
Glándulas de secreción interna 275
Tiroides 276

Págs.

Lóbulo anterior de la hipófisis 280
Porción intermedia de la glándula pituitaria 282
Porción medular de las cápsulas suprarrenales 285
Las paratiroides 288
El tejido intersticial de las glándulas sexuales 288
Los islotes de Largerhans 290
Porción cortical de las suprarrenales 292
Glándula pineal 292
Cuerpo lúteo 293
Timo 293
Regulación de la secreción en las glándulas endocrinas 293

XI. Tropismos 296
Heliotropismo 298
Geotropismo 308
Reotropismo 311
Estereotropismo 312
Galvanotropismo 313
Quimiotropismo 314
Termotropismo 316

XII. Digestión 317
I. Digestión y metabolismo en los animales 317
Digestión en el hombre 317
Digestión de la celulosa y de las pentosanas 322
Las vitaminas 323
La digestión en los animales inferiores 324
Fagocitosis y digestión intracelular 326
Metabolismo de las proteínas 328
Metabolismo de los hidratos de carbono 331
Metabolismo de las grasas 333
II. Metabolismo en los vegetales 335
Los materiales alimenticios de las plantas 335
Fotosíntesis 337
La absorción de luz por la clorofila 337
Síntesis de los hidratos de carbono 340
III. Crecimiento 342
El desarrollo de las bacterias 342
Crecimiento en los animales superiores 345
Desarrollo de tejidos in vitro 349

XIII. Respiración 352
Formas elementales de la respiración 352
Hemoglobina 354
Hemocianina 358
Otros pigmentos respiratorios 358
La curva de disociación de la oxihemoglobina 359
La curva de disociación de la sangre 366
La curva de disociación en los peces 368
La curva de disociación en la Arenícola 368
La curva de disociación de la oxihemocianina 368
La cesión de oxígeno 370

Págs.

Función de los hematíes 371
Respiración en los tejidos 373
Curva de disociación para el CO_2 374
Regulación de los mecanismos respiratorios 377
Vida anaerobia 379

XIV. Circulación 380
La actividad cardíaca en los mamíferos 382
Presiones intracardíacas 383
Ruidos cardíacos 385
El electrocardiograma 385
Conducción del impulso contráctil en el corazón 386
Propagación de la onda de contracción en los crustáceos del género Limulus 390
Gasto y trabajo del corazón 391
Presión arterial 392
La regulación de la presión sanguínea 394
Presión en los capilares 398
Presión venosa 398
Duración del círculo sanguíneo 398
Velocidad de la sangre 399
Cantidad de sangre en el organismo 400

XV. Fecundación 402
Fecundación normal 402
Partenogénesis artificial 403
Consumo de oxígeno durante la fecundación del óvulo 406
Movimiento de los espermatozoos 406
Organización del individuo 408

Bibliografía 411

Índice alfabético 413

Capítulo I

Tensión superficial

Definición de superficie. Si consideramos una cierta cantidad de agua en el interior de un vaso de precipitados, como ejemplo de un sistema químico sencillo, y la imaginamos dividida en porciones cada vez más pequeñas, pero cuyo tamaño no llegue a ser inferior al de las moléculas del sistema, podremos constatar que todas las partículas tienen idéntica composición. Por esto decimos que el agua constituye un *sistema homogéneo,* o sea, que consta de una sola *fase.* Por análogos motivos se considera una solución salina como un sistema monofásico, ya que sólo en el caso de extremar la división del sistema por debajo del orden de las dimensiones moleculares, sería posible obtener dos pequeñas partículas, las cuales podrían diferir entre sí en que una de ellas fuera una molécula de sal y la otra una molécula de agua.

Supongamos ahora nuestro sistema constituído por un fragmento de hielo sumergido en el agua, o por un cristal de sal en el interior de una solución de cloruro sódico, y tendremos que considerarlos como *sistemas heterogéneos,* ya que provocando una dispersión relativamente grosera de sus componentes se obtendrían por separado partículas de hielo y partículas de agua en el primer caso, y partículas sólidas de cloruro sódico y partículas de solución salina en el segundo. Un sistema así constituído se denomina *sistema difásico,* y de un modo análogo podríamos imaginar un sistema trifásico a base de hielo, agua y vapor acuoso. Las propiedades físicas de cada una de las fases difieren entre sí; siendo el paso de una a otra fase brusco y denominándose el lugar donde prevalecen los distintos estados físicos *fase límite* o superficie de separación. De acuerdo con este modo de ver encontraremos otras tantas superficies de separación entre el agua y el hielo, entre el agua y el vidrio del recipiente que la contenga, entre el agua y el aire o entre el cristal de una substancia determinada y el líquido que la rodea. Considerando la superficie desde este punto de vista podremos deducir fácilmente que una molécula de agua situada en la superficie de separación entre el agua y el

hielo se encontrará en peculiares condiciones, con respecto a las otras moléculas de agua del sistema, por estar rodeada de moléculas en el mismo estado físico por un lado, y por el otro con moléculas de hielo. Como resultado de esta situación particular dicha molécula se hallará sujeta a la acción de fuerzas especiales, cuya suma constituye la fuerza de tensión superficial.

Tensión superficial. Para considerar las fuerzas que actúan sobre las moléculas de la superficie aire-agua o superficie de separación de un sistema homogéneo estudiaremos, en primer lugar, las fuerzas que actúan sobre una molécula de agua situada en el interior del mismo. La molécula *A*, situada en el interior del agua (fig. 1), es atraída por todas las otras moléculas que la rodean en virtud de la llamada fuerza de atracción molecular; esta atracción es semejante a la que ejercen entre sí las distintas partículas que constituyen una porción de materia, y desarrollan sobre la molécula *A* una presión equivalente a miles de atmósferas.

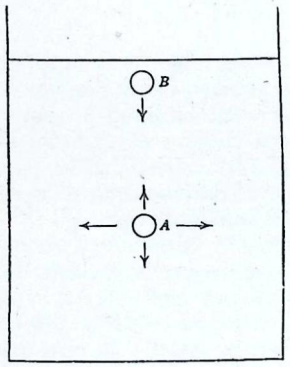


FIG. 1

Como estas fuerzas actúan en todas las direcciones del espacio, sus efectos se neutralizan, no siendo desplazada la molécula *A* en una dirección determinada. Consideremos ahora lo que sucede con la molécula *B*, situada en la superficie del agua; sobre esta molécula actuarán por encima las moléculas gaseosas del aire y por debajo las que constituyen la masa líquida del agua, siendo el valor de la atracción de las primeras insignificante en comparación con el de las que desarrollan estas últimas. De un modo semejante se encuentran todas las moléculas de la superficie líquida, las cuales, atraídas fuertemente hacia el interior de la masa de agua, tienden a reducir el área de la capa superficial. Esta tendencia a disminuir la superficie nos permite comparar la capa superficial a una membrana elástica estirada, la cual tiende siempre a retraerse, reaccionando contra la tensión que el estiramiento supone. A esta propiedad que hemos visto presentan las superficies de separación se la denomina *tensión superficial.*

Examinemos ahora otro aspecto del problema con el planteamiento de la siguiente interrogación: ¿Existe en la superficie libre una capa de moléculas gaseosas sujetas a las mismas condiciones que hemos visto para las moléculas de agua? Siguiendo un razonamiento análogo veremos que sucede así; las moléculas gaseosas en contacto con la superficie del agua son atraídas hacia abajo por las moléculas de agua y hacia arriba por las del gas de que formen parte. La desigualdad de estas fuerzas antagónicas dará lugar a que la capa de gas

de la superficie de contacto se halle a una cierta tensión. En la superficie de separación de las dos fases tendremos que considerar, por lo tanto, dos zonas de tensión superpuestas, una líquida y otra gaseosa.

Las propiedades de la superficie de separación pueden ser fácilmente demostradas mediante el clásico experimento de VAN DER MENSBRUGGHE, que consiste en observar el comportamiento de una película de jabón enmarcada en un anillo atravesado por dos hilos. Mientras la película está intacta los hilos se mueven libremente, pero cuando ésta se deshace, las porciones restantes, al retraerse, arrastran consigo los hilos. Una gotita de aceite en suspensión en el agua nos ofrece una demostración análoga: la gota adoptará la forma esférica, que es la que permite la mínima superficie en relación con el volumen. Si deformamos la gota con cualquier artificio, ésta volverá a recuperar la forma esférica, del mismo modo que pudiera hacerlo una pelota de goma al reponerse de una deformación análoga.

Medida de la tensión superficial. Para medir la tensión superficial, determinaremos la fuerza que desarrolla una superficie al disminuir su área por retracción. Supongamos un armazón rectangular *ABCD*, cuya varilla inferior *AD* es movible a lo largo de las dos varillas laterales y en el interior del cual producimos una película líquida. Siendo la superficie de la película elástica tenderá a contraerse, reacción que nosotros podemos impedir aplicando un peso determinado a la varilla *AD*. La magnitud de la fuerza o peso que tengamos que aplicar en *AD* para impedir su desplazamiento será directamente proporcional a la longitud de *AD*; podemos definir, por lo tanto, la tensión superficial de un líquido, por la tracción que habremos de ejercer sobre una línea de 1 cm. de longitud para producir una superficie plana, de ángulos rectos. La equivalencia mecánica de esta tracción se expresa en dinas por centímetro o en dinas/cm. Para el agua a 10° C., la tensión superficial es de 73 dinas/cm., lo cual significa que es preciso aplicar una fuerza equivalente a 73 miligramos de peso a la varilla *AD* para evitar la retracción de una película de agua en el caso que *AD* tenga 1 cm. de longitud.

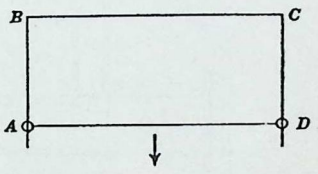


FIG. 2

No es preciso que la línea sobre la que haya de actuar la fuerza sea recta; puede ser de cualquier otra naturaleza y la fuerza de tracción será proporcional a su longitud. Así, por ejemplo, para una circunferencia que tenga 1 cm. de radio, la tracción necesaria será igual a la que tendríamos que aplicar sobre una línea recta de la misma longitud, es decir, de 2π cm. de largo.

Corrientemente, para la medida de la tensión superficial no se emplea, por las grandes dificultades que representa, la inclusión de una película líquida en el armazón rectangular del ejemplo antes

indicado. Para este objeto se han ideado otros métodos, algunos de los cuales describiremos de un modo esquemático a continuación.

Un método sencillo para medir la tensión de superficie consiste en determinar la altura que alcanza el líquido problema, al ascender a lo largo de un tubo capilar. El tubo, de un calibre aproximado de 0,5 mm., se sumerge en el líquido cuya tensión superficial se desea determinar, formándose, al mojar el líquido las paredes del tubo, una fina capa de líquido en la superficie interna del capilar. Esta delgada capa presenta una superficie cuya capacidad energética se pone de manifiesto hasta un momento en que la fuerza desarrollada por ella es neutralizada por la intervención de otra que actúa en sen-

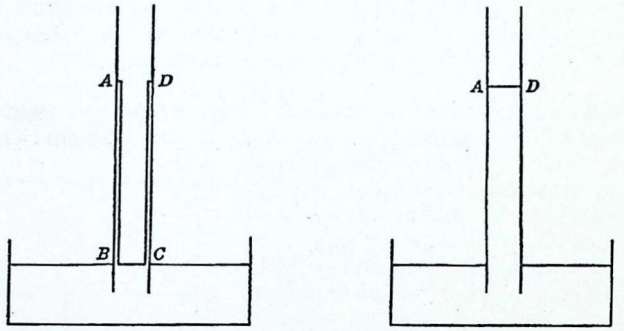


FIG. 3

tido opuesto. La contracción de la delgada capa superficial *ABCD* hace que el líquido ascienda por el tubo capilar hasta que en *AD* el peso de la columna líquida llega a neutralizar la energía desarrollada por la contracción de la capa superficial (fig. 3).

Cuando la superficie alcanza la posición de equilibrio, la fuerza que mantiene la columna líquida en esta posición se obtiene multiplicando el valor de la circunferencia del tubo en *AD* por la tensión superficial.

Esta fuerza es equivalente al peso de la columna líquida, el cual viene dado por los valores $\pi r^2 \cdot h \cdot d \cdot g$, que representan: r, el radio del calibre del tubo; h, el peso de la columna líquida; d, la densidad del líquido, y g, la constante de gravitación. Como las dos fuerzas se neutralizan, tendremos:

$$2\,\pi r\,\sigma = \pi r^2 \cdot h \cdot d \cdot g,$$

de la cual deduciremos fácilmente el valor de la tensión superficial σ,

$$\sigma = \frac{h \cdot r \cdot d \cdot g}{2}$$

Este método es utilizado con frecuencia para determinar la tensión superficial de aquellos líquidos que interesan en la investigación biológica.

Algunas veces se utiliza una modificación de este método, que consiste en el empleo de dos tubos capilares de desigual calibre, valorándose para la determinación la diferente altura que alcanza el líquido problema en ambos tubos, en lugar de tener en cuenta el valor absoluto de la elevación del mismo. Si observamos primero lo que sucede en estas condiciones con el agua, y utilizamos después el líquido problema, la tensión superficial de éste vendrá dada multiplicando la relación de las dos diferencias por la tensión superficial del agua a la misma temperatura.

Otro método para conocer la tensión superficial tiene su fundamento en la determinación del volumen de las gotas del líquido que se forman al salir de una pipeta especial. Se introduce el líquido problema en un instrumento denominado *estalagmómetro,* dispuesto en forma tal que el líquido vaya goteando con lentitud por una de sus extremidades.

El desprendimiento de cada gota no se realiza sino cuando el peso de la misma es superior al valor de la tensión superficial del líquido. La fuerza que éste representa viene dada multiplicando la longitud de la línea de adherencia por la tensión superficial, siendo esta fuerza proporcional al peso de la gota. Así tendremos:

$$2\,\pi r \cdot \sigma = p.$$

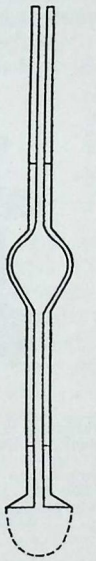


FIG. 4. Diagrama de un estalagmómetro

Representando p el peso de la gota, r el radio de la superficie en la cual se forma la gota y σ la tensión superficial, cuyo valor puede representarse como sigue:

$$\sigma = \frac{p}{2\,\pi r}$$

El peso de la gota puede ser determinado directamente a su caída o bien de un modo indirecto, contando el número de gotas formadas al fluir por el estalagmómetro un volumen conocido del líquido. Este método ha sido también aplicado en gran escala para el estudio de ciertos problemas de inmunidad, especialmente en lo que se refiere a las variaciones de tensión superficial de la sangre y del suero sanguíneo de los animales inmunizados, que varía considerablemente con respecto a los valores que presenta la sangre del animal normal.

Un tercer método está basado en la determinación de la fuerza necesaria para separar un pequeño anillo de alambre flotante sobre la superficie de un líquido en forma que sea mojado por éste, valor que es proporcional al de la tensión superficial. El líquido a examinar se coloca en un pequeño vidrio de reloj y el anillo sujeto al brazo de una balanza de torsión, haciéndolo descender suavemente hasta contactar con la superficie. Cuando tratamos de desprender el anillo de la superficie, aumenta la torsión hasta un cierto valor, el cual nos dará los elementos para el cálculo de la tensión superficial del líquido ensayado.

Quedan por considerar otros dos métodos, los cuales son mucho más usados en la investigación física que en fisiología. Uno de ellos consiste en la producción de una serie de ondas en la superficie del líquido problema, valiéndonos de un diapasón; la distancia existente entre estas "ondas estacionarias" nos proporcionará los datos para el cálculo de la tensión superficial. El otro método consiste en colocar el líquido en un recipiente del cual sale a través de un orificio elíptico en el que se han practicado artificios para conseguir que la corriente líquida en lugar de ser continua fluya como formando una sarta de perlas. Midiendo el tiempo que tarda una porción de líquido en recorrer dos engrosamientos sucesivos y teniendo en cuenta las características del orificio, puede calcularse con relativa facilidad la tensión de superficie.

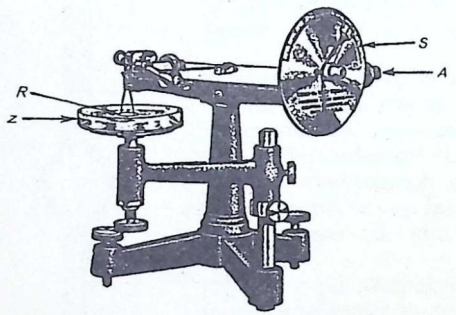


FIG. 5. Aparato ideado por LECOMTE DU NOUY para determinar la tensión superficial por el método de arrancamiento. El anillo *R* se sitúa en la superficie del líquido contenido en el vidrio de reloj Z. Manipulando el tornillo *A*, puede aumentarse la torsión del alambre hasta conseguir el desprendimiento del anillo de la superficie. La torsión puede ser leída en la escala *S*.

El conocimiento de tan variados métodos tiene importancia a causa de existir dos modalidades diferentes de tensión superficial, la *estática* y la *dinámica*. En la primera de estas modalidades la superficie del líquido se encuentra en estado fijo o estacionario, mientras que en el segundo caso aquélla se renueva continuamente durante la medición. Los métodos fundados en el chorro oscilante o en la producción de ondas en la superficie constituyen excelentes ejemplos de métodos dinámicos, por hallarse la superficie del líquido en continua modificación. El método capilar, fundado en la elevación del líquido y en el cual se realiza la lectura cuando la superficie superior alcanza la posición de reposo, es un método estático. Los otros métodos indicados son en parte dinámicos y en parte estáticos. Los resultados que se obtienen con estos distintos métodos difieren considerablemente entre sí. Así tenemos que determinando la tensión superficial de una

solución jabonosa por un método estático arroja un valor muy inferior en comparación con el del agua, y, en cambio, utilizando un procedimiento dinámico se hallan valores más cercanos al del agua misma. Este hecho merece ser recordado, ya que la tensión superficial en las superficies de contacto de las distintas fases, en los tejidos vivientes responde más al tipo dinámico que al estático.

Valores de la tensión superficial. Cuando se realizan las mediciones por el método estático, el agua presenta el valor más elevado entre las substancias químicamente puras. En el siguiente cuadro, donde se exponen algunos valores de σ en diferentes líquidos a la temperatura de 20°, puede constatarse este hecho. A partir del agua, que como ya hemos visto posee una tensión superficial alta, podemos establecer el hecho de que muchas substancias al disolverse disminuyen la tensión superficial en las superficies de separación. Generalmente la intensidad del descenso de tensión depende de la cantidad de substancia disuelta, pudiendo encontrarse relaciones cuantitativas entre estos valores, como se deduce de las cifras del cuadro que sigue. Como caso especial recordaremos el descenso de la tensión de superficie del agua al disolver en ella saponina o jabón, pudiendo descender entonces el σ a 20 dinas/cm. y aun a valores más bajos todavía.

Agua	73,0	Anilina	43,8
Alcohol etílico	22,0	Benceno	28,8
Éter	16,5	Tolueno	28,2
Acetona	23,0	Nitrobenzol	41,8
Ácido acético	23,5	Piridina	38,0

	Dinas/cm.
Alcohol metílico 1 por 100	70,2
Alcohol etílico 1 » »	68,1
Alcohol isobutílico 1 » »	54,1
Alcohol amílico 1 » »	43,3
Alcohol caprílico 1 » »	32,4
Ácido acético 1 » »	68,6
Ácido butírico 1 » »	54,9
Saponina 0,1 » »	38,0
Oleato sódico 0,1 » »	42,2
Suero sanguíneo, sin diluir	56,0

Sólo un número muy reducido de substancias son capaces al disolverse en el agua de aumentar su tensión superficial, y aun en este caso el aumento es de poca importancia. Los ejemplos más expresivos nos los brindan las soluciones de sales inorgánicas, por ejemplo, la solución M/1,5 de ClNa presenta una tensión superficial de 77,8 dinas/cm. que contrasta con el valor de la tensión del agua a la misma temperatura.

Acción de la temperatura. La elevación de la temperatura tiende a aumentar las distancias intermoleculares; cualquiera que sea el estado físico de la materia, la atracción de las moléculas situadas por debajo de la molécula *B* cerca de la superficie (fig. 1) es menor cuando la temperatura se eleva y mayor cuando ésta es más baja. Por lo tanto, la tensión superficial disminuye con el aumento de la temperatura, desapareciendo totalmente al llegar a la temperatura crítica del líquido; pero siendo ésta relativamente muy alta en la mayoría de soluciones acuosas (alrededor de 400°), la tensión superficial de las soluciones se modificará muy poco con cambios poco intensos de temperatura. En el caso del agua, la tensión de superficie se reduce solamente unas 16 dinas/cm. cuando la temperatura aumenta de 0° a 100°, siendo preciso aumentar cerca de 7° para modificar en 1 dina/cm. su valor.

Conviene distinguir entre las propiedades de la materia aquellas que tienen un *coeficiente de temperatura positivo,* las cuales aumentan paralelamente a la temperatura, de aquellas otras cuyo *coeficiente térmico es negativo* y cuyos valores descienden con la elevación de la temperatura. Así la difusión pertenece al primer grupo, ya que las substancias difusibles difunden con mayor rapidez al aumentar la temperatura. Otras propiedades como la densidad, la viscosidad y la misma tensión superficial presentan coeficientes de temperatura negativos, ya que sus valores disminuyen con el incremento de la temperatura.

Tensión superficial en la superficie de separación entre líquidos. Las superficies de separación entre líquidos no miscibles poseen, como cualquier otra superficie, tensiones superficiales características. Éstas presentan particular interés, porque las superficies entre dos líquidos son mucho más frecuentes en fisiología que las superficies entre líquido y aire. Los valores de la tensión de las superficies de contacto entre dos líquidos no miscibles pueden ser determinadas modificando ligeramente los métodos usados para hallar el de las superficies líquido-aire, si bien estas modificaciones suponen una relativa complicación técnica. El método del arrancamiento ha sido modificado en forma que el anillo pueda ser colocado en la superficie de separación entre ambos líquidos, determinando entonces la energía necesaria para arrancar el anillo de esta superficie de separación. Puede también ser utilizada con este objeto la técnica estalagmométrica, midiendo el volumen y velocidad de formación de las gotas de uno de los líquidos en el interior del otro. Finalmente, también es recomendable el método de las ondas provocadas por las vibraciones de un diapasón, ya que éstas pueden ser producidas en la superficie de contacto entre ambos líquidos.

En general, el efecto tensioactivo de las substancias disueltas sobre las superficies líquido-líquido es muy semejante al que ejercen sobre el sistema líquido-aire, y así vemos cómo los jabones, la

saponina, las sales biliares, los alcoholes, etc., disminuyen considerablemente la tensión superficial en aquellos sistemas. Cabe señalar, no obstante, una excepción a esta regla general, y es que así como en el sistema líquido-aire la disolución de sales inorgánicas aumenta ligeramente la tensión de superficie, en el sistema líquido-líquido la disminuye. Puede aceptarse con carácter general que toda substancia disuelta en el agua provoca el descenso de la tensión en las superficies de contacto con otros líquidos no miscibles o en las que se producen en contacto de la solución con cualquier sólido.

Carga eléctrica. Del mismo modo que existe una tensión superficial "mecánica" producida por la desigual atracción de las moléculas en las superficies de separación de las fases de un sistema, tenemos que considerar ahora otra modalidad de energía superficial, producida por la carga eléctrica de las mismas superficies. No se ha determinado aún con toda claridad cuál pueda ser el origen de esta carga; sin embargo, la hipótesis más generalmente aceptada es la siguiente: Consideremos una superficie metálica, por ejemplo, una placa de oro sumergida en agua; a pesar de que el oro es una substancia insoluble en el agua, una pequeña cantidad de aquél tenderá a separarse de la superficie y pasar al medio líquido circundante. Estos átomos de oro llevarán una carga eléctrica positiva, constituyendo lo que corrientemente se denomina un *ion.* Al abandonar estos iones la superficie metálica llevan consigo una considerable cantidad de electricidad positiva, descargando de este modo la placa de electricidad de este signo, la cual queda por lo tanto cargada con electricidad de signo contrario. La formación de estos iones positivos da como resultado que un cierto número de ellos se encuentren formando una capa a muy poca distancia de la placa que les dió origen en virtud de la atracción electrostática desarrollada por la carga negativa fraguada en la superficie metálica. En estas condiciones quedará formada una *doble capa electrolítica* conocida con el nombre de *doble capa de Helmholtz.*

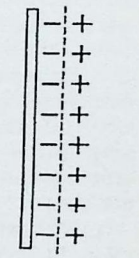


FIG. 6
Esquema representando la doble capa de HELMHOLTZ

Como los iones del mismo signo se repelen, la existencia de una carga eléctrica en las superficies tiende a aumentar el área de las mismas, siendo éste un efecto opuesto al desarrollado por la tensión superficial mecánica. La tensión actual de las superficies medida con los métodos corrientes estará constituída por la suma algebraica de estas dos fuerzas; por lo tanto, podremos enunciar el siguiente principio: *la tensión superficial mecánica cuantitativamente de mayor importancia tiende a reducir la superficie, mientras que el potencial eléctrico de las superficies de contacto tiende a aumentar el área de las mismas.*

Respecto al mecanismo que origina la carga eléctrica de las superficies, así como el signo de la misma, dependen de la naturaleza del

material que las constituye y también de la composición del líquido que se halla en contacto con ellas. Muchas substancias se cargan negativamente al sumergirlas en agua, llevando también esta carga con mucha frecuencia las substancias que entran en la composición de los tejidos vivientes. Se conocen pocas substancias electropositivas, siendo las de mayor importancia ciertos colorantes; sobre este particular conviene recordar los datos del siguiente cuadro:

Cargadas positivamente en el agua	Hidróxido férrico coloidal y otros hidróxidos Violeta de metilo. Azul de metileno
Cargadas negativamente en el agua	Metales Au, Ag, Pt, etc. Compuestos metálicos, excepto los óxidos Gomas (gutapercha y mástic) Células animales y vegetales y proteínas Eosina Azul noche Fucsina Papel de filtro, seda, algodón pólvora, etc.

La naturaleza del solvente en el cual se hallan las substancias disueltas o en suspensión también puede condicionar la carga eléctrica de la superficie, pues muchas substancias que sumergidas en agua se cargan negativamente, toman carga positiva al ser introducidas en esencia de trementina, cuya constante dieléctrica se encuentra en las proximidades de 2.

Debemos tener en cuenta otro hecho, relacionado con la formación de la doble capa de HELMHOLTZ. Volviendo otra vez al ejemplo de la placa metálica sumergida en agua, veremos que las cargas negativas de la capa más interna — de las dos que constituyen la doble capa eléctrica — no se hallan neutralizadas solamente por iones positivos del mismo metal, sino que también pueden estarlo por otros iones positivos del medio circundante. En el caso de que la placa se halle sumergida en agua, la capa externa puede contener algunos hidrogeniones, y si se encuentra en contacto con una solución de ClNa, la capa externa puede contener iones Na. Por otra parte, las mismas moléculas de agua pueden contribuir a la formación de la capa externa, pues aunque aquéllas sean neutras (HOH) desde el punto de vista eléctrico, pueden actuar dando dos cargas iguales y de signo opuesto (H y OH), orientándose ellas mismas con el polo positivo dirigido hacia la capa externa y el polo negativo hacia la superficie metálica. Esta posibilidad hace más compleja la formación de la doble capa de HELMHOLTZ, que podemos imaginar mejor como constituída no sólo por los iones de la placa metálica, sino también, y en gran número de circunstancias, por otros iones derivados de la solución en la cual se haya sumergido la placa.

Energía superficial. Supongamos incluída en el armazón rectangular *ABCD* de la figura 2 una película líquida; si movemos en estas circunstancias la varilla *AD* en el sentido de aumentar su superficie, tendremos que aplicar al sistema una cierta cantidad de trabajo que supere al de la tensión superficial. En este caso la superficie habrá aumentado su contenido energético, el cual podrá liberar al retraerse. Esta capacidad de producir energía que poseen todas las superficies se denomina *energía superficial*, pudiéndose determinar su valor multiplicando el área de las mismas, *A*, por su tensión superficial, cuya representación matemática será como sigue:

$$E = A \cdot \sigma$$

La energía superficial E se mide en ergs, siendo el erg, como sabemos, la unidad de trabajo. Analicemos un ejemplo concreto: para aumentar la superficie de una película de agua en 1 cm.^{2} a 20°, será preciso realizar un trabajo equivalente a 73 ergs; si el aumento es de 3 cm.^{2} el trabajo necesario será de 219 ergs y así sucesivamente. Por otra parte, la superficie que representa un glóbulo rojo de sangre humana equivale aproximadamente a unas 140 ^{2} o sean $140 \cdot (10^{-8})$ cm., siendo el valor de la tensión superficial alrededor de 50 dinas/cm. y la energía superficial de $7 \cdot (10^{-5})$ ergs. Esta cantidad de energía considerada aisladamente es irrisoria, pero si tenemos en cuenta que el total de la sangre de un organismo humano contiene unos 25 billones de hematíes, la cantidad de energía almacenada en todos ellos es considerable.

Toda superficie posee una cierta cantidad de energía potencial, la cual en determinadas condiciones puede convertirse en energía "libre" y en trabajo. Ahora bien; sabemos, en virtud del segundo principio de la termodinámica, que *la energía libre tiende constantemente a disminuir*, o, expresado de otro modo, "el desprendimiento de energía tiende hacia un máximum". De esto deduciremos que las superficies tienden a modificar fácilmente su contenido energético en sentido de disminución. Según hemos visto, la energía superficial es equivalente al producto de su área por la tensión de superficie, pudiendo reducirse aquélla al disminuir cualquiera de los dos factores, lo cual se halla en armonía con el segundo principio de termodinámica. De ello puede deducirse (*a*) que las superficies tenderán siempre a cambiar de forma, reduciéndose en lo posible, y (*b*) que toda modificación que tienda a disminuir la tensión superficial en las superficies de contacto entre las fases, se producirá fácilmente.

Cambios de forma. I. El hecho de que la energía de superficie disminuya al reducirse el área superficial, encuentra plena confirmación en la forma esférica que adoptan las gotitas de aceite en suspensión en el agua, siendo aquélla la figura geométrica que presenta menos superficie en relación con su volumen. También presentan forma esférica las gotitas de grasa que podemos observar incluídas en el interior de las células del epitelio intestinal, así como las inclusiones de diversas substancias disueltas que se encuentran en el interior de algunos organismos monocelulares (amibas y paramecios); los elementos leucocitarios de la sangre adoptan también la forma

esférica en suspensión en un líquido isotónico. Las células presentan, según hemos visto, la forma esférica, aunque esta regla general ofrezca algunas excepciones; así, por ejemplo, los hematíes de la mayor parte de mamíferos aparecen cuando flotan libremente como discos bicóncavos, aunque en circunstancias especiales pueden adoptar la forma esférica por contracción de su superficie, sin que hasta ahora se haya encontrado explicación para este anómalo comportamiento.

II. Los fenómenos de aglutinación y otros análogos pueden considerarse bajo la dependencia de modificaciones de la tensión superficial. Observando lo que sucede en las suspensiones de bacterias, vemos cómo en determinadas condiciones presentan una tendencia al agrupamiento; los hematíes se comportan de un modo semejante, adhiriéndose entre sí, en forma que recuerda las pilas de monedas. Al unirse dos o más células, la superficie que ofrecen es menor que la suma de la que tenían por separado; una vez unidas persisten indefinidamente en su agrupamiento, a no ser que para separarlas se utilice una fuerza de suficiente magnitud.

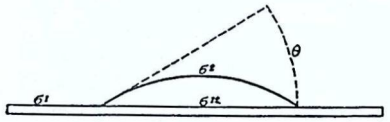


FIG. 7

III. Consideremos ahora un caso más complejo, en el cual la gota o célula no se halle suspendida libremente en el seno de un líquido, sino colocada sobre una superficie, por ejemplo: una gota de agua extendida sobre un vidrio. Aquí tendremos un sistema en el cual habrá tres superficies de contacto o fases, a saber: una entre la gota y el aire, otra entre el vidrio y el aire y una tercera entre la gota y la superficie sólida. Poseyendo cada fase un área determinada y una tensión superficial característica, habrá que admitir en todas ellas una cierta energía de superficie. ¿Cuál será el comportamiento de la gota en estas circunstancias? De acuerdo con el principio fundamental anteriormente enunciado, la energía superficial tenderá a ser lo más reducida posible, siendo determinada la forma definitiva de la gota por aquella que represente el mínimo de energía superficial. No vamos a considerar en detalle el proceso mediante el cual la gota adquirirá su forma definitiva, pero en último término ésta se hallará formando con la superficie un ángulo θ, cuyo valor puede determinarse como sigue:

$$\cos \theta = \frac{\sigma_1 - \sigma_{12}}{\sigma_2}$$

Representando σ_1 la tensión superficial de la superficie vidrio-aire, σ_2 la que existe en la superficie gota-aire y σ_{12} la existente entre la gota y el vidrio. El ángulo θ se denomina *ángulo de equilibrio* (fig. 7).

A primera vista podemos apreciar que variando los valores de σ_1, σ_2 y σ_{12} variará también considerablemente el valor del ángulo θ. Supongamos que la gota y la superficie de sostén sean tales que

$\sigma_1 = 70$ dinas/cm., $\sigma_{12} = 60$ dinas/cm. y $\sigma_2 = 20$ dinas/cm.; el valor del coseno de θ será en tal caso 0,5 y θ igual a 60°. De este modo quedará determinada la disposición de la gota de agua sobre la superficie del vidrio. Imaginemos otras circunstancias en que los tres componentes del sistema valgan $\sigma_1 = 50$ dinas/cm., $\sigma_{12} = 70$ dinas/cm. y $\sigma_2 = 20$ dinas/cm.; teniendo entonces coseno de $\theta = 1$, y el valor de $\theta = 180°$. En estas circunstancias la gota no se extenderá sobre la superficie; es el caso del mercurio sobre el vidrio o de la gota de agua sobre una superficie parafinada. Finalmente podemos tener $\sigma_1 = 70$ dinas/cm., $\sigma_{12} = 40$ dinas/cm. y $\sigma_2 = 20$ dinas/cm.; el coseno de θ será 1,5 y el ángulo θ podrá no tener existencia real. En un sistema de estas características la gota se extenderá indefinidamente sobre la superficie, no pudiéndose determinar en estas circunstancias el ángulo de equilibrio; esto es lo que acontece al poner sobre la superficie de un sistema mercurio-aire una gota de agua. La relación de las tensiones superficiales entre las diferentes fases de un sistema puede tener lugar según tres modalidades diferentes; en el primer caso, la gota "moja" levemente la superficie (el cos de θ oscila entre + 1 y — 1); en el segundo, la gota no moja la superficie en absoluto (el coseno de θ es inferior a — 1), y en la tercera modalidad la gota se esparce sobre toda la superficie, sin que sea posible establecer la posición de equilibrio (coseno de θ superior a + 1).

De cada una de estas modalidades, y especialmente de las dos mencionadas en último lugar, podemos ofrecer algún ejemplo fisiológico. En la sangre de algunos crustáceos existen unas células especiales denominadas *corpúsculos explosivos*, las cuales al ponerse en contacto con una superficie de vidrio, por ejemplo, se extienden sobre la misma y liberan una substancia que tiene la propiedad de iniciar el coágulo del plasma, en el que flotan normalmente. La explicación física que puede darse de este fenómeno es la siguiente: las tensiones de las superficies de contacto entre las células y el vidrio, las células y el plasma, y entre el plasma y el vidrio, son tales que el coseno de θ es mayor que la unidad, comportándose las células en estas condiciones de la misma manera que una gota de agua sobre una superficie de mercurio. Si estas mismas células se deslizan sobre una superficie parafinada no ponen de manifiesto sus propiedades coagulantes, siendo en estas circunstancias el coseno de θ inferior a — 1 y comportándose de un modo semejante al del agua colocada en contacto con una superficie de parafina. Las plaquetas de la sangre de los mamíferos manifiestan propiedades análogas a las de las células "explosivas", permaneciendo también inactivas cuando pasan por una superficie parafinada, pero liberando trombocinasa si se ponen en contacto con una superficie de vidrio, y como quiera que la trombocinasa es un elemento esencial para la coagulación de la sangre, podemos evitarla recogiendo la sangre en tubos parafinados.

En el caso de la actividad fagocitaria por parte de las células se ponen de manifiesto modificaciones análogas en las superficies de

pero luego va disminuyendo progresivamente, hasta que llega un momento en que la adsorción no tiene lugar. Una vez se ha conseguido el equilibrio, la cantidad de colorante adsorbido depende de tres factores: (*a*) de la extensión y naturaleza de la superficie adsorbente; (*b*) de la naturaleza del colorante, y (*c*) del residuo de colorante que ha quedado en la solución sin ser adsorbido. Llamando x a la cantidad adsorbida por m gramos de carbón animal y c a la cantidad restante en la solución, al terminar el experimento tendremos:

$$x/m = A \cdot c^{\frac{1}{n}}$$

A y n son dos constantes dependientes de la naturaleza del adsorbente y de la substancia adsorbida. El valor de n oscila alrededor de 2,0 y la cantidad de substancia adsorbida varía aproximadamente según la raíz cuadrada de la concentración de aquélla. En la figura 9 podemos ver la representación gráfica de estos valores, constituyendo una línea parabólica conocida con el nombre de *isoterma de adsorción*. Considerando en esta ecuación como variables log x y log c, se obtiene una recta cuyo coeficiente angular viene dado por $\frac{1}{n}$. Observando la forma de la curva de la figura 9 podemos constatar que la adsorción de una substancia es proporcionalmente mayor en las soluciones diluídas que en las concentradas, y es por esta razón que el proceso adsorbente alcanza valores más altos cuando tiene lugar en sistemas de débil concentración que en los de concentración elevada.

IV. Fundándonos en el hecho antes indicado, de que la cantidad de substancia adsorbida depende de la cantidad de ésta libre en la solución, podemos separar de las superficies adsorbentes las substancias adsorbidas diluyendo progresivamente el medio de dispersión. Un colorante adsorbido por carbón animal puede ser recuperado por lavados sucesivos del mismo. Este hecho tiene singular importancia, ya que indica que el proceso de adsorción es perfectamente reversible y por lo tanto los compuestos formados por este mecanismo pueden deshacerse fácil y rápidamente. Esta perfecta reversibilidad constituye una de las características de la verdadera adsorción y la diferencia de otras modalidades conocidas de procesos semejantes de *seudoadsorción*. Por esto está justificado denominar *adsorción mecánica* a la adsorción verdadera, perfectamente reversible, y aunque la denominación no sea muy afortunada sirve para distinguirla de otro fenómeno de superficie, la *adsorción eléctrica*, que en realidad es una seudoadsorción.

V. Cuando un adsorbente se encuentra en presencia de una solución que contiene dos o más substancias tensioactivas, adsorbe siempre en mayor proporción aquella cuya tensioactividad es más intensa, excluyendo parcialmente del proceso a las otras. Para tener una clara idea de este hecho, consideremos cuán difícil resulta separar

mediante un sencillo lavado con agua un colorante de la superficie en que se halle adsorbido, y lo fácilmente que se produce esta separación cuando se utiliza un líquido tensioactivo como solución de jabón, alcohol o éter. En estas condiciones, la substancia más tensioactiva reemplazará al colorante en la superficie adsorbente, el cual volverá a ponerse de manifiesto en la solución. Podríamos aducir un gran número de ejemplos en confirmación de este hecho, tales como la acción decolorante del alcohol sobre los vidrios teñidos con diversos colorantes; la separación de ciertas enzimas mediante substancias tensioactivas; así la renina (o cuajo) adsorbida por carbón animal no desarrolla su actividad diastásica, pero si le añadimos al sistema una

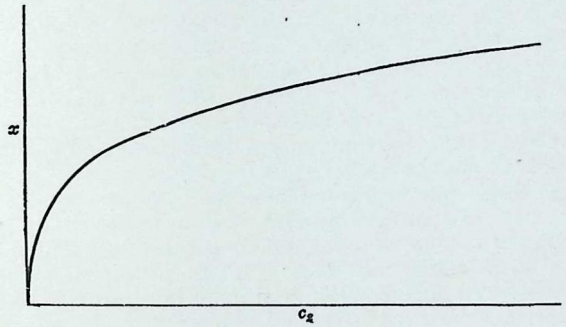


FIG. 9. Gráfica de la isoterma de adsorción. La cantidad de substancia adsorbida x está representada en las ordenadas, y los valores de la substancia que queda libre en el líquido en las abscisas

determinada cantidad de saponina, esta substancia desaloja a la enzima de la superficie en que estaba inactiva por adsorción, manifestándose entonces su poder coagulante sobre la leche.

Efecto de la temperatura sobre la adsorción. La tensión superficial desciende cuando aumenta la temperatura, disminuyendo también en estas condiciones la intensidad del poder tensioactivo de las substancias que lo poseen; de aquí que la intensidad del proceso de adsorción sea menor a temperaturas elevadas que a temperaturas bajas. Un conocido ejemplo del efecto disociativo del calor sobre los compuestos de adsorción es el que ofrece la decoloración del almidón teñido en azul con el yodo al aumentar la temperatura y la reaparición del color azul al enfriar el sistema, lo cual permite rehacer el compuesto de adsorción disociado.

La velocidad mediante la cual un sistema alcanza su equilibrio de adsorción aumenta proporcionalmente al incremento de la temperatura.

Adsorción y reacciones químicas. La velocidad de una reacción química se halla condicionada, entre otros factores, por la concentración de los componentes de la misma. Si los elementos que deben reaccionar se encuentran a una concentración muy elevada, la reacción se desarrolla con rapidez, siendo ésta más lenta si la concentración es baja. En las capas superficiales adyacentes a las superficies de contacto o fases, las substancias presentes en la solución se concentran por un proceso adsorbente, aumentándose así la capacidad reaccional de las moléculas, y siendo a este nivel mucho más intensa la reacción química que en el resto del sistema.

Esta aceleración de las reacciones a nivel de las superficies de separación se denomina *catálisis por adsorción*. En este grupo pueden clasificarse reacciones tales como la reducción de los compuestos de hidrógeno por la esponja de platino; la oxidación del ácido oxálico en presencia de carbón animal; la formación de ácido sulfúrico a partir de SO_2 ante el platino finamente dividido, etc. El efecto hemolítico de la saponina y de los jabones sobre los glóbulos rojos es debido, probablemente, a una mayor concentración de aquéllos sobre las superficies celulares. Una interpretación semejante cabría dar para explicar el mecanismo de las acciones diastásicas.

Hemos dicho que la adsorción es un fenómeno perfectamente reversible; pero existen gran número de casos en los cuales la adsorción de una substancia va seguida de una reacción química irreversible entre la substancia adsorbida y la adsorbente; tal sucede en la forma de actuar de algunos colorantes en los que el comienzo del proceso de tinción es una verdadera adsorción reversible; sin embargo, luego tiene efecto una reacción química entre el colorante y la substancia sobre la cual actúa, determinando la "fijación" del mismo; esto es lo que sucede al actuar los colorantes sobre la albúmina de huevo coagulada, en cuyo caso el proceso es reversible en un primer estadio, produciéndose a continuación una reacción química irreversible, mediante la cual el colorante queda combinado con la albúmina.

Teniendo en cuenta la frecuencia con que pueden producirse consecutivamente a procesos de adsorción reacciones de naturaleza química, debemos ser muy prudentes en considerar ciertas reacciones biológicas como debidas exclusivamente a la adsorción. Sobre este punto concreto, la neutralización de ciertas toxinas por sus antitoxinas nos ofrece un ejemplo adecuado; para muchos investigadores, la combinación entre estas dos substancias se realiza siguiendo exactamente la isoterma de adsorción; según otros, las proporciones de aquel fenómeno podrían expresarse mediante la misma fórmula que relaciona la combinación de un ácido con una base; cualquiera de estas explicaciones puede aceptarse a título provisional, ya que ninguna de ellas ofrece suficiente consistencia para explicar la totalidad de los hechos; uno de éstos, sin plausible interpretación, es el que hace referencia a la especificidad de la formación de antitoxinas, pues es bien sabido que la neutralización de la toxina diftérica no puede ser

realizada más que por la antitoxina antidiftérica. La aglutinación de las bacterias nos ofrece un ejemplo análogo. Los microorganismos adsorben la substancia aglutinógena del mismo modo que los tejidos adsorben los colorantes, lo cual ha podido ser precisado por la distribución de las aglutininas entre las bacterias y el medio de suspensión de las mismas, que es exactamente superponible a la distribución de un colorante adsorbido por el carbón animal entre éste y el agua de la solución; pero tampoco así se explican satisfactoriamente los hechos por la gran especificidad del fenómeno, pues vemos que concretándonos a un germen cualquiera, por ejemplo, el bacilo tífico, solamente es aglutinado por una aglutinina específica.

La adsorción y la formación de películas superficiales. Algunas substancias, al concentrarse en las superficies por un proceso adsortivo, tienen la propiedad de formar capas superficiales que presentan una elevada viscosidad y una rigidez variable. Todas las substancias capaces de formar películas en la superficie ofrecen las características siguientes: en primer lugar son muy tensioactivas, siendo absorbidas fuertemente, y en segundo lugar en solución concentrada presentan una viscosidad considerable; ejemplos de estas substancias son los jabones, las saponinas, gomas, sales biliares y varias proteínas. Esta tendencia a formar películas superficiales es muy evidente en las soluciones concentradas de saponina, la cual forma una película rígida y sólida en la superficie de separación aire-agua.

Teniendo en cuenta estos hechos, se ha pretendido explicar la constitución de la membrana celular por la intervención de substancias tensioactivas, que concentrándose en la superficie de separación darían lugar a "condensaciones superficiales" de mayor o menor rigidez. Pero por lo que hoy sabemos de las propiedades de estas películas superficiales, esta explicación es poco probable; sin embargo, no puede ser descartada de un modo definitivo.

Adsorción eléctrica. Se trata de un proceso completamente distinto al de la adsorción mecánica, ya que en éste la concentración de las substancias en las superficies es producida en función de su capacidad tensioactiva, mientras que en la "adsorción eléctrica" las substancias se concentran en las superficies porque neutralizan la carga eléctrica de las superficies de separación de las fases. Este fenómeno puede comprobarse estudiando cómo se comportan las superficies de carga eléctrica negativa, por ejemplo, el papel de filtro frente a colorantes electronegativos o electropositivos. El rojo congo, por ejemplo, es electropositivo; por lo tanto, sus cargas neutralizan las del papel de filtro, y así, al poner éste en contacto con una solución del colorante, el rojo congo quedará fuertemente adherido a la superficie del papel de filtro, sin que pueda ser separado por lavados sucesivos. En cambio, otro colorante, el azul noche (1), no

(1) Azul anilina.

es fijado fuertemente por el papel de filtro, por tener la misma carga eléctrica que la superficie adsorbente, y, en caso de teñirla, el azul noche puede separarse fácilmente por lavado.

Además del principio fundamental que separa los fenómenos de adsorción eléctrica de los de adsorción mecánica o verdadera, difieren éstos por otras condiciones. En primer lugar, en que la adsorción eléctrica no es reversible y el compuesto formado entre el papel de filtro y el colorante no se destruye, reduciéndose además la concentración del colorante en el líquido que baña la superficie adsorbente. En segundo término, la cantidad de colorante fijado en la superficie no sigue la isoterma de adsorción, desconociéndose una explicación satisfactoria de este hecho, y, finalmente, no ha podido apreciarse en ningún caso una disminución de la adsorción eléctrica al aumentar la temperatura.

Es lamentable que en muchas ocasiones este proceso se superponga al de adsorción propiamente dicho, y no obstante es posible que sea esta anómala forma de adsorción la única observada por el fisiólogo, ya que la modalidad de fenómenos adsortivos que presentan los tejidos vivientes se acerca más a la adsorción de tipo irreversible que a la adsorción verdadera. Las albúminas, las globulinas, los jabones, los ácidos biliares, substancias colorantes, etc., que son las substancias que consideramos ordinariamente al relacionar la adsorción con los fenómenos vitales, son adsorbidas de un modo más o menos irreversible en muchas circunstancias, y aunque no tengamos una explicación satisfactoria para estos hechos, cabe suponer que la adsorción tenga aquí el carácter de adsorción eléctrica, o bien que a la adsorción verdadera sigan rápidamente procesos de combinación química, los cuales permitan mantener constante la concentración de la substancia adsorbida.

Capítulo II

El estado coloidal

Soluciones coloidales. Si desmenuzamos en pequeñas partículas una porción de oro metálico y las colocamos en suspensión en el agua obtendremos una turbia suspensión de oro, la cual sedimenta poco a poco, depositándose en el fondo del tubo de ensayo y dejando por encima un líquido completamente claro. Si se repite nuevamente la operación de modo que las partículas resultantes tengan todavía un tamaño más pequeño, obtendremos otra vez una suspensión turbia, pero cuya velocidad de sedimentación será menor que en el caso anterior. Insistiendo con experimentos de esta naturaleza llegaremos pronto a la conclusión de que la celeridad con que el fenómeno de sedimentación se produce depende del tamaño de las partículas, y que extremando el grado de dispersión de éstas podríamos conseguir una suspensión que no sedimentase o que, de hacerlo, invirtiese en ello un gran espacio de tiempo.

Por división mecánica no podemos llegar a un grado de dispersión suficiente para producir suspensiones de gran estabilidad; para ello es preciso recurrir a métodos indirectos, como el que indicamos a continuación: Se introducen en un matraz de vidrio de Jena, perfectamente limpio, 100 c. c. de agua pura y se calienta suavemente hasta alcanzar el punto de ebullición; mientras se produce el calentamiento se añaden 2,5 c. c. de cloruro de oro en solución, y aproximadamente la misma cantidad de solución de carbonato potásico N 0,18; así que se produce la ebullición se añaden lentamente de 3 a 5 c. c. de solución de aldehido fórmico al 0,3 %, agitando después rápidamente el matraz; a los pocos minutos el líquido toma un color que pasa rápidamente a rojo brillante. En esta reacción el cloruro de oro es reducido por el aldehido fórmico a oro metálico, siendo estas partículas de oro las que dan color rojo a la solución; el carbonato potásico tendría a su cargo la neutralización del ácido que se forma durante la reacción. Las partículas de oro así obtenidas son tan diminutas que no sedimentan sino después de mucho tiempo; por este motivo estaría

más justificado aquí sustituir la denominación de *suspensión* de oro por la de *sol* de oro o solución coloidal de oro.

Como hemos visto, el sol de oro difiere de la suspensión coloidal de oro en el menor tamaño de las partículas que lo componen, y de la solución de oro verdadero en que las partículas son más grandes. Por lo tanto, la sola diferencia fundamental que puede apreciarse entre la materia en estado de agregación, en solución coloidal, en estado de verdadera solución o en estado molecular, consiste en el grado de *dispersión* de la misma; no existiendo motivos para establecer una separación absoluta entre el estado sólido, las suspensiones, el estado coloidal y las soluciones verdaderas, ya que el paso de un estado a otro se establece por gradaciones imperceptibles. Cuando las partículas tienen un radio mayor de 0,1 μ (1 μ equivale a 0,001 mm.) forman suspensiones; algunas veces estas partículas son llamadas *micrones*, y son visibles al microscopio. Cuando el radio varía entre 0,1 μ y 0,005 μ las partículas toman el nombre de *submicrones*, siendo características de las soluciones coloidales o soles. Las que tienen un radio aún menor de 0,001 μ se llaman *amicrones* y forman un tipo de solución denominado *solución semicoloidal*, las cuales participan de algunas de las propiedades características del estado coloidal y de otras propias de las soluciones verdaderas. Finalmente, si el radio de las partículas está en las proximidades de 0,0001 μ, nos encontramos en la fase de dispersión molecular característica de las soluciones verdaderas.

Al hablar de suspensiones y de soles se acostumbra a considerarlos como sistemas heterogéneos, en contraposición con las soluciones moleculares, a las que se considera como sistemas homogéneos, sin que esta distinción tenga un fundamento estrictamente lógico, pues si bien es cierto que en las primeras las partículas de la *fase dispersa* (partículas de oro, por ejemplo) se encuentra en suspensión en la *fase continua* del solvente, existiendo una superficie de separación en las zonas de contacto de las dos fases, el mismo hecho puede ser constatado en sentido estricto en el caso de las soluciones verdaderas, en las cuales la fase dispersa presenta las dimensiones moleculares, pero teniendo asimismo las moléculas un radio, un volumen y una superficie. Solamente podrá persistir esta distinción si la reservamos para considerar como homogéneas aquellas soluciones en las que las moléculas del solvente tengan las mismas dimensiones que las moléculas del material disperso, explicándose su existencia porque de ordinario nosotros no llevamos el proceso de subdivisión imaginaria hasta las dimensiones moleculares.

Usando la palabra heterogeneidad en un sentido convencional, podemos admitir que una de las características de la solución coloidal sea la de constituir un sistema heterogéneo formado por dos fases, una de las cuales es la fase dispersa, en suspensión en la otra, denominada *fase continua*. Estas fases pueden hallarse cada una de ellas en los distintos estados de la materia, sólido, líquido y gaseoso, pudiendo combinarse en la siguiente forma:

1. Dispersión de gas en líquido (espuma).
2. Dispersión de un líquido en un gas (vapor).
3. Dispersión de un líquido en otro líquido (por ejemplo, en la leche se encuentran en suspensión en el medio líquido gotitas de grasa; también puede servir el ejemplo de las soluciones líquidas de gelatina).
4. Dispersión de un líquido en un sólido (el caso de la *gelificación* de un sol de gelatina).
5. Dispersión de un sólido en un gas (humo).
6. Dispersión de un sólido en un líquido (sol de oro).
7. Dispersión de un sólido en otro sólido (aleaciones diversas)

No basta la heterogeneidad para definir un sistema coloidal, pues aunque esta propiedad pueda servir para distinguirlo de una solución verdadera, no es válida, sin embargo, para establecer la diferencia con una suspensión propiamente dicha. Para completar esta diferenciación diremos que la *superficie específica* de la fase dispersa es mucho mayor, entendiendo por superficie específica el resultado de dividir la superficie de la fase dispersa por el volumen de la misma. La superficie específica aumenta a medida que el tamaño de las partículas va haciéndose menor, y aunque ya hemos dicho que las partículas de la fase dispersa tienen en el estado coloidal un diámetro muy pequeño, es más conveniente expresarlo en forma de superficie específica, ya que así tendremos también idea de la energía superficial del sistema, que será tanto mayor cuanto más grande sea la superficie específica. Si dividimos, por ejemplo, una esfera de 0,1 cm. de diámetro en un gran número de partículas cuyo diámetro sea de 0,01 μ. la superficie habrá aumentado cien millones de veces, siendo por lo tanto la energía superficial cien millones de veces mayor, quedando incluído en el sistema, por el solo hecho de la subdivisión, este enorme incremento de la energía. Muchas de las notables propiedades de los coloides tienen su origen en este gran almacenamiento de energía, que justifica plenamente la frase de GRAHAM, el descubridor del estado coloidal, cuando decía: "Los coloides poseen energía, siendo ésta, probablemente, el principal origen de las fuerzas que se manifiestan en los fenómenos vitales"

El ultramicroscopio. Las partículas que constituyen la fase dispersa de un sistema coloidal no pueden ser vistas al microscopio, porque existe un *límite de visibilidad* determinado por la longitud de onda de la luz. Este límite impide apreciar los objetos cuyo diámetro sea menor de 0,2 μ. cualquiera que sea el aumento empleado. Para ver las partículas de un sol de oro, por ejemplo, cuyo tamaño sea inferior al que hemos dado como límite de visibilidad, tendremos que recurrir a otro método que permita apreciar su presencia aunque no puedan determinarse con claridad sus características. Esta necesidad técnica ha sido resuelta gracias al ultramicroscopio, ideado por SIEDENTOPF y ZSIGMONDY.

Es un hecho bien conocido lo que sucede con las partículas de polvo en suspensión en el aire de un local, las cuales son invisibles en condiciones corrientes, y en cambio se las ve animadas de rápidos movimientos cuando actúan sobre ellas los haces luminosos de un rayo de sol; cada partícula dispersa la luz en todas direcciones y esto las hace visibles. Si hacemos atravesar un rayo de luz a través de un líquido que contenga partículas en distintos grados de dispersión, éstas actuarán dispersando los rayos luminosos, cuyo trayecto en el interior del líquido toma una apariencia fluorescente, la cual se denomina *fenómeno de Tyndall*. En el ultramicroscopio se dispone un haz luminoso muy concentrado en forma tal que ilumine solamente una fina capa de la solución que haya de examinarse; el microscopio se colocará formando ángulo recto con el trayecto del rayo de luz, de tal manera que no penetre por el sistema óptico del microscopio otra luz que la dispersada por las partículas de la solución. Valiéndose de este artificio, cada partícula aparece como un disco luminoso más o menos distinto destacándose sobre un fondo negro, y cuya visibilidad depende principalmente del tamaño de las partículas; cuando éstas tienen un diámetro de 0,1 μ a 0,005 μ (submicrones), pueden ser observadas fácilmente con el ultramicroscopio; pero si las partículas tienen un tamaño menor (amicrones), se perciben sola-

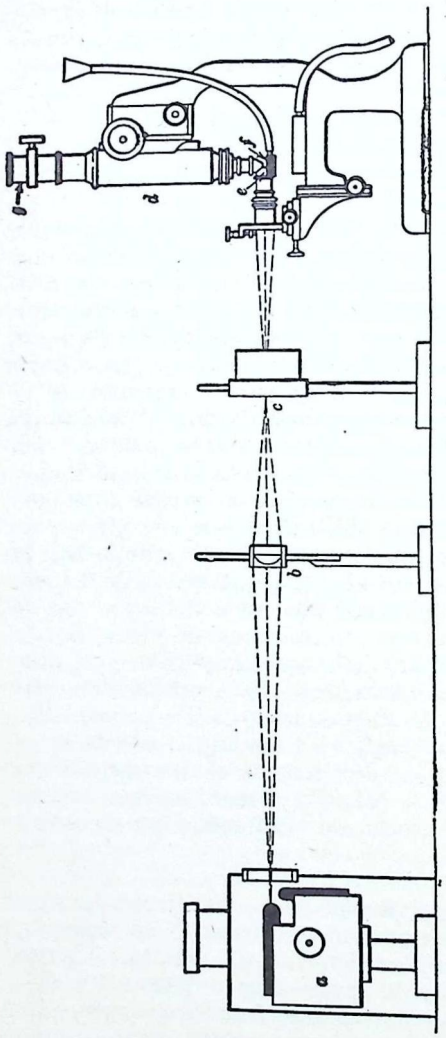


FIG. 10. Diagrama de ultramicroscopio. La luz del arco *a* es enfocada por la lente b en la ranura *c* y luego pasa a través del condensador *e* a la cámara de observación *f*. La luz dispersada por las partículas del líquido se observa a través del microscopio *d*. (Según BAYLISS. *Principles of General Physiology*).

mente como una neblina difusa. La observación de una solución verdadera con esta técnica no permite ver otra cosa que el campo microscópico absolutamente vacío, llamándose la solución que presenta esta característica *ópticamente vacía*.

Conviene recordar que las partículas examinadas al ultramicroscopio no dan su verdadera imagen, ya que el diámetro del disco brillante perceptible en cada partícula es completamente distinto al verdadero diámetro de ésta, y por tal razón el ultramicroscopio no

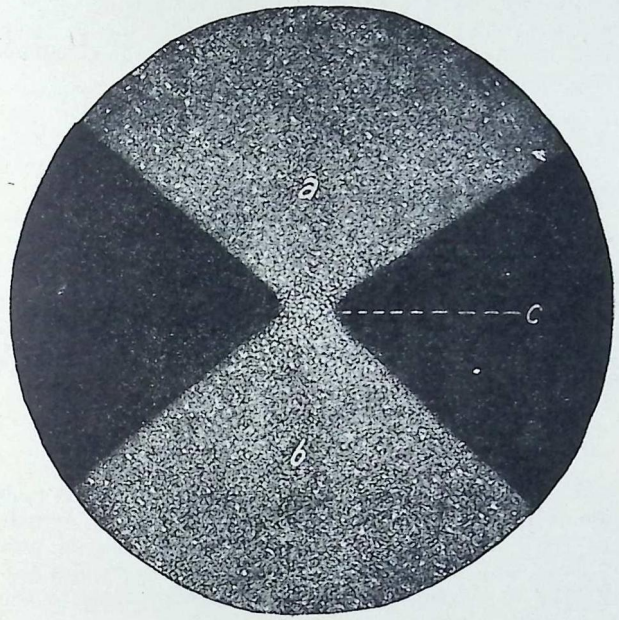


FIG. 11. Imagen de una solución coloidal vista al ultramicroscopio. *C* indica el punto hacia el cual se han enfocado los rayos luminosos por el condensador del ultramicroscopio y es la zona en la cual las partículas coloidales son vistas con mayor precisión. (Según BAYLISS, *Principles of General Physiology*)

puede utilizarse para determinar directamente el tamaño de las partículas. Se han realizado algunas medidas indirectas; iluminando un pequeño volumen de solución con un haz de luz cuya anchura y espesor nos sean conocidos, se cuenta el número de partículas de este volumen, pudiéndose averiguar por cálculo el número de las mismas por centímetro cúbico. Determinando luego la cantidad de substancia en dispersión por centímetro cúbico de sol por algún método químico, puede ser hallado el diámetro y el volumen de cada partícula, partiendo siempre de la base de que éstas son uniformes y esféricas.

Los resultados obtenidos con el método anterior concuerdan perfectamente con los que se obtienen con el método de la *ultrafiltración*, cuyo fundamento asienta en la posibilidad de pasar a través de filtros especiales que dejan atravesar solamente las partículas de tamaño inferior al de sus poros y retienen en los mismos las partículas de mayor volumen. BECHHOLD, utilizando papel de filtro impregnado de colodión, obtiene filtros de poros finísimos, cuyo diámetro puede ser regulado según la concentración de colodión que se utilice. Valiéndose de series graduadas de estos filtros con arreglo al tamaño de sus poros, pueden separarse distintas soluciones que difieran por su grado de dispersión. El siguiente cuadro, debido a BECHHOLD, muestra el orden en que va disminuyendo el tamaño de las partículas de las siguientes substancias:

Suspensiones	Gelatina al 1 por 100
Azul prusia	Hemoglobina 1 por 100
Platino coloidal	Seroalbúmina
Hidróxido férrico coloidal	Albumosa
Caseína de la leche	Dextrina
Oro coloidal	Cristaloides

Condiciones de estabilidad. 1. Volumen de las partículas. La velocidad V, mediante la cual las partículas de la fase dispersa de una suspensión o de un sol coloidal se separan del medio de dispersión, puede determinarse mediante la fórmula de expresión de la ley de STOKES, que dice:

$$V = \frac{2\,(s_1 - s_2)\,r^2\,g}{9\,\eta}$$

en la cual r es el radio de la partícula, s_1 su densidad, s_2 la densidad del medio de dispersión, cuya viscosidad es η, y g la constante de gravitación. Todos estos valores se entienden expresados en unidades C. G. S. Si el valor de V no es muy pequeño, las partículas sedimentan con relativa celeridad, siendo en estas condiciones la solución coloidal poco estable.

La aplicación de esta fórmula permite apreciar muy bien la diferencia de comportamiento de una suspensión de oro con respecto a un sol de oro. En el caso de la suspensión, suponiendo que las partículas tengan $1\,\mu$ de radio y que el medio de suspensión sea el agua $\eta = 0{,}01$ a 20°). La velocidad de sedimentación se produce aproximadamente a razón de 15 centímetros por hora, cayendo las partículas rápidamente al fondo del tubo. En el caso del sol de oro cuyas partículas son de un radio aproximado a $0{,}1\,\mu$ en idénticas condiciones experimentales, la sedimentación se produce con mucha mayor lentitud a unos 2 centímetros por semana. Si el radio de las partículas es de $0{,}002\,\mu$ como sucede con los soles de oro color de rosa, el tiempo de sedimentación será de 1 centímetro cada tres meses.

De acuerdo con lo dicho, tendremos que considerar que la principal condición de estabilidad de una solución coloide vendrá dada por el tamaño de las partículas, siendo tanto más estable cuanto más pequeñas sean. Cualquier circunstancia que aumente el volumen de las partículas tiende a alterar el equilibrio del coloide produciendo su precipitación. En cambio, los factores que determinan una disminución del tamaño de las partículas contribuirán al aumento de estabilidad de las soluciones coloidales, actuando en este sentido, en primer lugar, el activo movimiento de las partículas, *movimiento browniano*, y en segundo término las cargas eléctricas de las partículas, las cuales ejercen una mutua repulsión entre éstas, impidiendo así la formación de pequeños agregados.

Condiciones de estabilidad. 2. Carga eléctrica. Ya hemos visto que toda superficie posee una carga eléctrica en relación con la existencia de la doble capa de HELMHOLTZ, y por lo tanto tendremos que considerar una carga eléctrica para cada partícula, cuyo signo será el mismo para todas ellas. La presencia de estas propiedades eléctricas puede ser demostrada con las técnicas siguientes.

Observando al ultramicroscopio el comportamiento de las partículas de un sol coloidal cuando se hace pasar a través de éste una corriente eléctrica, veremos cómo se orientan según el signo de su propia carga, moviéndose hacia el polo positivo las partículas con carga negativa y hacia el polo negativo las que están cargadas positivamente.

La velocidad de este movimiento migratorio está determinada por la diferencia de potencial entre las partículas y el medio que las rodea, siendo ambos valores directamente proporcionales. Este método puede ser utilizado solamente cuando las partículas tengan el tamaño de submicrones; pero si éste es menor (amicrones), las partículas son entonces excesivamente diminutas para poderlas seguir en su movimiento. Ahora bien; cuando las partículas sean suficientemente grandes para poder ser vistas con fuertes aumentos mediante el microscopio corriente, puede prescindirse del uso del ultramicroscopio.

Otro método, cuyos datos son igualmente satisfactorios, se funda en observar el comportamiento de las partículas electrizadas en un campo eléctrico producido en un tubo de vidrio en U, al que va acoplado en su parte inferior un tubo fino de alimentación y en conexión por sus extremidades abiertas con dos electrodos de platino. Conviene aumentar la densidad del coloide que haya de examinarse por medio de substancias como la urea o el azúcar. El tubo en U es rellenado parcialmente con agua, introduciendo después la solución coloidal por la acodadura de la U, desplazándose con esto el agua hacia la parte superior y formando con ella una fina superficie de contacto. Conectando entonces los electrodos, se hace pasar una corriente de unos 200 voltios de potencial a través del tubo. El movimiento de las partículas se pone de manifiesto por el ascenso o descenso de la superficie de separación en una de las ramas de la U, ascendiendo la superficie correspondiente del electrodo, hacia el cual emigran las partícu

las del coloide. Invirtiendo entonces la dirección de la corriente, el movimiento migratorio también queda invertido.

De las mediciones cuantitativas realizadas sobre la velocidad de migración de las partículas, que, como ya hemos visto, se encuentra en estrecha dependencia con la intensidad de su carga eléctrica, se deducen dos hechos notables. En primer lugar, las ligeras diferencias que ofrece la comparación de la carga eléctrica de substancias muy distintas, habiéndose hallado solamente variaciones comprendidas entre 25 y 50 milivoltios. Otro hecho igualmente notable es que la velocidad medio que presentan las partículas en un campo eléctrico es aproximadamente la misma que tienen los iones en circunstancias análogas. En un campo eléctrico en el cual la diferencia de potencial sea equivalente a 1 voltio por centímetro, el ion $Na^{\cdot}$ se moviliza con una velocidad aproximada de $4\,\mu$ por segundo, exactamente la misma que presentan las partículas de oro en iguales condiciones.

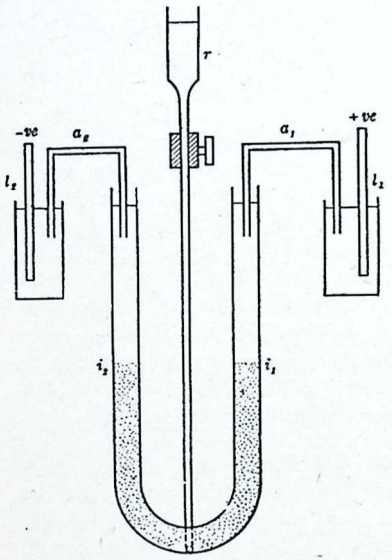


FIG. 12. Aparato para demostrar la orientación de las partículas de un coloide en un campo eléctrico. Las partículas se hallan contenidas en la solución que llena la porción acodada del tubo, habiendo sido introducida desde el depósito *r*. Las porciones superiores del tubo contienen agua, en la cual se encuentran sumergidos dos sifones a_1 y a_2. Éstos comunican con los electrodos l_1 y l_2. La velocidad de migración de las partículas puede ser determinada observando la velocidad con que se deforman las superficies i_1 e i_2

De la dirección en que se mueven las partículas portadoras de distintas cargas podemos concluir que aquéllas se desplazan hacia el electrodo de signo opuesto al de la capa interna de las dos que constituyen la doble capa de HELMHOLTZ de la superficie de la partícula. Una partícula de oro cuya capa interna es negativa, se dirigirá hacia el polo positivo o ánodo, mientras que las de hidróxido férrico acudirán al polo negativo o cátodo por ser positiva la carga de su capa interna. El *desplazamiento* de las cargas no tiene lugar entre la partícula y el agua, sino entre la capa externa y la capa interna de sus respectivas cubiertas de HELMHOLTZ. Además, moviéndose la partícula con carga negativa hacia el polo positivo, su capa externa de signo positivo tenderá a dirigirse al polo negativo. En estas condiciones, si procuramos la inmovilización de las partículas, las moléculas de agua libres existentes en la capa externa de HELMHOLTZ se orientarán hacia el polo del mismo signo que la carga eléctrica de las partículas.

Este movimiento de las moléculas de agua que rodean las partículas electrizadas contenidas en un campo eléctrico, es llamado *electroendósmosis*, para distinguirlo del que presentan las partículas, el cual se denomina *electroforesis*. Para demostrar el fenómeno indicado puede utilizarse el mismo dispositivo que hemos empleado para la determinación del transporte eléctrico de las partículas, obturando la porción acodada del tubo en U con un tapón de alguna substancia que tenga en el agua carga electronegativa, por ejemplo, papel de filtro; se llena parcialmente el tubo con agua, poniendo luego en conexión los electrodos. Cuando se hace pasar la corriente se observa un ligero desplazamiento del agua de una rama del tubo en U a la otra, pudiendo ser éste lo suficientemente intenso para establecer una diferencia de nivel de algunos milímetros. El agua se acumulará en la rama correspondiente al cátodo, que es el polo del mismo signo que posee el tapón inmóvil de papel de filtro.

Las cargas de las partículas de un coloide, cuando son expresadas en términos de potencial electrostático son realmente considerables; así, por ejemplo, una partícula de plata coloidal tiene una carga equivalente a 0,03 unidades electrostáticas. Conviene recordar que esta carga no debe ser considerada como una carga electrostática sencilla, como la contenida en una esfera de médula de saúco, ya que éstas presentan la propiedad de repeler a otra igual de la misma carga a una distancia considerable, variando las fuerzas de repulsión en proporción inversa al cuadrado de la distancia que separa las dos esferillas. Dos partículas de una suspensión o de un sol coloidal no se repelen mutuamente sino cuando la distancia entre ellas es muy pequeña, siendo precisa una contigüidad muy grande para que estas fuerzas de repulsión se pongan de manifiesto y actúen evitando la agregación de las partículas entre sí.

Si anulamos esta fuerza repulsiva, cualquier colisión eventual entre dos partículas dará lugar a la unión de las mismas para formar una partícula mayor. Estas partículas más grandes, al chocar con otras, aumentarán todavía de tamaño, alterándose así rápidamente la dispersión del coloide y facilitándose de este modo la separación de las fases, ya que el mayor volumen de las partículas de la fase dispersa aumenta la velocidad de sedimentación. La supresión de la carga eléctrica de las partículas puede realizarse con facilidad añadiendo al sol coloide un ion de carga opuesta, quedando de este modo neutralizadas totalmente o en parte las cargas de las partículas. En estas circunstancias tiene lugar la agregación de unas partículas con otras, tendiendo a disminuir progresivamente la superficie de la fase dispersa, lo cual se produce de ordinario no sólo cuando la carga eléctrica de la misma ha sido totalmente anulada, sino también cuando ha experimentado una reducción de un cierto valor, existiendo suspensiones y soles coloidales que precipitan generalmente cuando la diferencia de potencial en la superficie desciende por debajo de 6 milivoltios. El potencial bajo el que se produce la precipitación

de una suspensión o de un coloide determinado se conoce con la denominación de *potencial crítico.*

En circunstancias especiales la adición de un ion determinado puede cambiar el signo de la carga eléctrica de la superficie de la fase dispersa. Examinemos lo que sucede en el caso del sol de plata, por ejemplo, tratado con sulfato de aluminio; esta sal, mediante su ion $Al^{\cdot\cdot}$ trivalente, neutraliza la carga eléctrica de las partículas del sol de plata con tanta mayor intensidad cuanto más sulfato se añada al sistema, hasta que llega un momento en que se alcanza la neutralidad eléctrica de las partículas; cuando esto sucede, se dice que hemos llegado al *punto isoeléctrico.* Añadiendo ahora más sulfato de aluminio, reaparece nuevamente una cierta carga eléctrica en las partículas, pero esta vez de signo opuesto, es decir, positivo, moviéndose en el campo eléctrico hacia el cátodo. Este cambio de carga se interpreta como debido a una adsorción del ion aluminio en la superficie de la partícula, en tal proporción que la carga primitiva no sólo ha sido neutralizada, sino sustituída por la positiva del aluminio.

Condiciones de estabilidad. 3. Movimiento browniano. En 1827 el botánico R. Brown, observando granos de polen en suspensión en el agua, vió que estaban animados de movimientos oscilatorios muy vivos y continuados; muy pronto pudo establecerse por los investigadores que esta movilidad no era exclusiva de los granos de polen, sino que la presentaban todas las partículas en suspensión. Las primeras explicaciones dadas del fenómeno lo consideraban debido a cambios de temperatura, corrientes en el líquido, impurezas del medio de suspensión, vibraciones externas y a muchas otras causas, no alcanzando estas variadas interpretaciones ningún éxito. Lo único cierto es que los movimientos continúan indefinidamente, sin que muestren una alteración o disminución suficiente para hacer pensar en la intervención de cualquier causa extraña.

El movimiento browniano, así llamado desde su descubrimiento, es escasamente perceptible cuando la partícula en suspensión en el agua tiene un diámetro mayor de 4 μ; no obstante, a medida que disminuye el diámetro de las mismas el movimiento se hace cada vez más manifiesto, llegando a ser muy intenso cuando las partículas ofrecen un diámetro de 0,02 μ pues entonces alcanzan una velocidad por segundo aproximadamente diez veces mayor al diámetro de la partícula. Cuando las partículas presentan la dimensión de submicrones (entre 0,1 μ y 0,005 μ de diámetro), el movimiento puede apreciarse al ultramicroscopio con toda claridad; en estas condiciones, los movimientos de oscilación son sustituídos por desplazamientos rapidísimos de 100 a 200 μ por segundo, que siguen trayectorias muy irregulares en zigzag, repasando algunas veces el mismo camino recorrido y presentando siempre una extremada variabilidad. La intensidad del movimiento se halla además en íntima dependencia con la viscosidad del medio, pues con el aumento de ésta se atenúa la manifestación del fenómeno cinético.

Ramsay sugirió en 1892 que la causa del movimiento browniano fuesen los impactos producidos sobre las partículas por el bombardeo de las moléculas circundantes del líquido de suspensión. Considerado desde otro punto de vista, este movimiento puede ser atribuído a la energía intrínseca de la misma partícula, la cual reconocería el mismo origen que la manifestada por las moléculas en su actividad cinética. No existiendo, por otra parte, una diferencia absoluta entre la materia en estado molecular y la materia en estado coloidal, es muy lógico atribuir la movilidad de las partículas a la misma causa que actúa en el caso de las moléculas, aunque en estas últimas el fenómeno se manifiesta con más intensidad. Einstein y von Smoluchowski han dado fórmulas para expresar la relación existente entre la velocidad y el tamaño de las partículas, la viscosidad del medio de suspensión, etcétera, siendo la viscosidad del medio de dispersión inversamente proporcional a la amplitud del movimiento, dependiendo éste también del radio de las partículas y de la temperatura absoluta. Svedberg ha confirmado, estudiando el modo de comportarse los soles de platino, la exactitud de las expresiones matemáticas de Einstein y de Smoluchowski.

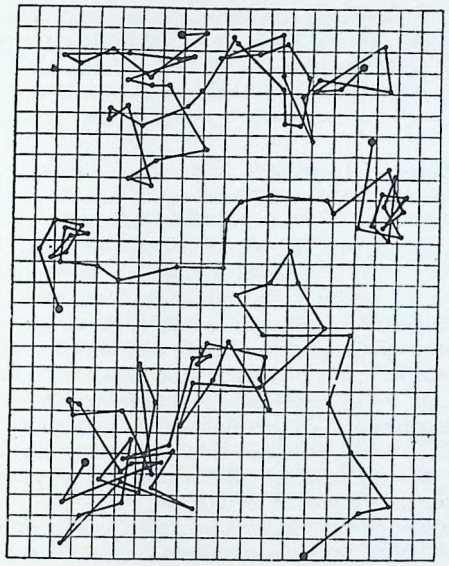


Fig. 13. Trayectorias de las partículas coloidales en el movimiento browniano. Los puntos indican la posición de las partículas en intervalos de 30 segundos. Si las posiciones de las partículas fueran seguidas de segundo en segundo, las trayectorias aparecerían bastante más complicadas de lo que se muestran en este diagrama. (Del *Philosophical Magazine)*

El mecanismo mediante el cual contribuye el movimiento browniano a la estabilidad de la solución coloidal no se halla completamente esclarecido. Existe un hecho evidente, y es la influencia estabilizadora que aquel movimiento ejerce frente a la acción de la gravedad, oponiéndose dentro de ciertos límites a la ligera sedimentación que se produce en las pequeñas partículas. Esto puede demostrarse observando lo que sucede cuando cubrimos con agua un polvo muy fino, el cual se distribuye uniformemente por el agua en el transcurso del tiempo. Como quiera que el efecto más importante para conservar la estabilidad consiste en prevenir la unión de unas partículas con otras, es muy posible que sea tal la violencia de los choques que se producen en los rapidísimos movimientos de las partículas, que aquéllos provoquen la proyección de las mismas contra otras inmediatas.

Suspensoides y emulsoides. Las soluciones coloidales pueden clasificarse en dos grandes grupos, según que la fase dispersa sea soluble o no en la fase continua. Si la fase dispersa es insoluble en el medio de dispersión, se dice que el coloide posee las características de un *sospensoide;* pero si aquella solubilidad se manifiesta, diremos que el coloide en cuestión es un *emulsoide.* Como ejemplos de suspensoides podemos citar los soles de oro y los de metales pesados en el agua, los soles de goma mástic en agua y los soles de gelatina en alcohol, ya que en todos los casos citados la fase dispersa, metal, goma, gelatina, es insoluble en la fase continua. Las soluciones de jabón, las de gelatina y las soluciones de proteínas en el agua son buenos ejemplos de emulsoides, a causa de ser la fase dispersa en estos casos soluble en el agua y por hallarse combinada con ésta en proporción más o menos grande. La propiedad de combinarse la fase dispersa con la fase continua nos permite hacer una nueva clasificación de los coloides; por esta razón, los suspensoides son también llamados *coloides liofobos* y los emulsoides *coloides liofilos,* cambiando estas denominaciones por las de *hidrófobos* e *hidrófilos,* cuando la fase continua es el agua. En todo caso debe ser recordado que es imposible trazar una rígida línea de separación entre suspensoides y emulsoides, pues aun cuando en los ejemplos seleccionados la distribución es fácil por tratarse de ejemplos típicos de cada clase, existen muchas substancias que participan de las propiedades de ambos, y así, por ejemplo, los hidróxidos coloidales son lo suficientemente insolubles en el agua para presentar muchas de las características de los suspensoides, siendo por otra parte lo bastante solubles para que se comporten en algunos aspectos de un modo semejante a los emulsoides.

La diferencia fundamental que existe entre suspensoides y emulsoides se pone de manifisto en las grandes diferencias de muchas de sus propiedades físicas.

La facilidad que presentan las partículas de la fase dispersa de un emulsoide de combinarse con la fase continua es mucho más semejante al comportamiento de las moléculas de una solución verdadera

que al de las partículas de un suspensoide. Los emulsoides pueden realmente ser considerados como soluciones de alto peso molecular, hallándose las partículas de la fase dispersa combinadas con moléculas de agua. El peso molecular de la dextrina es aproximadamente de 1000, el de la albúmina de huevo alrededor de 15 000, y el de la hemoglobina de 64 000; estas substancias, formando todas ellas emulsoides típicos, tienen moléculas tan enormes que aun estando en dispersión molecular son muy grandes comparadas con las del solvente, formando así soluciones heterogéneas. En el caso de los suspensoides, el tamaño de las partículas de la fase dispersa no es del orden molecular, resultando cada partícula un agregado de moléculas semejante, según VON WEIMARN, a diminutos cristales insolubles.

Mediante la observación con el ultramicroscopio podemos constatar características de los emulsoides que difieren de las que presentan los suspensoides. En el caso de las primeras, la fase dispersa se halla contituída de partículas que son en realidad grandes moléculas, a pesar de lo cual y de su alto peso molecular no tienen suficiente tamaño para ser vistas al ultramicroscopio; por consiguiente, los emulsoides contienen principalmente amicrones (partículas de diámetro inferior a 0,005 μ). Los suspensoides muestran en cambio al ultramicroscopio grandes partículas, siendo, por ejemplo, las partículas del oro coloidal submicrones de un diámetro aproximado de 0,05 μ.

La concentración de la fase dispersa en los emulsoides es de ordinario mucho mayor que la de los suspensoides, lo cual es índice de la estrecha semejanza que tienen los primeros con las soluciones verdaderas. Así tenemos que los suspensoides de oro presentan una concentración de su fase dispersa alrededor de 0,1 % (por ejemplo, 1 c. c. de sol de oro contiene solamente 1 miligramo de metal), siendo en muchos otros soles metálicos la concentración todavía menor. En los emulsoides, la fase dispersa puede llegar a concentraciones superiores al 10 %, hallándose esto en armonía con la pequeñez de sus partículas, la gran extensión de su superficie de contacto y su poder adsorbente.

Esta mayor concentración de la fase dispersa contribuye a elevar la viscosidad de los emulsoides. La solución de gelatina al 1 %, a 20° posee una viscosidad doble que la del agua, aumentando progresivamente la viscosidad con el incremento de las concentraciones, hasta llegar un momento en que la gelatina tiene aspecto sólido. La viscosidad de los suspensoides, en cambio, difiere muy poco de la que tenga el medio de dispersión.

La tensión superficial de los emulsoides es con frecuencia mucho menor que la del agua, variando muy poco en los suspensoides; de lo que se deduce la facilidad que presentarán los emulsoides para ser adsorbidos y lo difícil que será la adsorción de los suspensoides.

Precipitación de soles. La estabilidad de las soluciones coloidales depende principalmente del tamaño de las partículas de la fase

dispersa, manteniéndose éstas finamente divididas gracias principalmente a las repulsiones debidas a las fuerzas eléctricas. Cualquier influencia que disminuya o anule la carga superficial de las partículas producirá la pérdida de estabilidad del coloide, formándose un precipitado. Esta precipitación puede producirse más fácilmente en

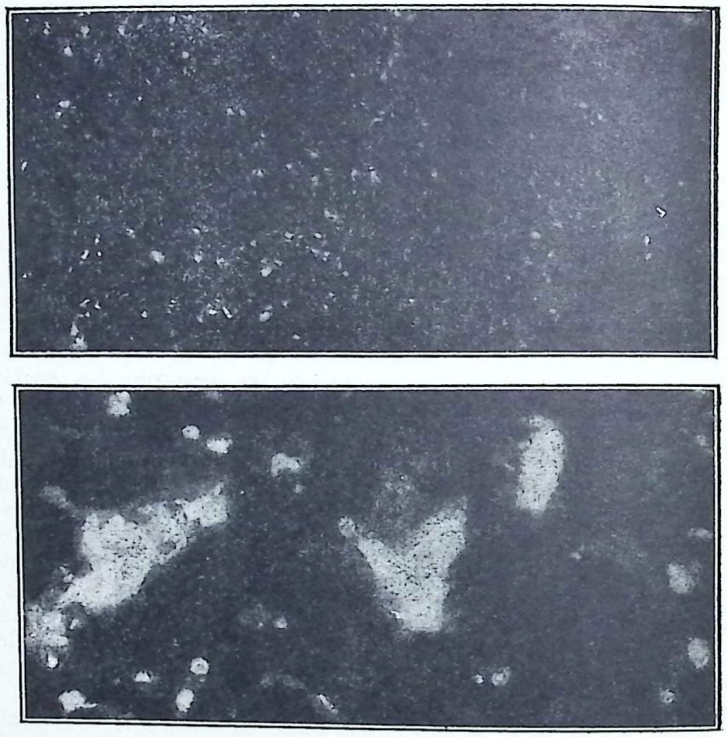


FIG. 14. Los estadios de la precipitación de la caseína, vistos al ultramicroscopio. Las partículas coloidales de la caseína se unen formando agregados de tamaño considerable, los cuales, al llegar a unas ciertas dimensiones, precipitan.
(Del *Matthews' Physiological Chemistry*, con autorización de William Wood y C.ª)

los suspensoides, en los que bastará la adición de pequeñas cantidades de un electrólito para conseguirlo.

Añadiendo pequeñas cantidades de una sal ClNa, por ejemplo, a un sol de oro, éste experimenta diversos cambios de color pasando del rojo al azul, lo cual indica un aumento en el tamaño de las partículas. Con más o menos rapidez precipita el oro metálico, dejando en su lugar, por encima del precipitado, un líquido incoloro. La marcha de esta reacción puede ser seguida con el ultramicroscopio, donde puede verse que el tamaño inicial de las partículas es del orden de los

amicrones, los cuales, por la adición del electrólito, se convierten en submicrones, y éstos, uniéndose entre sí, forman micrones, y de un modo semejante estos últimos se unen, hasta que las partículas formadas son lo suficientemente grandes para que, predominando la acción de la gravedad sobre las acciones estabilizadoras, precipiten.

Estos hechos se explican por la neutralización eléctrica de las partículas del sol, por los iones en que se disocia el electrólito añadido. Ya hemos visto que en el caso del sol de oro las partículas llevan una carga negativa, la cual mantiene la repulsión entre ellas y evita la coalescencia de la fase dispersa; al añadir ClNa, el Na , que es electropositivo, neutraliza las cargas negativas de la fase dispersa, anulando de este modo las fuerzas eléctricas que mantienen separadas las partículas y produciendo, finalmente, su aglutinación y precipitación. Si en lugar de actuar sobre un sol negativo como es el sol de oro, tratamos de precipitar con el ClNa un sol electropositivo, el hidróxido férrico coloidal, por ejemplo, el ion precipitante en este caso será el de signo contrario, o sea el ion Cl′.

Estudiando la precipitación desde un punto de vista cuantitativo, se desprenden las dos condiciones siguientes: en primer lugar, para que el electrólito ponga de manifiesto su poder precipitante, es preciso añadir una, aunque pequeña, determinada cantidad que contenga el número de iones de signo opuesto suficientes para neutralizar las cargas de las partículas coloidales, y en segundo término, la cantidad mínima de electrólito necesaria será más pequeña cuando la valencia del ion precipitante sea más elevada. Para precipitar el sol de hidróxido férrico (electropositivo) habrá que añadirle un ion electronegativo, el Cl′ en el caso de ser ClNa el electrólico empleado. Un ion negativo como el SO_4'' que sea portador de una carga eléctrica doble, manifestará un poder precipitante mayor que el Cl′, que lleva una carga sencilla; por lo tanto, la cantidad de SO_4H_2 necesaria para precipitar el sol de hidróxido férrico será mucho menor que la cantidad de ClNa precisa para conseguir un efecto semejante. Por análogos motivos el ion cítrico, que es trivalente, tendrá, en virtud de triple carga eléctrica, un poder precipitante mayor que el ion SO_4'' bivalente y que el ion Cl′ monovalente. En el cuadro que sigue puede apreciarse el distinto poder precipitante de distintos electrólitos sobre el hidróxido de hierro coloidal:

Electrólito	Gms. por litro necesarios para la precipitación
ClH	0,5
ClNa	0,5
SO_4H_2	0,002
$C_2O_4H_2$	0,002
Ac. cítrico	0,0007

HARDY fué el primero que generalizó estos resultados mediante su *regla de la valencia:* El poder precipitante de un electrólito depende de la valencia del ion cuya carga eléctrica sea opuesta a la del coloide.

El mecanismo mediante el cual se produce la neutralización eléctrica ofrece algún interés, ya que cuando la precipitación del coloide se produce, las partículas llevan consigo el ion precipitante; por ejemplo, sea un sol de hidróxido férrico precipitado mediante ClNa; el precipitado así producido contendrá iones Cl' y en el líquido libre podremos constatar un exceso de iones $Na^{\cdot}$. El ion adherido al precipitado se halla tan firmemente unido a él, que es imposible separarlo por lavados sucesivos, siendo muy probable que se trate de un proceso de "adsorción eléctrica". En la precipitación de un sol por iones de cargas opuestas se produce la adsorción del ion precipitante, pudiéndose confirmar este hecho desde muchos otros puntos de vista que no es preciso mencionar aquí.

La precipitación de los emulsoides por electrólitos es un fenómeno de características muy diferentes al que hemos visto en la precipitación de los suspensoides, no habiéndose esclarecido todavía las causas de este distinto comportamiento. Los emulsoides son mucho menos sensibles a la acción precipitante de los electrólitos, no consistiendo la diferencia sólo en el aspecto cuantitativo del fenómeno, sino también en la forma cómo éste se produce, pudiendo observarse en algunas ocasiones, una vez obtenida la precipitación, la reversibilidad del proceso.

Los electrólitos capaces de producir la precipitación de los emulsoides pueden clasificarse en dos grupos: En el primero, que comprende las sales de metales pesados, la precipitación tiene lugar con muy poca cantidad de electrólito; no obstante, en el segundo grupo, constituído por substancias del tipo del cloruro sódico, sulfato amónico, etc., la precipitación puede tener lugar a menos que no sean empleadas altas concentraciones de estas sales.

El poder precipitante de las sales de metales pesados frente a la albúmina, que es uno de los más típicos e importantes emulsoides, parece ser debido completamente al catión, o sea el ion de carga positiva, lo que está en consonancia con el hecho de que la albúmina, lo mismo que muchos otros emulsoides que tienen importancia en la investigación biológica, son electronegativos. La precipitación de la albúmina puede realizarse con la adición de pequeñas cantidades de electrólito (de 0,1/N en el caso de las sales de plata a 0,001/N con las sales de zinc), conteniendo siempre el precipitado el ion metálico precipitante; esto es muy parecido a lo que hemos visto ocurre en la precipitación de los suspensoides, pudiendo aceptarse la explicación de que el ion responsable de la ruptura del equilibrio coloidal sea "adsorbido eléctricamente". Hipotéticamente se ha dicho que el precipitado podría considerarse como un compuesto químico entre el emulsoide y el ion metálico, formando respectivamente "albuminato de plata" o "albuminato de zinc". El discutir el fundamento de esta interpretación escapa de los límites de este libro, a pesar de que constituye un punto de particular interés de la química coloidal; haremos notar solamente que la extrema inconstancia de la composición química de estos precipitados hace muy poco probable que pueda admitirse la formación de un compuesto químico en la acepción corriente de la palabra. El fundamento de muchos métodos histológicos de tinción consiste en la formación de precipitados de esta naturaleza; los emulsoides de los tejidos son precipitados por la acción de iones metálicos de substancias como el cloruro mercúrico, cloruro platínico, etc. En este caso, dichos iones son adsorbidos por el material precipitado, explicándose por este mecanismo ciertos hechos de coloración selectiva.

El efecto que las sales neutras, como el cloruro sódico, sulfato amónico, etc., ejercen sobre los emulsoides del tipo de la albúmina, difiere considerablemente de la acción que sobre los mismos hemos visto presentan las sales de metales pesados, siendo preciso emplear cantidades muy elevadas de aquellas sales para obtener la precipitación. Para precipitar unos 10 c. c. de albúmina es preciso añadir 6 c. c. de solución saturada de sulfato amónico, mientras que la globulina precipitará aproximadamente con una solución semisaturada de la misma sal. Esta diferencia de comportamiento entre las globulinas y las albúminas ha sido utilizada para separarlas de aquellas soluciones que contengan ambos emulsoides. Para separar en el suero sanguíneo o en cualquier otro líquido orgánico las albúminas de las globulinas, se diluye primeramente el líquido problema y después se añade un volumen igual de solución saturada de sulfato amónico, el cual en estas condiciones precipitará sólo las globulinas, que podrán ser separadas a continuación filtrando el líquido problema, que quedará de este modo libre de las mismas. El filtrado de globulinas puede ser redisuelto en agua, ya que esta precipitación es un fenómeno reversible, obteniendo así una solución de globulina libre de albúmina. Este método de separar distintos emulsoides se conoce con el nombre de *método de precipitación fraccionada.*

Antes de terminar la exposición de los efectos precipitantes de los diversos iones sobre los sistemas coloidales, debemos mencionar la singular acción de los iones $H^{\cdot}$ y OH'. El poder precipitante del ion OH' sobre los soles electropositivos del tipo del hidróxido de hierro coloidal es mucho más grande que el ejercido por cualquier otro ion de la misma valencia, y análogamente para el $H^{\cdot}$ cuyo poder precipitante ante los soles electronegativos es superior al de los cationes monovalentes. Esta particularidad de los iones $H^{\cdot}$ y OH' puede ser debida a una más rápida adsorción de los mismos por las partículas del coloide; pero cualquiera que sea la explicación, el hecho por sí mismo tiene una importancia fundamental para las aplicaciones biológicas de la química coloidal, ya que la intervención de estos iones condiciona un gran número de procesos vitales.

Protección de los soles. Cuando añadimos un emulsoide tal como la gelatina a un suspensoide cualquiera, por ejemplo el hidrosol de oro, éste queda *protegido* en grado variable frente a la acción

precipitante de los iones. Esta acción protectora la presentan casi todos los emulsoides, siendo más eficaz en unos que en otros. La intensidad del poder protector es referida a la cantidad de miligramos de un emulsoide, que debe ser agregada a 10 c. c. de un sol de oro para evitar su precipitación por 1 c. c. de solución de ClNa al 10 %. El número de miligramos de emulsión que evita la acción precipitante se conoce con el nombre de *índice del oro*. El cuadro siguiente muestra la intensidad del efecto protector de distintos emulsoides, medida con esta técnica:

	Mgs. para proteger 10 c. c. de sol de oro
Gelatina	0,005
Albúmina de huevo	0,15
Goma arábiga	0,25
Oleato sódico	0,4
Dextrina	6,0
Estearato sódico	10,0

Siendo una de las características de los suspensoides la rapidez de su precipitación por los electrólitos que contrasta con la resistencia que ofrecen los emulsoides frente a éstos, podemos sostener que la acción protectora consiste en comunicar los emulsoides su peculiar comportamiento al suspensoide protegido. La explicación de este fenómeno parece ser la siguiente: el emulsoide es adsorbido en la superficie de las partículas del suspensoide, adquiriendo de esta manera una cubierta de substancia más resistente a la precipitación.

Del mismo modo que hemos visto cómo es posible modificar las propiedades de un suspensoide protegiendo sus partículas mediante una fina envoltura de emulsoide, podremos verificar que también es posible el fenómeno inverso, es decir, el comunicar a un emulsoide las propiedades de los suspensoides. Sabemos que las soluciones de albúmina no son normalmente modificadas por la adición de pequeñas cantidades de electrólitos; pues bien: si añadimos a una solución albuminosa cierta cantidad de un suspensoide típico como la goma mástic, habremos comunicado al emulsoide una sensibilidad mayor frente a la acción precipitante de los electrólitos, por haberse formado a nivel de la superficie del emulsoide una envoltura de goma, quedando así completamente transformadas sus propiedades.

Gelificación. En algunos emulsoides puede tener lugar una modificación consistente en el paso de líquido a sólido, tomando el emulsoide una consistencia de jalea en lugar del aspecto líquido anterior. Este fenómeno se conoce con el nombre de *gelificación* y puede ser provocado por evaporación, por enfriamiento de un emulsoide como la solución de gelatina o por la adición de reactivos como en el caso del ácido silícico coloidal. Algunos de estos estados de gelificación son reversibles; otros no. El gel de gelatina puede ser fluidificado nuevamente por la adición de agua o por calentamiento; en cambio, la gelificación del sol de ácido silícico es irreversible.

Las modificaciones que preceden a la gelificación pueden ser observadas por medio del ultramicroscopio y consisten en un agrandamiento de las partículas de la fase dispersa del emulsoide, pasando del tamaño inicial (amicrones) a la dimensión de submicrones, en la cual el movimiento browniano puede observarse fácilmente. El crecimiento de las partículas produce una especie de retículo, en el cual quedan incluídas gotitas del medio de suspensión, pasando de esta suerte en la fase de gel lo que era fase dispersa, a medio de dispersión, y viceversa.

La cuestión consiste ahora en determinar cuál sea la naturaleza de esta nueva fase continua. Es indudable que la fase continua se encuentra en estado líquido, debiéndola considerar como una solución muy concentrada de gelatina en agua, rodeando gotitas de solución mucho más diluída, las cuales constituirán la fase dispersa. Respecto a la concentración de la fase continua podremos tener alguna idea si consideramos que en el gel de palmitato sódico al 1 %, la fase dispersa sólo contiene un 0,05 % de jabón, hallándose el resto concentrado en la fase continua del gel. Esta mayor concentración, de la que resulta un incremento considerable de la viscosidad unida al agrandamiento de las partículas de la fase dispersa inicial, produce un aumento de la viscosidad y de la rigidez, que son las características principales del gel resultante.

Aun cuando la gelificación es un fenómeno frecuentemente reversible, el paso de gel a sol difiere en algunos aspectos del paso de sol a gel. La principal diferencia que separa ambos fenómenos que parecen superponibles, es que no se producen a la misma temperatura; así tenemos que la gelatina pura se solidifica según la concentración de sus soluciones a temperaturas que varían entre 18° y 26°; en cambio, el paso de gel a sol tiene lugar entre 26° y 29°. Este hecho ofrece singular interés porque demuestra que no es precisa la reversibilidad de los factores que causan la transformación de sol a gel para producir el fenómeno de gel a sol.

Los electrólitos que muestran una menor capacidad precipitante sobre los emulsoides son precisamente también los que influyen menos en el proceso de la gelificación. Algunos iones como Cl', Br' e I' disminuyen la temperatura de gelificación y parece que inhiban el proceso; otros, como el SO_4'', aumentan la temperatura de la gelificación. Sin embargo, los iones $H^{\cdot}$ y OH', cuyas propiedades precipitantes son tan intensas, muestran un efecto inhibidor sobre la gelificación de emulsiones como la gelatina.

Los geles de agar y de gelatina experimentan una retracción, segregando al reducirse de volumen una cierta cantidad de líquido, consistente en una solución muy diluída de todos los componentes de la solución originaria. Este fenómeno es conocido con el nombre de *sinéresis*.

Imbibición y series de Hofmeister. Muchos emulsoides, después de un largo período de desecación, se muestran capaces de fijar grandes cantidades de agua; la gelatina, por ejemplo, es capaz de absorber en muy corto espacio de tiempo una cantidad de agua equivalente a 1000 veces su propio peso. Al ser absorbida el agua, la gelatina se hincha, desarrolla una presión muy elevada y libera calor; este fenómeno se denomina *imbibición*, y la presión desarrollada durante el mismo se conoce con el nombre de *presión de imbibición*. Estos hechos son de un gran interés, en primer lugar, por haber determinado el uso de los iones de las *series de Hofmeister*, y además, porque con el mismo se explican diversos aspectos de la actividad celular.

Ha sido muy laborioso establecer cómo influyen la velocidad y la cuantía del agua absorbida por imbibición la presencia de ciertos iones, presentando éstos notables diferencias en su comportamiento, pues mientras determinados iones aumentan la imbibición, otros, a igual concentración, la disminuyen. Si agrupamos estos iones por el orden de la diferente intensidad de sus efectos obtendremos las siguientes series de iones, teniendo en cuenta que los mencionados antes que el agua inhiben el proceso de imbibición y los que se indican después lo aumentan:

Sódico-sulfato, tartrato, citrato, acetato (agua),
cloruro, clorato, nitrato, bromuro, yoduro, tiocianato.

Estas series fueron observadas primeramente por HOFMEISTER en 1891, conociéndose con el nombre de su descubridor, y también por el de *series liotropas*. Su importancia estriba en el hecho de que pueden ser aplicadas no sólo a la imbibición, sino también a casi todas las otras propiedades de los coloides. Si consideramos una propiedad física determinada podremos encontrar agrupados los iones en la misma forma; sea, por ejemplo, el orden en que los iones influyen la *compresibilidad del agua*, cuya propiedad es disminuída como sigue, ocupando el primer lugar el ion que la disminuye más intensamente:

Carbonato, sulfato, cloruro, nitrato, bromuro, yoduro.

La *tensión superficial* es aumentada en las soluciones acuosas por la acción de los iones siguientes, siendo más intenso el efecto producido por el primero de la serie:

Carbonato, sulfato, cloruro, nitrato, yoduro.

Si tomamos ejemplos de la química coloidal, la *precipitación de la albúmina* es producida por los iones monovalentes, en el siguiente orden, ocupando el primer lugar el que produce el efecto precipitante con más rapidez:

Acetato, cloruro, nitrato, bromuro, yoduro, tiocianato.

Como vemos, el orden es el mismo que en los casos anteriores. En algunas reaccines el orden puede ser invertido, aunque los términos de la serie se suceden también de modo correlativo; sea, por ejemplo, el efecto de los iones sobre la gelificación de la gelatina; el orden será aquí:

Tiocianato, yoduro, bromuro, nitrato, clorato, cloruro (agua)
acetato, nitrato, tartrato, sulfato.

El ion sulfato es el que más dificulta la imbibición y el que favorece más la gelificación; los iones que inhiben la gelificación favorecen, en cambio, la imbibición y viceversa. Para los cationes cabría considerar series semejantes; si consideramos el efecto que éstos puedan producir sobre la viscosidad del agua tendremos: Li, Na, K, Rb, Cs, siendo el primero de la serie el que ejerce un mayor incremento de la viscosidad. En lo que se refiere a la compresibilidad del agua siguen los cationes el mismo orden, exceptuando el Li, en el cual influye esta propiedad muy poco. El efecto de los cationes sobre la imbibición y la gelificación de la gelatina es débil; sin embargo, los efectos producidos siguen idéntica ordenación.

Estos ejemplos sobre la existencia de las series de HOFMEISTER en casos que no pertenecen en estricto sentido al dominio de la química coloidal han sido aducidos porque en estos últimos años se ha puesto en duda la realidad de las mismas. LOEB con alguno de sus colaboradores han estudiado detenidamente el efecto de estas sales sobre la imbibición y la presión osmótica de la gelatina, habiendo llegado a la conclusión de que en el caso de añadir sales sólo es preciso tener en cuenta el signo y la valencia del ion, produciendo los iones del mismo signo y valencia idénticos efectos. Esta conclusión ha sido acerbamente criticada, considerando que LOEB ha querido generalizar lo que sucede con la gelatina, la cual por su comportamiento constituye un caso especial. No podemos aquí hacernos eco de las críticas ni del detalle de las observaciones sobre esta cuestión; interinamente debemos aceptar la idea de que las tentativas realizadas aparte de las series de HOFMEISTER no han sido coronadas por el éxito.

Suponiendo que las series de HOFMEISTER tengan una existencia real, ¿cómo explicar el mecanismo mediante el cual iones en apariencia similares producen efectos tan diversos? Sobre esto existe gran incertidumbre, habiendo sido emitidas diversas hipótesis. Parece ser la más verosímil la que atribuye estas diferencias de acción de los distintos iones de las series de HOFMEISTER al distinto grado de *hidratación* de estos iones. Por hidratación de un ion nosotros entendemos el número de moléculas de agua asociadas con el mismo; el ion potasio, por ejemplo, tiene cuatro moléculas asociadas; el ion sodio está hidratado por ocho moléculas de agua, y el ion litio contiene dieciséis. Los iones $Rb^{\cdot}$ y $Cs^{\cdot}$ tienen menos de cuatro. Estas moléculas de agua son consideradas por algunos como unidas al ion, de un modo análogo a como se halla el agua de cristalización con respecto a los cristales. Parece más adecuada la explicación que considera la molécula de agua como un compuesto *bipolar*, uno de cuyos extremos estaría cons-

tituído por el ion H^+ electropositivo y el otro extremo por el ion OH' electronegativo. Cuando se encuentra el agua en las proximidades de un ion con carga positiva, la propiedad bipolar del agua se pone de manifiesto orientando sus moléculas en tal forma que el extremo electronegativo queda adherido a la superficie del ion, mientras que el polo positivo se orienta hacia el medio circundante. De esta forma quedarían fijadas en la superficie del ion un cierto número de moléculas de agua, las cuales formarán una especie de cubierta a su alrededor.

Si clasificamos los cationes monovalentes de acuerdo con su distinto grado de hidratación, tendremos el siguiente orden: Li, Na, K, Rb, Cs, el último de los cuales es el menos hidratado. Esta disposición es la misma que la serie de HOFMEISTER para los cationes, pudiendo constatar el mismo hecho si consideramos los aniones en cuanto a su hidratación y actividad en los procesos coloidales respectivamente.

El proceso por el cual la hidratación ejerce tal influencia sobre la gelificación, imbibición, compresibilidad, etc., es absolutamente desconocido. Una explicación pudiera consistir en que los iones de elevada capacidad de hidratación como el Li^+ sustrajesen moléculas de agua del coloide y esto aumentase la rapidez de la gelificación y retardase la imbibición; no obstante, el principio sobre el que reposa el hecho no ha sido todavía formulado.

Las proteínas. Las substancias coloides que encuentra el fisiólogo con mayor frecuencia son las proteínas, las cuales entran en abundancia en la composición de todas las células vivientes. Las proteínas son substancias de elevado peso molecular, constituídas por la unión de un gran número de *aminoácidos*. Los aminoácidos contienen un grupo ácido COOH, y un grupo básico NH_2, pudiéndose unir entre sí gracias a estos grupos funcionales. La glicocola, que es el aminoácido más sencillo, puede combinarse con otra molécula de glicocola

$$NH_2 - CH_2 - CO\,OH + H\,HN - CH_2 - COOH$$

para formar con eliminación de una molécula de agua el *dipéptido*

$$NH_2 - CH_2 - CONH - CH_2 - COOH$$

Este nuevo compuesto tiene, como los aminoácidos de los cuales se deriva, un grupo COOH y un grupo NH_2, y puede formar, uniéndose a otra molécula de glicocola, un *tripéptido* con eliminación de una segunda molécula de agua. Por el mismo procedimiento podría formarse una cadena de cuatro, cinco, seis, etc., aminoácidos, ya que el compuesto resultante poseerá siempre en los extremos de la cadena los grupos funcionales antes indicados, capaces de realizar nuevos enlaces para la formación de largas cadenas. En la práctica no es posible soldar siempre el mismo aminoácido al llegar a una cierta

longitud de la cadena, pero la adición podrá ser realizada cuando utilicemos otro aminoácido cualquiera (1).

Cuando se ha conseguido la unión de un cierto número de aminoácidos (unos 10 ó 20) el cuerpo resultante se denomina *polipéptido*. El polipéptido así formado contiene los grupos COOH y NH_2, pudiéndose continuar uniendo por esta razón con más aminoácidos hasta formar moléculas de mayor tamaño todavía, las cuales se denominan *peptonas*. Continuando este proceso de síntesis podríamos llegar a la formación de una *albumosa* y más adelante a constituir moléculas de *proteína*. Las proteínas pueden hallarse constituídas, además, por otras agrupaciones químicas distintas a los aminoácidos; pero cualesquiera que sean aquéllas, sus características esenciales, alto peso molecular y presencia de los grupos COOH y NH_2 en los extremos de la molécula son debidas a los aminoácidos que la constituyen de un modo casi exclusivo.

El número de aminoácidos que entran en la constitución de proteínas, como la seroalbúmina o la seroglobulina, debe ser muy grande a juzgar por sus pesos moleculares. A continuación damos los pesos moleculares de algunas proteínas:

Albúmina de huevo	17 000
Gelatina	50 000
Clupeína	11 000
Seroalbúmina	46 000
Seroglobulina	67 000
Hemoglobina	64 000

A consecuencia de su alto peso molecular las proteínas forman soluciones coloidales. En muchos casos las moléculas que constituyen las partículas de la fase dispersa pueden ser vistas al ultramicroscopio como submicrones de pequeño tamaño. Estas soluciones coloidales son emulsoides típicos, hallándose la fase dispersa en combinación con el agua y presentando las características de estos sistemas: poca sensibilidad ante la acción precipitante de los electrólitos, gran tensioactividad y viscosidad muy elevada. La tensión superficial de las proteínas hace que estos cuerpos puedan ser absorbidos rápidamente, y por su gran superficie específica son excelentes adsorbentes. Sus características de tensión superficial y viscosidad las

(1) El enlace peptídico no constituye la única modalidad de unión entre los aminoácidos. ABDERHALDEN y sus colaboradores han podido demostrar que los aminoácidos pueden también polimerizarse, formando compuestos del tipo de las diquetopiperacinas, de las cuales el anhídrido de la glicocola sería la más sencilla $\left(NH<\begin{matrix}CO & -CH_2\\ CH_2- & CO\end{matrix}>NH\right)$. Otros tipos de enlace pueden darse en la constitución de los complejos moleculares integrados por aminoácidos; enlaces de tipo éster, entre el oxhidrilo de un oxiaminoácido y el carboxilo de otro aminoácido; también los átomos de azufre de ciertos aminoácidos como la cistina pueden actuar como elementos de enlace-S-S-. Estos hechos explicarían ciertas particularidades que presentan las enzimas digestivas cuando actúan sobre la molécula proteica. — *N. del T.*

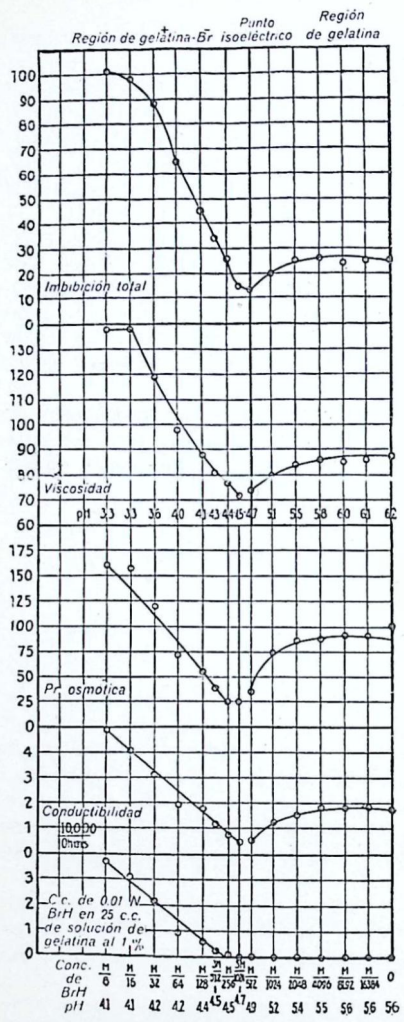


FIG. 15. Diagrama que muestra los cambios que se producen en las propiedades coloidales de la gelatina, al llegar a su punto isoeléctrico. Puede producirse el punto isoeléctrico añadiendo a la solución de gelatina 5M/1024 BrH. En estas circunstancias la imbibición total, la viscosidad, la presión osmótica y la conductibilidad del coloide alcanzan sus valores más bajos. (Según LOEB, *Teoría del estado coloidal*, con autorización de McGraw-Hill Book Co.)

habilita para formar películas rígidas en las superficies de separación de las fases.

Aun cuando las moléculas de proteína contengan grupos NH_2 y COOH, son muchas veces eléctricamente neutras, por compensación de la carga de un grupo con la del otro; presentan, además, la propiedad de comportarse como ácidos y como bases indistintamente; esta propiedad justifica la denominación de *anfolitos* que reciben también estas substancias. Por ejemplo, en solución alcalina la proteína forma una sal con el álcali, de este modo:

$$NH_2—COOH \quad NaOH$$

$$= NH_2—COONa + H_2O$$

Al disociarse esta sal dará lugar a un ion gigante de proteína con carga negativa, y a un pequeño ion Na' positivo. Las proteínas tendrán en solución alcalina carga negativa. En solución ácida las proteínas actuarán como bases, formando con su grupo NH_2 y el ácido una sal que al disociarse dará lugar a un ion proteico positivo. Si colocamos a las proteínas en un medio cuya reacción actual impida la disociación de las mismas en iones, diremos que se hallan en su *punto isoeléctrico.*

Las proteínas en su punto isoeléctrico tienen todas sus propiedades amortiguadas. El poder de imbibición disminuye, así como la conductibilidad eléctrica y la viscosidad, en relación con los valores que presentaban cuando las partículas de la fase dispersa llevaban carga positiva o negativa. La tensión superficial es más elevada en el punto isoeléctrico.

Las soluciones de proteína no forman geles, en el más propio sentido de la palabra. Algunas de ellas pueden, como el fibrinógeno, dar lugar a un precipitado de finas mallas, pero este fenómeno se aproxima más a una verdadera precipitación que a la gelificación propiamente dicha, siendo muchas veces un fenómeno irreversible. La transformación del fibrinógeno en una proteína insoluble, la fibrina, tiene lugar durante el proceso de coagulación de la sangre. A pesar de no ser el coágulo un gel, muestra un fino retículo, cuyas fibras son fácilmente visibles, presentando también el fenómeno de la sinéresis, con separación de suero al retraerse las mallas del retículo de fibrina.

Muchas soluciones de proteínas pueden ser coaguladas por el calor. La naturaleza de esta transformación no se ha determinado todavía con claridad, sabiéndose, sin embargo, que va asociada con modificaciones químicas. La coagulación puede no tener lugar completamente, a no ser que se añada a la solución una pequeña cantidad de ácido, o que ésta contenga electrólitos. Una albúmina que no contenga ninguna sal es incoagulable por la acción aislada del calor. Además, la coagulación puede también evitarse, con la adición de grandes cantidades de ácidos o álcalis, reaccionando éstos probablemente con las proteínas y dando lugar a compuestos químicos que no coagulan por el calor (metaproteínas ácidas y alcalinas). Dejando aparte las condiciones necesarias para que la coagulación se produzca, ésta tiene lugar a temperaturas siempre iguales para cada especie de proteínas. El fibrinógeno, por ejemplo, coagula a 56°, la globulina a 63° y la albúmina a 78°. La constancia de esta temperatura de coagulación ha sido utilizada para identificar algunas proteínas. La coagulación, exceptuando el primer estadio, es irreversible, no pudiéndose utilizar esta propiedad como método para aislar las distintas proteínas en estado de pureza. Cuando es necesario separar unas proteínas de otras, se utiliza corrientemente el método de la precipitación fraccionada.

Capítulo III

Difusión y permeabilidad

Difusión. Si colocamos un cristal de una substancia coloreada, por ejemplo, de permanganato potásico en el fondo de un vaso de paredes altas llenas de agua, veremos que al disolverse el permanganato va comunicando su color a través del líquido por un proceso de *difusión*, mediante el cual, después de un cierto espacio de tiempo, las moléculas coloreadas de la substancia disuelta aparecen distribuídas uniformemente en el disolvente. Las moléculas de permanganato potásico se habrán ido desplazando de los puntos de mayor concentración a los de concentración más baja. Este movimiento es debido a la energía intrínseca de las mismas moléculas, y se produce del mismo modo que hemos visto en el movimiento browniano contra la fuerza de la gravedad. De igual manera que la energía cinética que desarrollan las moléculas de un gas permite su distribución uniforme y da lugar a una *presión* determinada en el recipiente que las contiene, podemos decir que el movimiento de la substancia difusible obedece a la misma causa y desarrolla también una presión. Esta presión que desarrollan las moléculas en el seno del disolvente, y cuya analogía con la presión de los gases hemos indicado, se llama *presión osmótica*.

Las substancias disueltas no difunden todas con igual rapidez, ya que la velocidad de traslación de las moléculas será menor a medida que la masa de éstas aumente. Una molécula de gas, por ejemplo, se desplazará con mayor rapidez y extensión que una molécula de sal, y ésta, a su vez, se moverá más rápidamente que lo pueda hacer una molécula coloidal, y la molécula coloidal presentará una actividad cinética superior a las moléculas que componen un sólido. La velocidad de difusión dependerá en cierto modo del tamaño de las moléculas de las substancias difusibles, y así vemos que difunden más rápidamente las substancias de bajo peso molecular que las de peso molecular elevado, por ejemplo, coloides. Así se desprende de las clásicas investigaciones de Graham (1850). Las substancias cristaloides presentan en general la misma velocidad de difusión; sin embargo, todas las substancias coloides, como la gelatina, el almidón, las gomas, etc., difunden muy poco. Esta diferencia de comportamiento llevó a

Graham a clasificar las substancias en *cristaloides*, las cuales difunden rápidamente, y *coloides*, que difunden con dificultad.

El agua no es, por supuesto, la única substancia a través de la cual pueda efectuarse el fenómeno de la difusión; éste puede tener lugar, por ejemplo, a través del gel de gelatina, en el cual el agua es un componente. Cuando estudiamos la difusión a través de un gel semejante, las diferencias entre coloides y cristaloides son más notables. Esto ha sugerido un procedimiento que consiste en extender una fina capa del gel formando una membrana a través de la cual podemos observar la difusión, en lugar de valernos de una gran masa del gel. Este método es con mucho el preferible por la facilidad con que pueden prepararse membranas similares con el papel de pergamino y peritoneo. Como cabía esperar, los cristaloides difunden a través de estas membranas con facilidad, mientras que los coloides o no difunden o lo hacen muy difícil y escasamente. Una membrana de pergamino puede ser considerada por esta razón como una modalidad simplificada de *membrana semipermeable*, porque permite pasar a su través algunas substancias y evita más o menos completamente el paso de otras.

La difusibilidad de una substancia se expresa por su llamada *constante de difusión* o *coeficiente de difusión*. Este coeficiente se define como la cantidad de substancia difusible que en un segundo atraviesa una columna líquida de 1 cm. de longitud por 1 cm.^{2} de sección transversal, existiendo en los extremos opuestos de la misma una unidad de diferencia en la concentración. La cantidad de substancia que difunde a través de la unidad de superficie en un segundo es por esta razón proporcional al desnivel de concentración. Ésta es la llamada *ley de Fick*, aplicable a los fenómenos de difusión.

El coeficiente de difusión tiene interés desde otro punto de vista, porque dependiendo del peso molecular de la substancia difusible, puede ser utilizado en la determinación del peso molecular de los coloides, cuya velocidad de difusión es muy pequeña. Por este método han sido obtenidos los mejores valores del peso molecular de muchos coloides.

Membranas semipermeables. Expresándonos con exactitud, membrana semipermeable será aquella que permita pasar a su través el agua, pero que impida el paso de las substancias disueltas. Una membrana de este tipo no ha podido ser nunca preparada; no obstante, existen algunas membranas que se comportan como semipermeables frente a determinadas substancias. La membrana de pergamino, por ejemplo, es semipermeable para la solución de proteína en agua, ya que deja pasar el agua a su través y retiene la substancia disuelta, siendo, en cambio, permeable para la solución de glucosa en agua, ya que deja pasar ambas substancias. La membrana de ferrocianuro de cobre es semipermeable para la solución de glucosa.

Las membranas semipermeables más corrientemente usadas son las que corresponden a los tres tipos siguientes: la membrana "natu-

ral", la membrana de precipitación y la membrana compuesta de colodión con o sin adición de otras substancias. Pertenecen al grupo de las *membranas naturales* el papel pergamino, peritoneo, vejigas de distintas procedencias y piel de ciertos animales. La *membrana de precipitación* más utilizada es la que se produce al reaccionar el sulfato de cobre y el ferrocianuro potásico. Para obtener una membrana de esa naturaleza se llena un frasco poroso con una solución de sulfato de cobre, y se sumerge luego en una solución diluída de ferrocianuro potásico; las dos sales difunden a través de las paredes del frasco poroso, y al ponerse en contacto forman un precipitado de ferrocianuro de cobre que obstruye los poros. El ferrocianuro de cobre tiene apariencia gelatinosa y adopta el estado coloidal, ofreciendo las membranas formadas por esta sal un interés extraordinario por presentar algunas de las propiedades típicas de las membranas de las células, especialmente en lo que hace referencia al paso de sales a su través.

La membrana de colodión puede ser preparada llenando un tubo limpio y seco con una solución etérea de colodión, la cual se desparrama por sus paredes, hasta formar en ellas una fina película que se deja fijar durante un espacio de tiempo suficiente (de 2 a 10 minutos); llenando entonces el tubo con agua, la fina membrana de colodión es cuidadosamente separada del vidrio. Si la manipulación se ha efectuado correctamente se obtiene un saco de colodión intacto de las mismas dimensiones del tubo que ha servido de molde, pudiéndose utilizar en seguida para la experiencia de difusión que haya de efectuarse. La importancia de la membrana de colodión es debida a que pueden obtenerse, a partir de ella, membranas de diferentes permeabilidades, por el simple procedimiento de endurecer el colodión sumergiéndolo en alcohol de distintas concentraciones antes de que el proceso de fijación haya tenido lugar. Con esta técnica pueden ser obtenidas una gran variedad de membranas. Añadiendo al colodión substancias lipoideas como la lecitina y el colesterol, pueden obtenerse membranas cuya semejanza con las membranas celulares es mucho mayor que aquellas otras en las que no entran lipoides en su constitución.

Presión osmótica. Si ponemos en conexión un saco de colodión o un vaso poroso, cuyas paredes se hallen recubiertas con ferrocianuro de cobre, con un manómetro de mercurio y llenamos el recipiente con una solución de glucosa (para la cual la membrana es semipermeable), sumergiéndolo después en agua, notaremos un incremento del nivel del mercurio en el manómetro indicando el desarrollo de una presión en el interior del saco. Esta presión se produce de la manera siguiente: Inicialmente, la concentración de moléculas de glucosa en el interior del saco *A* (véase fig. 16) es mayor que en el agua del exterior, mientras que la concentración de moléculas de agua es mayor en *B* que en *A*. Tanto las moléculas de agua, como las moléculas de glucosa, tienden

a difundir a través de la membrana, desde el lugar que su concentración es mayor, a los puntos de más baja concentración, pero siendo la membrana semipermeable impide el paso de la glucosa de *A* a *B*, mas no dificulta la penetración de moléculas de agua en la dirección de *B* a *A*. La penetración de agua en el interior del saco sin que salga glucosa al exterior se traduce por un incremento de la presión que determina el ascenso del nivel de mercurio en el manómetro. La presión sigue ascendiendo hasta que es equivalente a la presión ejercida por la difusión de las moléculas de agua; en estas circunstancias, el nivel del mercurio permanece estacionario, indicando la presión osmótica de la solución de glucosa. El aparato esquematizado en la figura 16 representa una forma muy simplificada de *osmómetro*, habiéndose modificado en el transcurso del tiempo, a medida que han sido necesarias determinaciones más exactas.

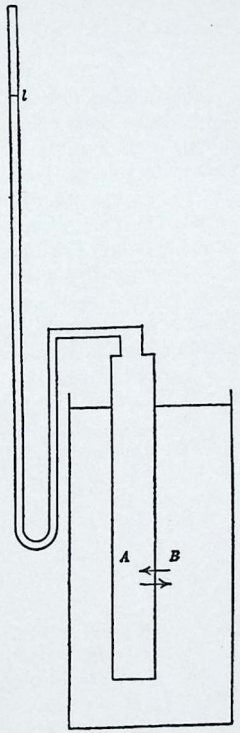


FIG. 16

Todas las investigaciones sobre esta cuestión muestran que la presión osmótica de una solución depende de tres factores principales: de la concentración de la substancia, de la naturaleza de la misma y de la temperatura a que se realice la determinación.

Cuando la membrana a través de la cual se verifica la difusión es completamente semipermeable para las moléculas de la substancia disuelta, la presión osmótica es proporcional a la concentración de la misma, siendo esta presión, para todas las soluciones que contengan disuelta una molécula gramo por litro, de 22,4 atmósferas. Esta presión es la misma que ejercerían las moléculas de la substancia disuelta si se encontraran en estado gaseoso y ocupando el volumen de 1 litro por molécula gramo. Cada molécula gramo de un gas ocupa, a temperatura y presión normal, un volumen de 22,4 litros.

Para todas las substancias investigadas, excepto para las que referiremos más adelante, esta ley es aproximadamente verdadera, siempre que la membrana sea realmente semipermeable con respecto a la substancia disuelta.

En el cuadro que consignamos a continuación damos algunos valores:

Substancia	Gramos por litro de solución	Presión en a observada en atmósferas	Presión calculada en atmósferas
Sacarosa	342,0	23,3	22,4
	34,2	2,48	2,24
Glucosa	198,0	23,8	22,4
	99,0	11,9	11,2
	19,8	2,39	2,24

Siguiendo la misma regla, cabrá esperar que una molécula gramo de una substancia coloidal, como la gelatina, ejerza una presión equivalente a 22,4 atmósferas. Ahora bien; es absolutamente imposible obtener una concentración semejante en una substancia como la gelatina, pues sería preciso disolver en un litro unos 36 000 gramos de la misma. Las más altas concentraciones de gelatina que pueden obtenerse en estado flúido a la temperatura ordinaria son al 3 %, o sea unos 30 gramos por litro, lo cual equivale aproximadamente a una solución 0,001 molar que desarrollara una presión osmótica de una fracción de atmósfera igual a 0,0224. Observando la desviación de la columna manométrica, veremos que la solución anteriormente indicada sólo producirá un aumento de 15 milímetros de mercurio. Por esta razón se afirma con frecuencia que la presión osmótica de los coloides es baja, aunque en realidad es la misma que pueda presentar una solución de glucosa de la misma concentración, apareciendo como más débil porque las soluciones coloidales cuya presión osmótica puede ser medida son forzosamente muy diluídas.

Hemos de señalar una excepción de la regla general que relaciona la presión osmótica con la concentración, y consiste en el comportamiento de los electrólitos. Éstos, al disolverse, se disocian en mayor o menor extensión en iones, los cuales se comportan, por lo que se refiere a efectos osmóticos, como si fueran verdaderas moléculas; el ClNa, por ejemplo, ejerce en solución molar una presión osmótica doble de la observada para una solución molar no electrolítica como la glucosa. Así tendremos que la presión desarrollada por una solución molar de ClNa, sal que se disocia casi completamente en $Na^{\cdot}$ y Cl', será aproximadamente de 44,8 atmósferas a la temperatura ordinaria.

El incremento de la temperatura aumenta la presión osmótica, siendo la presión proporcional a la temperatura absoluta como en el caso de los gases.

Un detalle interesante que debemos consignar a propósito de estas observaciones es la magnitud de las presiones registradas. Membranas como las de ferrocianuro de cobre parecen capaces de resistir presiones del orden de 100 atmósferas sin perder su homogeneidad, y vemos que la fina membrana que rodea a ciertas células resiste presiones de 4 atmósferas,

o sea de 60 libras por pulgada cuadrada (1). Es sorprendente constatar el hecho de que una fina membrana que tiene un espesor de 0,5 μ pueda quedar intacta sujeta a presiones tales como la que acabamos de indicar, comparables por su magnitud a las que actúan sobre los neumáticos de un automóvil en marcha.

Soluciones isotónicas. Cuando dos soluciones presentan tal concentración que hallándose separadas por una membrana semipermeable no pasa agua de una a otra, se dice que tienen la misma *tonicidad,* o sea que son *soluciones isotónicas.* Pero si tiene lugar el paso de una cierta cantidad de agua de un lado a otro de la membrana, diremos que la solución hacia la que ha pasado el agua es

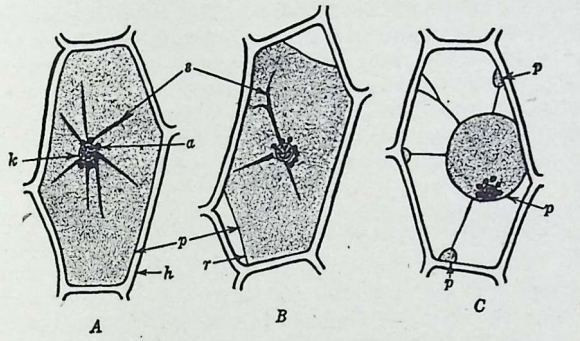


FIG. 17. Plasmólisis en una célula vegetal. En *A*, una célula vegetal en solución isotónica; la fina membrana celular *p* se encuentra íntimamente yuxtapuesta con la gruesa cubierta celular *h*. En *B* se representa un moderado grado de plasmólisis; la membrana *p* está un poco separada de la pared celular. En *C*, la plasmólisis alcanza un grado extremo; el citoplasma, todavía encerrado en la membrana *p*, se ha retraído formando una masa esférica

[Según PHILIP, *Physical Chemistry* (Edward Arnold Co.)]

hipertónica y la solución que la haya cedido *hipotónica.* Dos soluciones isotónicas tendrán la misma presión osmótica, y las que sean hipertónicas con respecto a otras tendrán una presión osmótica más elevada que estas últimas.

Lo que tiene un interés particular no es conocer si una solución es isotónica con respecto a otra, sino el establecimiento de esta relación de isotonía entre una substancia determinada y el contenido de las células. Para determinar estas relaciones de concentración se utilizan principalmente dos métodos: el *método de la plasmólisis,* de DE VRIES, y el *método del hematocrito,* de HEDIN. En ambos métodos el principio fundamental es el mismo; consiste en determinar la concentración de la substancia problema (por ejemplo, sacarosa, glucosa,

(1) La libra inglesa tiene aproximadamente 454 gr.; la pulgada, 2,5 cm. — *N. del T.*

cloruro sódico, etc.) que en contacto con determinadas células no origina el paso de agua a través de la membrana celular. Se dice entonces que tal concentración es isotónica con el contenido de las células.

En el método de DE VRIES se emplean células vegetales, que por su estructura están provistas de una rígida cubierta celular que rodea su protoplasma flúido. Esta cubierta o tabique es permeable al agua y a las substancias disueltas en ella; en cambio, la delicada membrana celular que se encuentra en íntimo contacto con el citoplasma es semipermeable. Normalmente, esta fina membrana se halla en yuxtaposición con el tabique rígido que limita la célula; en el caso de que el citoplasma pierda agua, la membrana es atraída hacia el centro de la célula por retracción de aquél, apareciendo un espacio libre entre la cubierta más externa y la membrana citoplasmática: este proceso de retracción se denomina *plasmólisis* y puede observarse fácilmente mediante el microscopio. Por el contrario, al penetrar agua en el citoplasma puesto en contacto con una solución hipotónica, éste adquiere una turgencia considerable, empujando la fina membrana celular cada vez con mayor fuerza contra la cubierta rígida; este fenómeno puede no ser percibido al microscopio por la poca flexibilidad de la capa rígida.

Para estas experiencias sirven admirablemente las células de las hojitas de *Elodea,* las de *Tradescantia discolor,* o las células de la cebolla. Supongamos que se desea establecer la concentración de cloruro sódico que sea isotónica con las células de Elodea. Se preparan una serie de soluciones cuyas concentraciones varíen de 0,5 molar a 0,05 molar, sumergiendo en cada una de ellas fragmentos de hojas de Elodea. Examinando al cabo de cinco minutos las células de cada uno de aquellos fragmentos, veremos cómo en algunas de ellas se pone de manifiesto el fenómeno de la plasmólisis. Cuando éste se produce, se puede observar al microscopio una retracción considerable del citoplasma y al mismo tiempo ausencia de ciclosis, entendiendo por tal los movimientos del protoplasma; los cloroplastos se agrupan en distintos puntos de la célula. En el caso de no tener lugar la plasmólisis, el protoplasma llena completamente la célula haciéndose patente la ciclosis. Aquella de las soluciones ensayadas que a una mayor concentración de ClNa no produzca plasmólisis puede considerarse isotónica con respecto al contenido celular: en el caso de la Elodea, esto tiene lugar a una concentración de cloruro sódico 0,08 molar.

Resulta muy interesante la comparación de las concentraciones a las que distintas sales son isotónicas con el contenido celular, pudiendo constatar a continuación las diferencias entre unas y otras obtenidas mediante la técnica de DE VRIES, y utilizando las células de la *Tradescantia discolor:*

Substancia	Concentración molar
Sacarosa	0,22
Glicerina	0,21
Glucosa	0,21
Ácido tartárico	0,20
Ácido cítrico	0,20
Cloruro sódico	0,13
Nitrato sódico	0,13
Nitrato potásico	0,13
Acetato potásico	0,13
Cloruro cálcico	0,11

Las cifras precedentes, aunque de una exactitud poco rigurosa, permiten clasificar las substancias examinadas en dos grupos perfectamente definidos. El primero comprende las substancias no electrolíticas, y las que se disocian muy débilmente, las cuales son isotónicas respecto al contenido celular en solución 0,21 molar, mientras que en el segundo, que comprende los electrólitos con alto poder de disociación, la isotonía se alcanza con soluciones de concentración 0,13

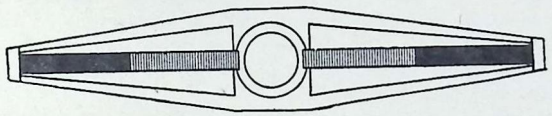


FIG. 18. Esquema del hematocrito. Los hematíes ocupan las porciones negras de los dos tubos del hematocrito, mientras que las porciones sombreadas se hallan ocupadas por el medio de suspensión transparente

molar aproximadamente. Estos resultados son poco más o menos los que cabía esperar, teniendo en cuenta que los electrólitos completamente disociados tienen, a igualdad de concentración molecular, doble presión osmótica que los no electrólitos. El hecho de que esta regla no se confirme de un modo absoluto en este experimento nos pone de manifiesto la intervención de otros factores y, entre ellos, el efecto que las mismas sales puedan ejercer sobre la membrana y sobre la tonicidad de la célula.

El método del hematocrito de HEDIN tiene un fundamento teórico muy semejante al que hemos visto para el método de la plasmólisis. Los glóbulos rojos de la sangre de mamífero, cuyas paredes son flexibles, son el reactivo utilizado en sustitución de las células vegetales de paredes rígidas. Cuando se sumergen los hematíes en una solución hipotónica, el agua penetra en el interior de los mismos hinchándolos; cuando son sumergidos en una solución hipertónica, sale agua de los hematíes y éstos se retraen, no ocurriendo modificación alguna cuando se colocan en una solución isotónica. El volumen de las células se obtiene mediante el hematocrito, que no es más que una pequeña centrifugadora provista de unos tubos capilares, en los

cuales se colocan suspensiones de hematíes. Centrifugando rápidamente estas células, se depositan en el fondo del tubo formando una columna cuya altura nos dará el volumen de las mismas.

Se preparan suspensiones que contengan la misma cantidad de glóbulos en series de soluciones de distinta concentración de la substancia cuya proporción de isotonía haya de establecerse. En el caso del cloruro sódico, por ejemplo, podemos establecer las diluciones a partir de una concentración del 1 % y en forma que ésta vaya disminuyendo de unas a otras muestras en 0,01 % hasta 0,6 %. Se prepara además una muestra de glóbulos suspendidos en suero que sea isotónico frente a éstos; se centrifuga esta muestra en primer lugar leyendo el resultado por la altura que alcancen los hematíes en el tubo graduado, obteniendo de este modo la cifra que nos ha de servir como término de comparación. Se procede después de igual manera con las distintas diluciones, determinando la que sea isotónica, cuando la altura que alcance en ella la columna de hematíes sea la misma que la del suero. Para los glóbulos rojos del hombre es de 0,85 % de ClNa. En las soluciones hipertónicas (más concentradas del 0,85 %) la altura de la columna de glóbulos es menor que cuando están sumergidos en el suero, siendo su contenido en agua también inferior, mientras que de hallarse sumergidos en soluciones hipotónicas (menos de 0,85 %) la altura de la columna de glóbulos es mayor por haber penetrado en el interior de las células hemáticas una cierta cantidad de agua.

Conocida la concentración isotónica de ClNa, es tarea fácil calcular la concentración en que cualquier otra substancia electrolítica que tenga la misma capacidad de disociarse siendo isotónica, siempre que la membrana celular sea semipermeable con respecto a dicha substancia. Si la solución de 0,85 % de ClNa es equivalente a una solución 0,145 molar, la solución 0,145 molar de ClK será también isotónica. Si la substancia cuya isotonía haya de ser determinada no es electrolítica, la concentración requerida será doble; por ejemplo, la solución isotónica de glucosa será 0,29 molar, o sea una concentración de 6,8 % con respecto a los glóbulos rojos de la sangre de mamífero.

Teorías de la semipermeabilidad. 1. Teoría de Traube. El conocimiento de las membranas de precipitación se debe principalmente a Traube, que fué el primero en elaborar membranas de esta naturaleza, lanzando al mismo tiempo la hipótesis de que la semipermeabilidad de las mismas era debida a que los poros de las membranas semipermeables eran suficientemente grandes para permitir el paso del agua, pero, sin embargo, no lo suficiente para dejar pasar a su través las substancias disueltas, como, por ejemplo, la glucosa. Esta hipótesis para explicar la permeabilidad de la membrana ha recibido y recibe todavía hechos en su apoyo, conociéndose con el nombre de *teoría del tamiz.*

Examinada desde un punto de vista puramente cualitativo, existen numerosos hechos que parecen estar en favor de esta teoría. En

primer lugar, observando con fuertes aumentos la constitución microscópica de diversas membranas de colodión, ferrocianuro de cobre, pergamino, etc., puede comprobarse su estructura porosa. Se han realizado también mediciones del diámetro de estos poros, habiéndose observado que, a "grosso modo", el mayor tamaño de éstos coincide con una mayor permeabilidad de la membrana. En resumen, se atribuye a las membranas una estructura esponjosa constituída por una complicada red de canalículos que van de un lado a otro; este modo de ver halla confirmación en la forma como el agua fluye a través de la membrana que tiene lugar de acuerdo con la ley de Poiseuille y que ha sido aplicada corrientemente a la circulación capilar.

También es cierto que el paso de una substancia a través de una membrana o su retención depende muy estrechamente del tamaño de sus moléculas; los coloides, por ejemplo, en virtud del gran tamaño de sus moléculas no pasan a través de una membrana, la cual permite, en cambio, el paso de moléculas de glucosa, y estas moléculas de glucosa pueden a su vez ser retenidas por ciertas membranas que son rápidamente atravesadas por moléculas más pequeñas, por ejemplo, de cloruro sódico. Algunos hechos no encuentran fácil explicación con esta teoría; así vemos que el cloruro potásico (cuyo peso molecular es 74,5) es más permeable que el cloruro sódico (58,5 de peso molecular), pero los que sostienen la validez de la misma atribuyen este comportamiento a la menor hidratación del ion potásico con respecto al ion sodio, cuya envoltura de hidratación es más grande, lo que facilitaría la mayor difusibilidad del primero.

Podrían aducirse tantas objeciones como hechos en su favor cuenta esta hipótesis. Si preparamos una serie de membranas de diferente permeabilidad para hacer pasar a su través substancias distintas, siguiendo la teoría del tamiz tendría que existir una estrecha correspondencia entre el tamaño de los poros y la gradación del tamaño molecular de las substancias ensayadas; pero no sucede así, ya que vemos substancias que pasan a través de membranas de poros pequeños, siendo en cambio retenidas por otras membranas cuyos poros son de mayor tamaño. Si tomamos tres membranas constituídas respectivamente por gelatina-tanino, ferrocianuro de zinc y ferrocianuro de cobre y establecemos su respectiva permeabilidad frente a distintos colorantes, observaremos que para algunos de éstos la membrana de ferrocianuro de cobre es la más impenetrable (la de poros más pequeños según la teoría de Traube), mientras que para otros colorantes la misma membrana puede ser la más permeable de las tres indicadas. Estas observaciones no pueden ser explicadas mediante la teoría del tamiz, a menos que ésta se modifique en alguna forma que pueda armonizarse con estos hechos.

Otra seria objeción contra la teoría que estamos examinando se deriva de un experimento de Raoult, el cual, al separar el alcohol del éter, valiéndose de una membrana de vejiga de cerdo, vió producirse el paso del alcohol hacia el éter. Si se separan los dos líquidos por

una membrana de caucho, el éter fluye a través de la membrana hacia el alcohol.

Este comportamiento tampoco puede ser explicado por la teoría del tamiz, ya que si en el caso de la vejiga puede aceptarse que los poros de esta membrana sean lo suficientemente grandes para permitir el paso de las moléculas de alcohol, no dejándose atravesar por las de éter, no es posible aplicar el mismo argumento del tamaño de los poros en el caso de la membrana de caucho, ya que en estas circunstancias las moléculas que pasan a través de la membrana son las grandes moléculas de éter, mientras que las más pequeñas de alcohol quedan retenidas. Por esta razón el experimento que acabamos de referir constituye un poderoso argumento contra la teoría del tamiz y en cambio puede ser el punto de partida para otra concepción de la permeabilidad de la membrana, que resultaría de considerar esta cualidad frente a una substancia determinada en función de la solubilidad de ésta en la membrana propiamente dicha.

Teorías de la permeabilidad. 2. La teoría de la solución en la membrana. La hipótesis de que el paso de una substancia a través de una membrana depende de sus mutuas relaciones de solubilidad, reposa sobre un gran número de observaciones acerca de la permeabilidad de las membranas de las células vivientes. Las membranas celulares casi siempre contienen lipoides en su composición, pudiendo establecerse que la mayor parte de ellas son permeables para las substancias solubles en los lipoides. De ser esto cierto, la capacidad de una substancia para pasar a través de una membrana dependería de la solubilidad de aquélla en la membran misma.

Sobre este particular cabe multiplicar los ejemplos: así, células tan diversas como la amiba, los huevos de erizo de mar y las células vegetales de Elodea son todas ellas impermeables para el NaOH, siendo, en cambio, rápidamente permeables para el NO_4OH, a causa de ser el último de los dos álcalis citados soluble en los lipoides, pero no el primero. El distinto comportamiento de estas substancias puede ser imitado mediante un sencillo experimento de laboratorio. Pueden elaborarse células artificiales agitando una solución de lecitina en benceno con una cantidad de solución acuosa de albúmina; se producen condensaciones de proteína alrededor de gotitas de la solución bencénica de lecitina, las cuales, además de teñirse de rojo neutro, presentan una gran semejanza con las células verdaderas; los "gránulos" de lecitina en benceno, teñidos de color rojo por el colorante, se hallan recubiertos por una fina membrana compuesta de proteína, lecitina y benceno. Si añadimos ahora NaOH, no observamos ninguna modificación en el color de los "gránulos" porque el álcali no puede atravesar la membrana; sin embargo, la adición de NH_4OH 0,001 molar modifica inmediatamente el color de los gránulos, que toman un color amarillo por ser este álcali soluble en la fracción lipoidea de esta membrana artificial. Si la membrana hubiera sido

sólo de proteína, no se hubiera producido este cambio de reacción en el interior del gránulo, ya que el NaOH y el NH_4OH difunden a través de la proteína lentamente, pero ambos con la misma velocidad.

Los ácidos grasos, a pesar de su gran tamaño molecular, pasan a través de las membranas celulares más rápidamente que los ácidos minerales de más pequeña molécula. Esto se explica según esta teoría por el hecho de ser los ácidos grasos solubles en los lipoides de la membrana, mientras que los ácidos minerales no lo son. El mismo hecho puede ser comprobado con los colorantes ácidos y alcalinos: los primeros son insolubles en los lipoides, rara vez penetran en la célula, pero los alcalinos, a causa de su gran solubilidad en los lipoides, penetran rápidamente en el interior de las células. Lo que acabamos de decir justifica la regla según la cual los colorantes solubles en los lipoides son rápidamente absorbidos y eliminados; sin que pueda darse a esta regla un valor absoluto, ya que tampoco podemos aceptar el corolario inverso de que los colorantes insolubles en los lipoides dejen de ser absorbidos y eliminados.

Tienen singular importancia, en relación con esta hipótesis, los trabajos de MEYER y OVERTON, que han precisado la estrecha dependencia existente entre la acción narcótica de distintas substancias y su solubilidad en los lipoides, siendo aquel efecto tanto más intenso cuanto más grande sea la solubilidad. En sus experimentos determinan la relación entre el poder narcótico y la solubilidad de la substancia en aceite, suponiendo que ésta nos sirva de índice de la solubilidad en los lipoides. En el cuadro siguiente se resumen los resultados obtenidos con algunos alcoholes:

Substancia	Concentración narcótica mínima	Solubilidades
Alcohol metílico	0,5 M	En agua, ∞. En aceite 1/50
Alcohol etílico	0,3 M	30 veces la solubilidad en agua
Alcohol propílico	0,1 M	8 veces la solubilidad en agua
Alcohol butílico,	0,04 M	En agua 1/12. En aceite ∞
Alcohol caprílico	0,0004 M	En agua 1/2000. En aceite ∞

La misma relación puede establecerse con algunos otros narcóticos:

Substancia	Concentración narcótica mínima (*)	Solubilidad en aceite / Solubilidad en agua
Salicilamida	1 por 1300	22,0
Benzamida	1 por 500	0,7
Monacetina	1 por 90	0,6
Hidrato de cloral	1 por 50	0,5
Alcohol etílico	1 por 3	0,2
Acetona	1 por 3	0,2

(*) Estos coeficientes varían considerablemente con la temperatura; los datos que se dan en este cuadro corresponden a una temperatura de 3°. El aumento de temperatura no afecta por igual la concentración narcótica activa de estas substancias, pues a 30° la salicilamida es activa al 1 por 600, mientras que para la acetona la proporción varía al 1 por 7. — *N. del T.*

Esta relación entre la solubilidad en los lipoides y el poder narcótico no debe ser generalizada a todas las substancias que presentan esta propiedad, ya que el benceno, por ejemplo, cuya solubilidad en los lipoides es tan elevada como la del alcohol caprílico (que según hemos visto en el cuadro precedente es el narcótico de acción más intensa), no posee, a pesar de ello, la menor acción narcótica. Por lo tanto, la regla de OVERTON solamente puede ser admitida con ciertas limitaciones. Estamos en lo cierto cuando decimos que los colorantes solubles en lipoides son rápidamente absorbidos, y también al sostener que las substancias narcotizantes son, por regla general, liposolubles; pero no es exacto afirmar que los colorantes no solubles en los lipoides dejen de ser absorbidos sistemáticamente, y tampoco que las substancias que se disuelven en los lipoides deban ser en todo caso narcóticos.

Además, es muy dudoso que las solubilidades establecidas por OVERTON y MEYER, con aceite, puedan ser comparadas con las de los lipoides de la membrana celular, pues la lecitina, que es uno de ellos, parece en muchos aspectos más bien una substancia soluble en agua que en aceite. Si ponemos lecitina en agua, podremos observar una intensa imbibición de aquélla, formando después una masa gelatinosa y dispersándose finalmente en una solución coloidal de lecitina, cuya fase dispersa (lecitina) contiene una cantidad de agua considerable. Examinemos ahora lo que sucede si introducimos un colorante en esta solución: aparentemente la disolución del colorante será mucho mayor en este sistema que en el agua, por haberse fijado una cierta cantidad del mismo mediante un proceso de adsorción en la fase dispersa. Este hecho entraña una seria dificultad para la hipótesis de OVERTON-MEYER, ya que supone la intervención de un nuevo proceso a nivel de la membrana que, lejos de contribuir a facilitar el paso de la substancia a su través, puede dificultarlo gracias a la posibilidad adsortiva a que hemos hechos referencia.

Dejando aparte esta dificultad, la teoría de la solubilidad de la membrana es insuficiente para explicar algunos hechos como los siguientes: los azúcares y las sales, cuya insolubilidad en los lipoides es manifiesta, pasan perfectamente bien a través de las membranas celulares, lo mismo que los aminoácidos. Por otra parte, ciertos colorantes liposolubles, por ejemplo, safranina, verde metilo y dalia, no son capaces de pasar a través de la membrana de algunas células, mientras que éstas pueden ser permeables frente a ciertos colorantes, como la fucsina ácida, que son insolubles en los lipoides. Y, para terminar, la teoría de OVERTON tampoco explica de un modo satisfactorio los cambios de permeabilidad que puede experimentar la membrana de un momento a otro frente a muchas substancias, como sucede, por ejemplo, con la glucosa; siendo muy difícil salvar esta objeción para las otras substancias que se disuelven en los lipoides, ya que esta variabilidad solamente sería compatible admitiendo cambios del poder disolvente de los constituyentes de la membrana para dichas substancias.

Teorías de la permeabilidad. 3. La teoría de la tensión superficial. Podemos provocar modificaciones en la permeabilidad de las membranas celulares con respecto al medio que las rodea mediante ciertos artificios. Así, por ejemplo, si sumergimos las células en una solución de alcohol metílico cuya concentración sea inferior al 14 %, la membrana de éstas mantendrá su semipermeabilidad, pero esta propiedad desaparecerá si la concentración del alcohol es mayor de 14 %, siendo entonces la membrana completamente permeable. Las "concentraciones críticas" mediante las cuales puede conseguirse esta modificación de la permeabilidad vienen indicadas en el cuadro que sigue:

Substancia	Concentración crítica por ciento
Alcohol metílico	14,0
Alcohol etílico	8,0
Alcohol propílico	4,0
Alcohol butílico	1,5
Alcohol amílico	0,5

Estas distintas concentraciones de los diversos alcoholes citados presentan una característica común, y es que todas ellas poseen la misma tensión superficial, cuyo valor es de 0,65, tomando la del agua como unidad. Esto ha hecho suponer que el valor de la tensión superficial de la membrana sea igual al que hemos visto presentan las concentraciones críticas de los alcoholes antes indicados, produciéndose, gracias a esto, un desplazamiento de los constituyentes de la membrana celular y como consecuencia una pérdida de su semipermeabilidad. En relación con este modo de ver, merece destacarse el hecho de que muchas substancias citolíticas del tipo de las hemolisinas son tensioactivas, lo cual podría armonizarse con la explicación que venimos dando acerca de la permeabilidad de la membrana. Pero cualquiera que sea el interés que pueda tener esta teoría para explicar la pérdida de la semipermeabilidad de las membranas celulares, no puede ilustrarnos satisfactoriamente acerca del mecanismo por el cual dicha semipermeabilidad se produce.

La membrana celular. Teniendo en cuenta las grandes dificultades que ofrece el establecimiento de una teoría completamente satisfactoria que explique el modo de comportarse la membrana celular, no debe sorprendernos que se haya llegado a dudar de la existencia de una formación semejante. Los que así piensan sostienen la idea de que es innecesario admitir la intervención de una membrana semipermeable en la superficie de las células y que éstas pueden imaginarse constituídas de un modo semejante a esponjas capaces de tomar substancias del medio líquido que las rodea mediante un proceso de imbibición, como pudiera hacerlo una masa de gelatina.

Por este motivo, antes de entrar en el estudio de la constitución íntima de la membrana o de analizar las características de su funcio-

namiento, puede ser útil resumir en este lugar las distintas razones que nos llevan a admitir la realidad de su existencia. Para la exposición ordenada agruparemos los hechos que habrán de servirnos de apoyo bajo los cuatro enunciados siguientes:

I. El contenido celular difiere de la composición de los líquidos que lo rodean.

II. La resistencia que ofrece la membrana celular a los cambios de forma.

III. Los resultados de la observación microscópica y de la microdisección.

IV. Las modificaciones que ejercen los reactivos sobre la célula.

Si sumergimos hematíes de sangre humana en una solución isotónica (0,85 % de ClNa), la hemoglobina permanece en el interior, sin mezclarse con el líquido circundante. Este hecho sólo puede explicarse por dos razones: una de ellas, que la célula se halla envuelta por una membrana impermeable para la hemoglobina; la otra interpretación consistiría en considerar la hemoglobina unida firmemente con las estructuras intraprotoplasmáticas. El mismo fenómeno ocurre cuando se colocan en análogas condiciones otras células pigmentadas como las de la remolacha. En el caso de los hematíes no puede observerse una estructura citoplasmática en el sentido que solemos dar a esta palabra, hallándose la hemoglobina en el interior de la célula formando una verdadera solución, que debemos admitir como retenida por la existencia de una membrana celular.

Pero los hematíes de los mamíferos constituyen más bien una excepción que una regla general, ya que en muchos glóbulos rojos (por ejemplo, los de aves, reptiles y anfibios) existen elementos de una estructuración portoplasmática, con los cuales la hemoglobina podría combinarse. Las células de la remolacha del otro ejemplo ofrecen también una constitución citoplasmática que permite pensar que su pigmento se halle en combinación con algunos de los constituyentes del protoplasma, y que el mismo azúcar que contienen en su interior pueda ser retenido por un mecanismo análogo. La hipótesis de que las substancias son retenidas en virtud de una combinación es muy difícil de impugnar desde un punto de vista genérico; a pesar de lo cual pueden aducirse valiosos argumentos en contra de esta interpretación apoyándose en lo que sucede en determinados casos. Siguiendo adelante con aquel punto de vista, dicha combinación intracelular tendrá que ser producida por un proceso de adsorción o bien por un proceso de combinación química. Si se admite la primera eventualidad, el proceso habrá de ser reversible, debiendo existir solamente una diferencia cuantitativa entre las cantidades de pigmento o azúcar contenidas en el interior de las células y las contenidas en el flúido circundante, mientras que si se trata de una combinación química, la substancia combinada no podrá ser disociada hidrolítica o electrolíticamente, siendo en estas condiciones inerte. Esta argumentación no es rigurosamente válida, ya que hemos visto que algunos procesos de adsorción no eran reversibles, pudiendo efectuarse los mismos hasta desaparecer completamente la substancia de la solución; además, existen fundadas razones para creer que algunas substancias que se hallan en el interior de las células en combinación irreversible pueden desempeñar un papel importante en la dinámica celular. Tales argumentos, a pesar de todo, no son concluyentes. La hipótesis de la combinación intracelular puede, por otra parte, ser desechada en absoluto si nos fijamos en la concentración de los electrólitos de la célula con respecto a la que presenta el líquido que las baña. Para ciertos electrólitos, la concentración dentro de las células es mucho mayor que la del líquido en que están sumergidas. Los ejemplos de esta naturaleza son innumerables; así vemos que mientras los glóbulos rojos del conejo tienen una concentración de potasio de 0,5 %, el plasma sanguíneo en el cual se hallan sumergidas contiene tan sólo 0,02 %, en tanto que las células musculares bañadas por el mismo plasma contienen el potasio en una proporción de 0,4 %; las células de las plantas acuáticas, como la Elodea, son mucho más ricas en cloruro sódico que el agua en donde viven.

Apliquemos el mismo argumento a estos casos. El exceso de electrólito debe ser retenido dentro de la célula, ya porque se halle combinado con los constituyentes celulares, siendo entonces incapaz de difundir al exterior, ya porque la célula posee una membrana semipermeable para él. Ahora bien; la demostración de la forma como se encuentra el electrólito en el interior de la célula puede realizarse por lo menos por dos métodos, de los cuales el más ingenioso es el de Höber, y nos enseñan que el electrólito intracelular se encuentra en estado libre. Uno de dichos métodos se funda en el aumento de la capacidad de un condensador cuando intercalamos entre sus placas una substancia conductora, siendo el incremento de la capacidad directamente proporcional a la conductibilidad de la substancia introducida en el sistema. Si introducimos una suspensión de glóbulos rojos en glucosa entre las placas de un condensador cuya capacidad nos sea conocida previamente, observaremos un aumento de la capacidad del mismo que nos demostrará la presencia de substancias conductoras en dicha suspensión. Como quiera que la glucosa en la cual se hallan suspendidos los glóbulos no es conductora, el material electrolítico deberá hallarse en el interior de las mismas células y en estado libre. Realizando la experiencia desde un punto de vista cualitativo, puede establecerse que la concentración de electrólito libre en el interior de los hematíes equivale a una solución 0,1 % de ClK. Este valor es algo más bajo que el obtenido por métodos químicos, de lo que podemos deducir que la mayor parte del electrólito se halla en estado libre, mientras que una pequeña fracción puede hallarse adsorbida o unida de un modo distinto con los otros constituyentes de la célula (hemoglobina principalmente). La existencia del electrólito libre dentro de la célula sólo puede explicarse admitiendo la presencia

de una membrana semipermeable para el electrólito, que actuaría impidiendo el paso de éste al líquido exterior.

El segundo método preconizado por HÖBER tiene su fundamento en la propiedad que presentan los cuerpos conductores, cuando se colocan en el eje de un carrete a través del cual pasa una corriente de alta frecuencia, de amortiguarla proporcionalmente a la conductibilidad del cuerpo ensayado. Colocando una suspensión de células en una solución de glucosa en el eje de un carrete por el que pasa una corriente de las características antes mencionadas, observaremos un amortiguamiento de la misma que nos indicará que las células contienen electrólito libre, en la proporción aproximada de una solución 0,1 a 0,3 molar de ClK. Estos resultados nos llevan a la conclusión de que es preciso admitir la existencia de una membrana celular semipermeable para los electrólitos celulares.

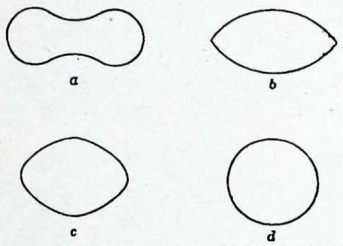


FIG. 19. Cambios de forma de los glóbulos rojos de mamífero cuando se sumergen en soluciones hipotónicas de sal. *a*, forma normal de la célula en sección transversal; en *b*, la biconcavidad de la célula desaparece con el hinchamiento; *c*, una fase ulterior de hinchamiento en la que disminuye el eje mayor; *d*, forma esférica final, que precede al estallido

II. Cuando los glóbulos rojos humanos, cuyo contenido es isotónico con respecto a una solución de ClNa al 0,85 %, se sumergen en soluciones de concentración decreciente desde 0,85 a 0,4 %, se hincharán por la penetración de agua en su interior, sin que éstos pierdan su hemoglobina, a pesar de que la diferencia de presión osmótica entre el interior del hematíe y la solución en que se encuentren suspendidos pueda llegar a la cifra de 5 atmósferas. El matenimiento de esta diferencia de presión debe ser atribuído a alguna estructura que impide la entrada ulterior de agua, siendo difícil imaginar una estructura semejante a menos que se atribuya a la membrana celular una extensibilidad limitada. La célula parece comportarse en estas condiciones de un modo análogo a un saquito de colodión que contiene en su interior una solución de ClNa al 0,85 %, el cual, al ser sumergido en soluciones más concentradas de 0,4 %, por ejemplo, provocará la penetración de agua en su interior, hasta que la fuerza generada por la diferencia de presión osmótica dentro y fuera del saco sea insuficiente para distenderlo más. En el caso de que la diferencia de presión osmótica sea bastante grande, la membrana puede estallar. Sumergiendo en agua un delgado saquito de colodión que contenga solución de ClNa al 0,85 %, obtendremos la diferencia de presión suficiente para producir la ruptura de esta membrana. Un proceso análogo ocurre cuando se sumergen glóbulos rojos en agua: la membrana globular se hallará sujeta entonces a una presión superior al límite de su elasticidad, pasado el cual estallará, dejando en libertad su contenido de hemoglobina en el líquido externo.

Estas diferencias de presión osmótica que pueden resistir las membranas celulares, pueden utilizarse para medir la consistencia de las mismas. Así ha podido determinarse que los glóbulos rojos de la sangre humana pueden resistir presiones de 3 a 5 atmósferas, lo que supone una estructura de notable solidez. Los glóbulos rojos de carnero presentan aproximadamente una resistencia que equivale a la mitad de la observada para los anteriores.

En el caso de los glóbulos rojos podemos demostrar la existencia de membrana celular desde otro punto de vista. Si consideramos la célula constituída por una masa esponjosa desprovista de membrana celular, al penetrar agua en su interior, deberá aumentar su volumen en todas direcciones, del mismo modo que lo hace una porción de gelatina o de esponja. Por otra parte, si atribuímos a la membrana celular una estructura parecida a la de un balón, los glóbulos sufrirán al hincharse determinados cambios de forma. En primer lugar, la biconcavidad de las células desaparece, tomando una forma esferoidal. El eje más corto del esferoide va aumentando a medida que el hinchamiento continúa, mientras que el eje mayor (diámetro) disminuye. Siendo así, los glóbulos acaban por adoptar la forma esférica, creciendo el radio de esta esfera hasta alcanzar el límite de elasticidad de la membrana, por encima de la cual se producirá el estallido y vaciamiento del contenido globular. Estos fenómenos pueden ser seguidos en todas sus fases en los glóbulos rojos de mamífero, los cuales se comportan no como una masa esponjosa, sino como cuerpos rodeados de una membrana.

Los dos métodos mencionados para la demostración de la existencia de la membrana celular son especialmente aplicables a los glóbulos rojos, mejor que a las otras células en general.

III. Puede afirmarse, de un modo general, que las substancias capaces de reducir la tensión superficial se condensan en la superficie de la célula. En muchas circunstancias, lo mismo en la célula que en el líquido que normalmente la baña, puede producirse una "condensación superficial" de substancias tensioactivas. Pero la idea de una sencilla condensación de naturaleza física no se aviene bien con la fuerte consistencia que hemos visto manifiesta la membrana, aunque con tal estructura pueda explicarse la semipermeabilidad. Por este motivo es menester que evidenciemos con otros ejemplos la existencia de la membrana celular.

Es un hecho bien conocido la existencia de membranas superficiales, estructuralmente distintas, en las células de muchos vegetales. Esta membrana es segregada por las mismas células vegetales, siendo de un grosor y de una consistencia considerables. Algunos protozoarios presentan estas "membranas de secreción". También suelen presentar esta modalidad de membrana algunas células animales, aunque no de un modo tan evidente. En amibas y paramecios podremos apreciar una fina película superficial, invisible en circunstancias normales durante la vida de estos protozoarios, pero que podemos poner

de manifiesto mediante la inyección de una pequeña cantidad de líquido en su interior. La gotita de líquido inyectada forma una pequeña vesícula limitada por una película superficial. Estas vesículas líquidas, que parecen rodeadas de una membrana superficial, pueden observarse alguna vez en las fases de actividad celular y con mayor frecuencia en los primeros estadios de la *citólisis*. En otros protozoarios, como los *Peranema*, puede también ser vista una película superficial limitando su citoplasma. La presencia de membrana superficial es más difícil de poner de manifiesto en los diversos tipos de células. El borde estriado de las células de los tubos renales y de las

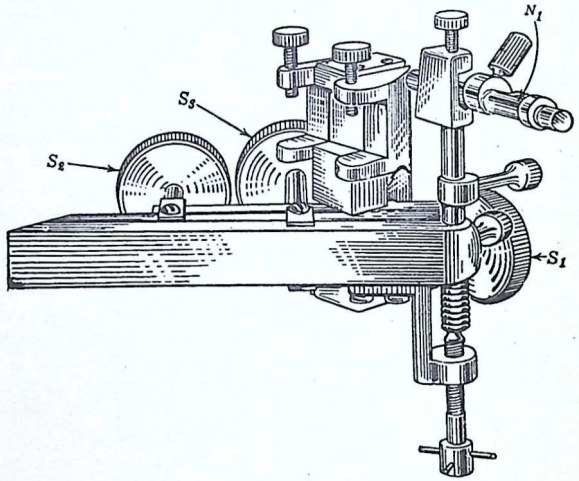


FIG. 20. Aparato de microdisección. Los tres tornillos S_1, S_2, S_3 mueven el portaagujas N_1 en el cual se ha fijado la aguja de microdisección. Corrientemente se utilizan dos de estos aparatos, sujetándolos a cada lado de la platina del microscopio

que constituyen el epitelio intestinal, que para algunos serían condensaciones del citoplasma, podría considerarse como una modalidad de membrana celular; esto puede verse con mayor claridad en las células del tegumento interno de algunos vertebrados acuáticos, las cuales aparecen atravesadas por un pequeño número de pequeños poros. En los glóbulos rojos de los anfibios puede apreciarse claramente la presencia de una membrana, la cual no se tiñe por los colorantes del mismo color que el citoplasma. En esta membrana se han descrito finas fibrillas de idéntica naturaleza a las que se encuentran también en las membranas celulares de los eritrocitos de reptiles y aves. Finalmente, volviendo otra vez a los hematíes de mamífero, puede demostrarse morfológicamente la existencia de la membrana celular previa hemólisis de los mismos.

En aquellos casos en que no es posible poner en evidencia la membrana superficial por los métodos histológicos corrientes, puede ser demostrada mediante la *microdisección*. Para ejecutar esta técnica se disponen dos finísimas agujas de vidrio, fijadas cada una de ellas a un portaagujas especial. Este portaagujas es movido mediante un dispositivo adecuado, en conexión con tres tornillos, en las tres direcciones del espacio. Teniendo el operador una cierta habilidad para la manipulación puede introducir estas agujas en una sola célula, observando con fuertes aumentos para poder disecar la célula a voluntad. En distintos protozoarios (amibas, paramecios y *stentor*), en todos los organismos monocelulares y en los huevos de la estrella de mar ha podido evidenciarse la membrana superficial, observando que al desgarrar o cortar la membrana fluye por el lugar lesionado líquido citoplasmático.

La membrana que rodea muchas de estas células se halla, al parecer, constituída por una substancia líquida de muy elevada viscosidad (jalea) y elasticidad, como puede probarse al aplicar una presión sobre su superficie viendo cómo se deprime de un modo uniforme. Su extremada fineza o el índice de refracción muy cercano al del citoplasma hacen muy difícil su percepción en las células vivientes, aun empleando la iluminación sobre fondo negro. El mecanismo mediante el cual se forma la membrana no se conoce de un modo preciso, pero, en cambio, está fuera de duda que esta formación puede ser regenerada después de haber sido destruída localmente. Cuando se rompe la membrana de los huevos de erizo de mar, por ejemplo, el citoplasma contiguo al lugar de la lesión es asiento de un proceso de citólisis, una vez iniciado el cual se forman numerosas gotitas, a cuyo alrededor se forma una nueva película superficial. Estas películas superficiales se forman y se destruyen repetidamente hasta que el proceso de formación de la película supera la actividad destructora del citoplasma, produciéndose entonces una película superficial estable. La nueva película superficial difiere considerablemente de las que pueden formar las substancias tensioactivas mediante un proceso de condensación superficial. Este último proceso es mucho más rápido que el primero, ya que la regeneración de la superficie lesionada de un protozoario requiere un espacio de tiempo mucho mayor; además, el fenómeno parece estar condicionado por la naturaleza del líquido que rodea la célula. En medio alcalino, por ejemplo, el huevo de erizo de mar puede formar una membrana consistente en muy corto espacio de tiempo, mientras que en medio ácido la formación de la membrana es más lenta y no pasa de ser una fina y débil película. El modo de formarse estas películas es completamente desconocido, siendo también algo dudosa su naturaleza, si bien sobre este particular existen motivos para creer que se halla compuesta principalmente de proteínas.

Con la técnica de la microdisección no se han obtenido resultados muy brillantes por lo que hace referencia a la membrana super-

ficial de las células de los seres muy diferenciados. Esto puede ser debido a que la cubierta superficial de los seres monocelulares sea más gruesa y rígida que las células que lindan por todos lados con sus semejantes.

IV. Del estudio de los efectos que producen diversas substancias sobre la desintegración de las células pueden obtenerse argumentos en favor de la existencia de la membrana celular y también datos acerca de su posible composición. Estas substancias desintegradoras son llamadas *citolisinas*, y el proceso de destrucción *citólisis*. Las células cuya destrucción se ha estudiado de un modo preferente han sido los glóbulos rojos. El proceso de desintegración de estos elementos se denomina *hemólisis*, y las substancias que lo producen se conocen con el nombre de *hemolisinas*. Esta forma de citólisis ha sido objeto de una atención casi exclusiva por parte de los investigadores, principalmente por la facilidad técnica que supone la rápida liberación de hemoglobina que sigue a la destrucción de estos elementos hemáticos. Podemos clasificar en cinco modalidades distintas las diversas formas de destruir los hematíes. En primer término consideramos la hemólisis producida por la acción de las soluciones hipotónicas, que tiene lugar por estiramiento de la membrana globular al penetrar agua en el interior de las células. Otra forma de hemólisis es la producida por substancias de composición más o menos conocida, las cuales ejercen una acción destructiva sobre la membrana celular, actuando probablemente sobre las proteínas que la constituyen; en este grupo podemos incluir los jabones, las sales biliares, las saponinas y muchas de las hemolisinas producidas por bacterias del tipo del *B. welhsii* y *B. tetani*. El tercer grupo de lisinas contiene substancias como el veneno de cobra y el de escorpión, los cuales no son hemolíticos *per se;* sin embargo, desarrollan una intensa actividad hemolítica cuando se les adiciona substancias activadoras. En el cuarto grupo se incluyen las hemolisinas específicas, desarrolladas mediante un proceso de inmunidad, y que son incapaces de actuar sin la intervención de ciertos elementos activadores. En el quinto grupo situamos aquellas radiaciones que pueden producir lisis; v. gr., calor, luz, rayos ultravioletas, rayos Röntgen y rádium. A pesar de la clasificación antes indicada, existen substancias cuyo mecanismo de acción parece ser distinto del que caracteriza a cada uno de los grupos en que hemos dividido las acciones hemolíticas, constituyendo por lo tanto otros tantos casos particulares. Consideremos ahora cada tipo de hemólisis por separado y veamos si de su modo de actuar sacamos alguna enseñanza respecto de la naturaleza de la membrana del glóbulo rojo. A esto podrá argüirse que se trata sólo de la membrana de un elemento celular determinado; sin embargo, como muchas de estas hemolisinas también actúan como citolisinas en circunstancias especiales, cabe esperar que un estudio del problema de los eritrocitos pueda proporcionarnos datos de interés, aplicables al modo de comportarse la membrana de las células en general.

Según hemos visto, la hemólisis producida por soluciones hipotónicas (soluciones con una presión osmótica inferior que la del ClNa al 0,85 %) es debida principalmente a la penetración de agua dentro de la célula. Esto da lugar a un estiramiento de la membrana, la cual por este motivo es mucho más frágil, permitiendo el paso de la hemoglobina al exterior. Probablemente, para que esto suceda no es preciso que la membrana se rompa, sino que es suficiente la producción de un sencillo rezumamiento en algunos puntos, algo muy parecido a lo que sucede cuando estiramos las membranas de colodión y de pergamino. La cuestión puede plantearse ahora en los siguientes términos: ¿El paso a través de la membrana del contenido celular se produce sólo por el estiramiento de la misma al aumentar la presión en el interior del glóbulo o es debida también a una acción *in situ* de la solución hipotónica de la membrana? Es muy posible que el proceso tenga lugar por la intervención de ambos mecanismos. En efecto, se ha demostrado recientemente que las soluciones puras de ClNa, aun siendo isotónicas, modifican la permeabilidad celular aumentándola; al mismo tiempo parece que actúan disminuyendo la resistencia de la membrana al estiramiento. El mecanismo por el cual la sal pura produce estos cambios no es bien conocido; su acción se ha relacionado con el reparto de las substancias lipoides en la pared celular, ya que si ésta contiene una gran cantidad de lecitina, su resistencia a los cambios producidos por la acción hemolítica de las soluciones hipotónicas de cloruro sódico estará disminuída, mientras que si la membrana celular contiene un exceso de colesterol su resistencia frente a dichas alteraciones aumentará. De aquí la deducción que el ClNa puro modifica la relación lecitina-colesterol, produciéndose por este motivo variaciones en la consistencia de la membrana. Como quiera que sea, el hecho más interesante que se desprende de lo que venimos diciendo es que la lisis por las soluciones hipotónicas de cloruro sódico no es debida exclusivamente a un aumento de la presión interna de las células.

El modo de actuar las lisinas del segundo grupo es, sin duda, el mejor conocido. Todos los componentes de éste tienen una característica común: la de ser muy tensioactivos y formar con las proteínas "compuestos de adsorción". Las substancias más representativas de este grupo son la saponina y las sales biliares; estas substancias provocan hemólisis actuando sobre las proteínas de la membrana celular y produciendo de ese modo un doble efecto. En primer lugar, la membrana fragilizada no puede mantener su forma discoidal típica, adoptando la forma esférica gracias a la intervención de las fuerzas de superficie. En segundo término, inmediatamente después que la fragilidad de la membrana se ha puesto de manifiesto, ésta se hace permeable a la hemoglobina y la célula hemoliza. La influencia de la saponina sobre la membrana no termina aquí, sino que continúa hasta la completa desintegración de la misma. Lo mismo sucede con los jabones y con muchas hemolisinas producidas en los cultivos bacterianos.

Hace algunos años, antes de que fuera bien conocida la forma de actuar de las lisinas que integran este grupo, se les atribuyó una acción sobre los componentes lipoideos de la membrana, fundándose en el poder disolvente que ejercen los jabones y las sales biliares sobre los lipoides y en la propiedad que presentan algunas saponinas de combinarse con el colesterol. Este punto de vista ha sido ya definitivamente abandonado, pues el proceso hemolítico no tiene ninguna semejanza con un proceso de disolución, no siendo tampoco el poder de combinación de la saponina con el colesterol lo suficientemente grande para explicar la acción hemolítica de esta substancia. Existen pocos agentes hemolíticos cuya actividad pueda ser referida a esta acción disolvente sobre los lipoides de la membrana globular, pudiéndose considerar entre ellos el éter y el cloroformo, si bien existen algunas dudas acerca de si el débil poder hemolítico que manifiestan es debido a su poder disolvente sobre los lipoides o a la acción precipitante sobre las proteínas.

De las hemolisinas del tercer grupo se sabe muy poco; para que éstas pongan de manifiesto su actividad hemolítica es preciso la intervención de una substancia activadora. Un buen ejemplo de este tipo lo ofrece el veneno de cobra, al cual es menester añadir lecitina para que produzca hemólisis, ejerciendo su acción sobre las proteínas componentes de la membrana.

En el cuarto grupo se hallan reunidas las hemolisinas que se producen merced a un proceso inmunógeno. Si, por ejemplo, se inyectan glóbulos rojos de conejo a un cerdo, en la sangre de éste se producen substancias hemolíticas frente a los glóbulos de conejo. Las inyecciones repetidas de hematíes de conejo en el cerdo producirán un proceso de inmunidad frente a los hematíes heterólogos, los cuales serán hemolizados por substancias específicas, que pueden ponerse de manifiesto en el suero del animal inmune. Este proceso sólo podrá desarrollarse en el caso de utilizar animales de distinta especie, no siendo posible producirlo entre animales de la misma especie o de especies muy próximas (perro y lobo; hombre y mono). Las hemolisinas obtenidas por la inyección de los glóbulos rojos de un animal a otro son rigurosamente específicas, no pudiendo manifestar su acción desintegradora más que sobre las glóbulos rojos de animales de la misma especie a que pertenecían los hematíes inmunizantes. Estas hemolisinas constan, en realidad, de dos substancias, una de ellas termoestable y rigurosamente específica, llamada *amboceptor*, y otra no específica, que se destruye fácilmente por el calor, llamada *complemento*. El amboceptor se forma en el organismo que recibe la inyección de células heterólogas, mientras que el complemento existe en la sangre de todos los homeotermos, en mayor o menor proporción, y solamente activa el amboceptor cuando se añaden a un sistema simultáneamente. El modo de producirse esta activación es asunto no bien conocido todavía, aunque es muy posible que se trate de un proceso muy complejo, si tenemos en cuenta que los elementos constituyentes de la

hemolisina son proteínas de un gran peso molecular, creyéndose que el amboceptor es una albúmina y el complemento una globulina.

Parece fuera de duda que la combinación complemento-amboceptor actúa sobre los constituyentes proteicos de la membrana celular. Esto se encuentra en armonía con la estricta especificidad que hemos visto presenta este tipo de hemólisis, especificidad por otra parte característica en las reacciones entre proteínas. Las proteínas componentes de la membrana sobre las que actúan estas hemolisinas parecen distintas de las que son modificadas por otros agentes hemolíticos como las saponinas y las sales biliares, o por lo menos actúan en forma diferente, ya que bajo la acción del complemento-amboceptor la forma discoidal de los hematíes no es modificada, mientras que, según hemos visto, la desintegración de los glóbulos por las substancias tensioactivas del segundo grupo producen notables cambios en la forma de los hematíes. Este y otros hechos nos indican que las proteínas constituyentes de la membrana no pertenecen a un grupo determinado de ellas, sino que probablemente en su constitución intervienen diversas substancias proteicas.

En el último grupo de agentes hemolíticos hemos incluído todas las acciones líticas que pueden desarrollar las diferentes modalidades de radiación. Consideraremos primeramente la hemólisis por el *calor*. Si elevamos la temperatura a 55°, los glóbulos rojos muestran alteraciones de su membrana, apareciendo ésta desmenuzada en pequeñas gotitas, las cuales presentan un activo movimiento browniano visible en los bordes de la célula. Algunos autores atribuyeron tal modificación de la membrana a la fusión de los lipoides que entran en la composición de la misma; sin embargo, parece probable que dichas alteraciones son debidas a la coagulación de determinadas proteínas de la membrana globular, teniendo en cuenta que a la temperatura indicada coagulan ciertas globulinas que normalmente entran en su constitución. Después de provocada la coagulación por el calor, la membrana celular se muestra permeable para la hemoglobina, produciéndose la hemólisis.

La *luz* no produce hemólisis de los glóbulos rojos en estado normal, pero si previamente han sido tratados con eosina o hematoporfirina, aquélla actúa como un elemento lítico de extraordinaria eficacia, ya que los glóbulos así sensibilizados a los pocos minutos de exposición a la luz solar son completamente destruídos. Las radiaciones *ultravioletas* presentan una actividad mucho mayor, produciendo la hemólisis en muy corto espacio de tiempo por desintegración de las proteínas de la membrana celular. Finalmente, los *rayos Röntgen* y las radiaciones de *rádium* tienen sólo una débil acción hemolítica, ejerciendo muy verosímilmente un efecto coagulante sobre las proteínas de la membrana globular.

Pasando revista a los diferentes tipos de hemolisinas, es notable constatar que, en el mecanismo de acción de la mayor parte de ellas, la desintegración de los componentes proteicos de la membrana

ocupa un lugar preeminente. Estos efectos de los agentes hemolíticos no quedan circunscritos sólo a su acción sobre los hematíes, sino que, por el contrario, pueden actuar también en determinadas condiciones como citolisinas. Muchas células como los huevos de estrella de mar, amibas, paramecios, leucocitos, etc., son destruídas por las soluciones hipotónicas, los jabones, las saponinas, sales biliares, etc., del mismo modo que los eritrocitos, comportándose aquellas substancias como agentes citolíticos de los elementos celulares que acabamos de mencionar. De un modo semejante al que hemos descrito para provocar hemolisinas mediante la inyección de hematíes heterólogos, podemos obtener citolisinas para distintos elementos celulares; un ejemplo de esta naturaleza nos lo ofrece la formación de espermolisinas cuando se inyecta a un animal una suspensión de espermatozoides de otro. Los efectos citolíticos de la luz y de los rayos ultravioletas han sido también puestos en evidencia sobre determinados organismos unicelulares. Es de suponer que cada uno de estos agentes líticos actúan sobre la membrana de las células por un mecanismo semejante al que hemos visto manifestarse sobre los glóbulos rojos, y por esta razón hemos considerado que el estudio de las hemolisinas puede contribuir al conocimiento de la estructura de la membranas celulares desde un punto de vista general.

Teniendo en cuenta las observaciones precedentes podemos desechar sin vacilación cualquier teoría de la estructura celular que considere la célula constituída por una masa gelatinosa desprovista de membrana. Una teoría semejante puede dar cuenta de algunos hechos de fisiología celular, pero no es suficiente para explicar satisfactoriamente otros muchos, como el modo de actuar de varias hemolisinas, la desigual concentración de los electrólitos dentro y fuera de la célula y los resultados obtenidos con el método de la microdisección.

Tampoco puede aceptarse la hipótesis que considera la membrana como una sencilla "condensación superficial" de substancias tensioactivas, análoga a las películas superficiales que hemos visto eran capaces de formar las proteínas y las saponinas (véase pág. 19). Admitiendo esta teoría no hallamos respuesta adecuada para explicar la consistencia de la membrana celular ni valorar los resultados obtenidos mediante la microdisección y lo observado con la mayor parte de citolisinas.

Las substancias que modifican la permeabilidad. Los procesos de hemólisis o de citólisis pueden ser considerados como casos extremos de modificaciones irreversibles en la permeabilidad de la membrana celular, haciéndose ésta, en el caso de los glóbulos rojos, permeable para la hemoglobina. Ahora bien; muchas substancias que no se clasifican ordinariamente como citolisinas porque su acción no se manifiesta con suficiente intensidad, influyen sobre la permeabilidad de la membrana celular de modo considerable, siendo este efecto con frecuencia reversible. A continuación damos algunos ejemplos de este tipo de acción.

Si cortamos discos de remolacha roja y los sumergimos en agua, no se produce difusión del pigmento ni del azúcar contenido en el interior de las células porque la membrana celular es impermeable para estas substancias; pero si colocamos los discos de remolacha en contacto con una solución pura de ClNa e isotónica con respecto al contenido celular (1,8 %), el pigmento y el azúcar difunden al exterior con gran rapidez, apareciendo el ClNa como modificador de la permeabilidad de la membrana. No obstante, si añadimos a la solución de ClNa una cantidad suficiente de Cl_2Ca (ClNa al 1,8 % y Cl_2Ca al 0,17 %), esta modificación de la permeabilidad no tiene lugar cuando el disco de remolacha se sumerge en la mezcla, permaneciendo el contenido celular inalterado, exactamente como en el caso del agua pura. Este experimento demuestra, en primer lugar, que el ClNa aumenta la permeabilidad de la membrana, mientras que el Cl_2Ca produce un efecto contrario.

Estas modificaciones pueden también observarse sobre diversos elementos vivientes. El pigmento de las larvas de *Arenícola* difunde al exterior rápidamente cuando se sumergen en solución isotónica de ClNa puro, pudiendo neutralizarse este efecto mediante la adición de pequeñas cantidades de calcio. Los resultados obtenidos estudiando el efecto de diversas sales sobre el *Gammarus* ofrece una mayor complejidad; este minúsculo animal marino muere cuando lo ponemos en contacto con una solución isotónica de ClNa, sin que la adición de Cl_2Ca o de ClK modifique de un modo apreciable la toxicidad de la sal de sodio. Mezclando en proporciones adecuadas estas tres sales se obtiene un medio adecuado para la vida del *Gammarus*, el cual puede vivir en estas condiciones tanto tiempo como en el agua del mar. De estos hechos se puede concluir que estas tres sales parecen necesarias para el mantenimiento de la permeabilidad normal en las células animales. La *Ruppia marítima* necesita para su supervivencia en un medio artificial no solamente calcio, sodio y potasio, sino también sales de magnesio.

Como vemos en todos estos casos, el efecto producido se debe al catión de las sales disueltas, lo que puede relacionarse probablemente con el hecho de que las substancias que entran en la constitución de la membrana tienen en el agua carga electronegativa. Además, como podía esperarse por analogía con otras reacciones de los sistemas coloidales, los cationes bivalentes, como el $Ca^{\cdot\cdot}$, manifiestan a la misma concentración que los monovalentes $Na^{\cdot}$ y $K^{\cdot}$ un efecto mucho mayor; el porqué del antagonismo entre los distintos iones se desconoce en absoluto, poniéndose de manifiesto casi exclusivamente en los procesos vitales y sólo por excepción en los sistemas inanimados, en los cuales el efecto de dos iones equivale de ordinario a la suma de sus efectos individuales; a continuación exponemos los dos únicos casos conocidos en los que el antagonismo entre iones se pone de manifiesto en estas circunstancias. Uno de ellos puede ser demostrado con el "experimento de reversión de las fases". Con este objeto se colocan en un

recipiente partes iguales de aceite de oliva y agua, agitando vigorosamente hasta obtener una fina emulsión. Si añadimos ClNa a la mezcla, la emulsión resultante será una emulsión de aceite en agua; pero si adicionamos Cl_2Ca resultará una emulsión de gotitas de agua en aceite. Cuando hacemos intervenir en el sistema las dos sales mencionadas, sus efectos antagónicos se contraponen, pudiéndose llegar a un equilibrio dependiente de las respectivas proporciones en que ambas se encuentren, y en el cual la tendencia a formar una emulsión de agua en aceite es equilibrada por la tendencia a formarse una emulsión de aceite en agua. Podemos provocar una *reversión de las fases* por agitación mecánica del tubo que contenga la emulsión, convirtiendo la emulsión de agua en aceite en la de aceite en agua. No está muy claro si el antagonismo de los iones de este ejemplo se manifiesta realmente entre el $Na^{\cdot}$ y el $Ca^{\cdot\cdot}$ o entre el $Ca^{\cdot\cdot}$ y el Cl', por ser el Cl' del ClNa más fuertemente absorbido que el $Na^{\cdot}$ por la superficie de contacto aceite-agua. Un buen ejemplo de antagonismo es el que ofrecen las soluciones de jabón, las cuales adicionadas de ClNa se tornan opalescentes por disminuir la dispersión del sistema, mientras que adicionando Cl_2Ca aumenta de nuevo la dispersión. La explicación de estos hechos es en realidad muy difícil, especialmente al comprobar que este fenómeno no se presenta en otros sistemas coloidales sencillos. La opinión más compartida es la que atribuye estos efectos a la capacidad liotrópica de los iones añadidos, los cuales influirán en la distribución de agua entre las fases del sistema coloidal que constituye la membrana. Es bien sabido además cómo los iones pueden modificar las propiedades de los geles, imbibición, gelificación, viscosidad, siendo fácil señalar a este respecto casos de antagonismo entre ellos; así, el ion nítrico contrabalancea la acción inhibidora que manifiesta el ion sulfúrico en el proceso de imbibición. De un modo análogo los diferentes iones podrían alterar las propiedades físicas de la membrana celular y producir, merced a sus acciones antagónicas, un cierto equilibrio entre sus efectos.

La permeabilidad de la membrana puede ser fácilmente modificada en un gran número de casos por la adición de determinadas substancias. Volviendo otra vez al ejemplo de las células de la remolacha, vemos que tratándolas con éter, cloroformo o sales biliares se aumenta la permeabilidad de su membrana, aunque este efecto puede ser considerado como el comienzo de un proceso irreversible de citólisis. La acción de los iones sobre la membrana celular no tiene por lo tanto grandes analogías con el proceso anterior, y sus efectos son con frecuencia reversibles. Estas modificaciones de la permeabilidad celular son claramente puestas de manifiesto con los experimentos de Osterhout sobre las células de la *Lamisaria*, cuya membrana, en estado normal, es completamente impermeable para los iones contenidos en el agua del mar. Para demostrarlo se cortan discos de laminaria, que luego se envuelven para formar un cilindro de tejido vegetal, el cual colocaremos entre dos electrodos de platino. A continuación se mide la

resistencia de este cilindro (pág. 95), que será elevada si las paredes celulares son impermeables a los iones, por dificultar el transporte iónico de un electrodo al otro; pero si las membranas se hacen permeables, la resistencia será mucho menor. Colocando el cilindro de laminaria en solución de ClNa puro disminuirá considerablemente la resistencia del vegetal, demostrando que el cloruro sódico puro modifica también, aumentándola, la permeabilidad de la membrana de estas células, del mismo modo que hemos visto influía en la permeabilidad de las membranas celulares de la remolacha, glóbulos rojos, etc.; si en estas condiciones sustituímos la solución de ClNa por agua de mar, el tejido recupera su resistencia primitiva y las células su impermeabilidad para los iones. Tales modificaciones son debidas al ion $Na^{\cdot}$ y pueden ser reversibles siempre que el contacto con el ClNa puro no haya sido demasiado prolongado. Resultados semejantes se obtienen cuando se sumerge un cilindro de laminaria en una substancia del tipo del éter, la cual obra disminuyendo la resistencia, por aumentar la permeabilidad de las membranas celulares, volviendo después de haberse desprendido del narcótico a mostrar la misma resistencia anterior por recuperación de la normalidad de las membranas.

Estos experimentos dejan fuera de duda que, cuando se trata de estudiar el comportamiento de una membrana semipermeable frente a una substancia determinada, la misma substancia cuyo paso a través de la membrana trata de establecerse puede modificar las propiedades de la misma. También debe ser abandonada la hipótesis que considera la membrana como un obstáculo puramente pasivo al paso de las substancias. Caso de admitir la teoría que considera la membrana constituída por pequeños poros, los cambios de permeabilidad tendrían que ser explicados admitiendo la variabilidad del tamaño de aquéllos en relación con la naturaleza de las substancias que intentemos hacer pasar a su través. Si nos acogemos a la hipótesis de la solubilidad, tendremos que aceptar que la solubilidad de cada substancia respecto de la membrana puede ser modificada por la presencia de la substancia misma. Aun cuando cualquiera de las hipótesis mencionadas puede explicar fragmentariamente los hechos relacionados con las variaciones de permeabilidad de la membrana, ninguna de ellas es suficiente para dar cuenta del conjunto de observaciones acumuladas sobre esta cuestión. La membrana semipermeable, y de un modo especial la que recubre la célula viviente, influye activamente en el paso de substancias a su través, idea que por otra parte no debe sorprendernos, ya que la negación de esta actividad en la fina capa superficial del protoplasma cuando se pone en contacto con las substancias, equivale a negar que éstas ejerzan algún efecto sobre el protoplasma mismo de la célula.

En un reducido número de casos podemos demostrar, con toda evidencia, que ciertas substancias manifiestan un efecto considerable sobre la actividad celular sin penetrar para nada dentro del citoplasma. Un ejemplo de esta naturaleza nos lo ofrece el efecto del NaOH

sobre la amiba, ya que dicho álcali puede inmovilizar y aun producir la muerte de la amiba sin que para ello sea preciso su paso a través de la membrana. Este efecto puede ser exactamente reproducido cuando añadimos NaOH a un cultivo de paramecios, en los cuales cesa todo movimiento, produciéndose también la vacuolización del citoplasma, sin que en el interior de los mismos pueda ser demostrada la presencia de la substancia añadida. Los huevos de erizo de mar en presencia de NaOH aumentan hasta el doble el consumo de oxígeno, sin que el álcali pase a través de la membrana superficial, y, sin embargo, otra substancia alcalina NH_4OH, que pasa fácilmente a través de la membrana, no produce ningún cambio apreciable. Estos experimentos sólo pueden interpretarse de un modo satisfactorio admitiendo que se trata de una acción directa sobre la membrana celular.

Estructura de la membrana. Aunque resulta extremadamente difícil expresar un concepto adecuado sobre la estructura de la membrana celular, podemos intentar la elaboración de una imagen concreta apoyándonos sobre algunos hechos completamente esclarecidos, a saber: la membrana celular contiene proteínas y también lipoides y posee una consistencia considerable. Siguiendo la analogía que nos ofrece la estructura de una membrana de ferrocianuro de cobre, constituída, como sabemos, por un precipitado coloidal que rellena un armazón (el frasco poroso), consideraremos la membrana celular como una solución coloidal dispuesta en una especie de retículo de naturaleza proteica que ofrece una cierta rigidez, y entre cuyas mallas se encuentran los elementos constituyentes de la solución, proteínas y lipoides, asociados con una considerable cantidad de agua.

La comparación de Bechhold es muy ingeniosa, pero no puede ser tomada en sentido literal; imagina la membrana celular de un modo semejante a la cubierta que recubre un balón, como una red de cañamazo cuyos poros fueron encerados y barnizados con goma. Una membrana semejante sería permeable al agua a través del retículo de cañamazo, los disolventes de las grasas a través de los componentes encerados, y poseería, al mismo tiempo, una consistencia considerable. En la membrana celular, la red de proteínas se correspondería con la de cañamazo del ejemplo y la presencia de proteínas y lipoides entre las mallas de la misma completaría la analogía. Imaginando una estructura porosa para la membrana, no cabría suponer sus elementos constituyentes dispuestos como los poros de un cedazo, sino conteniendo en su interior una especie de emulsión compuesta de lipoides y proteínas capaz de obturar los canalículos porosos más o menos completamente. Si imaginamos además que en distintas circunstancias fisiológicas o por la acción de diversas substancias pueden producirse cambios en la composición de las substancias que rellenan los poros tendremos una explicación de las variaciones de la semipermeabilidad de la membrana.

Es indudable que la imagen que hemos dado es muy rudimentaria; sin embargo, en casos de esta naturaleza es preferible una representación de este tipo a falta de otra mejor. Sólo dos cuestiones nos quedan por mencionar. Recordemos que cuando hablamos de componentes proteicos de la membrana celular hay que distinguir los que entran en la formación del retículo de aquellos otros que rellenan las mallas del mismo y que son de distinta composición, quedando de esta manera establecido el hecho de que la membrana celular se halla constituída por varias clases de substancias proteicas. La segunda cuestión hace referencia a los componentes lipoideos de la membrana. Hasta hace muy poco se ha venido considerando que los lipoides de la membrana celular se hallaban situados en la parte más externa, formando una capa superficial con un espesor de muy pocas moléculas. Esta idea ha sido recientemente abandonada, por ser mucho más verosímil que los lipoides se hallen en el espesor mismo de la membrana, quizá unidos laxamente con proteínas, formando una especie de "complejo lipóidico proteico". Al quedar establecido como un hecho cierto que la membrana contiene, en proporción con sus otros componentes, gran cantidad de proteínas, la idea de una cubierta exclusivamente lipoidea se aparta mucho del concepto que hoy tenemos de su estructura.

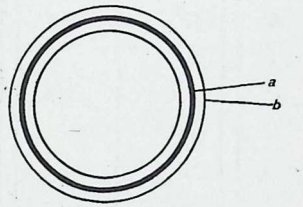


Fig. 21

No puede ocultarse que como resultado de tan numerosas discusiones sólo hemos podido obtener de la estructura de la membrana celular una concepción mecánica excesivamente esquemática y nociones muy poco precisas acerca de las causas que condicionan la semipermeabilidad. A pesar de tales inconvenientes, es la única posición posible dado el estado actual de nuestros conocimientos, y aun cuando en cualquiera de las hipótesis emitidas pueda hallarse respuesta adecuada para determinadas propiedades de ciertas membranas, es evidente que ninguna de ellas puede ofrecernos explicación para todas las propiedades conocidas de las distintas membranas celulares que hemos examinado. En estas circunstancias es preferible contentarnos con el esquema de constitución que hemos expuesto anteriomente, que aun presentando ciertas dificultades no ofrece el riesgo de error a que nos conducen teorías más elaboradas, pero no más exactas; otra ventaja que redunda de la aceptación del esquema indicado es la de que no nos encierra dentro de un punto de vista particular y que puede ser abandonada en cualquier momento sin que ello represente una nueva orientación de las ideas sobre la cuestión. No podemos decir lo mismo de las otras teorías, tal vez más atractivas, pero más superficiales, cuyas líneas directrices ya conocemos, pero cuya discusión no puede abordarse en un tratado elemental como éste.

Antes de pasar a otra cuestión, debe mencionarse un detalle de singular interés. En ciertas células, por lo menos en aquellas que la membrana celular se pone de manifiesto de modo indudable (por ejemplo, por microdisección, teñido, cambios de forma, etc.), no podemos considerar la membrana de la célula comportándose en todas las circunstancias como semipermeable en el sentido usual de esta palabra. En el caso de los glóbulos rojos, por ejemplo, las medidas de la conductibilidad para corrientes de alta frecuencia nos enseñan que los iones del interior y del exterior de la célula se aproximan entre sí a distancias que son equivalentes al grosor de unas pocas moléculas de lipoides, presentando en cambio la materialidad de la membrana un grosor aproximado de 0,2 μ. Estas condiciones pueden representarse como se indica en la figura 21, donde la membrana "morfológica" (*a*) está indicada por la banda ancha, y la membrana "semipermeable" (*b*) por la estrecha línea intermedia, pudiendo ponerse ésta en contacto con la banda ancha en un punto cualquiera o en toda su extensión. Si aceptamos una disposición semejante, no existe ninguna dificultad para que los iones se aproximen entre sí a una distancia equivalente a unos pocos diámetros moleculares, lo que permite separar la "membrana semipermeable" a que hacen referencia las investigaciones físicas de la "membrana morfológica" de los citólogos.

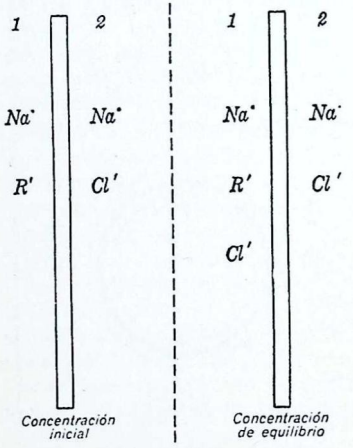


FIG. 22

Equilibrio de la membrana o equilibrio de Donnan. Aun cuando es un hecho establecido que las substancias difusibles tienden a repartirse a la misma concentración a los dos lados de una membrana, esta equipartición deja de producirse cuando la membrana tiene en uno de sus lados un ion no difusible. Intentaremos demostrar lo que sucede en estas circunstancias valiéndonos de un ejemplo concreto.

Supongamos una membrana impermeable para unas moléculas determinadas RNa (por ejemplo, la sal sódica de un colorante) y también para el ion R′ liberado al disociarse, siendo sin embargo permeable para el ion $Na^{\cdot}$ y también para los iones y moléculas de otras sales. Supongamos que la molécula RNa se halla a uno de los lados de la membrana y que en el otro tenemos ClNa (véase fig. 22).

El ClNa difundirá a través de la membrana hasta alcanzar la concentración de equilibrio.

Ahora bien, en virtud de los principios de termodinámica, este equilibrio será alcanzado cuando el producto de los aniones y cationes permeables sea el mismo a cada lado de la membrana, a saber:

$$|Na^{\cdot}|_2 \cdot |Cl'|_2 = |Na^{\cdot}|_1 \cdot |Cl'|_1.$$

Los índices 1 y 2 que colocamos en la parte inferior de los paréntesis que encierran los iones indican cada uno de los lados de la membrana. Es evidente que obtendremos la neutralidad eléctrica cuando tengamos:

$$|Na^{\cdot}|_1 = |R'| + |Cl'|_1 \text{ y } |Na^{\cdot}|_2 = |Cl'|_2,$$

pudiendo escribir la posición de equilibrio anteriormente indicada, así:

$$|Na^{\cdot}|_1 \, |Cl'|_1 = |Na^{\cdot}|_2^2 = |Cl'|_2^2$$

En esta situación se ve bien claramente que $|Na^{\cdot}|_1$ no podrá ser igual a $|Na^{\cdot}|_2$ y que $|Cl'|_1$ tampoco será igual a $|Cl'|_2$. La desigual distribución a uno y otro lado de la membrana de los iones $Na^{\cdot}$ y Cl' será exclusivamente debida a la presencia en uno de ellos del ion no difusible R′; de no haber sido así, la distribución hubiera sido uniforme en ambos lados.

Estos hechos revisten la mayor importancia, si tenemos en cuenta que las membranas celulares limitan por uno de sus lados con iones no difusibles, constituídos por las grandes moléculas de proteínas, cabiendo esperar en estas circunstancias una desigual distribución de electrólito difusible dentro y fuera de la célula. Posiblemente, el exacto fundamento de la desigual distribución (véase pág. 61) de los electrólitos en la superficie de la célula puede atribuirse a este equilibrio de membrana, ya que en muchas ocasiones la distribución de aquéllos dentro y fuera de la célula se realiza siguiendo las proporciones que eran de esperar según este modo de ver. Un hecho importante en relación con lo que hemos señalado es el que se deduce al afirmar que cualquiera que sea la importancia atribuída al descubrimiento de esta forma de equilibrio no aporta una simplificación apreciable al problema fundamental de la permeabilidad de la membrana. El equilibrio de DONNAN nos dará razón de ciertas diferencias observadas en la distribución de algunos iones difusibles cuando existen iones no difusibles (por ejemplo, los formados por las proteínas a uno de los lados de la membrana); sin embargo, no será valedero para explicar por qué la membrana es permeable para un ion e impermeable para otro. En confirmación de lo que decimos veamos lo que sucede con el ion potasio, cuya concentración dentro del hematíe es mayor que la que presenta el plasma en el cual están sumergidos; esto puede explicarse, en parte, apoyándose en el equilibrio de membrana; sin embargo, tal interpretación no puede extenderse al hecho de que la membrana ofrezca una permeabilidad distinta para cada uno de los iones $Na^{\cdot}$, $K^{\cdot}$ y Cl'.

La difusión en los procesos fisiológicos. La propiedad que poseen todas las substancias disueltas de pasar de las zonas de mayor a las de menor concentración tiene una gran importancia en fisiología, por intervenir en las funciones de absorción alimenticia y en las de eliminación de los productos de desecho. En algunos organismos inferiores, como las bacterias, los procesos de absorción y secreción no son otra cosa que sencillos fenómenos de difusión; en los organismos más elevados estos procesos son de la misma naturaleza, pero tienen lugar por intermedio de estructuras diferenciadas para esta función. La difusión, considerada en sí misma, es un fenómeno de tal sencillez que sus aplicaciones fisiológicas serán puestas de manifiesto mediante una serie de ejemplos.

I. En los vegetales, la absorción de alimentos se halla limitada a la incorporación de un corto número de substancias principalmente en forma de sales solubles conteniendo los elementos siguientes: N, S, P, K, Ca, Mg y Fe. Estas substancias forman soluciones con el agua del suelo, siendo las membranas de las células que constituyen las raíces permeables para todas y cada una de ellas. Los vegetales pueden asimilar las substancias nutritivas por un sencillo proceso de absorción, ya que el contenido de sales en el suelo es casi siempre más elevado que en el interior de la célula. Para explicar adecuadamente la penetración de estas substancias tenemos que recurrir a la idea de la *absorción continua* por las razones siguientes. Es bien sabido que muchas de las substancias esenciales para la vida de los vegetales son absorbidas aun en soluciones muy diluídas, y también que la absorción de las sales continúa a pesar de que la célula haya acumulado en su interior grandes cantidades de aquéllas que son difusibles. Si admitimos en estas circunstancias un sencillo proceso de difusión que no vaya acompañado de alguna transformación química concomitante, evidentemente la continuación del proceso sería imposible al llegar la concentración de sal en el interior de la célula a valores equivalentes a la concentración del medio.

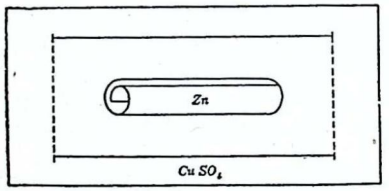


FIG. 23. Esquema de un modelo para demostrar la absorción continua

Esta absorción continuada puede explicarse admitiendo la posibilidad de una combinación química entre las sales absorbidas y los componentes del protoplasma celular tan pronto como aquéllas penetran en las células, siendo de esta manera incapaces de poner de manifiesto su influencia osmótica. Para la mejor comprensión de este fenómeno pondremos el ejemplo físico siguiente: Supongamos un saquito de colodión lleno de una solución de tanino, el cual sumergimos a su vez en una solución de cloruro férrico. El tanino no pasará a través de la membrana; no obstante, el cloruro férrico podrá atravesarla, y al ponerse esta sal en contacto con el tanino formará tanato de hierro, para el cual la membrana es impermeable. En estas condiciones la concentración de equilibrio del cloruro férrico en el interior de la célula no llega nunca a establecerse, a menos que la capacidad de combinación del tanino sea sobrepasada, y la difusión continúa hasta que todo el cloruro férrico de la solución externa queda absorbido. De un modo semejante, las células de las raíces de los vegetales toman del medio nutricio circundante todas las sales que convienen a su metabolismo, combinándose tan pronto como penetran en el interior de la célula con las substancias citoplasmáticas.

Un ejemplo físico más demostrativo todavía es el siguiente: Se coloca en el interior de un tubo de vidrio lleno de agua una hoja de zinc arrollada; los extremos del tubo son luego obturados mediante sendas membranas de papel pergamino, y todo ello se sumerge a su vez en una solución diluída de sulfato de cobre. La sal de cobre difunde hacia el interior del tubo y reaccionando con el zinc forma sulfato de zinc, dejando sobre la hoja arrollada un depósito de cobre. Esta reacción tiene lugar mientras quede sulfato de cobre en la solución, ya que en el interior del tubo no puede formarse sal alguna de cobre. Al mismo tiempo tiene lugar un fenómeno hasta cierto punto opuesto, que consiste en el paso del sulfato de zinc formado fuera del tubo, ya que dentro de éste la concentración de la sal que va formándose es más grande que en el exterior. Tenemos aquí un modelo físico sencillo mediante el cual podemos producir un doble proceso de "absorción continua" el uno, y de "excreción continua" el otro. Si al mismo tiempo que sulfato de cobre, la solución externa contiene glucosa, el experimento puede ofrecernos un mayor interés todavía, porque absorbiéndose el sulfato de cobre de un modo continuo, como en el caso anterior, la glucosa sólo es absorbida en una proporción muy pequeña, ya que la imposibilidad de combinación química entre la glucosa y los elementos que integran el experimento evita que pueda realizarse la absorción continua del azúcar. En la vida de los vegetales, del mismo modo que en la de los seres de la escala zoológica, tiene lugar la absorción selectiva, pudiendo explicarse esta propiedad por la simultaneidad con el proceso físico de difusión de otro fenómeno de naturaleza química entre la substancia difusible y los componentes de la célula. El *aspergillus niger*, por ejemplo, en presencia de una solución que contenga glucosa y glicerina, absorbe la primera de estas dos substancias, pero no la segunda; esto puede ser debido a que la glucosa forme con los constituyentes del citoplasma un compuesto, mientras que la glicerina probablemente no reacciona con ellos.

II. Varias substancias pasan a través del aparato digestivo de los animales superiores, de la misma manera que hemos visto pasaban las sales difusibles por las raicilla de los vegetales. La primera condición que se necesita es que estas substancias sean capaces de pasar a través de las membranas de las células epiteliales. Las proteínas y el almidón, por ejemplo, no son absorbidos por el intestino porque el tamaño de sus moléculas es demasiado grande; pero si estas substan-

cias han sufrido previamente su desdoblamiento en pequeñas moléculas de aminoácidos y hasta la fase de monosas respectivamente, podrán atravesar las membranas celulares del epitelio intestinal y, una vez absorbidas, pasar al interior de la corriente sanguínea. Al mismo tiempo es necesario para que el proceso de difusión tenga lugar que la concentración de las substancias en el interior del intestino sea superior a la concentración de éstas dentro las mismas células. Hemos visto cómo esto se efectúa en el caso de las células vegetales, y no existe razón para negar aquí la posibilidad de que también se produzca el fenómeno de la absorción continua que conduciría a la completa desaparición de las substancias difusibles del intestino.

III. En el riñón, el proceso que nos ocupa constituye principalmente un proceso excretorio. En el glomérulo, la sangre que circula por el apelotonamiento vascular se halla separada del comienzo del aparato excretor sólo por una fina capa de células endoteliales, que actúa de un modo semejante a una membrana semipermeable. La presión sanguínea impulsa el agua junto con las substancias difusibles a través de esta membrana hacia la cápsula y luz tubular, apareciendo por este mecanismo en el filtrado glomerular, junto con el agua, las sales y los azúcares. Las proteínas quedan retenidas en la sangre, no pasando en circunstancias normales a través del epitelio de la cápsula glomerular.

El hecho de encontrar glucosa en el filtrado glomerular, sin que luego aparezca en la orina normal, indica que ha debido ser reabsorbida en algún punto del tubo urinífero, suponiéndose que esta reabsorción tiene lugar en los túbulos, y según algunos autores en las asas de HENLE. Los túbulos intervienen también de un modo activo en la eliminación de las substancias nitrogenadas como la urea, planteándose con tal motivo la siguiente cuestión: ¿Puede invocarse, para explicar el funcionamiento de una célula que excreta y absorbe al mismo tiempo, un sencillo proceso de difusión? Además, ¿puede este mismo proceso físico dar cuenta del porqué una substancia como la urea es excretada por las células del túbulo, pasando desde el plasma sanguíneo, en donde la presión osmótica es relativamente baja con respecto a la que corrientemente existe en el interior de la luz tubular?

Una substancia disuelta pasará constantemente de los puntos en que su concentración es mayor a los puntos de concentración más baja, sin que en este fenómeno influyan para nada la presencia o las concentraciones de otras substancias disueltas. Tomando como ejemplo lo que sucede con una célula osmótica de paredes rígidas, llena de una solución de azúcar y sumergida en una solución salina isotónica con respecto a aquélla, veremos que, aun sin existir ninguna diferencia apreciable de presión osmótica, el azúcar difundirá fuera del elemento osmótico, mientras que la sal penetrará en su interior hasta que la concentración de ambas substancias a los dos lados de la membrana sea la misma. Cada substancia pasará, pues, de los lugares en que se encuentre a mayor concentración a los de concentración más baja, de un modo en absoluto independiente del

comportamiento de la otra substancia difusible. Supongamos ahora que la célula que contiene solución de azúcar sea sumergida en una solución salina hipotónica; la sal difundirá de nuevo a pesar de que en el interior de aquélla el azúcar se encuentre a una elevada concentración, y también el azúcar difundirá hacia fuera repartiéndose en la solución salina. Este proceso dejará de producirse en el preciso momento que se igualen las concentraciones de sal y de azúcar dentro de la célula con las del líquido que la rodea, y sería la representación de un doble proceso por parte del elemento osmótico, el cual segregaría azúcar al mismo tiempo que absorbería sal. Finalmente, imaginemos que la membrana de la célula fuera impermeable para el azúcar, pero permeable para la sal, y que se halle sumergida en una solución de sal de menor presión osmótica que la que representa el azúcar contenido en su interior; en tales condiciones la sal difundirá hacia el interior de la célula, aunque la presión osmótica sea aquí mucho mayor que la de la solución salina que la baña, cesando el fenómeno de difusión tan pronto como las concentraciones de sal sean las mismas a los dos lados de la membrana. En estas condiciones, la presencia de la glucosa no ha influído lo más mínimo en el fenómeno de difusión a causa de la impermeabilidad de la membrana para dicha substancia, y al final del experimento la presión osmótica del contenido de la célula será mayor que al comienzo, aun cuando al iniciar el mismo ya fuera mayor que la del líquido externo. Estos ejemplos demuestran que es posible la difusión de una substancia desde zonas en las cuales la presión osmótica es baja a zonas en que los valores osmóticos son más elevados, siempre y cuando la concentración de la substancia que difunda sea mayor en la primera de éstas que en la última. Por lo tanto, la imposibilidad física, contraria a las leyes de la difusión, en virtud de la cual una substancia no podría pasar de la sangre a la orina por el hecho de que la presión osmótica de aquélla es inferior a la de ésta, no es cierta y se halla tan desprovista de fundamento como la interpretación que se ha dado de este fenómeno al atribuirlo a una "fuerza vital" desconocida.

IV. El cambio de gases por el pulmón nos ofrece excelentes ejemplos de procesos fisiológicos de difusión. La fina capa de epitelio que recubre las cavidades alveolares actúa como una membrana que separaría los gases contenidos en los alvéolos de los gases del torrente circulatorio, produciéndose a su través una doble corriente de difusión que va de los alvéolos a la corriente sanguínea, y de ésta a aquéllos en virtud de diferencias de presión. Como en el caso de cualquier solución de otras substancias, cada uno de los gases se comporta con absoluta independencia con respecto a los otros, teniendo lugar la difusión desde los sitios de mayor concentración a los de menor concentración, y midiéndose estas concentraciones aisladamente para cada gas, las cuales se conocen con el nombre de *presión parcial* del gas de que se trate, es decir, la proporción en que intervienen los diferentes gases para producir la presión total. Este método de medición

no constituye, en realidad, una nueva técnica, ya que también hemos medido de un modo análogo la concentración de otras substancias, determinando el ClNa de una solución como si esta sal se encontrase sola; es lo que se denomina "presión osmótica parcial" en sustitución del término gramos de ClNa por litro; pero en la práctica se usa muy poco. Para aclarar el significado de presión parcial podemos recurrir a un ejemplo concreto: si el aire en los alvéolos contiene una concentración de oxígeno equivalente al 14 %, ésta equivaldrá a una presión atmosférica de 760 mm. de mercurio, a 100 mm. de mercurio de presión parcial, ya que el oxígeno en estas circunstancias representa el 14 % de la presión total. De un modo análogo, si el aire alveolar contiene 4,7 % de CO_2, la presión parcial de este gas será igual a 36 mm. de mercurio, o sea el 4,7 % de la presión total.

En la sangre venosa que llega a los pulmones, el O_2 tiene una *tensión* que equivale fundamental y numéricamente a la presión parcial de unos 55 mm. de mercurio, mientras que el CO_2 tiene sólo una tensión de 42 mm. Un simple proceso de difusión producirá el paso de O_2 desde el aire alveolar a la sangre y el paso de CO_2 desde la sangre al aire alveolar. En esta forma la sangre toma oxígeno a su paso por los pulmones y al mismo tiempo desprende CO_2. El proceso de difusión no se interrumpe nunca, ya que tan pronto como una cantidad de sangre ha sido oxigenada es reemplazada por otra, bastando el corto espacio de tiempo que circula sangre por los capilares del pulmón para que la oxigenación de ésta sea suficiente. El proceso de difusión alcanza rápidamente su equilibrio; este mismo proceso para alcanzar la situación de equilibrio en un osmómetro necesita horas enteras, mientras que en el organismo el mismo fenómeno tiene lugar en unos pocos segundos, rapidez que es debida sin duda a la gran superficie a través de la cual puede realizarse la difusión. Además, los glóbulos rojos se saturan de oxígeno en una fracción de segundo.

Cuando la sangre oxigenada en la cual la tensión de O_2 es de unos 100 mm. llega a los capilares y se pone en íntima relación con las células de los tejidos, cede oxígeno a éstas, ya que en las células la tensión de O_2 es muy próxima a cero. Aquí tenemos de nuevo un caso de absorción continua, porque tan pronto como el O_2 penetra en la célula entra en reacción de un modo más o menos estable con las substancias que constituyen el citoplasma, y de este modo el *desnivel de difusión* entre la sangre y los tejidos se mantiene siempre, por ser la concentración de oxígeno en la sangre más elevada que la de los tejidos, pudiendo éstos obtener en todo momento el suministro de oxígeno que necesiten. La cesión del oxígeno de la sangre a las células no supone el empobrecimiento excesivo de este gas en el medio interno, ya que después de haber salido de los capilares la sangre posee todavía una tensión de 55 mm. de O_2.

Presión osmótica de los humores orgánicos. La comprobación de la presión osmótica de un líquido orgánico cualquiera presenta,

en la mayor parte de casos, serios inconvenientes y en alguna ocasión es imposible la mensuración valiéndose del osmómetro, ya que esta clase de aparatos precisan para su funcionamiento una cantidad considerable de líquido problema. Por esta razón se emplea corrientemente un método indirecto, que consiste en determinar el punto de congelación del líquido, calculando la presión osmótica a base del valor así obtenido, refiriéndolo al punto de congelación del agua. Esta técnica se denomina *método crioscópico*. La solución molar de una substancia cualquiera desarrolla una presión osmótica equivalente a 22,4 atmósferas y presenta un punto crioscópico de 1,86°. Para obtener la presión osmótica P de una solución calculada en atmósferas utilizaremos la sencilla fórmula siguiente:

$$P \quad \frac{\Delta \cdot 22{,}4}{1{,}86}$$

en la cual Δ indica el descenso del punto de congelación en grados centígrados. Por ejemplo, si el punto de congelación de un flúido es igual a —0,5°, entonces $\Delta = 0{,}5$, y valiéndose de la fórmula antes indicada obtendremos que la presión osmótica ejercida por dicho flúido será igual a 6,02 atmósferas. Aunque este método parece de una gran sencillez, conviene recordar que presenta algunos inconvenientes técnicos de importancia, que no referiremos con detalle en aras a la brevedad de este libro. El principal de los inconvenientes del método consiste en la imposibilidad de ser aplicado con cierto grado de exactitud para la determinación del punto de congelación de las soluciones coloidales y especialmente para el de aquellas que, como el suero sanguíneo, contienen grandes cantidades de proteínas.

FIG. 24. Representación esquemática del método de la presión del vapor para medir la presión osmótica

Otro método para evaluar la presión osmótica es el llamado *método de la presión del vapor*, debido a BARGER. Su fundamento consiste en determinar las variaciones de la tensión del vapor del líquido problema, las cuales dependen, lo mismo que hemos visto con los puntos crioscópicos, de la presión osmótica de aquél. Si colocamos dos gotitas de líquidos de diferente concentración muy cerca una de otra, pasará una cierta cantidad de vapor desde la gota menos concentrada a la de mayor concentración, del mismo modo que si el aire que las separa fuera una membrana. Siguiendo la técnica de BARGER, se colocan en tubos capilares pequeñas porciones del flúido cuya presión osmótica se desea determinar, y luego pondremos lo más cerca posible de éstas otros volúmenes semejantes de diferentes soluciones, cuyos valores osmóticos respectivos sean conocidos. Así dispuesto el experimento, se mide cuidadosamente la longitud de cada una de las columnas líquidas tan pronto como las hayamos introdu-

cido en el tubo capilar, verificando una nueva medición al cabo de un período de tiempo que pueda variar entre media y una hora, por si se hubiera producido algún cambio en la longitud de la columna. Repitiendo estos ensayos con un gran número de concentraciones de ClNa, llegaremos a encontrar una ante la cual la gotita de líquido problema permanecerá invariable, sin transferir ni recibir ninguna cantidad de agua. El valor de la presión osmótica de esta concentración de ClNa será el mismo que el del líquido problema, porque ambos poseen la misma presión de vapor. Lo mismo que el de la crioscopia, este método presenta algunas desventajas, la principal de las cuales consiste en la dificultad de utilizarlo para determinar la tensión de líquidos que contengan grandes cantidades de proteínas.

Los resultados de la aplicación de estos métodos pueden verse por algunos valores de la presión osmótica de diferentes sueros. Los valores se indican en dos formas, con los obtenidos mediante la determinación del punto crioscópico y también con los valores en atmósferas que pueden determinarse utilizando la fórmula antes indicada.

Líquido		Δ	P, en atmósferas
Suero sanguíneo.	hombre	0,526	6,33
	buey	0,585	7,04
	caballo	0,564	6,79
	cerdo	0,615	7,40
	conejo	0,592	7,12
	perro	0,571	6,87
	gato	0,638	7,68
	carnero	0,619	7,45

Estos valores son muy constantes, de suerte que la presión osmótica del suero sanguíneo de cualquiera de los mamíferos puede considerarse equivalente a la de una solución 1/6,4 molar de ClNa (0,9 gramos por ciento), o a la de una solución de glucosa 1/3,2 molar. Corrientemente se toma como solución isotónica la solución de ClNa al 0,85 %, sin que para ello exista ninguna razón aparente; sin embargo, esta ligera diferencia carece de importancia en la práctica.

En las aves, la presión osmótica del suero sanguíneo es aproximadamente la misma que la del suero sanguíneo de los mamíferos; en los reptiles es más baja, especialmente en los reptiles de agua dulce, como el *Emys*, presentando también valores bajos en los anfibios. En los peces existe una marcada diferencia entre la presión osmótica del suero sanguíneo de los peces elasmobranquios y de los teleosteos, teniendo los primeros un suero cuya concentración es muy semejante a la del agua del mar, y los últimos valores más aproximados a los que hemos visto para los mamíferos. A continuación damos algunas de estas cifras. La presión osmótica puede calcularse multiplicando el punto crioscópico por 12,04 (22,4/1,86).

Animal	Δ
Anfibios	
Rana esculenta	0,465
Salamandra maculata	0,479
Reptiles	
Emys europea	0,474 (agua dulce)
Emydura macquariae	0,550
Thalassochelys caretta	0,610 (agua de mar)
Elasmobranquios	
Torpedo marmorata	2,26 agua de mar = 2,3
Mustellus vulgaris	2,36
Trygon violacea	2,44
Teleosteos marinos	
Charax puntazzo	1,04
Box salpa	0,84
Teleosteos de agua dulce	
Anguilla vulgaris	0,62
Barbus fluviatilis	0,55
Perca fluviatilis	0,51
Tinca vulgaris	0,51

A estas diferencias de presión osmótica se les ha atribuído un significado en el desarrollo evolutivo; las formas filogenéticamente más primitivas de peces, por ejemplo, tienen un suero cuya presión osmótica es muy semejante a la del medio en que viven, mientras que las formas más altamente diferenciadas mantienen su medio interno a una concentración muy cercana a la que es característica de los mamíferos. Esta interpretación ofrece cierto apoyo en favor del hecho de que los huevos de las aves presentan una presión osmótica menor que el suero sanguíneo de las mismas, que ha sido utilizado a su vez para sostener la idea de que las aves descienden de tipos zoológicos en los cuales la presión osmótica del suero sanguíneo es baja; v. gr., de los reptiles.

A medida que vamos descendiendo en la escala animal podemos constatar que la presión osmótica de los líquidos orgánicos se va haciendo cada vez más parecida a la del medio en que viven. El punto crioscópico del agua de mar es — 2,3°, y a continuación expresamos los valores que se han obtenido determinando por crioscopia la concentración de los líquidos internos de algunos invertebrados.

Especie animal	Δ
Celenterados	2,2
Equinodermos	2,3
Gusanos	2,3
Crustáceos	2,3

Cuanto más se asciende en la escala zoológica podemos observar no sólo un descenso de los valores de la presión osmótica de los humores, sino también una capacidad de regulación cada vez más acentuada para mantener constante la concentración. En los mamíferos, aves y reptiles, las variaciones son muy pequeñas, pudiendo llegar a un 5 %. En los anfibios, esta variabilidad es algo mayor. En los peces, y especialmente en los elasmobranquios, las variaciones pueden ser muy grandes, siguiendo muy de cerca el valor de la presión osmótica del medio en que viven. Este hecho puede comprobarse en el suero de las rayas, que tiene en Kiel una presión osmótica más baja que el de las rayas del mar del Norte, siendo el punto de congelación del agua marina en la primera localidad de — 1,1°, mientras que la del mar del Norte es de — 1,9°.

Los invertebrados poseen muy escaso poder regulador de la presión osmótica de su organismo, y depende de la que tenga el líquido en que viven, siendo éste el motivo de la muerte de algunos organismos marinos cuando se les coloca en agua dulce.

Soluciones salinas fisiológicas. La extrema sensibilidad de muchas células para la tonicidad y composición de los líquidos que las rodean hace necesario que al separarlas de su ambiente natural para su estudio *in vitro* las conservemos en soluciones que tengan aproximadamente la composición del plasma sanguíneo. Estas soluciones se denominan *soluciones salinas fisiológicas* o *soluciones fisiológicas*. Se han propuesto otras varias denominaciones que no han tenido éxito.

Las condiciones que debe reunir una solución fisiológica son, en primer lugar, la isotonía con respecto a las células que hayan de bañar, y además que posea el equilibrio iónico adecuado para que no se alteren las condiciones de permeabilidad de la membrana celular. Así, por ejemplo, cuando los líquidos para perfundir el corazón contienen un exceso de Na^+, aunque la solución empleada sea isotónica producirán el paro de las contracciones cardíacas; un exceso de K^+ producirá un efecto análogo, y un exceso de Ca^{++} producirá un fuerte estado de contractura del músculo cardíaco. Para conseguir el funcionamiento normal será preciso perfundir el corazón con una solución que contenga proporciones adecuadas de los tres iones citados y que al mismo tiempo sea isotónica con las células musculares del mismo. Los líquidos utilizados para obtener suspensiones de glóbulos rojos tendrán que contener también Na^+, K^+ y Ca^{++} en proporciones adecuadas, ya que el predominio de uno de éstos altera la permeabilidad de la membrana globular. Además es conveniente que los líquidos de perfusión contengan una cierta cantidad de oxígeno para la oxigenación de los órganos perfundidos y también la presencia de una substancia nutritiva como la glucosa.

La composición exacta de las soluciones fisiológicas depende de la naturaleza del tejido que sea necesario poner en contacto con ellas. Ringer fué el primero en emplear este tipo de soluciones para la

perfusión del corazón de rana, siendo la composición de este líquido como sigue:

ClNa	6,0 gr.	CO_3HNa	0,2 gr.
ClK	0,14 »	Agua hasta 1 litro.	
Cl_2Ca	0,12 »		

Con frecuencia se añaden a esta solución 2 gramos de glucosa, adición que es preciso efectuar en el momento de utilizarla, pues de lo contrario el líquido se contamina formándose colonias de hongos.

Para la perfusión del corazón de mamífero se acostumbra a emplear la solución de Locke, que tiene una presión osmótica algo más elevada. Su composición es:

ClNa	9,0 gr.	CO_3HNa	0,1 gr.
ClK	0,42 »	Glucosa	2,0 »
Cl_2Ca	0,24 »	Agua hasta 1 litro.	

Para su uso conviene oxigenarla, haciendo burbujear a su través oxígeno o aire.

Para las experiencias sobre intestino de gato o de conejo se emplea la solución de Tyrode, que contiene pequeñas cantidades de Mg.

ClNa	8,0 gr.	PO_4H_2Na	0,05 gr.
ClK	0,2 »	CO_3HNa	1,0 »
Cl_2Ca	0,2 »	Glucosa	1,0 »
Cl_2Mg	0,1 »	Agua hasta 1 litro.	

Uno de los mejores medios de suspensión para los hematíes es la solución de Brinkmann, también usada con resultados satisfactorios como líquido de perfusión.

ClNa	7,0 gr.	Cl_2Ca	0,2 gr.
ClK	1,0 »	CO_3HNa	2,0 »

Se hace burbujear a través de la solución CO_2 hasta que la concentración de hidrogeniones sea igual a 0,45 (10^{-7}). Parece que esta solución presenta la propiedad de no alterar la relación lecitina colesterol de la membrana celular.

Se utilizan otras varias soluciones fisiológicas para determinados usos, aunque algunas de ellas no presentan el equilibrio iónico necesario para los experimentos de perfusión. Las dos más importantes son la solución M/3 de glucosa y la solución de citrato sódico al 2 %; la primera se utiliza para obtener suspensiones celulares libres de electrólitos; la de citrato, en la investigación hematológica para obtener sangre y evitar la coagulación de la misma.

Experimentos de Leduc. Un aspecto de los fenómenos de difusión relativamente poco estudiado es la propiedad que tienen de producir modificaciones morfológicas en los sistemas en que se producen cambios de concentración. Esto será mejor comprendido con algunos ejemplos, muchos de los cuales han sido descritos con toda clase de detalles por LEDUC.

I. Podemos considerar como *polo de difusión* un punto en el cual la concentración de la substancia disuelta, y por lo tanto la presión osmótica sea elevada, tendiendo las moléculas a separarse del núcleo más concentrado, mientras que las moléculas de agua se verán atraídas hacia él. De un modo análogo, si consideramos una zona en la cual la concentración de la substancia disuelta sea baja, y en consecuencia lo sea también su presión osmótica, constituirá un polo de difusión de distinta naturaleza, ya que las moléculas de agua tenderán a separarse de él, mientras que las moléculas de la substancia disuelta serán atraídas. Considerando los polos desde el punto de vista del movimiento de las substancias disueltas y del que presentan las moléculas de agua, llamaremos al polo hipertónico *polo positivo*, y al hipotónico *polo negativo*.

Podemos realizar la diferenciación de los distintos polos mediante la técnica siguiente: Para demostrar el polo de difusión negativo basta colocar una gota de tinta china en el centro de un pedazo de vidrio cubierto con una fina capa de salmuera. El agua pasará desde la gota a la salmuera circundante, formando un conjunto de estriaciones radiadas al acarrear consigo las partículas de tinta china, formando una imagen en forma de roseta. Más tarde los radios de esta roseta se prolongan, mostrando las más bellas formas al seguir las corrientes de difusión. El polo positivo puede ser puesto en evidencia por un procedimiento inverso; por ejemplo, colocando una gota de tinta china mezclada con salmuera sobre un vidrio cubierto de agua.

Cuando se producen dos polos de difusión dispuestos a corta distancia uno de otro, las líneas de difusión entre ambos adoptan una dirección análoga a las líneas producidas entre los polos de dos electroimanes, repeliéndose los polos similares y atrayéndose los de distinto signo. Las líneas a lo largo de las cuales se produce la difusión pueden ser puestas de manifiesto colocando dos gotitas de tinta china muy próximas sobre un vidrio en el cual se ha extendido previamente una capa de salmuera. Las líneas de difusión se disponen en sentido radiado, teniendo como centro cada una de las gotas, y al llegar a ponerse en contacto se repelen mutuamente, formando así una imagen exactamente igual a la que se obtiene cuando ponemos polvillo de hierro sobre un papel debajo del cual colocamos los polos de un electroimán. Otra interesante demostración de este fenómeno puede realizarse barnizando la superficie de una placa de vidrio con una solución de gelatina al 10 % a la cual se han añadido unas pocas gotas de solución concentrada de arseniato sódico. Una vez se ha secado la gelatina, colocamos dos gotas

de nitrato de plata que contenga indicios de ácido nítrico en la superficie de gelatina, separadas por una distancia de unos 3 cm. Se produce un lento proceso de difusión, y al cabo de unos pocos días la superficie de gelatina muestra un enorme número de líneas de arseniato de plata, corriendo cada una de ellas a través de los puntos en los cuales la concentración de la substancia difusible es igual. Examinando atentamente la forma de estas líneas veremos que en la vecindad de los polos son aproximadamente circulares, y que las líneas procedentes de un polo interfieren con las del otro, siendo reemplazada la forma circular por líneas que presentan una doble biconcavidad y en las cuales quedan incluídos ambos polos. La forma de estas líneas recuerda de un modo muy sugestivo la que presenta la sección de un glóbulo rojo de mamífero o la de los cloroblastos vegetales. Esta disposición especial ofrece la característica de estar producida por las moléculas de substancia disuelta desprendidas en un momento dado de ambos polos. Todo cuerpo sólido cuya sección

FIG. 25. *a*, polo de difusión producido con tinta china y salmuera; *b*, polos positivo y negativo conectados íntimamente. (Según LEDUC)

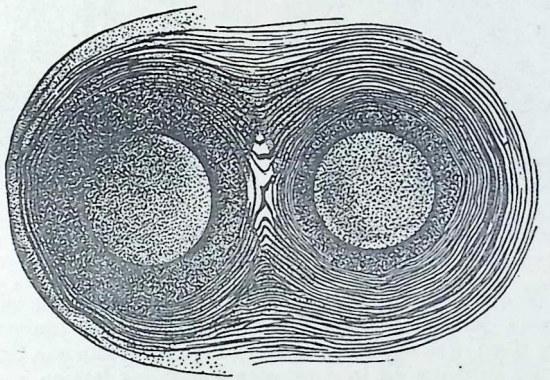


FIG. 26. Líneas de difusión producidas por dos polos de la misma naturaleza

ofrezca un contorno con esta forma se halla especialmente adaptado para difundir de la manera más eficiente un gas en su interior. Este hecho tiene indudable importancia si consideramos que los hematíes de mamífero presentan una forma semejante, que, es, según hemos dicho, la más adecuada para la rápida difusión de substancias en el interior de los mismos, siendo la que mejor armoniza con su actividad funcional más característica que es el cambio de gases.

II. También podemos obtener estructúras celulares mediante procesos de difusión. Si extendemos gelatina en una placa y dejamos caer sobre ella unas gotas de ferrocianuro potásico al 10 %, se producirán en espacios de unos 5 mm. estructuras notablemente semejantes a las de la organización celular, una vez que la gelatina se ha secado. Las gotas habrán formado por difusión un cierto número de pequeñas células poligonales, las cuales en sección presentan una forma hexagonal y aparecen como provistas de una membrana que limita un contenido homogéneo semejante al citoplasma y en su centro un núcleo de material más denso. Con técnicas especiales pueden obtenerse células provistas de bordes estriados y cilios que se producen gracias a procesos de difusión. En algunos aspectos, la producción de tales células no pasan de ser artificios experimentales sin gran trascendencia, pero que, si no otra cosa, demuestran la importancia que tienen los procesos de difusión en la determinación de las formas.

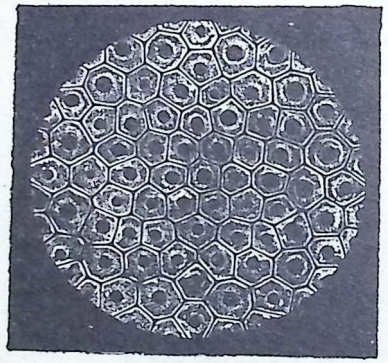


FIG. 27. "Estructura celular" producida artificialmente. (Según LEDUC)

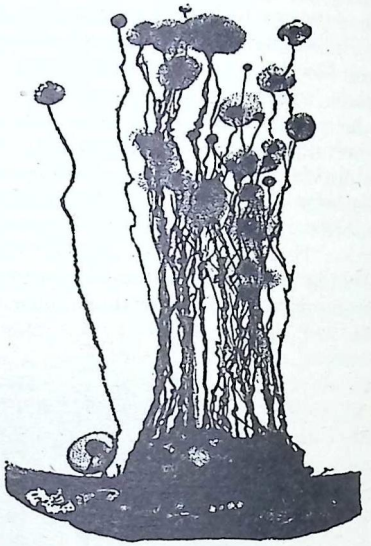


FIG. 28. Crecimiento osmótico. (Según LEDUC)

III. Más notables que los experimentos descritos anteriormente son los que se refieren a los llamados "crecimientos osmóticos", que son producidos por sencillos procesos de difusión. Estos crecimientos pueden ser obtenidos valiéndose de la solución siguiente:

Silicato potásico	.....	60 gr.
Carbonato sódico saturado	.....	60 »
Bifosfato de sodio saturado	.....	30 »
Agua	.....	hasta 1 litro

Añadiendo a esta solución fragmentos de cloruro de calcio fundido, bolitas de sulfato de cobre fundido juntamente con azúcar, fragmentos de citrato, cloruro o sulfato de manganeso, o porciones de sulfato ferroso, se producirán "crecimientos osmóticos de las formas y colores más diversos, algunos de los cuales simulan el crecimiento de vegetales y hongos. En todos los casos el mecanismo de producirse el fenómeno es el mismo. La partícula de la substancia añadida se rodea de una membrana de precipitación (semejante a la de ferrocianuro de cobre); el agua atraviesa la membrana así formada porque la concentración en su interior es más elevada que la de fuera; dicha membrana se hincha, formando una especie de balón con un contenido gelatinoso y, finalmente, este balón estalla sólo para liberar de nuevo la sal que constituye la partícula añadida, volviendo a producirse nuevamente todo el ciclo de transformaciones. En resumen, el crecimiento osmótico consiste en la formación de una serie de estructuras como las citadas comunicando entre sí, provista cada una de ellas de una membrana semipermeable que reviste un contenido coloidal gelatinoso. La naturaleza del proceso de difusión determina que cada estadio del proceso se produzca de un modo ordenado y regular, resultando la forma de cada una de las experiencias de crecimiento condicionada por el tipo de substancia empleado. Estos crecimientos osmóticos ofrecen muy poco interés desde el punto de vista del crecimiento o estructura de cualquier elemento vivo, pero confirman una vez más las posibilidades que se derivan de un proceso tan sencillo como la difusión.

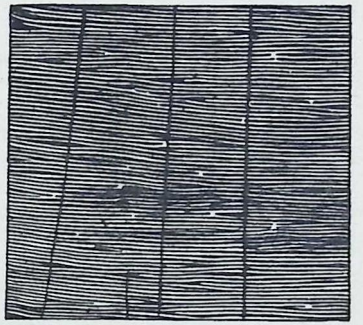


FIG. 29. Aspecto del rayado producido por precipitación periódica. Tal disposición presenta, además, una hermosa iridiscencia. (Según LEDUC)

IV. Como último ejemplo podemos referirnos a las estructuras iridiscentes producidas por procesos de difusión. Extendiendo sobre una placa 5 c. c. de solución de gelatina al 10 %, a la que hemos añadido una gota de nitrato de calcio saturado, y marcando sobre ella una línea con una solución de trifosfato sódico saturado, transcurridos uno o dos días se desarrollará un notable enrejado de difracción debido al hecho de que al difundirse el fosfato sódico forma líneas de precipitación regularmente espaciadas. La distancia entre dos líneas contiguas es de 1 μ, de lo que resulta que el enrejado ofrece una bella iridiscencia exactamente parecida a la de la madreperla, la cual muestra en efecto una estructura, brillo y color semejantes. La iridiscencia de muchas formaciones, además de la citada, puede ser debida a la producción de esta modalidad de precipitados periódicos.

Para terminar, consideraremos si es posible que en el citoplasma puedan ponerse de manifiesto polos de difusión como los que hemos descrito. En efecto, supongamos que en un punto cualquiera se produzca un proceso de catabolia, mediante el cual son descompuestas grandes moléculas en otras más pequeñas; la presión osmótica en esta área tenderá a aumentar por un incremento de concentración molecular, no existiendo inconveniente para localizar aquí un polo positivo de difusión. Por otra parte, un proceso anabólico puede convertir en una zona determinada moléculas de pequeño tamaño en otras mucho mayores, yendo acompañada esta modificación de un descenso de la presión osmótica y pudiendo producirse *in situ* un polo de difusión negativo. Por lo tanto, la actividad química del citoplasma puede dar lugar a la formación de polos de difusión como los mencionados.

Capítulo IV

La disociación de los electrólitos

Disociación electrolítica. Ya hemos visto que ciertas soluciones no siguen la regla según la cual la molécula gramo de substancia disuelta ejerce una presión osmótica de 22,4 atmósferas y presenta un punto crioscópico de 1,86°. Así, por ejemplo, la experiencia nos enseña que una solución 0,117 molar de ClNa produce un descenso del punto de congelación de 0,424 en lugar de 0,217, que es el valor que se obtiene cuando se calcula de acuerdo con la regla general, o sea que el punto crioscópico obtenido es casi doble del que cabía esperar *a priori*. En todos estos casos las soluciones se comportan como si poseyeran más de una molécula gramo por litro, es decir, i veces el número de moléculas teóricamente disueltas. Por lo tanto, los valores de crioscopia, presión osmótica, etc., obtenidos por cálculo deberán ser multiplicados por i, para que coincidan con los hallados experimentalmente. En el ejemplo anteriormente mencionado, el valor de i será igual a 1,95, y multiplicando el valor teórico 0,217 por aquél obtendremos un resultado igual al hallado experimentalmente.

Arrhenius, en 1887, propuso para explicar estos hechos la teoría según la cual estos anómalos valores del punto de congelación y de la presión osmótica debían ser atribuídos a la fragmentación de la substancia disuelta, cloruro sódico, por ejemplo, en dos o más iones, cada uno de los cuales se comportaría como una verdadera molécula a los efectos crioscópicos y de ósmosis. El ClNa se fragmentaría en $Na^{\bullet}$ ion y Cl' ion; el ClH en $H^{\bullet}$ ion y Cl' ion; el $ClNH_4$ en $NH^{\bullet}_4$ ion y en Cl' ion. Si todas las moléculas de estas substancias se fragmentan del mismo modo, tendremos exactamente doble número de iones que actuarán como verdaderas moléculas, siendo entonces el valor de i igual a 2. En el caso de los iones bivalentes el valor de i tenderá a ser igual a 3 cuando se vayan fragmentando las moléculas, ya que cada una de ellas se divide en 3 iones. Por ejemplo el Cl_2Ca se dividirá en un $Ca^{\bullet\bullet}$ ion y dos Cl' Cl' iones; de esta manera, la concentración aparente de la solución puede triplicarse, llegando i a tener el valor de 3.

No todas las moléculas de la substancia disuelta tienen que hallarse necesariamente fragmentadas o *disociadas*, ya que mientras algunas de ellas pueden hallarse en este estado, otras permanecen

formando moléculas sin disociar. Por lo tanto, debemos tener en cuenta no sólo si una substancia puede disociarse o no, sino también la intensidad según la cual puede realizarse el fenómeno en circunstancias diversas, llamándose *grado de disociación* de una solución determinada la cantidad de moléculas que se hayan ionizado.

Supongamos que sea n el número total de moléculas existentes en una solución y que n'' sea el número de moléculas disociadas; entonces tendremos que la relación $n''/n = a$ nos dará el grado de disociación. Suponiendo que el número de iones en que se disocia cada molécula es k, tendremos $a = \frac{n'' k}{n k}$; lo que significa que el grado de disociación consiste en la relación existente entre los iones libres en un momento dado y el número de los que existirían en el caso de que todas las moléculas estuvieran disociadas. Ahora, si indicamos por n' el número total de partículas (iones y moléculas) presentes en una solución que contenga n moléculas, cada una de las cuales liberase un número de iones igual a k, siendo a el grado de disociación, tendremos:

$$n' = n - an + ank,$$

$$n' = n = [1 + a\,(k - 1)]$$

y

$$n'/n = 1 + a\,(k - 1) = i.$$

De este modo obtendremos el valor de i, o sea el *coeficiente de disociación* expresado por el valor del grado de disociación a y por el número de iones liberados por cada molécula.

Examinando esta expresión veremos que cuando $a = 0$, $n' = n$ e $i = 1$, no habrá disociación. Esto es lo que acontece con substancias como la glucosa, en las cuales las cifras de presión osmótica y de crioscopia obtenidas por cálculo teniendo en cuenta su concentración molecular, coinciden exactamente con las que obtenemos experimentalmente. Si, por otra parte, todas las moléculas se disocian, $a = 1$ e $i = k$, circunstancias que pueden tener lugar con soluciones diluídas de ClH o de Cl_2Ca, el valor de i será igual a 2 para el ClH, que contiene 2 iones, e igual a 3 en el caso del Cl_2Ca, que se compone de 3 iones.

El valor de i puede obtenerse en todo caso de la relación existente entre el punto crioscópico de la solución problema y el punto crioscópico teórico, que le correspondería tomando como base el descenso del punto de congelación de una solución molar, que es igual a 1,86°. A partir de estos valores también puede ser calculado el grado de disociación a, siempre y cuando nos sea conocido el número de iones en que pueda disociarse la substancia. Refiriéndonos a un ejemplo concreto, el de una solución 0,5 molar de ClNa, veremos que da un descenso del punto de congelación de 1,7° en lugar de 0,93°, que se obtiene por el cálculo en el supuesto de que la solución molar diera un índice crioscópico de 1,86°; de acuerdo con estas cifras el valor de i es 1,82, y siendo el de k en el caso del ClNa igual a 2, tendremos que

$a = 0{,}82$, o, expresado de otra manera, diremos que en el caso particular de esta solución de ClNa, un 82 % de sus moléculas se hallan disociadas en sus iones correspondientes y sólo un 18 % se encuentra todavía formando moléculas de ClNa. Consideremos ahora los valores correspondientes a una solución de sulfato sódico 0,2 molar: su punto crioscópico será igual a 0,817° en lugar del valor teórico de 0,37°; la relación entre estas dos cifras nos dará el valor de i igual a 2,2. Ahora bien; teniendo en cuenta que el sulfato sódico da al disociarse tres iones, un ion sulfato y dos iones de sodio, tendremos $k = 3$ y $a = 0{,}6$. Por lo tanto, en esta solución se hallarán en estado de iones el 60 % de sus moléculas.

Disociación y conductibilidad eléctrica. Es un hecho universalmente establecido que las substancias que no se disocian en iones, además de acomodarse a la regla general según la cual las soluciones molares presentan un índice crioscópico igual a 1,86° y un valor osmótico equivalente a 22,4 atmósferas, son substancias que no son capaces de conducir la corriente eléctrica. De acuerdo con la teoría iónica, esto se explica por el hecho de que cuando sumergimos los electrodos en una solución que contiene una substancia ionizada, los iones positivos son atraídos hacia el electrodo negativo y los iones con carga negativa hacia el polo positivo, estableciéndose de esta suerte una doble corriente de iones en movimiento para depositarse en los electrodos. En cambio, en el caso de las substancias no electrolíticas, todas las moléculas de la solución son eléctricamente neutras, no siendo atraídas por lo tanto hacia ninguno de los electrodos y no produciéndose corriente iónica ni transporte alguno de electricidad.

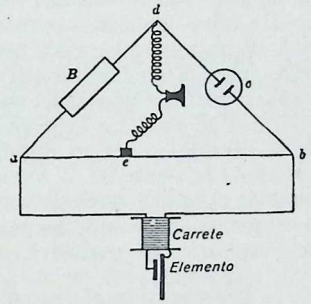


FIG. 30. Método de KOHLRAUSCH para medir la conductibilidad. La solución problema ha sido colocada en el elemento c; B es la caja de resistencia; ab es el hilo metálico del puente de WHEATSTONE; e, un contacto móvil sobre el alambre del puente y conectado a un teléfono. (Según PHILIP'S, *Physical Chemistry*. Edward Arnold y Co.)

Dependiendo el paso de la corriente a través de una solución de la presencia de iones en la misma, se deduce fácilmente que la concentración, y por lo tanto el grado de ionización, habrán de condicionar el paso de la corriente. Para determinar de un modo adecuado la conductibilidad de una solución nos valdremos de unidades de medida que expresen la *conductibilidad específica*, entendiendo por tal la que presenta un cubo de solución, cada una de cuyas caras tenga 1 cm.^{2} de área. La conductibilidad específica se representa mediante el símbolo Δ y se mide estableciendo la *resistencia* que ofrece al paso de la corriente un volumen de la solución contenido entre dos

electrodos de 1 cm.² de superficie, separados entre sí 1 cm. Siendo conductibilidad y resistencia valores recíprocos, el valor obtenido al medir la resistencia nos dará el de Δ.

La técnica utilizada actualmente para estas mediciones consiste en una modificación del procedimiento de KOHLRAUSCH, tal como la siguiente:

Se coloca la solución cuya conductibilidad se desea conocer en un pequeño elemento de vidrio, en cuyo interior se hallan dos electrodos de platino de 1 cm.² (aunque esta última condición no es estrictamente necesaria) separados entre sí por una distancia de 1 cm. Se hace pasar entonces una corriente entre los dos electrodos, la cual, para que no se produzca polarización, será generada por un pequeño carrete de inducción, dispuesto en forma que las interrupciones de su martillete sean muy frecuentes. El carrete y el elemento en que se coloca el líquido problema se conectan con un puente de WHEATSTONE, en cuyo circuito habrá también intercalada una caja de resistencia del mismo orden de grandor que pueda presentar el líquido problema. El punto medio entre la conductibilidad del elemento y la de la caja de resistencia vendrá determinado por el desplazamiento de un contacto móvil que se desliza a lo largo del alambre del puente, el cual a su vez es conectado con un dispositivo telefónico. En el esquema que representa la figura 30, la corriente pasará a través del teléfono solamente en el caso de que exista una diferencia de potencial entre *c* y *d*, de lo que se deduce que no pasará corriente a través del teléfono, y por lo tanto no se producirá en éste ningún sonido, cuando

$$\text{Resistencia en el elemento} \times \text{longitud } ac = \text{resistencia en la caja} \times \text{longitud } bc.$$

El contacto móvil se desplazará a lo largo del alambre del puente hasta que se produzca el silencio en el teléfono. Se mide entonces la longitud *ac* y la *bc*, y, conociendo la resistencia de la caja, la conductibilidad del flúido contenido en el elemento es fácilmente determinada. En el caso de que los electrodos no sean exactamente de las dimensiones requeridas, o que la separación entre ellos no sea de 1 cm., se hacen las correcciones pertinentes para referir la resistencia a la unidad determinada por la que ofrece el volumen de un cubo cuyos lados midan 1 cm., siendo esta cifra el valor recíproco de la conductibilidad específica Δ.

En realidad, es completamente imposible asegurarse de la exactitud en las dimensiones de los electrodos y también de la separación de los mismos. Para obviar estos inconvenientes, el elemento de conductibilidad es comprobado corrientemente colocando en su interior una solución cuya conductibilidad específica sea perfectamente conocida y refiriendo luego todas las conductibilidades que hallemos en los distintos líquidos problemas a la que presenta esta solución especial. La solución que se acostumbra a emplear para determinar la "constante del elemento" es la 50/M de ClK, cuyo $\Delta = 0{,}001412$ a 25 %. Para obtener buenos resultados es preciso que esta sal, lo mismo que cualquier otra que se utilice con este objeto, se halle disuelta en agua pura especial, "agua de conductibilidad".

Gracias a este método ha sido posible establecer que al diluir una sal disminuye invariablemente su conductibilidad específica, ya que como es de esperar la cantidad de iones entre los electrodos será menor en el caso de las soluciones diluídas que en el de las concentradas. Queda por examinar si la reducción de la conductibilidad es exactamente proporcional a la reducción de concentración; caso de ser así, la conductibilidad específica dividida por la dilución de la substancia problema sería una constante; en el caso contrario, el cociente tendría un valor variable. Lo que podemos expresar:

$$\frac{\Delta}{\text{dilución}} = \lambda$$

donde λ representa la relación variable o constante entre los valores antes indicados. En general, dicha relación se expresa refiriéndola no ya a la dilución de la substancia, sino al producto de la conductibilidad específica por la cantidad de disolvente que contiene la molécula gramo de substancia; y tendremos, por consiguiente:

$$\lambda = \Delta \times \text{número de centímetros cúbicos de líquido que contiene 1 molécula gramo,}$$

siendo λ entonces el llamado *equivalente de conductibilidad* de la solución.

Podemos ahora inquirir si el equivalente de conductibilidad permanece constante a medida que diluímos la solución y disminuye la conductibilidad específica. Se ha establecido de manera que no deja lugar a dudas que, al aumentar la dilución, el equivalente de conductibilidad aumenta también en mayor o menor extensión. Este hecho podrá ser apreciado con toda evidencia con la lectura de los resultados que damos a continuación para diferentes substancias.

Equivalentes molares	λ ClK	λ CH_3COONa	λ CH_3COOH
1,0	98,3	41,2	1,32
0,5	102,4	49,4	0,21
0,1	112,0	61,1	4,60
0,01	122,4	70,2	14,3
0,001	127,3	74,2	41,0
0,0001	129,1	76,8	107,0

Examinando las cifras del cuadro precedente vemos que en la primera columna (que corresponde a las diluciones de ClK), a medida que aumenta la dilución, la conductibilidad es también cada vez

mayor, aunque el aumento de esta última se realiza por variaciones muy pequeñas. El valor que corresponde a una dilución infinita puede ser obtenido por extrapolación a partir de las cifras obtenidas a distintas concentraciones y se representa con la notación $\lambda\infty$. Para el ClK, este valor ha sido determinado en 129,9, para el acetato de sodio 77,2 y para el ácido acético 351,7. Ahora bien; en una dilución tan extrema, la capacidad conductora alcanza los valores más altos posibles, y por eso el valor que representa $\lambda\infty$ se toma como indicador del número total de iones que pueden producirse por la disociación de la molécula gramo; siendo, por otra parte, λ la medida del número de iones producidos por disociación incompleta de la molécula gramo a una concentración determinada, podemos también obtener el grado de disociación α mediante la relación $\lambda/\lambda\infty$.

Tomemos, por ejemplo, una solución 0,1 molar de ClK, $\lambda = 112$; ya hemos visto que para el ClK, $\lambda\infty = 129{,}9$; por lo tanto, el grado de disociación de esta sal a la concentración indicada será igual a 112/129,9, o sea 0,86. Lo que equivale a decir que el ClK a una concentración 0,1 molar tiene el 86 % de sus moléculas disociadas en iones. Esta misma sal, a una concentración 0,001 molar, tiene λ igual a 127,3, siendo en estas circunstancias la disociación iónica igual a un 98 %. En el caso del ácido acético, en que una solución 0,1 molar tiene λ de sólo 4,6, mientras que $\lambda\infty$ alcanza el valor de 351,7, las moléculas disociadas serán sólo 1,3 %. Este mismo ácido a una dilución mucho mayor, 0,0001 molar, no tiene disociadas más del 30 % de sus moléculas, hecho que contrasta con lo que sucede con el ClH, el cual, de un modo semejante al ClK, se encuentra completamente disociado a esta concentración.

Los experimentos llevados a cabo sobre la conductibilidad de muchas substancias autorizan a clasificarlas en amplios aunque no muy bien definidos grupos, a saber: en primer término, el constituído por aquellas substancias que son consideradas como excelentes electrólitos, las cuales, en soluciones diluídas, presentan un grado de disociación muy elevado, tales como ClH, ClK, ClNa, NaOH, KOH. En el segundo grupo incluímos las substancias como el ácido acético, el amoníaco y otros ácidos monobásicos que se ionizan con dificultad.

Todos los experimentos antes indicados se han realizado a una temperatura determinada y controlada además con el mayor cuidado (las cifras del cuadro precedente fueron todas obtenidas a 18°), ya que la conductibilidad aumenta con el incremento de la temperatura en la proporción aproximada de un 2 % por grado centígrado. Este aumento de la conductibilidad no debe ser atribuído a una disociación consecutiva a ella, sino que parece ser tributario de una migración de los iones más rápida.

La conductibilidad de los líquidos orgánicos. La presencia de electrólitos en los líquidos orgánicos que bañan los tejidos confiere a éstos una conductibilidad equivalente de un modo aproximado

a la de una solución de ClNa al 0,85 %. El plasma sanguíneo es un excelente conductor, pero al diluirlo disminuye su conductibilidad en un grado mucho mayor que lo haría una solución salina. Considerando λ el valor equivalente de la conductibilidad del plasma sanguíneo sin diluir y $\lambda\infty$ el equivalente de conductibilidad de una dilución infinita del mismo, deduciremos que las sales del plasma sanguíneo se encuentran en estado normal disociadas en un 70 a 80 % aproximadamente.

La sangre total presenta una conductibilidad que sólo alcanza a la mitad del valor que es característico del plasma sanguíneo, siendo debido esta menor conductibilidad a la presencia de los glóbulos rojos, los cuales son malos conductores de la corriente en virtud de su permeabilidad selectiva con respecto a los iones del suero sanguíneo. Hallándose los hematíes en tan gran número rebajan en proporción muy considerable la conductibilidad sanguínea, hecho que indujo a Steward a fundar en esta propiedad su método para determinar la proporción entre el volumen ocupado por los hematíes y el ocupado por el plasma, encontrando para los primeros cifras que oscilan entre el 40 y el 50 % del volumen total y el 50 ó 60 % restante siendo debido al volumen del plasma sanguíneo. Estos resultados coinciden muy de cerca con los obtenidos mediante los métodos directos como el del hematocrito, al cual ya nos hemos referido antes.

Cuando las células hemáticas son hemolizadas, la conductibilidad de la sangre aumenta considerablemente, siendo este aumento directamente proporcional al número de hematíes destruídos. Este efecto es debido a la liberación junto con la hemoglobina de los electrólitos contenidos en el interior de los elementos celulares. Los electrólitos liberados gracias a la ruptura de la membrana que antes de la hemólisis no intervenían en la conductibilidad del líquido sanguíneo, modifican los valores de aquélla. Un hecho análogo ha podido ser comprobado en la citólisis de suspensiones celulares de otra naturaleza (por ejemplo, huevos de erizo de mar). Como consecuencia de la lisis celular, la semipermeabilidad de las membranas desaparece y los electrólitos y otras substancias contenidas en el interior de las células son puestos en libertad en el líquido de suspensión, aumentando gracias a este hecho la conductibilidad del sistema, del mismo modo que ya hemos visto en el caso de la sangre.

La disociación del agua. Siendo el agua el disolvente o el medio de dispersión de todas las substancias que entran en la constitución de la materia viviente, tiene un interés extraordinario considerar si el agua misma puede estar ionizada, por ejemplo, descomponiéndose en sus elementos iónicos $H^{\cdot}$ y OH'. El hecho de que el agua pura sea un mal conductor de la corriente indica de un modo evidente que el grado de disociación de la misma debe ser muy pequeño; no obstante, se ha visto que el agua destilada posee una conductibilidad mensurable, lo cual prueba que la ionización no falta de un modo absoluto.

Por este motivo es muy poco usada el agua destilada corriente en las determinaciones de conductibilidad, ya que su débil ionización es incrementada por el CO_2 y otras impurezas que la acompañan, procedentes de la superficie de los condensadores de vidrio y de los recipientes usados en el proceso de destilación. El agua pura que debe emplearse para este objeto es la procedente de destilaciones repetidas a través de un fino condensador, teniendo sumo cuidado de que en las manipulaciones no pasen partículas líquidas o sólidas al interior del condensador desde el frasco destilador. KOHLRAUSCH ha llevado esta purificación del agua hasta un límite extremado, considerándose el agua por él obtenida en estado de absoluta pureza.

Las mediciones de conductibilidad llevadas a cabo sobre el agua así purificada demuestran que la disociación en iones $H^{\cdot}$ y OH' iones tiene lugar en proporciones, aunque pequeñas, perfectamente definidas. La concentración de $H^{\cdot}$ iones expresada del mismo modo que la de otro ion cualquiera es cienmillonésimo normal, o sea $1^{\cdot}(10^{-7})$ normal. Esta concentración no es tan pequeña como parece a primera vista, ya que si tenemos en cuenta que la molécula gramo de una substancia contiene $6{,}2\,(10^{23})$, el agua pura contendrá $6{,}2.\,10^{23}.\,10^{-7}$, o sean $6{,}2.\,(10^{16})$ $H^{\cdot}$ iones por litro. Como hemos visto, 62 billones por milímetro cúbico de $H^{\cdot}$ iones no representan una cantidad despreciable considerada en sí misma, pero es realmente pequeña cuando se compara con el número total de moléculas HOH presentes, ya que sólo habrá una molécula disociada por cada 555 millones de moléculas de agua.

Teniendo en cuenta que cada molécula de agua se disocia en un $H^{\cdot}$ y OH' ion, se deduce fácilmente que en el agua pura el número de $H^{\cdot}$ debe ser igual al de OH' iones, y siendo la concentración de $H^{\cdot}$ iones 10^{-7}, la de los OH' debe ser también equivalente a 10^{-7}. Esta equivalencia entre ambos iones nos da el concepto de *neutralidad,* punto en el cual la concentración de uno y otro es igual a 10^{-7}. En el caso de que los iones $H^{\cdot}$ excedan de esta cifra diremos que la solución es ácida, debiendo en estas circunstancias ser menor el número de OH' iones en virtud de lo establecido por la ley de las masas, según la que

$$[H^{\cdot}] \times [OH'] = \text{constante},$$

cuyos valores en la neutralidad serían $10^{-7}.\,10^{-7}$, o sea 10^{-14}. Por el contrario, un exceso de OH' iones en la solución nos lleva a considerarla alcalina, y al ser mayor de 10^{-7} la concentración de OH' disminuirá proporcionalmente la de $H^{\cdot}$.

Es engorroso representar la concentración de iones $H^{\cdot}$ o OH' valiéndonos de las potencias negativas de 10. Por esta razón se utiliza en su lugar el índice potencial como número entero, denominándolo *exponente de hidrogeniones.* Éste, para el punto de neutralidad del agua, será:

$$\begin{aligned} \text{Concentración de H iones} &= 10^{-7} \\ \text{log de concentración} &= -7 \\ p\text{H} &= 7. \end{aligned}$$

Aquí el símbolo *p*H sustituye a la denominación "potencial de hidrogeniones" y nos permite indicar con una sola cifra la concentración de iones hidrógeno. Para una solución ácida tendremos, por ejemplo:

$$\begin{aligned} \text{Concentración de H iones} &= 2\cdot(10^{-3}) \\ \text{log de concentración} &= \log 2 - 3 \\ &= 0{,}301 - 3 \\ &= -2{,}69 \\ p\text{H} &= 2{,}69. \end{aligned}$$

Y para una solución alcalina:

$$\begin{aligned} \text{Concentración de OH iones} &= 2\cdot(10^{-4}) \\ \text{o sea una concentración de H iones} &= 5\cdot(10^{-11}) \\ \text{log de concentración} &= \log 5 - 11 \\ &= 0{,}699 - 11 \\ &= -10{,}3 \\ p\text{H} &= 10{,}3. \end{aligned}$$

Siguiendo la notación del *p*H tendremos el punto neutro representado por un *p*H igual a 7; los valores de *p*H inferiores a 7 (de 1 a 7) son los correspondientes a la acidez, mientras que los valores alcalinos se representarán por cifras de *p*H superiores a 7 (de 7 a 14). Puede parecer extraño que los valores alcalinos no vayan precedidos por un símbolo *p*OH, no existiendo otro argumento en contra de ello que el de la fuerza de la costumbre que ha impuesto un símbolo único.

El principiante encuentra con frecuencia muy confusa la notación *p*H, y desgraciadamente la emplea muchas veces sin tener una clara idea de su significado o de sus relaciones con conceptos más familiares para él. Esto puede evitarse recordando las relaciones existentes entre el *p*H de un ácido del tipo del ClH o de una base como el NaOH y sus distintas concentraciones molares, como puede verse en el siguiente cuadro:

Normalidad		Valores aproximados de		
		*p*H	$[H^{\cdot}]$	$[OH']$
ClH	N	0,0	1,0	10^{-14}
	0,1 N.	1,0	10^{-1}	10^{-13}
	0,01 N.	2,0	10^{-2}	10^{-12}
	0,001 N.	3,0	10^{-3}	10^{-11}
	0,0001 N.	4,0	10^{-4}	10^{-10}
	0,00001 N.	5,0	10^{-5}	10^{-9}
	0,000001 N.	6,0	10^{-6}	10^{-8}
Neutralidad		7,0	10^{-7}	10^{-7}
NaOH	0,000001 N.	8,0	10^{-8}	10^{-6}
	0,00001 N.	9,0	10^{-9}	10^{-5}
	0,0001 N.	10,0	10^{-10}	10^{-4}
	0,001 N.	11,0	10^{-11}	10^{-3}
	0,01 N.	12,0	10^{-12}	10^{-2}
	0,1 N.	13,0	10^{-13}	10^{-1}
	N	14,0	10^{-14}	1,0

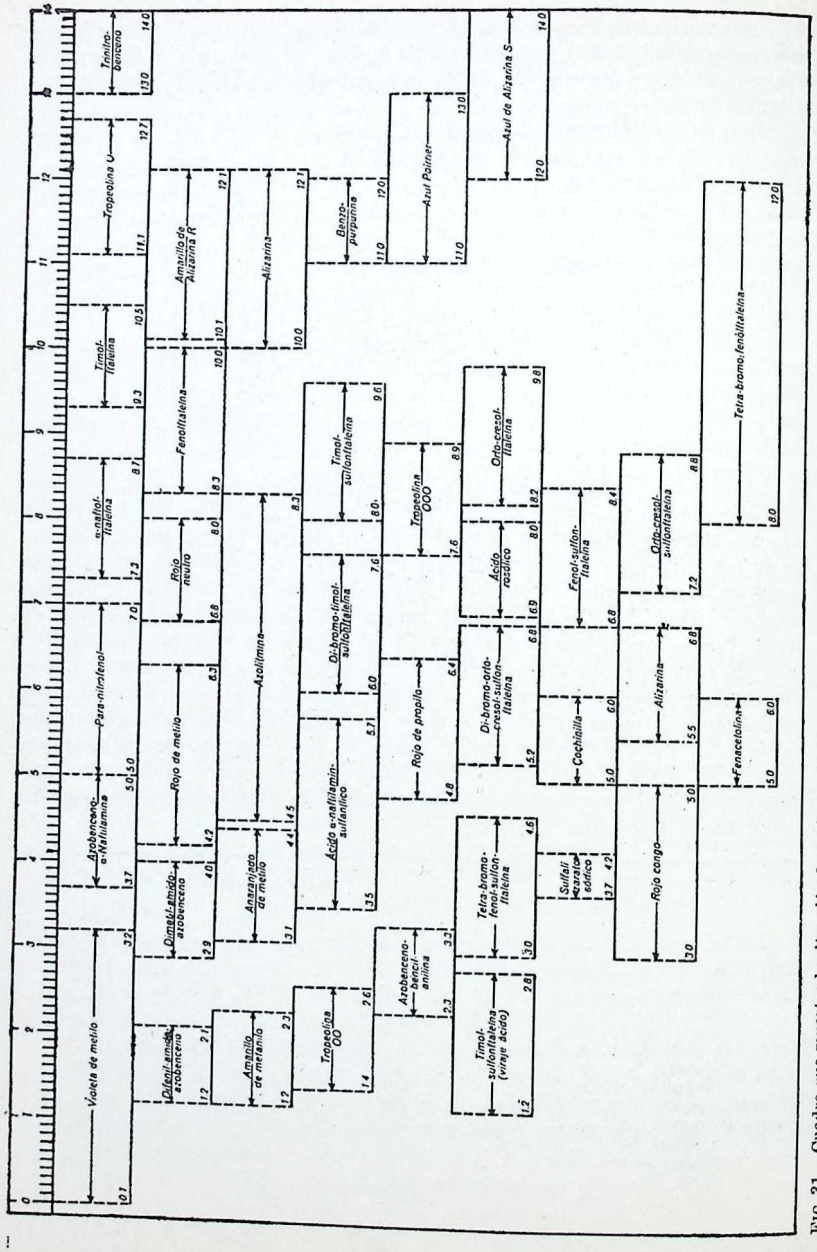


Fig. 31. Cuadro que muestra la situación de varios indicadores con respecto a distintos valores de *p*H. (Según el catálogo de Coleman Bell Co.)

Los valores indicados en el cuadro precedente no son del todo correctos, ya que suponen el ClH y el NaOH completamente ionizados, pero bastan para dar al principiante una clara idea de la relación del *p*H con la concentración de las soluciones.

Podemos observar que a medida que la concentración del ácido aumenta disminuyen los valores de *p*H, siendo éstos progresivamente mayores cuando a partir de la neutralidad las concentraciones de la solución NaOH van aumentando. Además, vemos que un cambio de concentración de 0,1 N a 0,01 N, por ejemplo, se corresponde con una variación de *p*H equivalente a una unidad de su escala, por ejemplo, desde *p*H 1 a *p*H 2. Por lo tanto, un cambio de una unidad en el *p*H corresponde a una concentración diez veces mayor o diez veces más diluída de la substancia, y por este motivo los más pequeños cambios de *p*H revisten gran importancia.

Conviene, por otra parte, recordar que el objeto del cuadro citado es puramente para aclarar el significado del *p*H, pero que la relación entre el *p*H y los distintos valores de la concentración de las soluciones no es la misma para todos los ácidos y álcalis. Acerca de este último punto habremos de insistir más adelante.

La determinación del pH. 1. Indicadores. El método más sencillo para determinar el *p*H de una solución consiste en el uso de *indicadores* especialmente seleccionados en forma que abarquen los distintos valores posibles de *p*H. A continuación damos una serie de indicadores que pueden servir para una determinación corriente, y en el cuadro de la figura 31 una serie más completa, en el cual se consignan los distintos valores de *p*H a que viran los indicadores mencionados.

Indicador	*p*H que pueden determinar			
Azul de timol	Rosa	a 1,2	Amarillo	a 2,8
Azul de bromofenol	Amarillo	a 3,0	Azul	a 4,0
Verde de bromocresol	Amarillo	a 4,0	Azul verdoso	a 5,6
Púrpura de bromocresol	Amarillo	a 5,2	Púrpura	a 6,6
Azul de bromotimol	Amarillo	a 6,0	Azul	a 7,6
Rojo fenol	Amarillo	a 6,6	Rojo	a 7,8
Rojo cresol	Amarillo	a 7,2	Púrpura	a 8,4
Azul timol	Amarillo	a 8,0	Azul	a 9,4
Azul alizarina	Verde	a 9,5	Azul	a 11,0

Para determinar el *p*H de una solución desconocida, se añade a un volumen determinado de la misma una pequeña cantidad (alrededor de 5 gotas) de una solución al 0,5 % del indicador, observando el color que toma. Es frecuente comenzar con el indicador de uno de los extremos de la serie, y una vez que se ha visto el color que toma la solución sabremos si el *p*H de la misma se halla por encima o por debajo del que corresponda al indicador utilizado; entonces se elige el indicador inmediato, y así sucesivamente hasta encontrar por ensayos sucesivos el indicador cuya variación de color se corresponda con el

*p*H buscado. Para determinar el valor de *p*H del modo más aproximado posible se recurre al uso de dos indicadores cuyos valores de viraje coloreado se interfieran, y el *p*H del problema será el correspondiente al promedio. Por ejemplo, sea un líquido problema que haga virar el rojo fenol a rojo (*p*H 7,8) y el azul de timol en amarillo (*p*H 8,0); el *p*H de esta solución estará situado entre 7,8 y 8,0 y será por lo tanto aproximadamente de 7,9.

El método ofrece una mayor garantía de exactitud si comparamos el color obtenido con un indicador determinado con el color producido cuando añadimos la misma cantidad de reactivo a una solución de *p*H conocido. Por ejemplo, sea el caso de un ensayo preliminar en el cual obtenemos para el líquido problema un valor de *p*H entre 7,8 y 8,0. Se preparan una serie de soluciones *standard* cuyos valores de *p*H varían entre 7,6 y 8,2, difiriendo unas de otras por valores correlativos de *p*H, 0,1. Se añade a cada una de estas soluciones el indicador apropiado (en este caso rojo cresol), y el color producido se compara al que se haya obtenido al añadir el mismo indicador al líquido problema. Esta comparación se efectúa valiéndose de un sencillo dispositivo *comparador,* en el cual están provistas de un modo adecuado las condiciones de iluminación, etc., para comparar el color que presenta el tubo que contiene la solución problema con el de las distintas soluciones *standard.*

Dichas soluciones estandarizadas se preparan con arreglo a fórmulas especiales, de las cuales se puede encontrar referencia amplia en cualquier libro de prácticas de química-física. Para la preparación de soluciones cuyo *p*H varíe entre 1,2 y 2,2 se recurre a mezclas de ClH y ClK; para *p*H de 2,2 a 4,0, a mezclas de ftalato potásico y ClH; las de ftalato potásico y HONa para el *p*H de 4,0 a 6,0; las de fosfato ácido de potasio y HONa para *p*H de 6,0 a 8,0, y finalmente se pueden obtener soluciones con *p*H de 8,0 a 10,0 con mezclas de ácido bórico HONa y ClK.

Para trabajos de poca precisión es suficiente recurrir a un solo indicador de los llamados *indicadores universales,* los cuales tienen la propiedad de presentar distintos colores según sea el *p*H de la solución a la cual se añadan. Estos indicadores universales no son otra cosa que una mezcla de un cierto número de indicadores sencillos, y se utilizan añadiendo a unos 5 c. c. del líquido problema una o dos gotas del indicador, el cual mostrará alguno de los colores siguientes, según sea el *p*H de la solución ensayada.

*p*H	Color	*p*H	Color
Hasta 3,0	Rojo	Hasta 8,0	Verde
4,0	Rojo oscuro	8,5	Azul verdoso
5,0	Rojo anaranjado	9,0	Verde azulado
5,5	Anaranjado	9,5	Azul
6,0	Amarillo anaranjado	10,0	Violeta
6,5	Amarillo	10,5	Rojo violeta
7,0 - 7,5	Amarillo verdoso	11,0	Rojo violeta oscuro

Con estos indicadores podemos obtener de un modo aproximado el *p*H de una solución cualquiera y, una vez conocido éste, si deseamos una mayor exactitud podemos recurrir a un indicador sencillo y adecuado, afinando aún más el resultado valiéndonos de soluciones *standard* para la comparación colorimétrica. El indicador elegido en estas condiciones debe corresponder con el *p*H hallado mediante el indicador universal.

Es innecesario advertir que estos métodos colorimétricos no son aplicables para aquellos casos en que los líquidos problemas sean opacos o coloreados. Por este motivo no pueden emplearse los indicadores en la determinación del *p*H de la sangre total; no obstante, pueden utilizarse para investigar el *p*H del suero sanguíneo, a condición de que no sea muy opalescente. De un modo análogo los indicadores prestan muy poca utilidad en el caso de ser aplicados a la determinación del *p*H de orina muy coloreada. Todo ello reduce considerablemente las aplicaciones de este método, cuyos resultados pueden ser condicionados además por el hecho de influir las proteínas y las sales disueltas en los líquidos problemas en el cambio de color de los indicadores. Por todos estos motivos, los resultados más exactos son los que nos suministra el método electrométrico.

La determinación del pH. 2. El electrodo de hidrógeno. Imaginemos una placa de metal sumergida en una solución de una de las sales de éste, por ejemplo, una placa de oro en el interior de una solución de cloruro de oro. Los iones de oro tenderán a separarse de la placa para pasar a la solución que la circunda, como ya vimos (página 9), denominándose la intensidad con que el fenómeno se manifiesta *presión de disolución electrolítica* del metal en cuestión. Los iones metálicos al desprenderse de la placa llevan una carga eléctrica positiva, dejando aquélla negativamente cargada. El desprendimiento de iones estará condicionado por la presión osmótica de la solución, cuyo valor irá aumentando proporcionalmente al número de iones añadido. Si la presión osmótica de los $Au^{\cdot}$ iones de la solución es menor que la presión de disolución, se irán desprendiendo iones de la placa, y ésta tomará cargas negativas; pero en el caso de que la presión osmótica sea mayor que la presión de disolución, no sólo no tendrá lugar el desprendimiento de iones de la placa, sino que ésta recibirá iones de la solución, adquiriendo de esta manera una carga positiva. Por lo tanto, la carga de la placa metálica, cualquiera que sea la naturaleza del metal que la constituya, será tributaria de la concentración de los iones metálicos en la solución que la rodea, y cuando esta última se halle saturada no aparecerá diferencia de potencial alguna.

Sustituyendo la placa de oro del sistema anteriormente indicado por una placa de hidrógeno, ésta tendrá un potencial que vendrá determinado por la concentraión de hidrogeniones del líquido en el que el electrodo de hidrógeno se halle sumergido, de un modo exacta-

mente igual a lo que hemos visto para el caso del electrodo de oro cuyo potencial era determinado por la concentración de los iones de oro del líquido que lo rodea. A primera vista puede parecer difícil obtener un electrodo de hidrógeno; sin embargo, la elaboración de un electrodo de esta naturaleza puede realizarse a partir de un electrodo de platino, gracias a la propiedad que tiene este metal de adsorber en su superficie una considerable cantidad de hidrógeno, la cual es mantenida por medio de una corriente de este mismo gas. En estas condiciones el electrodo de platino queda convertido en un *electrodo de hidrógeno,* cuyo potencial dependerá de la concentración de iones hidrógeno del líquido en el cual se halle sumergido. Con frecuencia se utiliza en lugar de un electrodo de platino un electrodo de oro ligeramente platinado con negro de platino, comportándose de un modo semejante en lo que hace referencia a la propiedad de saturarse de hidrógeno. El haber elegido especialmente el platino y el oro para la formación de electrodos de hidrógeno consiste en que, además de su capacidad adsorbente para dicho gas, no son influídos desde el punto de vista químico por la mayor parte de soluciones cuyo *p*H deba ser determinado.

Para medir el potencial del electrodo de hidrógeno cuando se halla sumergido en una solución determinada es preciso establecer un circuito, cosa que puede realizarse mediante el uso de dos electrodos semejantes, uno de los cuales se hallará sumergido en el líquido problema, y el otro en una solución de *p*H conocido, por ejemplo, una solución de ClH diluída. Los dos electrodos serían entonces conectados con un galvanómetro, poniendo las dos soluciones en relación mediante un recipiente que contenga solución saturada de ClK, formándose de esta suerte un circuito completo en el cual se hallarían comprendidos los dos electrodos y el galvanómetro. La fuerza electromotriz generada en este circuito puede medirse haciendo pasar una corriente de potencial conocido a través del galvanómetro en dirección opuesta a la originada por los electrodos, hasta alcanzar el equilibrio. Conocida la fuerza electromotriz desarrollada entre los dos electrodos y designándola por *e,* tendremos:

$$e = \mathrm{K} \cdot \log (\mathrm{C'_H}/\mathrm{C_H}).$$

Si utilizamos para el cálculo logaritmos naturales, tendremos que el valor de K es 0,0577; midiendo ahora la fuerza electromotriz en la forma indicada, podremos establecer con facilidad C_H la concentración de hidrogeniones en el líquido problema, suponiendo que el valor de C'_H, o sea la concentración de hidrogeniones de la solución que baña el otro electrodo, nos sea conocida. Una vez determinada la concentración de iones hidrógeno en el líquido problema, por un simple cálculo podemos expresarla con la notación de *p*H.

En la práctica, la técnica para determinar el *p*H electrométricamente difiere en algún detalle de la descripción que acabamos de

exponer. En lugar de utilizar dos electrodos de hidrógeno se acostumbra a emplear uno solo para el líquido problema, sustituyendo el otro por un *electrodo de calomelanos,* el cual consiste en un electrodo de

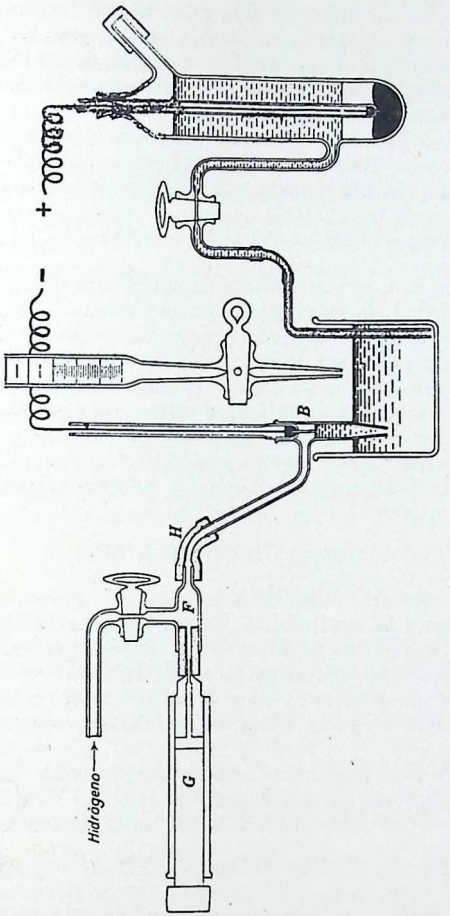


FIG. 32. Esquema de un electrodo de hidrógeno

B es el electrodo en el cual el hidrógeno pasa por el tubo *H*. El líquido cuyo *p*H haya de determinarse puede colocarse en *B*, por intermedio de la jeringa *G*, hasta que cubra el electrodo. En la parte derecha del esquema está representado un electrodo de calomelanos colocado en serie con respecto al electrodo de hidrógeno. La bureta situada en la parte media contiene la solución que ha de utilizarse para la determinación electrométrica. (Según WALPOLE, del *Biochemical Journal*)

mercurio en equilibrio con una de sus sales, y aunque su fundamento sea el mismo que el del electrodo de hidrógeno, su manejo es mucho menos engorroso. Para llevar a cabo una determinación electrométrica deben tenerse en cuenta una serie de precauciones que no es menester expongamos aquí.

Sales amortiguadoras (buffer). Si se añade una gota de ClH a un litro de agua pura, el *p*H de ésta pasará de 7 a 5. Este hecho demuestra que la adición de muy pequeña cantidad de ácido (o de álcali) es suficiente para producir variaciones considerables del *p*H de soluciones que se hallen próximas a la neutralidad. Existen soluciones de ciertas sales a las cuales se pueden añadir grandes cantidades de ácidos o álcalis sin alterar gran cosa su *p*H, denominándose por este motivo *soluciones amortiguadoras*, y, análogamente, las sales que entran en su composición, *sales amortiguadoras*.

El fosfato sódico puede presentarse como un ejemplo de sal amortiguadora, la cual, considerada en sí misma, es prácticamente una substancia neutra. Si añadimos a una solución de esta sal ClH, tendremos:

$$PO_4HNa_2 + ClH = PO_4H_2Na + ClNa.$$

La adición de ácido a esta sal neutra no modificará de un modo ostensible la neutralidad de la solución, ya que tanto el PO_4H_2Na (fosfato monosódico) como el ClNa son substancias cuyas soluciones se hallan cerca de la neutralidad. Partiendo de una solución cuyo *p*H sea de 7,8, la adición de una buena cantidad de un ácido fuerte cual es el ClH modificará muy poco el *p*H, que podrá tener entonces un valor de 7,5.

Otro ejemplo de particular interés nos lo ofrece el acetato de sodio. La adición de ClH a una solución de aquella sal dará la siguiente reacción:

$$CH_3COONa + ClH = CH_3COOH + ClNa.$$

La solución de acetato, antes de añadirle ClH, presenta una reacción muy cercana a la neutralidad. La adición de grandes cantidades de este fuerte ácido no modifica de un modo considerable la reacción, ya que el ácido acético que se forma, CH_3COOH, se disocia muy poco, liberando por esta causa muy pocos $H^{\bullet}$ iones en la solución. La otra substancia formada, ClNa, es de reacción cercana a la neutralidad.

Quizá el ejemplo más importante que podamos ofrecer desde el punto de vista fisiológico de sal amortiguadora es el del bicarbonato sódico. Si añadimos a una solución de esta sal un ácido tendremos:

$$CO_3HNa + ClH = ClNa + CO_3H_2.$$

La primera de las substancias que resultan de esta reacción, ClNa, es neutra, y la otra, CO_3H_2, es un ácido débil cuya capacidad de disociación es muy baja. La acción del bicarbonato sódico como sal amortiguadora es muy semejante a la que hemos visto para el acetato sódico. Gracias a estas sales amortiguadoras, un ácido fuertemente disociado se convierte en otro cuya disociación es muy débil, de lo que resulta una variación de *p*H relativamente pequeña.

Un punto de especial importancia es el que hace referencia al comportamiento del ácido débil, que es el ácido carbónico CO_3H_2 (producido cuando el CO_3 se disuelve en el agua), cuando se añade a una solución de bicarbonato sódico. Tendremos que el ácido débil se disociará en la forma siguiente:

$$CO_3H_2 \rightleftarrows H^{\bullet} + CO_3H',$$

y el bicarbonato en

$$CO_3HNa \rightleftarrows Na^{\bullet} + CO_3H';$$

ambas substancias dan por disociación un ion común, que es el CO_3H'. La adición de ácido carbónico CO_3H_2 a una solución de bicarbonato sódico dará lugar a un incremento del ion CO_3H', hasta que la concentración de estos iones alcanzará un valor tal, que una parte del bicarbonato sódico disociado pasará de nuevo al estado de bicarbonato sódico sin disociar,

$$Na^{\bullet} + CO_3H' \rightharpoonup CO_3HNa.$$

De un modo análogo, la disociación del CO_3H_2 es en parte condicionada por la presencia en el flúido de iones CO_3H' derivados del CO_3HNa. Por lo tanto, en una solución que contenga ambas substancias, CO_3H_2 y CO_3HNa, cada una de ellas condiciona la disociación de la otra, y así el número de $H^{\bullet}$ iones de la solución permanecerá constante, de la misma manera que la relación

$$\frac{CO_3H_2}{CO_3HNa}$$

permanece constante.

Las soluciones de proteínas nos ofrecen ejemplos de substancias amortiguadoras de gran interés fisiológico. Como ya vimos (pág. 44), las proteínas pueden comportarse como ácidos y como álcalis, en virtud de la naturaleza de ciertos grupos químicos que integran su composición. Las sales que pueden formar las proteínas pueden actuar como sales amortiguadoras en la siguiente forma:

$$Na^{\bullet}Proteína + ClH = H^{\bullet}Proteína + ClNa.$$

Ahora bien; la substancia considerada como $H^{\bullet}$ proteína es la misma proteína con su grupo ácido libre. Ésta se comporta del mismo modo que los ácidos débiles, y las sales proteicas actúan como amortiguadores, convirtiendo los ácidos de fuerte poder de disociación en ácidos que se disocian con dificultad.

Las sales amortiguadoras, además de su influencia en la regulación de la neutralidad de nuestro organismo, cuestión que consideraremos más adelante, son utilizadas corrientemente para elaborar soluciones *standard* de *p*H conocido, y cuyos valores no se alteran en

contacto con el aire, vidrio, etc. Estas soluciones *standard,* corrientemente utilizadas en el método colorimétrico para determinar el *p*H, se hallan compuestas de sales amortiguadoras formando mezclas tales como la del ftalato potásico y ClH, o bien la de ácido bórico, ClK y NaOH, etc., que son preferibles a las compuestas por soluciones de ClH o de NaOH en agua. Además, la adición de sales amortiguadoras a sistemas en los que se hayan de producir reacciones que pongan en libertad ácidos o álcalis, evita que la formación de aquellos cuerpos altere el *p*H de todo el sistema. Este efecto amortiguador puede ser particularmente útil en el desarrollo de ciertas acciones diastásicas de las cuales puedan resultar productos ácidos, manteniéndose el *p*H del sistema prácticamente constante en presencia de dichas sales amortiguadoras, y resguardando de esta manera la acción diastásica de cambios bruscos de reacción, a los que las diastasas son extremadamente sensibles.

Podemos preparar una sencilla y eficaz solución amortiguadora por la adición de NaOH a la solución molar de PO_4H_3 en agua. En el cuadro que sigue consignamos distintas soluciones amortiguadoras que pueden formarse con distintas proporciones de estas substancias:

C. c. de solución M de NaOH por 10 c. c. de sol. M de PO_4H_3 en 100 c. c. de agua	*p*H	C. c. de sol. M de NaOH por 10 c. c. de sol. M de PO_4H_3 en 100 c. c. de agua	*p*H
10,0	4,0	18,5	7,4
10,6	5,0	19,2	7,7
11,5	6,0	19,6	8,0
13,0	6,4	20,0	9,0
16,0	6,8	20,4	10,0
17,2	7,0	22,6	11,0
18,0	7,4	28,5	12,0

La regulación de la neutralidad en el organismo. Para determinar de un modo sistemático la reacción actual de nuestro organismo considerado en conjunto, podemos valernos de la determinación del *p*H de la sangre u otro líquido circulante, o bien del *p*H del interior de las mismas células.

Los métodos colorimétricos no pueden ser utilizados en la determinación del *p*H de la sangre total, ya que el color de las células sanguíneas empañaría los cambios de color de los indicadores; pero éstos pueden ser aplicados para investigar la reacción del plasma o del suero sanguíneo, siendo el indicador más comúnmente empleado para este objeto la fenolsulfonaftaleína, que vira del color amarillo al rojo a un *p*H de 7,4. El indicador es añadido al suero o plasma, así como a las soluciones amortiguadoras que hayan de servirnos como término de comparación para el cambio de color. Este método debe ser considerado como muy poco preciso, ya que la presencia de proteínas en los líquidos problemas son un factor de error considerable. Para eliminar el inconveniente que supone la presencia de los glóbulos rojos se aconseja dializar la sangre frente a una solución de ClNa al 0,85 %, la cual siendo isotónica con respecto a la sangre permite el paso de los $H^{\cdot}$ de ésta, hasta que la concentración de iones $H^{\cdot}$ sea la misma a ambos lados del dializador, y, al mismo tiempo, evita la dilución y respeta la integridad de los elementos celulares. La diálisis debe llevarse a cabo en tubos cerrados en forma que no se desprenda el CO_2. Después de haber transcurrido de media a una hora se determina el *p*H de la solución de ClNa con fenolsulnaftaleína, pudiendo tomar este resultado como equivalente con el *p*H de la sangre, ya que la sol de ClNa se hallará en equilibrio aproximado con aquélla en lo que a la concentración de $H^{\cdot}$ hace referencia.

El método del electrodo de hidrógeno, que se usa también para la determinación del *p*H de la sangre, no se halla exento de ciertas dificultades técnicas. La principal de ellas estriba en la posibilidad de que se desprenda CO_2 al establecer la atmósfera de H alrededor del electrodo, contingencia que alteraría el *p*H sanguíneo, por ser el CO_2 un ácido potencial. Para eliminar esta posibilidad de error se introduce un volumen conocido de hidrógeno en la cámara del electrodo y se agita junto con la sangre. En estas condiciones se forma una mezcla de H_2 y de CO_2, llegando a un equilibrio el CO_2 de la mezcla con el de la misma sangre. La muestra de sangre utilizada para producir este equilibrio es desechada después de esto, reemplazándola con una nueva muestra de sangre, en la que podemos proceder a la determinación electrométrica del *p*H. Estas y otras dificultades que presenta el uso del electrodo de hidrógeno hacen que no sea del todo satisfactorio, especialmente en el caso de la sangre total, en la cual la presencia de elementos celulares aumenta las causas de error.

Por estas razones, el mejor método que puede utilizarse para la determinación electrométrica es el llamado *método del electrodo de vidrio,* el cual ha sido introducido recientemente en la investigación fisiológica, y cuyo fundamento consiste en la medición de un potencial dependiente de la distinta concentración de hidrogeniones que puedan presentar dos soluciones acuosas separadas por una fina capa de vidrio blanco. La sangre cuyo *p*H haya de investigarse se coloca en una pequeña dilatación ampular de vidrio soplado, el grosor de cuyas paredes sea sólo de unas pocas μ, hallándose separada por este finísimo tabique de una solución de ClK de *p*H conocido. Este electrodo se conecta entonces con un electrodo de calomelanos en la misma forma que se acostumbra a conectar el electrodo de hidrógeno en el método electrométrico corriente, midiendo entonces el potencial producido en estas circunstancias. El método tiene el inconveniente de requerir un tipo especial de electrómetro, y los resultados obtenidos son muy probablemente influenciados por circunstancias de difícil control. Una vez que se han obtenido resultados satisfactorios, la determinación del *p*H puede realizarse con gran precisión y rapidez; además esta técnica presenta una ventaja muy apreciable, cual es la posibilidad de obtener el *p*H de substancias en estado semisólido, como

pedazos de músculo, contenido intestinal, etc., cosa completamente imposible utilizando cualquier otro método de medida.

La determinación del *p*H de la sangre con cualquiera de los métodos citados da cifras notablemente constantes, obteniéndose valores de 7,35 a 7,32, según sea la sangre arterial o venosa.

El *p*H del interior de las células se determina corrientemente por medio del método colorimétrico. Se prestan particularmente a ello los organismos monocelulares como amibas y paramecios, lo mismo que las células vegetales del tipo de la Elodea o el onión. La célula o células cuyo *p*H haya de ser determinado se colocarán durante un corto espacio de tiempo en soluciones acuosas y diluídas de indicadores, los cuales, al penetrar dentro de la célula a través de la membrana celular, cambiarán de color de acuerdo con el *p*H que presenta la célula. El método es susceptible de un gran número de objeciones, por ser muchos de los indicadores usados tóxicos para las células y además por las dificultades que presenta en la práctica el reconocimiento del color del indicador por el poco espesor a que es observado el contenido celular. Los datos recogidos sobre este particular muestran que el *p*H de muchos organismos monocelulares presenta un valor aproximado de 6,8, mientras que el de las células vegetales oscila alrededor de 6,2. Si estas cifras son correctas, el *p*H del interior de las células es algo más ácido que el de la sangre de los vertebrados. Valiéndose del método de la microdisección, recientemente han sido introducidos en el interior del citoplasma de ciertas células pequeños electrodos con objeto de determinar el *p*H, y aunque los resultados de esta técnica son necesariamente poco exactos, en general coinciden con los resultados obtenidos con el método colorimétrico. En todo caso, parece deducirse de todas las observaciones, que el *p*H celular, lo mismo que el *p*H de la sangre de los vertebrados, son valores muy constantes.

¿Cómo se mantiene la constancia de los valores de la reacción actual? Esta cuestión puede ser contestada al ser establecido el hecho de que lo mismo la sangre que los líquidos que entran en la composición del citoplasma contienen grandes cantidades de sales amortiguadoras, especialmente fosfatos, bicarbonatos y sales de proteínas. Gracias a la presencia de estas sales amortiguadoras pueden ser añadidas a la sangre, sin modificar de un modo apreciable su *p*H, cantidades considerables de ácidos o álcalis; estas sales, cuyo poder neutralizante sobre los ácidos que eventualmente podamos añadir son índice de una alcalinidad potencial, constituyen lo que se denomina *reserva alcalina* de la sangre.

Como ya hemos visto, el *p*H de la sangre depende de la relación

$$\frac{CO_3H_2}{CO_3HNa}$$

y si esta fracción permanece constante, el *p*H permanecerá asimismo constante. De hecho, en toda mezcla de sales amortiguadoras la concentración de hidrogeniones designada por C_H es siempre proporcional a la relación, o sea:

$$C_H = k \times \frac{CO_3H_2}{CO_3HNa}$$

en la cual k representa una constante especial para el sistema. Si deseamos expresar este resultado en términos de *p*H, la expresión será:

$$p\mathrm{H} = p\mathrm{K} + \log \frac{CO_3HNa}{CO_3H_2}$$

en donde *p*K es igual a $-\log k$.

La capacidad de la sangre para amortiguar cualquier variación que pueda influir su reacción actual depende en buena parte de la cantidad de CO_3HNa existente en la sangre, ya que la disminución del contenido normal de esta sal expone a variaciones de importancia del *p*H si por cualquier causa aumenta el CO_2. Algunas veces, el contenido de bicarbonato puede estar tan disminuído que dé lugar a un estado patológico denominado *acidosis* o disminución de la reserva alcalina. En el ejercicio muscular intenso se libera una cantidad considerable de ácido láctico, que puede producir una acidosis pasajera, descendiendo el *p*H a 7, hasta que el organismo, desembarazándose de una cantidad de CO_2, contribuye a la normalización de los mecanismos reguladores. Por el contrario, en la diabetes, enfermedad que puede dar lugar a la producción en circunstancias diversas a una gran cantidad de substancias ácidas, puede producirse un estado de *acidemia* más estable, una vez rebasada la capacidad compensadora de la reserva alcalina. En circunstancias normales, la relación CO_3H_2/CO_3HNa permanece constante, no tomando en cuenta las variaciones muy breves y pasajeras, quedando de este modo asegurada la estabilidad del *p*H de la sangre normal.

En la regulación del *p*H intracelular interviene un mecanismo análogo. El citoplasma contiene una cierta cantidad de sales amortiguadoras (principalmente fosfatos), las cuales constituyen una reserva alcalina capaz de mantener el *p*H al abrigo de las eventuales variaciones que pudiera producir la presencia de una cierta cantidad de ácidos procedentes de la célula misma o del medio que la rodea. Una excelente demostración de lo que venimos diciendo puede realizarse estudiando las modificaciones que una inyección intracelular de ácido provoca en el citoplasma de una amiba teñida con rojo metilo. Las células se tiñen en amarillo con este indicador, el cual toma este color frente a un *p*H de 6,8. Si en estas condiciones inyectamos con una micropipeta una pequeña cantidad de solución 0,01/M de ClH, aparece un color rojo en el punto de la inyección que se va extendiendo al resto de la célula a medida que el ácido penetra en su interior. La persistencia de este color es efímera, siendo inmediatamente reemplazada por un color amarillo, que indica que el ácido introdu-

cido ha sido "neutralizado" por los amortiguadores intracelulares. Pero cuando se inyecta suficiente cantidad de ácido para que el color rojo persista, podremos comprobar que la inyección ha producido la muerte de la célula.

Poseyendo las células la capacidad de mantener constante su reacción actual en las cercanías de la neutralidad, no cabe pensar que ellas hayan de ser necesariamente destruídas cuando el *p*H del líquido ambiente salga fuera de estos límites. Si el cambio producido en el *p*H del líquido que rodea las células es de poca importancia, puede no afectar el *p*H intracelular; pero si la variación es considerable, puede influir sobre la reacción del citoplasma, aunque sólo de modo pasajero. Por esta razón, el *p*H de los líquidos de perfusión, y en general de todos los líquidos fisiológicos, debe ser muy cercano al de las células que hayan de estar en relación con ellos. En el corazón de rana, por ejemplo, persisten las contracciones mientras el *p*H de los líquidos de perfusión varía entre valores de 5 a 8, no comunicándose estas variaciones en circunstancias normales al interior de las células del músculo cardíaco, y probablemente en este caso, el cambio que experimenta el citoplasma de las mismas es equivalente a una décima parte del que tiene lugar en el líquido de perfusión.

La acción específica de los iones. Es un hecho establecido experimentalmente que determinados iones manifiestan sobre la materia viva una acción específica, poseyendo cada uno de ellos particularidades especiales. Nuestros conocimientos de química-física celular no son suficientes para permitir una explicación de estas acciones, refiriéndolas a propiedades fundamentales, y por este motivo los hechos que vamos a referir deben ser considerados sencillamente como observaciones cuyo mecanismo no ha sido todavía esclarecido a pesar de haberse aventurado algunas hipótesis para explicarlo.

$H^{\cdot}$ iones y OH' iones. Estos dos iones merecen ser considerados de un modo especial, ya que existen buen número de hechos que permiten afirmar la singularidad del comportamiento de aquéllos. En primer lugar, el hidrogenión es la masa más pequeña conocida que acarrea una carga positiva; se halla desprovisto, además, de cubierta de electrones a su alrededor, pudiendo entrar por esta razón en íntimo contacto con partículas cargadas negativamente mejor que cualquier otro ion positivo. Además, y quizá en estrecha relación con ello, los $H^{\cdot}$ iones, del mismo modo que los OH' iones, son entre todos los otros los más rápidamente absorbidos; son también los iones que presentan una mayor movilidad, y en cuanto a su velocidad de difusión los ácidos y álcalis poseen una difusibilidad mayor que la que es característica de las sales. En conexión con lo que venimos diciendo, estos iones poseen un poder catalítico excepcional, influyendo la concentración de $H^{\cdot}$ iones del medio sobre la velocidad de reacciones tales como la hidrólisis de los azúcares, almidones y proteínas. De un modo general puede decirse que la concentración de hidrogeniones condiciona también la actividad de las diastasas. Por último, la posición excepcional que ocupan estos iones con respecto a sus efectos sobre la materia viva es debida indudablemente en gran proporción a ser los iones del disolvente más repartido en la Naturaleza: el agua.

Desde el punto de vista de la química coloidal, el efecto más evidente de los $H^{\cdot}$ iones y OH' iones consiste en la modificación del potencial de las superficies. En el caso de substancias del tipo del carbón o del cuarzo, la superficie toma carga positiva en medio ácido y negativa en medio alcalino, debido a la absorción de iones $H^{\cdot}$ u OH' en la superficie. Una pequeña variación del *p*H puede engendrar una gran diferencia de potencial en la superficie de aquellas substancias, y aun el cambio de signo de la carga eléctrica, cuando la desviación del *p*H a uno u otro lado del punto de neutralidad alcanza el valor de una unidad de la escala que corresponde a esta notación. Una cosa análoga sucede cuando las substancias afectadas son las proteínas, las cuales, a un cierto valor de *p*H, poseen una carga mínima que coincide con el llamado *punto isoeléctrico;* sin embargo, cuando el *p*H aumenta o disminuye, la proteína toma una carga superficial cuyo signo y diferencia de potencial se hallan en estrecha relación con los valores de *p*H de la solución en la cual se encuentre aquélla. Este cambio de carga puede dar lugar a una gran diferencia de la energía de superficie que posee el coloide y consecutivamente modificar de modo muy considerable las propiedades coloidales del mismo. No deben sorprendernos, por lo tanto, los intensos efectos que ejercen sobre el protoplasma viviente los $H^{\cdot}$ y OH', ya que el substrátum de las células se halla constituído de substancias que son muy sensibles a esta clase de influencias.

En relación con todo ello se suscita un problema de indudable importancia, cual es el de la localización del efecto que puedan ejercer los cambios del *p*H del medio sobre la célula. La modificación del *p*H puede influir sobre la membrana superficial o actuar alterando la reacción actual del interior de la célula. Si examinamos cada una de estas posibilidades, tendremos que convenir que aun no conociendo el mecanismo por el cual las acciones iónicas ejercen su acción sobre la membrana superficial, podemos afirmar desde luego que no es preciso admitir la penetración de un ion en el interior de la célula para que el mismo pueda manifestar su efecto. Experimentando sobre el corazón de la rana, si suprimimos repentinamente el ion $Ca^{\cdot\cdot}$ del líquido de perfusión, se producen de un modo inmediato los típicos efectos debidos a la falta de aquél, debilitándose la intensidad de las contracciones. Teniendo en cuenta la rapidez con que se pone de manifiesto esta acción, habrá que desechar cualquier otra hipótesis que no sea localizar aquélla en la membrana de la célula muscular, ya que el corto tiempo que transcurre en producirse es incompatible con el que sería necesario para la penetración del líquido en el interior de las células. Más notables son todavía a este respecto los efectos que se pro-

ducen por la acción de la pilocarpina sobre el músculo del intestino del conejo. Al añadir la droga se produce un gran aumento de tono, y tan pronto como el músculo se lava con solución salina corriente tiene lugar un segundo aumento de tono. Esto se ha explicado diciendo que la droga manifiesta su efecto farmacológico sólo mientras pasa a través de la membrana, siendo el primer aumento de tono debido al paso de la misma hacia el interior de la célula, y el segundo aumento de tono, que se produce al lavar el músculo con solución fisiológica exenta de pilocarpina, a consecuencia del paso de la droga retenida dentro de las células musculares al exterior. Estas experiencias autorizan a pensar en la posibilidad de que el efecto que sobre las células pueda producir un cambio de *p*H tenga lugar sobre las propiedades de la membrana mejor que modificando el *p*H intracelular.

Si los efectos debidos al cambio de *p*H son, como hemos dicho, producidos por un incremento de la concentración de hidrogeniones que actúan sobre la membrana celular, cabría esperar que todos los ácidos en soluciones del mismo *p*H ejercieran sobre las células vivientes idénticos efectos; sin embargo, esta suposición no se corresponde con la realidad de los hechos observados. Tenemos, por ejemplo, la influencia que ejercen distintos ácidos sobre el paro del movimiento ciliar de las almejas. El "*p*H crítico", es decir, el que corresponde a la concentración de un ácido determinado capaz de producir la inhibición del movimiento ciliar en el espacio de un minuto, es para los distintos ácidos orgánicos e inorgánicos el que indicamos en el cuadro siguiente:

Ácido clorhídrico	*p*H = 3,4	Ácido fórmico	*p*H = 4,0
» sulfúrico	3,1	» acético	4,8
» nítrico	3,4	» butírico	5,2

Los ácidos minerales producen todos la inhibición del movimiento ciliar en soluciones con un *p*H aproximado de 3,4. Los ácidos orgánicos pueden producir el mismo efecto en soluciones *p*H más elevado, mostrándose a este respecto de una mayor actividad que los ácidos minerales. Estos resultados han hecho pensar si la acción de los ácidos no tendría lugar sobre la membrana de las células ciliadas, sino sobre el citoplasma de las mismas, atribuyéndose las diferencias observadas entre el efecto de los ácidos minerales y el de los ácidos orgánicos a la capacidad de penetrar estos últimos con más rapidez que los primeros en el interior de la célula.

Así como los ácidos inhiben el movimiento ciliar, los álcalis influyen en sentido inverso, produciendo la recuperación de esta modalidad de movimiento. Aquí podemos constatar una gran diferencia en el comportamiento de los distintos álcalis, lo cual puede verificarse comparando los diversos efectos de dos álcalis que tomamos como ejemplo, el NaOH y el NH_4OH, los cuales, a una misma concentración, anulan en espacios de tiempo diferentes la acción paralizante

de los ácidos sobre el movimiento ciliar. En el cuadro que consignamos a continuación se destacan claramente aquellas diferencias:

*p*H	NH_4OH	NaOH
9,5	0,5 min.	5 min.
9,0	0,5	8
8,5	3,0	10-12
8,4	5,0	12-15

Las grandes diferencias que hemos visto presentan estas substancias al mismo *p*H, se hallan en relación con la mayor facilidad que presenta el NH_4OH (pág. 74) en pasar a través de la membrana, propiedad muy atenuada en el caso del NaOH, que pasa a través de la membrana celular con gran dificultad. Este resultado, parecido al que hemos visto con los ácidos, hace pensar que el mecanismo que inhibe la movilidad de los cilios se halla en estrecha dependencia con alteraciones del *p*H intercelular de las células ciliadas.

Debemos considerar, en armonía con estos resultados, que los efectos fisiológicos de los $H^{\cdot}$ iones y de los OH' iones no dependen solamente del *p*H de las soluciones utilizadas, sino también de su *capacidad de penetración*, dependiendo aquéllos de la facilidad o dificultad de penetración de éstas. El poder de penetración de los distintos ácidos en los tejidos vivientes presenta notables diferencias que nos permiten agruparlos de acuerdo con esta propiedad. Si tomamos como reactivo para apreciar la capacidad de penetración las células del mántum del molusco Chromodoris, las cuales poseen un indicador natural que cambia de color en medio ácido, podremos tener una idea de la velocidad con que penetran los ácidos de un modo general. En el cuadro que damos a continuación se han clasificado los ácidos que se indican por la velocidad de penetración de soluciones 0,01 M.

	Minutos		Minutos
Valeriánico	1,9	Tartárico	13,5
Fórmico	4,5	Málico	14,5
Clorhídrico	7,6	Cítrico	16,0
Nítrico	8,4	Succínico	16,5
Sulfúrico	8,5	Butírico	19,0
Láctico	8,6	Propiónico	30,0
Benzoico	9,7	Acético	75,0

Las cifras consignadas en este cuadro no son muy exactas, porque los ácidos no tienen todos el mismo *p*H en solución 0,01 M, pero a falta de mejores resultados, los que acabamos de indicar demuestran las notables diferencias existentes en el poder de penetración de los distintos ácidos. En cuanto a los álcalis, también han sido establecidas diferencias semejantes.

	Minutos		Minutos
NaOH	25,0	$Sr(OH)_2$	15,0
KOH	22,0	$Ba(OH)_2$	15.0
$Ca(OH)_2$	23,0	NH_4OH	0,5

La rápida penetración del NH_4OH, puede ser debida a la solubilidad de este álcali en los lipoides de la membrana celular. En cuanto al *p*H de las soluciones alcalinas, cuya velocidad de penetración hemos estudiado, hay que decir que no es el mismo para todas ellas, lo que da un valor muy relativo a los resultados indicados.

Una objeción más seria todavía puede hacerse extensiva a todos los experimentos de esta índole, que consiste en la diferenciación entre la "penetración primaria" y la "penetración secundaria", consistiendo la primera modalidad en el mero hecho de entrar el

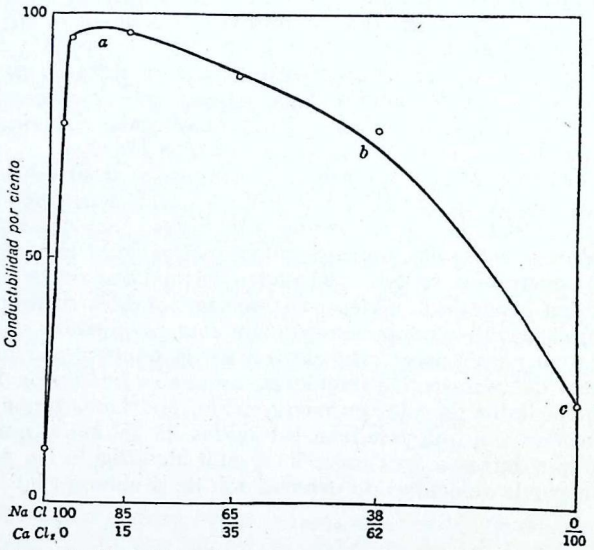


FIG. 33. Representación gráfica del antagonismo entre Na' y Ca'', determinado por los cambios de la conductibilidad que experimentan discos de laminaria. La conductibilidad se expresa por los valores de la ordenada y la relación de Na' y Ca'' en la abscisa. Como puede verse, al aumentar la proporción de Ca'' la conductibilidad disminuye progresivamente.

ácido o álcali en el interior de la célula, mientras que en la segunda, la penetración de la substancia supone un efecto destructivo sobre la membrana celular. La "penetración secundaria" es sinónimo de una acción sobre la misma membrana, produciendo el ácido o el álcali modificaciones más o menos irreversibles sobre los coloides que forman parte de la membrana superficial. De estas observaciones ha podido deducirse que la penetración de los ácidos orgánicos es principalmente "primaria" y la de los ácidos minerales principalmente "secundaria". Esta distinción no deja de ser una sutileza, ya que una substancia que ejerza un efecto determinado sobre los componentes de la membrana tendrá una acción semejante sobre los componentes del citoplasma, y viceversa.

Sodio y Potasio. Como regla general, dejando aparte las excepciones, los iones $Na^{\cdot}$, $K^{\cdot}$, $NH^{\cdot}_4$, $Cs^{\cdot}$ y $Rb^{\cdot}$ tienden a aumentar la permeabilidad de la célula, mientras que los iones $H^{\cdot}$, $Ca^{\cdot\cdot}$, $Ba^{\cdot\cdot}$, $Sr^{\cdot\cdot}$, $La^{\cdot\cdot\cdot}$ y $Al^{\cdot\cdot\cdot}$ presentan un efecto opuesto. Esta propiedad parece hallarse en relación con la influencia que ejercen los iones citados sobre los sistemas coloidales en general; la primera serie de iones favorecería la dispersión de los sistemas, mientras que los de la segunda serie más bien actuarían en sentido contrario, favoreciendo en cierto modo la coagulación. De los dos grupos citados ofrecen singular interés los iones de $Na^{\cdot}$ y $K^{\cdot}$, por una parte,, y por la otra los iones de $Ca^{\cdot\cdot}$ y de $Ba^{\cdot\cdot}$.

Las soluciones puras de ClNa y de ClK ejercen invariablemente una acción paralizante sobre los tejidos contráctiles o conductores. En el caso del músculo cardíaco, por ejemplo, la contracción cesa tan

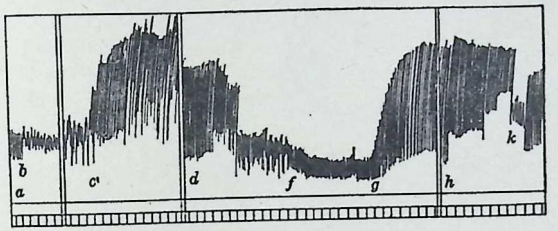


FIG. 34. Influencia de distintos electrólitos sobre el corazón de tortuga, *a* y *b*, perfusión con ClNa; *c*, adición de calcio seguida de un gran aumento de las contracciones; en *d*, la adición de cloruro potásico produce una disminución en la amplitud de las contracciones; en *f*, la adición de grandes cantidades de potasio disminuye de nuevo el fenómeno contráctil, seguido de un notable incremento al añadir en *g* y *h* cloruro cálcico; la adición de cloruro potásico en *k* provoca otra vez una disminución de la amplitud de las contracciones. Este trazado pone en evidencia el efecto del calcio aumentando la contracción cardíaca y la acción antagonista desarrollada por el potasio al disminuir la misma. (Según BAYLISS, *Principles of Physiology*)

pronto como se sustituye el líquido de perfusión normal con soluciones de ClNa o de ClK químicamente puras. Este efecto parece debe tener lugar en las fibras musculares mismas, ya que los trazados eléctricos tomados durante el período en que las contracciones dejan de producirse demuestran que los fenómenos que normalmente preceden a la contracción se producen sin que vayan seguidos de la manifestación contráctil. Las soluciones de ClNa y de ClK ejercen un efecto parecido sobre la conducción del nervio, ya que la presencia de un exceso de estos iones disminuye la conductibilidad, pudiendo llegar a su completa abolición. En los experimentos de OSTERHOUT sobre la permeabilidad de la laminaria ya referidos en otro lugar (pág. 72) se ha determinado cuantitativamente el efecto de estos iones sobre la permeabilidad, resultados que han sido confirmados por otros experimentos de un tipo semejante. La acción de los iones de $Na^{\cdot}$ y de $K^{\cdot}$ ejercen sobre el músculo voluntario, no se acomoda a la regla según la cual ambos iones poseen una acción fisiológica semejante. El músculo de rana sumergido en solución isotónica de glucosa,

disminuye su excitabilidad y no se contrae cuando se le estimula. Si en estas condiciones añadimos ClNa podemos observar una recuperación parcial, la cual no tiene lugar si en vez de una sal de sodio añadimos una sal de potasio. El motivo de esta diferencia de acción de los iones $Na^{\cdot}$ y $K^{\cdot}$, que usualmente producen efectos semejantes, nos es desconocido, pero es suficiente para reconocer las limitaciones de la regla general, siguiendo la cual hemos agrupado determinados iones en grupos que determinan efectos fisiológicos similares.

Calcio y Bario. Estos dos iones ejercen ordinariamente efectos exactamente opuestos a los que hemos visto caracterizaban a los iones de $Na^{\cdot}$ y $K^{\cdot}$, siendo el $Ba^{\cdot\cdot}$ el que desarrolla una acción más intensa. Sobre el corazón de rana, por ejemplo, produce la detención de las contracciones, efectos que coinciden con un estado de contracción sostenida (sístole), mientras que el paro de las contracciones que provocan los iones de $Na^{\cdot}$ y $K^{\cdot}$ va acompañado de relajación del músculo cardíaco (diástole). Es suficiente una concentración de Cl_2Ba al 1 por 20 000 para poner de manifiesto su acción fisiológica. La presencia de $Ca^{\cdot\cdot}$ es necesaria para que la excitación de los nervios pueda ser transmitida a través de la sinapsis o puedan descargarse los estímulos nerviosos sobre el tejido muscular, lo que ha hecho suponer que el efecto paralizante producido en los nervios o músculos sumergidos en soluciones puras de ClNa o ClK era más bien debido a la falta de $Ca^{\cdot\cdot}$ que a la presencia de $Na^{\cdot}$ o $K^{\cdot}$ en exceso. En efecto, añadiendo una pequeña cantidad de Cl_2Ca a un músculo o nervio inhibido en aquellas condiciones, basta con frecuencia para restablecer su funcionamiento.

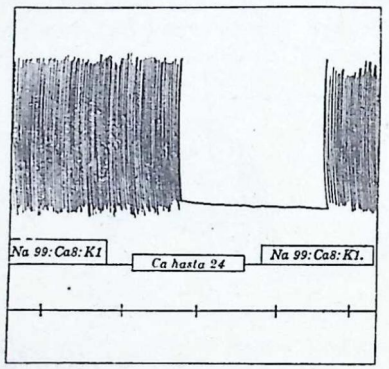


FIG. 35. Acción del $Ca^{\cdot\cdot}$ sobre el corazón del cangrejo de mar. La adición de grandes cantidades de $Na^{\cdot}$ produce el paro del corazón en diástole. Este efecto es inverso al que produce el mismo ion sobre el corazón de la tortuga, a pesar de lo cual persiste el antagonismo entre las acciones del Na y Ca. (Según HOGBEN, *Comparative Physiology)*

Los ejemplos que demuestran la disminución de la permeabilidad mediante la adición de $Ca^{\cdot\cdot}$ son numerosos y convincentes, lo mismo para las células vegetales que en el caso de las células animales.

Las células de las raíces, por ejemplo, disminuyen su contenido de sales muy rápidamente cuando se hallan sumergidas en soluciones de ClNa y ClK y aun en el agua. La adición de una pequeña cantidad de Cl_2Ca basta para impedir el proceso de difusión. En la *Spirogyra,* la presencia de Cl_2Ca retarda considerablemente la penetración en el interior de la célula de una substancia como el OHNa. De un modo análogo las sales de $Ca^{\cdot\cdot}$ pueden impedir la fijación de

colorantes en las células vegetales y animales. Todos estos efectos pueden ser atribuídos a la conocida propiedad del calcio de disminuir la dispersión de los sistemas coloidales.

Siendo las acciones desarrolladas por el $Na^{\cdot}$ y el $K^{\cdot}$ opuestas, en términos generales, a las desarrolladas por el $Ca^{\cdot\cdot}$ y el $Ba^{\cdot\cdot}$, resulta fácil deducir que las sales de los primeros tendrán un efecto antagonista frente a las acciones producidas por las de estos últimos. Así, por ejemplo, la detención sistólica del corazón producida por un exceso de $Ca^{\cdot\cdot}$ puede ser contrarrestada por la adición de $Na^{\cdot}$ o $K^{\cdot}$, y el paro diastólico debido al $Na^{\cdot}$ o $K^{\cdot}$ puede ser anulado añadiendo una pequeña cantidad $Ca^{\cdot\cdot}$ o de $Ba^{\cdot\cdot}$. No creo preciso insistir aduciendo otros ejemplos sobre el antagonismo en los iones, pero es preciso señalar que hasta el momento actual este antagonismo no ha podido ser reducido en los términos de un principio de carácter general y que hechos semejantes a los descritos son casi desconocidos en la materia inanimada.

Acción oligodinámica. Cuando una substancia a una dilución muy grande produce una acción más o menos específica se acostumbra a considerar como *oligodinámica.* Una acción de este tipo es la que ejercen los metales zinc o manganeso sobre el crecimiento del *Aspergillus;* el crecimiento de este hongo es el doble de lo normal en presencia de zinc a la concentración de uno por diez millones. Comparables con éstas son ciertas acciones tóxicas como la siguiente: el agua de un recipiente que contenga pequeños indicios de cobre, plomo u otros metales procedentes de una tubería de conducción del agua, puede ser tóxica para los renacuajos y también para algunas especies vegetales *(Spirogyra).* El cobre en la proporción de $1 \times 70\,000\,000$, que es la concentración que puede encontrarse en diez litros de agua que se haya puesto en contacto con unas pocas monedas de cobre, durante dos o tres días, produce la muerte de la *Spirogyra* en algunos minutos.

El hecho de que estos metales capaces de manifestar una acción oligodinámica se encuentren muy diluídos en el agua en que estén sumergidos los hongos, renacuajos o células de Spirogyra, no nos debe hacer pensar que se hallen también igualmente diluídos en el interior de las mismas células por ellos afectadas, ya que pueden encontrarse concentrados por un proceso de adsorción no sólo en la membrana, sino en el interior de la célula. Ésta debe ser la explicación de la elevada toxicidad de estas substancias a diluciones tan extraordinarias. En apoyo de este modo de ver, pueden aducirse las observaciones llevadas a cabo con distintas substancias inertes del tipo del algodón en rama, papel, carbón, etc., las cuales desintoxican el agua en la cual se hayan disuelto dichos metales mediante un proceso de adsorción.

Capítulo V

Enzimas

Las enzimas como catalizadores. Un gran número de reacciones pertenecientes principalmente a la química orgánica pueden efectuarse a una mayor velocidad en presencia de un *catalizador* adecuado. Entre las substancias capaces de acelerar las reacciones, hemos de considerar un grupo de agentes catalíticos conocidos con la denominación de *enzimas*, también llamados corrientemente "catalizadores orgánicos", o catalizadores producidos por las células vivientes.

Las dos propiedades características de los catalizadores consisten en acelerar reacciones que por sí solas se producirían a una menor velocidad, y no intervenir de un modo directo en las mismas. Por ejemplo, la reacción

$$\tfrac{1}{3} \text{ mol. alcohol} + \tfrac{1}{3} \text{ mol. ácido acético} \rightleftarrows \tfrac{2}{3} \text{ mol. éster acético} + \tfrac{2}{3} \text{ mol. agua}$$

puede tener lugar espontáneamente al poner en contacto alcohol y ácido acético, produciéndose, sin embargo, con una gran rapidez si añadimos a la mezcla una pequeña cantidad de ClH. En este ejemplo el ClH actúa como catalizador, ya que su intervención se limita a la aceleración de un proceso químico que ya se estaba realizando, sin que para ello sea preciso que el ácido entre a formar parte del sistema químico en equilibrio (por ejemplo, los productos finales de la reacción son los mismos en presencia del ClH, condiciones en las cuales la reacción se efectúa con rapidez, que en ausencia del catalizador, que la reacción se desliza lentamente). De un modo análogo, la reacción

$$C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O \rightleftarrows 2\,C_6H_{12}O_6,$$

en el cual un disacárido es hidrolizado en dos moléculas de monosacárido, tendrá lugar espontáneamente, aunque con gran lentitud, produciéndose a una velocidad mucho mayor si añadimos al sistema ClH o bien una enzima como la maltasa. En cualquiera de estos dos casos los agentes catalíticos no entran a formar parte del proceso.

A continuación, y con objeto de aclarar el concepto, recurriremos a un símil ideado por Bayliss para explicar la acción catalítica. Imaginemos una pesa colocada sobre un plano inclinado, cuyo ángulo ha sido cuidadosamente previsto para asegurar el deslizamiento lento de la misma. Este desplazamiento es comparable a una reacción espontánea que se realiza sin la intervención de un agente catalítico. Si aplicamos ahora en la base de la pesa un poco de aceite, ésta se deslizará a lo largo del plano con una velocidad mayor. El aceite representa aquí un catalizador que interviniese acelerando la reacción, sin influir sobre el resultado final de la misma, ni sobre la intimidad del proceso. Además, en dicho ejemplo, vemos que la velocidad de deslizamiento se aumenta poniendo una mayor cantidad de aceite, siendo ésta otra de las características que asemejan el ejemplo citado con la acción de catalizadores del tipo de las enzimas, ya que la cantidad de éstas influye, hasta cierto punto, en la velocidad de la reacción. Para completar las analogías diremos que la acción enzimática, lo mismo que la del aceite del ejemplo, es continua en el transcurso del proceso,

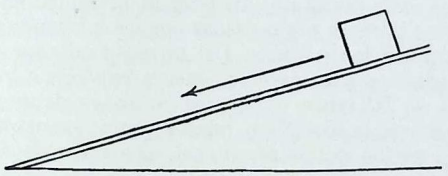


Fig. 36

no limitándose ninguna de ellas a la iniciación del proceso solamente, sino que intervienen acelerando la reacción, la cual por otra parte podría realizarse sin su concurso.

Este símil mecánico no es válido para explicar una de las propiedades más características de las enzimas: nos referimos concretamente a la *especificidad* de su acción. En efecto, la acción enzimática tiene lugar sobre un determinado proceso, el cual acelera, no actuando sobre ningún otro; hallándose las distintas enzimas dispuestas para actuar sobre una modalidad de reacción distinta para cada una de ellas. Así, por ejemplo, la maltasa, que es una enzima que acelera la transformación de maltosa en dos moléculas de glucosa, no ejerce efecto alguno sobre la transformación de las grasas en glicerol y ácidos grasos o sobre la de las proteínas en aminoácidos. Recíprocamente, la pepsina o la tripsina, que aceleran el desmoronamiento de las proteínas, no ejercen ningún efecto simplificador sobre las grasas o azúcares. Desde este punto de vista, los catalizadores orgánicos o enzimas difieren considerablemente de los catalizadores inorgánicos, como el ácido clorhídrico diluído.

Vamos a examinar ahora una posibilidad de transformación catalítica, la cual, a pesar de no ser muy frecuente, merece ser conocida. En especiales circunstancias la transformación catalítica puede tener lugar retardando la acción, denominándose este efecto *catálisis nega-*

tiva. Los ejemplos de esta modalidad de catálisis ofrecen una cierta complicación, siendo uno de los más sencillos el efecto de los compuestos aromáticos al reducir la velocidad de oxidación del sulfito sódico en solución acuosa por el oxígeno atmosférico. En química fisiológica esta modalidad de acción catalítica es muy poco conocida; sin embargo, no podemos descartar la posibilidad de su existencia.

Naturaleza y clasificación de las enzimas. Las enzimas son substancias de alto peso molecular, las cuales difunden en muy pequeña proporción. A pesar de hallarse corrientemente asociadas con substancias proteicas no poseen por sí mismas las características químicas de las proteínas, ya que en los distintos métodos de purificación de las enzimas, a medida que se consigue ésta manifestándose con una mayor potencia la acción enzimática, disminuye la intensidad de las reacciones propias de las proteínas. El alto peso molecular de las enzimas es la causa de que éstas se presenten en estado coloidal, siendo por tal razón precipitadas por las substancias que corrientemente precipitan los coloides. Del mismo modo que muchos otros coloides, las enzimas son extremadamente sensibles a los cambios de concentración de $H^{\cdot}$ iones, ejerciendo su acción de un modo óptimo con un *p*H determinado. Son, además, muy inestables cuando se hallan bajo la acción del calor, el cual, al exceder de ciertos límites, produce la destrucción de las enzimas.

Teniendo en cuenta su gran especificidad, las enzimas pueden ser clasificadas según la naturaleza de las substancias sobre las que actúan, las cuales se denominan *substratos.* De acuerdo con este criterio, la pepsina y la tripsina, por ejemplo, se clasificarán entre las *proteasas,* ya que aquéllas actúan desdoblando las proteínas en aminoácidos. La ptialina segregada por las glándulas parótidas y submaxilares se denominará *amilasa,* ya que su acción simplificadora tiene lugar sobre los almidones y dextrinas, y las enzimas que desdoblen las grasas se llamarán *lipasas.* Según esta nomenclatura se añade la desinencia "asa" a la palabra que corresponde al substrato sobre el que actúa la enzima; sin embargo, esta regla se modifica en ciertas ocasiones; así, por ejemplo, de las enzimas oxidantes diremos *oxidasas,* y las enzimas que facilitan la transferencia de oxígeno, *peroxidasas* (1).

(1) Han sido propuestas distintas clasificaciones de los fermentos solubles o enzimas; una de las más corrientemente aceptadas es la que divide las distintas acciones diastásicas en cuatro grandes grupos: Hidrolasas, Clastasas, Oxidasas y Sinasas. En el primero se agrupan todas las enzimas hidrolíticas y podría a su vez subdividirse en tres subgrupos según las substancias sobre las que hubieran de actuar: lípidos, glúcidos (y glucósidos) y prótidos con sus derivados. En el grupo de las clastasas o enzimas celulares del metabolismo se agruparán especialmente los agentes de las fermentaciones láctica y alcohólica. Entre las oxidasas se colocan la mayoría de agentes diastásicos oxidantes, por ejemplo, tirosinasa, fenolasa, peroxidasa, catalasas. Y, en el grupo de las sinasas o agentes de síntesis, todas aquellas que favorezcan las acciones de síntesis. En las circunstancias actuales, ésta, como cualquier otra clasificación que se adopte, se hallan sujetas a grandes rectificaciones que pueden surgir a medida que nuestros conocimientos sobre la composición y manera de actuar de las enzimas se vayan precisando. — *N. del T.*

El aislamiento y purificación de las enzimas son procesos no bien resueltos todavía. Algunas enzimas del tipo de la ptialina, tripsina o pepsina se encuentran formando parte de líquidos orgánicos, de los cuales no es menester extraerlas para demostrar su acción. Otras enzimas se hallan incluídas en el interior de las células, siendo preciso para obtenerlas el prensado de las células que las contienen o la alteración de la permeabilidad de las paredes celulares que permitirá la difusión de las enzimas a su través. El primero de estos métodos consiste en el desmenuzamiento del tejido del que hayan de extraerse las enzimas, machacándolo con arena y sujetando después la masa resultante a presiones de unas 300 atmósferas, obteniéndose de este modo un líquido rico en enzima, ya que la arena no adsorbe la mayor parte del material diastásico. Por otra parte, también pueden ser obtenidas las enzimas colocando el tejido en agua o solución diluída de alcohol, liberando las células al hallarse en un medio hipotónico una cierta cantidad de enzimas por un proceso de difusión.

Para purificar la enzima contenida en el jugo del prensado podemos recurrir a la diálisis o a la precipitación. Siguiendo el primer método, se coloca el jugo en un saco de colodión, hasta que se hayan separado todas las sales difusibles, quedando en el interior del mismo la enzima, cuya difusibilidad es mucho menor. También puede obtenerse la enzima parcialmente purificada precipitándola mediante caolín o hidróxido de aluminio finamente pulverizado; pero siendo la primera de estas dos substancias electronegativa y la otra electropositiva, cuando se hallan en suspensión en el agua debemos seleccionar aquella que posea una carga eléctrica de signo opuesto a la misma enzima, la cual, como coloide, tendrá siempre una carga propia. En estas condiciones, la enzima será adsorbida y precipitada al sedimentarse las partículas de aquellas substancias de las cuales podemos separar la enzima por filtración, previo tratamiento del precipitado con una substancia de baja tensión superficial, que actuará desplazando la enzima de las superficies de las partículas liberándola en estado de relativa pureza.

Es muy dudoso que hasta el momento actual haya sido separada alguna enzima en estado de absoluta pureza, debiendo probablemente ser atribuídas la mayor parte de las propiedades físicas que se consideran típicas de estas substancias, a las impurezas con las que se encuentran ordinariamente asociadas. La separación en estado puro ofrece grandes dificultades, en primer lugar por la gran labilidad que presentan la mayor parte de las enzimas, y en segundo término por la enorme desproporción existente entre la cantidad de substrato y la intensidad de la acción enzimática desarrollada, ya que una pequeñísima cantidad de enzimas puede transformar grandes cantidades de substancia. Por lo tanto, hasta que las dificultades de purificación de las enzimas no hayan sido resueltas, es imposible saber a ciencia cierta si las propiedades atribuídas a aquéllas, tales como la actividad óptica, son realmente debidas a ellas.

Velocidad de las reacciones. Teniendo en cuenta que el principal efecto de la acción enzimática consiste en modificar la velocidad con que se produce una reacción, antes de seguir adelante es forzoso considerar los hechos fundamentales que se refieren a la velocidad de las reacciones.

Si consideramos el caso de moléculas de gran tamaño que se desdoblan formando moléculas de menor tamaño molecular, podremos ver fácilmente que el número de moléculas desdobladas en sus componentes durante un corto espacio de tiempo dt será proporcional al número de moléculas sin desdoblar que se hallan presentes en el sistema. Esto puede representarse así:

$$\frac{dx}{dt} = k\,(C - x)$$

siendo k una constante y C el número de moléculas intactas en el comienzo de la reacción, $(C - x)$ representa el número de moléculas

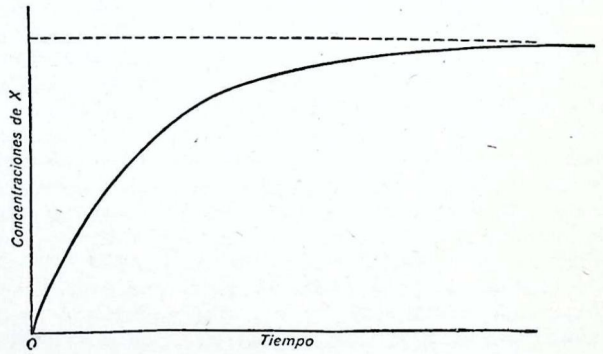


FIG. 37

sin desdoblar en un momento dado y x indica el número de moléculas resultantes del desdoblamiento en el mismo tiempo.

Integrando esta ecuación diferencial tendremos el siguiente resultado:

$$t = \frac{1}{k} \log \frac{C}{C - x}$$

que expresa lo que sucede en una *reacción de primer orden* o *reacción monomolecular,* en la cual la velocidad de la reacción depende solamente de la concentración de uno de los términos (las grandes moléculas en este ejemplo). En la expresión antes indicada, t significa el tiempo en minutos transcurrido en el desdoblamiento de x moléculas. Los logaritmos usados en este cálculo son logaritmos naturales.

Trazando la curva que corresponde a esta expresión según sus dos variables t y x tendremos la representada en la figura 37. La gran inclinación de la curva indica que en el primer estadio de la reacción el desdoblamiento de las moléculas es más intenso que en los últimos períodos. La total transformación de las moléculas presentes al comienzo de la reacción sólo tiene lugar en un espacio de tiempo

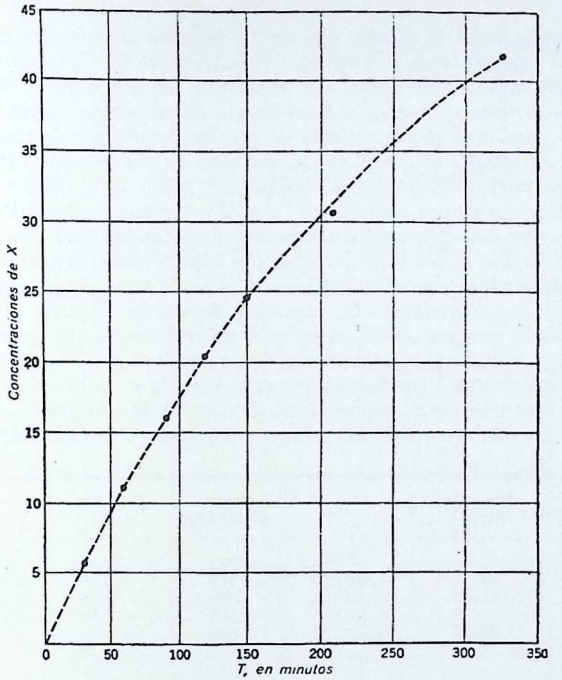


FIG. 38. Inversión del azúcar de caña por el ClH. La cantidad de azúcar invertido está representada sobre las ordenadas y el tiempo sobre las abscisas. La línea punteada se ha calculado bajo el supuesto de que la reacción sea de primer orden. Los resultados obtenidos en las sucesivas observaciones están marcados por puntos. (Según PHILIP)

que se considera como teóricamente infinita. La curva se aproxima a la línea que indica el desdoblamiento del 100 × 100 del substrato de un modo muy gradual, y esta línea constituye una *asíntota* para la curva. La rapidez con que la curva se aproxima a su asíntota vendrá dada por el valor de la constante k, y siempre que k sea pequeña, el ascenso de la curva hacia su asíntota será muy suave, pero la curva ascenderá rápidamente en el caso de que la constante k tenga un valor alto, corriendo junto a la asíntota en una dirección casi paralela a ella, con la que llegará a tomar contacto en un tiempo infinito.

La curva que hemos representado se conoce generalmente con la denominación de *curva logarítmica.*

La integral de la ecuación que nos ocupa puede ser representada en otra forma, mucho más conveniente en la práctica, a saber:

$$k = \frac{1}{t_2 - t_1} \log \frac{C_1}{C_2}$$

k representa aquí lo mismo que en la fórmula anterior, es decir, la velocidad constante de la reacción, mientras que C_1 y C_2 representan las concentraciones de substrato (moléculas sin desdoblar al final de períodos de tiempo t_1 y t_2). Esta forma de expresión ofrece la ventaja que para determinar k sólo es preciso determinar la concentración del substrato al final de un período de tiempo arbitrario.

La importancia de estas expresiones reside en el hecho de que toda reacción química sencilla en la cual intervenga un catalizador se produce como una reacción de primer orden, dando lugar a una curva logarítmica. Tal sucede, por ejemplo, si consideramos el caso de la inversión del azúcar de caña, utilizando el ácido clorhídrico como catalizador. Si representamos la cantidad de azúcar de caña invertida (determinada por los distintos valores polarimétricos que presenta la solución en sucesivas observaciones) en relación con el tiempo, obtendremos una curva logarítmica regular y en la cual la velocidad de reacción k se mantiene realmente constante. Todo ello puede ser comprobado con la lectura de las cifras consignadas a continuación:

Tiempo en minutos	Rotación óptica	k	Tiempo en minutos	Rotación óptica	k
0	46,75		150	22,00	0,001371
30	41,00	0,001332	210	15,00	0,001465
60	35,75	0,001352	330	2,75	0,001463
90	30,75	0,001379	510	— 7,00	0,001386
120	26,00	0,001321	630	—10,00	
				—18,75	

Si la inversión del azúcar de caña se realiza por intermedio de una enzima, la invertasa, se obtendrán los resultados típicos siguientes:

La cantidad de azúcar invertido se expresa en este cuadro como una fracción de la cantidad presente en el comienzo del experimento, siendo x su símbolo.

Tiempo en minutos	x	k	Tiempo en minutos	x	k
30	0,265	0,00445	80	0,945	0,00698
64	0,509	0,00483	240	0,983	0,00737
120	0,794	0,00571			

En este caso los valores obtenidos sobre la marcha del fenómeno de la inversión contrastan con los que resultan cuando el agente catalítico es el ClH, pues mientras en estas circunstancias el valor de k se

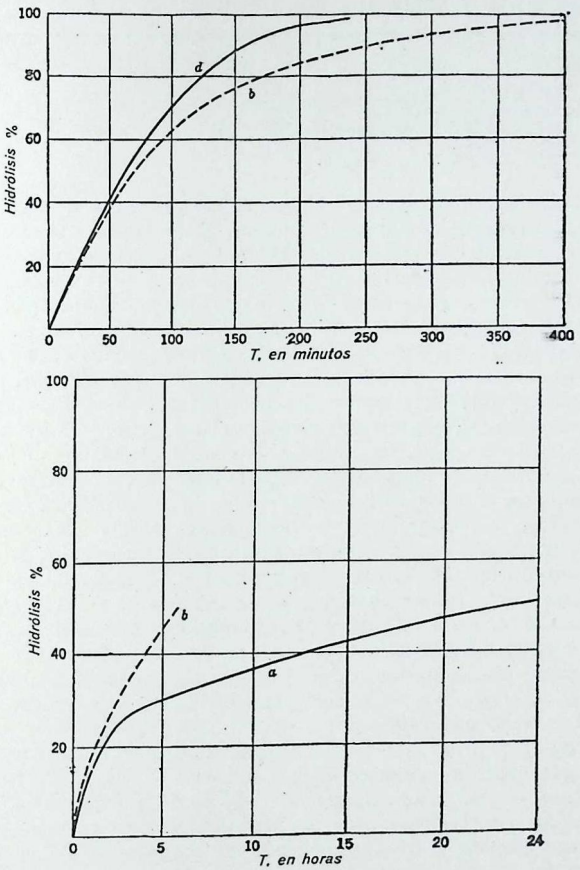


FIG. 39

Gráfica superior: Inversión del azúcar de caña por la invertasa. Los datos observados siguen la curva *d;* los calculados, la línea *b.*

Gráfica inferior: Hidrólisis de la lactosa por la lactasa. El resultado de las observaciones ha dado lugar a la curva *a;* los del cálculo, sobre la curva *b.* En ninguno de los dos casos aparece la marcha de la reacción como de primer orden. (Según PHILIP)

mantiene uniforme, con la intervención de un catalizador orgánico el valor de k varía desde 0,00445 al principio del experimento a 0,00737 al final del mismo.

En el cuadro que sigue se indican los resultados obtenidos en la hidrólisis de la lactosa mediante la lactasa. Aquí también los distintos valores de k indican, como en el cuadro precedente, fracciones de la cantidad de lactosa inicialmente presente:

Tiempo en horas	x	k	Tiempo en horas	x	k
1	0,137	0,0640	5	0,300	0,0310
2	0,221	0,0543	24	0,510	0,0129
3	0,272	0,0460			

En el ejemplo que acabamos de consignar vemos que los valores de k van descendiendo progresivamente desde 0,0640 hasta un quinto de su valor inicial, resultado diametralmente opuesto al obtenido en el ejemplo inmediato anterior. Del examen de las cifras que componen los cuadros precedentes podemos deducir que lo mismo la hidrólisis producida por la lactasa que la actividad propia de la invertasa no pueden ser consideradas entre las llamadas reacciones de primer orden. En esto es preciso reconocer que existe una marcada diferencia entre lo que sucede con el ClH, cuyo poder catalítico, como hemos visto, se acomoda dentro de las antedichas reacciones de primer orden, y lo que acontece con distintas diastasas, las cuales, salvo raras excepciones, desenvuelven su actividad de modo distinto al de una reacción monomolecular. En todo caso, el valor de k nos servirá en la práctica para conocer la velocidad de la reacción, ya que un aumento de ésta irá acompañado del incremento de k y la disminución de valores más bajos de k.

Existen algunas razones para explicar el hecho de que las reacciones en que intervienen la mayoría de enzimas no se desarrollen de acuerdo con las características de las reacciones monomoleculares. En primer lugar, ha podido demostrarse en determinadas circunstancias la desaparición de una cierta cantidad de enzima en el transcurso de la reacción, lo cual hace disminuir la velocidad de ésta, ya que la rapidez del proceso será tanto menor cuanto más pequeña sea la cantidad de enzima. Los productos resultantes de la reacción pueden precipitar una cierta cantidad de enzima; sin embargo, es con mucho un mecanismo más frecuente de inactivación el que resulta del cambio de pH del sistema a consecuencia de las transformaciones químicas que tienen lugar durante el proceso, siendo éstas responsables de los cambios de reacción actual a los cuales las enzimas son tan sensibles. Así, por ejemplo, en la digestión por la tripsina podemos comprobar que los aminoácidos resultantes del desdoblamiento de las proteínas digeridas acidifican el medio, disminuyendo con este motivo la actividad de la enzima o inactivándola definitivamente, ya que la tripsina desarrolla su óptimo de acción con un pH alcalino de 8,3 y es completamente inactiva en medio ácido.

Las enzimas son frecuentemente inactivadas por los productos de la reacción que ellas catalizan, bastando este hecho para explicar

la divergencia que muestra el desarrollo de estos procesos con el que es característico de una reacción monomolecular sencilla. Ahora bien; si tenemos la precaución de ir separando las substancias producidas durante el proceso enzimático, colocando el sistema formado por el substrato y la enzima en un tubo dializador a través del cual vayan pasando dichas substancias, podremos constatar que la velocidad de la reacción se mantendrá constantemente en el transcurso de la transformación fermentativa. En estas condiciones, la misma cantidad de enzima será capaz de descomponer una cantidad de substrato limitada, y no interviniendo la enzima más que por su acción de presencia, encontraremos aquélla inalterada al terminar la reacción.

Otro de los mecanismos que pueden explicar en parte la forma de producirse las reacciones enzimáticas es un cierto grado de reversibilidad en su acción, y así podemos comprobar cómo una enzima que desdoble los almidones en azúcares puede ser capaz al mismo tiempo de favorecer la transformación en sentido opuesto; es decir, convirtiendo los azúcares en almidones, si bien en proporción mucho menor. La velocidad de esta reacción reversible es grande cuando la concentración de los productos finales es mayor, por ejemplo, al final de la reacción. La posibilidad de esta resistencia a base de los productos de desdoblamiento puede verificarse cuantitativamente al finalizar el proceso de desdoblamiento, pudiendo constatar entonces una cantidad de substrato no transformado mayor de la que cabía esperar. El exceso de substrato que aparece hacia el final de la reacción y que sugiere la idea de que el desdoblamiento ha tenido lugar con más lentitud es debido, probablemente, a ese proceso de resistencia que nos ocupa.

La velocidad de la reacción puede ser, en determinadas ocasiones, algo mayor de la que se había previsto, pero la explicación adecuada de este fenómeno es excesivamente compleja para abordarla aquí. En pocas palabras, esta mayor celeridad del fenómeno es debida a la presencia en el sistema de un exceso de substrato, del cual la enzima sólo puede desdoblar una parte durante una fracción de tiempo determinada. Una vez desdoblada esta primera porción, la enzima desarrolla su actividad sobre otro punto de la masa de substrato en exceso, produciéndose el desdoblamiento con una velocidad igual a la que hemos visto en la primera fase, y del mismo modo, en otro período sucesivo, una tercera fracción del substrato será simplificada con una velocidad exactamente igual a la desplegada en los dos primeros períodos. La reacción se produce así con una velocidad constante, por encontrarse la enzima desde el principio hasta el final de la reacción con una cantidad de substrato muy superior al que puede transformar en un tiempo determinado. Dando al fenómeno una representación matemática, tendremos:

$$\frac{dx}{dt} = K \cdot C = \text{constante.}$$

La integración de esta ecuación diferencial nos dará una línea recta en lugar de una curva logarítmica.

Reversibilidad de la acción enzimática. Si tomamos un ejemplo de hidrólisis tal como el desdoblamiento del butirato de etilo en alcohol etílico y ácido butírico, veremos que la hidrólisis se efectúa hasta que las dos terceras partes del compuesto hidrolizado hayan sido descompuestas. Análogamente, si intentamos realizar la unión del alcohol etílico y del ácido butírico mediante un catalizador o por otro medio cualquiera, podremos observar que la síntesis del butirato de etilo dejará de producirse tan pronto como un tercio de las substancias reactivas se haya transformado en éster. En cualquiera de estas dos posibilidades llegaremos a un estado de equilibrio entre las tres substancias, alcohol etílico, ácido butírico y butirato de etilo, que será el mismo a partir del éster o de sus componentes. Las proporciones del equilibrio químico que se producirá en estas circunstancias serán idénticas, ya sea producida la transformación por intermedio de un catalizador inorgánico o de un catalizador orgánico, o en ausencia de toda actividad catalítica en el sistema reactivo. Este fenómeno no es específico del butirato de etilo solamente, sino que puede hacerse extensivo a las distintas modalidades de reacción hidrolítica, pudiendo aplicarse a todas ellas con toda probabilidad. En ciertos casos, como en el de la hidrólisis del azúcar de caña, el equilibrio se establece en un momento muy cercano al del completo desdoblamiento del substrato, no pudiendo observarse cómodamente por este motivo.

Imaginemos que el estado de equilibrio en tales sistemas sea tributario de dos reacciones simultáneas que se producen con la misma velocidad: una de ellas tendería a fragmentar la molécula de butirato de etilo en ácido butírico y alcohol etílico, mientras que la otra tiende a partir de sus dos componentes hacia el éster, butirato de etilo. Pero como las dos reacciones se realizan a la misma velocidad, ninguna de ellas predomina y se establece el equilibrio indefinidamente. La posibilidad de que bajo la acción de catalizadores inorgánicos se produzcan estos equilibrios químicos como resultado de dos reacciones simultáneas de dirección opuesta dió lugar a que Van't Hoff, en 1889, emitiera la hipótesis de que en la acción de las enzimas habría que distinguir junto a la actividad desdobladora una de índole sintética que permitiría rehacer una parte del substrato, introduciendo con ello una noción de gran interés acerca del modo de actuar de las enzimas.

La realidad de estos procesos sintéticos adscritos a la actividad de las enzimas fué puesta de manifiesto poco después por las investigaciones de Croft Hill, cuando pudo obtener la preparación de un disacárido a partir de un monosacárido como la glucosa por intermedio de una enzima, la maltasa. Posteriormente se han confirmado estos hechos al ser realizadas algunas otras síntesis, como la de substancias parecidas a los almidones y dextrinas por intermedio de enzimas del tipo de la amilasa, cuya acción más conocida consiste en descomponer los almidones y las dextrinas en monosas. También han sido preparados diversos ésteres, como el oleato de metilo, el trioleato glicérico y el butirato etílico, por la acción de lipasas actuando sobre ácidos grasos y alcoholes adecuados. La salmina (substancia alcalina perteneciente al grupo de las protaminas) ha sido sintetizada a partir de los productos de la digestión hidrolítica de proteínas, gracias a la intervención de un preparado especial de tripsina. Las paranucleínas, que son proteínas de peso molecular bajo, han podido ser preparadas haciendo actuar la pepsina sobre productos de la hidrólisis de la caseína. Estas y otras varias síntesis establecen de un modo indudable que un gran número de enzimas puede actuar de un modo reversible cuando se hallan en condiciones adecuadas y hacen verosímil la suposición de que las enzimas intracelulares sean capaces de actuar en la desintegración y en la síntesis de las substancias sujetas a su acción de un modo simultáneo. Los procesos de simplificación y síntesis que tienen lugar en el interior de las células son, sin embargo, de una mayor rapidez en comparación de los que se observan *in vitro*, ya que las resíntesis que hemos mencionado anteriormente son reacciones de una cierta lentitud.

Influencia de la temperatura. Teniendo en cuenta que no sea rebasado un cierto óptimo de temperatura, el efecto que ejerce el incremento de ésta sobre las acciones enzimáticas es de la misma naturaleza que el ejercido sobre otras modalidades de reacción química. Al aumentar la temperatura, la velocidad de la reacción aumenta proporcionalmente a ella; si designamos las velocidades por V_1 y V_2 y las temperaturas respectivas por t_1 y t_2, la relación entre las mismas podría ser representada en la siguiente forma:

$$\frac{V_2}{V_1} = e^{\frac{\mu}{2}\left(\frac{t_2 - t_1}{t_1 t_2}\right)}$$

en donde t_1 y t_2 se expresan en grados centígrados. La expresión precedente tiene un carácter general y puede ser aplicada al efecto que ejerce la temperatura sobre la velocidad de distintos procesos, ya sean de naturaleza química o física, siendo frecuente utilizar el valor de la constante para indicar la cuantía del efecto producido por las variaciones de temperatura.

En la investigación fisiológica se acostumbra a utilizar otro método para expresar el efecto de la temperatura, en atención a su mayor sencillez. La velocidad de la reacción se determina a dos temperaturas que difieren entre sí en 10°, pudiendo obtenerse de la relación entre estos dos valores el denominado *coeficiente de temperatura* de la reacción de que se trate, y tendremos:

$$C = \frac{\text{Velocidad a } t + 10°}{\text{velocidad a } t}$$

De un modo general podemos considerar que este coeficiente de temperatura es bajo para los procesos de naturaleza física (inferior a 2), mientras que en los procesos químicos es ordinariamente más elevado. Esta diferencia en el coeficiente de temperatura ha sido utilizada por distintos autores para clasificar, de acuerdo con estos datos, la índole física o química de diversos procesos; sin embargo, conviene recoger con reserva tal clasificación, ya que un gran número de reacciones de naturaleza estrictamente química tienen un coeficiente de temperatura bajo, y, por el contrario, existen también una considerable cantidad de procesos físicos que presentan coeficientes de temperatura relativamente elevados. La saponificación del butirato de etilo, por ejemplo, presenta un coeficiente de temperatura de 1,45 para 10°, y, no obstante, procesos físicos tales como la imbibición o la coagulación de las proteínas por el calor ofrecen coeficientes considerablemente altos.

Los coeficientes de temperatura característicos de las reacciones enzimáticas son casi siempre del orden de los observados en la mayor parte de reacciones químicas, produciendo un aumento de 10° en la temperatura del medio, una aceleración de la velocidad del proceso dos o tres veces mayor. En algún caso se han hallado coeficientes de temperatura muy elevados, habiendo encontrado para la acción de la tripsina un valor de 5,3 y para la de la papaína 3,8. Valores tan elevados han hecho suponer si el aumento de temperatura podría alterar el grado de dispersión de la misma enzima, produciendo un aumento de la superficie específica, interpretación que se hallaría en armonía con la hipótesis que atribuye el poder enzimático a fenómenos de adsorción.

La *temperatura óptima* para la acción de muchas enzimas es de 40° a 45°. Si rebasamos esta temperatura, la enzima es destruída tanto más rápidamente cuanto el nivel térmico sea más elevado. En las enzimas de los animales de sangre fría, como por ejemplo, en la lipasa aislada del estómago de la cucaracha, el óptimo de la temperatura puede encontrarse a un nivel considerablemente más bajo que el indicado. Por otra parte, existe un corto número de enzimas cuyo óptimo térmico es considerablemente mayor, y así la papaína actúa mejor a 60°. Este elevado óptimo de temperatura explica el hecho de que las enzimas que lo presentan resisten la acción destructora del calor en una gama de temperaturas más extensa que las otras. Ejemplos de esta resistencia al calor nos lo ofrecen las enzimas proteolíticas de las bacterias, las cuales no son destruídas a la temperatura de ebullición del agua, así como la tripsina, que en medio ácido puede resistir durante algunos minutos temperaturas de 100°.

Influencia del pH. Todas las enzimas, a un cierto *p*H, desarrollan un máximo de actividad. Las desviaciones de esta concentración de hidrogeniones óptima disminuye la eficacia enzimática, pero si la

variación del *p*H es de alguna importancia, cualquiera que sea el sentido de la misma, puede destruir definitivamente la enzima.

La mayoría de las enzimas tienen su *p*H óptimo en las proximidades de la neutralidad, o sea *p*H 7. Existen algunas excepciones, de las cuales las dos más notables son: la pepsina, que actúa mejor en sol 0,05 molar de ClH (*p*H alrededor de 1,4), y la tripsina, cuyo *p*H óptimo es de 8,4. Una ligera desviación hacia la acidez inactiva inmediatamente la tripsina, si bien no llega a destruirla, y de un modo análogo la pepsina en un medio alcalino también es inactivada, con la diferencia en este caso de que el fenómeno no es reversible, quedando la enzima destruída.

El mecanismo mediante el cual las condiciones del *p*H influyen sobre la actividad de las enzimas no se halla esclarecido completamente; existen argumentos en favor de una combinación entre la enzima y el ácido o álcali, y otros, en cambio, que abonan la hipótesis de que la influencia de la reacción actual consiste sólo en hacer más accesible el substrato para la enzima, quizá por aumento de la ionización. Este modo de ver encuentra un excelente apoyo en el modo de actuar la pepsina, la cual tiene su óptimo de acción a un *p*H de 1,4, y no sólo esto, sino que dicha reacción óptima debe ser producida concretamente por el ClH y no por otros ácidos, ya que estableciendo dicho *p*H con SO_4H_2, la actividad de la enzima se encuentra considerablemente disminuída. Que todo el efecto no debe ser atribuído solamente a la concentración de H' iones se deduce de la especificidad del ClH como *activador* de la enzima, tal vez por combinarse con él en alguna forma. De lo expuesto se deduce que el ácido ejerce un efecto muy preciso sobre el substrato y sobre la enzima, ya que el óptimo de concentración ácida se halla estrechamente vinculado con la naturaleza de la proteína sobre la que haya de actuar. Además, se ha podido establecer que la concentración óptima de ácido se corresponde con aquella en que el substrato-ácido tiene una conductibilidad máxima, hecho que viene a confirmar el punto de vista según el cual una de las acciones del ácido sería la de combinarse con el substrato para modificar su estado de ionización.

En el caso de la tripsina, el problema de su *p*H óptimo es mucho más sencillo, ya que la actividad de la enzima es independiente del álcali que establezca la reacción óptima.

Cuando una substancia determinada ejerce una acción activadora sobre una enzima, tal como la del ClH sobre la pepsina, se acostumbra a denominarla *coenzima*. Si examinamos lo que sucede con varias otras diastasas, veremos que la amilasa del hígado es inactiva en ausencia de los iones de Cl', que la papaína en presencia de SH_2 y CNH aumenta mucho su actividad, y la ptialina, para desarrollar el máximo de actividad necesita la presencia de ClNa. En estos ejemplos pueden considerarse como tales coenzimas los Cl' iones, SH_2 y CNH y ClNa respectivamente. En ciertos casos la naturaleza química

de la coenzima es del todo desconocida. Si hacemos actuar la lipasa altamente purificada, es casi inactiva para el desdoblamiento de las grasas; no obstante, la adición de extracto hepático aumenta considerablemente su actividad. Las sales biliares también actúan como activadores o coenzimas de la lipasa; sin embargo, el mecanismo por el cual estas substancias producen su efecto activador es todavía desconocido. Otro excelente ejemplo de intervención de coenzimas es el que nos ofrece la acción de determinadas sales que, separadas por diálisis del jugo pancreático, suprimen la actividad digestiva de este jugo frente a los almidones y azúcares. La adición de Cl' o Br' iones restablece la actividad digestiva que había sido anulada en el jugo pancreático, y por este motivo dichos iones se comportan en el ejemplo últimamente citado como verdaderas coenzimas.

Antienzimas. Así como las llamadas coenzimas son substancias cuya actividad específica consiste en el aumento de actividad de las enzimas, las *antienzimas* son aquellas substancias que ejercen una influencia depresora sobre la actividad enzimática.

Es un hecho conocido que si se inyectase a un animal una proteína heteróloga, el animal objeto de experiencia elaborará un *anticuerpo* que ejercerá sobre el *antígeno* o proteína inyectada un efecto precipitante o de neutralización por algún otro mecanismo. No sólo las proteínas pueden provocar la formación de anticuerpos, sino también ciertos lipoides complejos y determinados glucósidos, habiéndose pensado también si la inyección de enzimas puede desencadenar la formación de anticuerpos específicos o antienzimas. Si, por ejemplo, inyectamos a un animal una cierta cantidad de emulsina, veremos aparecer en el suero de aquél una intensa acción inhibitoria de la actividad enzimática de la emulsina, que no es dable poner de manifiesto antes de la inyección. Por otra parte, en el suero normal de un gran número de animales se puede demostrar una acción neutralizante sobre la actividad de la tripsina, la cual se ha atribuído a la presencia en circunstancias normales de "antitripsina".

El criterio más compartido actualmente es el considerar que la mayor parte, si no todas las llamadas "antienzimas", no tienen una existencia real, y que los efectos inhibitorios observados podrían ser debidos a diferencias de *p*H, etc., en los sistemas en que dichas acciones se han puesto de manifiesto. Este modo de ver es válido sólo en el caso de que las enzimas a las cuales se supone capaces de producir antienzimas sean substancias privadas en absoluto de proteínas, ya que de no ser así la inyección de aquéllas podría acarrear la producción de anticuerpos originados por las impurezas que estuvieran asociadas a las enzimas. No ha sido posible provocar la formación de antienzimas para un gran número de esta clase de substancias, tales como la pepsina, lipasa, amilasa o invertasa, y las escasas antienzimas que se cree haber aislado presentan características muy diferentes a las de los anticuerpos.

La llamada "antitripsina" del suero de la sangre normal merece un breve comentario. Esta substancia no parece por sí misma una proteína; sin embargo, se halla asociada con la albúmina del suero y pierde su estabilidad por la acción del calor. Además, otra característica de la antitripsina del suero es la de no poder inactivar toda la tripsina que se le añada, sino solamente una parte de ella. Esto concuerda con el hecho de observación según el cual las débiles cantidades de antitripsina son relativamente más eficaces que cantidades mayores, lo que sugiere la idea de que la substancia en cuestión, al ponerse en contacto con la enzima, forma con ella un compuesto de adsorción en el cual sería inactiva. En la albúmina de huevo se ha señalado la existencia de una substancia semejante; también en los vermes intestinales ha sido aislada una substancia que presenta muchas propiedades idénticas, no tratándose en este caso de un anticuerpo típico por ser soluble en alcohol y dializar libremente.

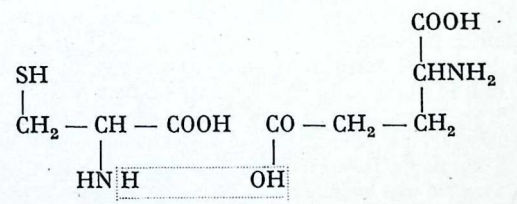
Enzimas que intervienen en los procesos de oxidación de los tejidos. En casi todos los tejidos vivientes existen unas enzimas denominadas *peroxidasas,* las cuales tienen la propiedad de descomponer el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno activo. La presencia de estas diastasas puede ser puesta de manifiesto por la *reacción del guayaco,* que consiste en añadir ácido guayacónico al tejido o extracto cuyas peroxidasas hayan de determinarse. Cuando el tejido sobre el cual se realiza la prueba produce oxígeno naciente, el ácido guayacónico es oxidado y toma un color azul. Esta prueba puede ser puesta de manifiesto con toda claridad utilizando pulpa de patata, la cual en contacto con ácido guayacónico, en presencia del aire, produce espontáneamente el color azul característico; sin embargo, esta reacción no tiene lugar en una atmósfera de nitrógeno y tampoco si la pulpa de patata es tratada por el alcohol, hasta obtener un extracto. Para conseguir en estas condiciones la raección típica con el ácido guayacónico, será preciso añadir previamente un peróxido, el H_2O_2 por ejemplo, en presencia del cual el extracto de pulpa descompondrá rápidamente el peróxido, dando lugar a la formación de oxígeno activo, que uniéndose con el ácido reactivo formará el color azul característico.

Las observaciones consignadas precedentemente pueden ser explicadas en la siguiente forma: El tejido contiene dos substancias, una de las cuales sería una enzima capaz de convertir el peróxido de hidrógeno en oxígeno activo y agua, y la otra una substancia autooxidable u *oxigenasa,* que tendría la propiedad de transformar el oxígeno atmosférico en peróxido de hidrógeno. En la patata fresca se encuentran presentes ambas substancias, y la simple exposición al aire de una cierta cantidad de pulpa de patata producirá en primer lugar la conversión de una cantidad de oxígeno en peróxido de hidrógeno por intermedio de la oxigenasa, y aquella substancia, a su vez, sería descompuesta por la intervención de la peroxidasa en agua y en oxígeno activo, siendo este último el que en presencia del ácido guayacónico

lo oxidaría, dando lugar al compuesto azul. Si la pulpa se halla en una atmósfera de nitrógeno durante algún tiempo, no pudiendo verificarse la captación del oxígeno, tampoco será factible la formación de peróxido. En el caso de que la pulpa haya sufrido la acción del alcohol, el extracto resultante contendrá una cierta cantidad de peroxidasa, pero en estas circunstancias la acción de la oxidasa no se pondrá de manifiesto y por lo tanto el extracto conservará el poder de convertir el peróxido de hidrógeno en oxígeno activo y agua, pero, sin embargo, no podrá desenvolver el ciclo de transformaciones a partir del oxígeno atmosférico.

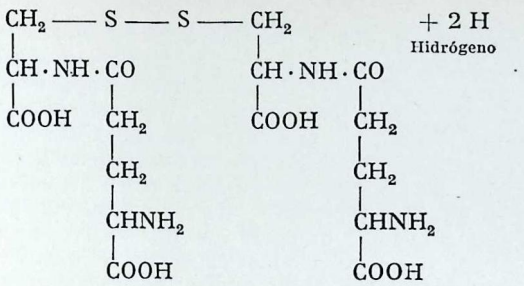
Mientras que se ha reconocido que las peroxidasas son enzimas, a las substancias autooxidables se les atribuye naturaleza distinta, siendo las principales, ácidos grasos no saturados, substancias lipoidea (la substancia autooxidable de la patata se considera de una composición análoga a la de una lecitina) y substancias del tipo del *glutation*, cuya constitución química es la de un dipéptido. Esta última es, sin duda alguna, la más importante, ya que se la encuentra en todos los tejidos, excepción hecha del tejido conectivo y de la sangre. Esta substancia puede ser determinada por un método colorimétrico, que consiste en el calentamiento de una pequeña cantidad de tejido en presencia de solución diluída de ácido acético, saturándola luego con sulfato amónico, y añadiendo después unas pocas gotas de solución de nitroprusiato sódico se alcaliniza finalmente con la adición de amoníaco. La presencia de *glutation* o de substancias semejantes en composición se ponen de manifiesto con la producción de un color rojo intenso.

El *glutation* ha sido aislado y sintetizado por HOPKINS y sus discípulos, hallándose constituído por la unión de una molécula de cisteína con otra de ácido glutámico, mediante un enlace peptídico,



Cisteína — Ácido glutámico

En estado puro toma el aspecto de un polvo blanco y amorfo, muy soluble en el agua e insoluble en alcohol y éter. Cuando se halla en presencia de oxígeno o de aire pasa a la forma oxidada por la unión de dos moléculas de la forma reducida anteriormente descrita, dando lugar a la formación de una molécula mayor con pérdida de H del grupo terminal SH,



Forma oxidada de glutation

Al oxidarse el *glutation* deja en libertad dos átomos de hidrógeno activo, siendo opinión generalmente aceptada que esta modificación tiene lugar merced a una enzima intracelular, la *deshidrogenasa*. El hidrógeno activo así liberado es ahora capaz de combinarse con oxígeno atmosférico para formar H_2O_2, siendo la continuación del proceso tributaria de la presencia *in situ* de peroxidasa, la cual descompondría el H_2O_2 formado en agua y oxígeno activo. En estas condiciones, el tejido se comporta como un manantial constante de oxígeno activo, ya que el *glutation* oxidado, lo mismo que cualquier otra substancia autooxidable, es inmediatamente reducido en los tejidos, volviendo desde aquí a comenzar de nuevo todo el ciclo de transformaciones.

En estrecha relación con los mecanismos de óxidorreducción indicados, conviene poner de manifiesto otras dos cuestiones. En primer lugar, la que se refiere a la desaparición del peróxido formado por el hidrógeno activo suministrado por la substancia autooxidable. Todo el peróxido que no haya sido convertido en oxígeno activo y agua mediante la intervención de las peroxidasas, será desdoblado gracias a las *catalasas* intracelulares en agua y en oxígeno molecular, O_2. Podríamos esquematizar todo el ciclo del proceso de la manera siguiente, representando el *glutatión* por el símbolo G-SH,

(I) $2G \cdot SH \rightarrow G \cdot S - S \cdot G + 2H$ (deshidrogenasa)

(II) $2H + O_2 \rightarrow H_2O_2$

(III) $H_2O_2 \rightarrow H_2O + O$ (peroxidasa)

(IV) $2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$ (catalasa).

Esta sucesión de fenómenos explicaría el hecho comprobado de la no acumulación del peróxido en los tejidos, contingencia que sólo puede darse en el caso de que sobre el tejido hiciéramos actuar alguna substancia tóxica.

La otra cuestión a que hacíamos referencia es la relacionada con el punto donde tiene lugar la unión entre el hidrógeno activo y el oxígeno, que parece muy verosímil pueda localizarse en las superfi-

cies de los elementos coloidales constituyentes del citoplasma, hallándose aquí las substancias reactivas concentradas por un proceso de adsorción, circunstancia que habría de aumentar considerablemente su capacidad de combinación química. WARBURG ha sugerido la siguiente interpretación del fenómeno: Las superficies de los coloides celulares influirían sobre las substancias haciéndolas inestables, y la activación del oxígeno sería debida a los átomos de hierro contenidos en aquellas superficies, que actuarían como catalizadores de las transposiciones químicas que nos ocupan. En apoyo de este modo de ver se han aducido las experiencias de inactivación de los fenómenos respiratorios de las células por el cianuro potásico, el cual paralizaría la influencia catalizadora del hierro. Que la actividad de las substancias autooxidables depende en gran proporción de la presencia del ion hierro, parece hallarse confirmada por el hecho de que en ausencia de este ion, dichas actividades se encuentran muy atenuadas (1).

Finalmente, es interesante hacer notar que los fenómenos de respiración celular englobados en los procesos oxidativos se continúan aun cuando la integridad morfológica de la célula se halle destruída. Los glóbulos rojos nucleados, por ejemplo, continúan respirando aun después de producir la hemólisis de los mismos, mientras quedan relativamente íntegros los núcleos y alguna porción de citoplasma.

Zimógenos. Un cierto número de enzimas, y de un modo especial aquellas que son segregadas por células glandulares, no se encuentran en el interior de las células en estado libre, sino formando *zimógenos* o *precursores* de enzimas. Estos zimógenos, al ser segregados o muy poco después, se convierten en enzimas por un proceso cuyo mecanismo no se conoce bien todavía.

En el caso de la tripsina, al ser segregado el jugo pancreático, éste contiene su zimógeno, denominado *tripsinógeno,* cuya activación se produce sólo en el momento en que la secreción llega al duodeno y se pone en contacto con otra enzima, *enterocinasa,* segregada por las células de la mucosa intestinal, ignorándose actualmente la intimidad de este proceso de activación. Por otra parte, el *pepsinógeno* es activado por el ácido ClH, siendo muy verosímil que se trate aquí de alguna influencia química relativamente sencilla entre el zimógeno y el ácido. La ptialina contenida en las glándulas parótidas y submaxilares pasa probablemente de la fase de zimógeno a la de ptialina activa en el interior mismo de las células secretoras, no existiendo un activador específico para ella, ya que la propiedad de coenzima asignada en este caso al ClNa es insignificante.

(1) WIELAND sostiene que el mecanismo esencial de la oxidación consiste en la activación del H_2 por intermedio de las deshidrogenasas, habiendo demostrado que la activación del O_2 no es indispensable para que la oxidación pueda realizarse. Que es el H_2 el que se activa se demuestra con el hecho de que el O_2, como aceptor de H_2, puede ser reemplazado por otras substancias, por ejemplo, el azul de metileno. — *N. del T.*

El único zimógeno que ha podido ser aislado en estado de relativa pureza es el precursor de la pepsina, el pepsinógeno. Éste se prepara produciendo la autólisis de estómagos de cerdo en medio alcalino durante algunas semanas, precipitando después las proteínas por el ácido acético, y, finalmente, se precipita también el zimógeno con acetato de uranilo; de esta última precipitación se extrae el zimógeno con solución diluída de carbonato sódico. La substancia así obtenida no presenta las propiedades de las proteínas, como tampoco la enzima derivada de ella; es ópticamente activa, fácilmente adsorbible y en todo ofrece una notable semejanza con la pepsina propiamente dicha, excepto en la carencia de acción sobre las proteínas.

Mecanismo de la acción enzimática. Podemos afirmar sin temor a equivocarnos que, en el estado actual de nuestros conocimientos, la naturaleza íntima del proceso no ha sido establecida en forma que pueda resistir los embates de la crítica. Las dos principales hipótesis que se han adelantado acerca de esta cuestión son las siguientes: una de ellas supone que entre la enzima y el substrato tendría lugar una combinación química de la que resultaría un nuevo compuesto inestable que sería el puente de paso entre el substrato y los productos finales de la reacción. La otra teoría supone que la enzima actuaría sólo como catalizador gracias a un proceso de adsorción, en virtud del cual el substrato se concentraría en la superficie de la misma.

La primera de estas dos hipótesis, que supone la formación de un compuesto intermediario entre la enzima y el substrato, tiene en su favor pocos argumentos. Es cierto que existe un ejemplo único de catálisis, en el cual la reacción se realiza de acuerdo con este modo de ver, y es el que nos ofrece la intervención del ácido molíbdico acelerando la reacción que se produce entre el peróxido de hidrógeno y el yoduro de hidrógeno, teniendo lugar la formación de un compuesto intermedio de ácido molíbdico y peróxido, el ácido permolíbdico, que es muy inestable, sin que se haya podido demostrar nada análogo en el modo de producirse las acciones enzimáticas.

Todo ello no significa que pongamos en duda la posibilidad de que enzima y substrato se unan en gran número de casos y que ordinariamente este hecho sea anterior al comienzo del proceso de desdoblamiento diastásico; pero conviene que recordemos que esta unión es más probablemente de naturaleza física que química, con formación concomitante de una nueva substancia intermediaria.

La segunda hipótesis interpreta el proceso enzimático como un fenómeno dependiente de la energía de superficie. Este modo de ver encuentra apoyo en el hecho de que la emulsina, lipasa, tripsina y otras enzimas diversas pueden ejercer su acción sobre soluciones alcohólicas en las cuales son grandemente insolubles y de las que pueden ser separadas por filtración. Como coloides que son, las enzimas poseen una gran superficie específica, hecho que facilita la concentración de

los componentes del sistema a nivel de las superficies de contacto, exaltando con ello su capacidad de transformación. Pero la simple adsorción de las substancias que componen el sistema no basta para explicar el efecto catalítico de las enzimas, así como tampoco es suficiente para dar cuenta de ciertas particularidades del proceso, siendo la principal de ellas la que se refiere a su especificidad, ya que una enzima determinada será capaz solamente de actuar sobre una substancia o grupo químico concretos, pero no sobre otros. Por ello es menester que admitamos una reacción química inicial provocada por la enzima, la cual sería acelerada consecutivamente en la superficie de ésta, siendo el resultado de la reacción química el desdoblamiento del substrato en los productos finales de hidrólisis.

El problema de la especificidad de las enzimas constituye uno de los principales escollos con el que tropieza cualquiera de las teorías ideadas acerca del mecanismo de las acciones diastásicas, pero en lo que pueda contribuir a la simplificación del problema conviene que recordemos que la especificidad no constituye una propiedad exclusiva de los catalizadores orgánicos, ya que el mismo fenómeno ha sido puesto de manifiesto en determinados catalizadores inorgánicos. Así vemos que el níquel, el cobre, el hierro, el paladio y el cobalto son todos ellos metales capaces de adsorber los gases CO y H_2, y de entre ellos sólo el níquel, el cobalto, el hierro y el platino son capaces de actuar como catalizadores de las reacciones siguientes:

$$CO + 3H_2 = CH_4 + H_2O$$

y

$$2CO = CO_2 + C.$$

El níquel y el cobre adsorben el benceno y el hidrógeno; sin embargo, la actividad del níquel se halla limitada a los casos de hidrogenación del núcleo bencénico. La especificidad de estas reacciones ha sido atribuída a la forma de disponerse sobre la superficie del catalizador ciertos grupos moleculares, habiéndose extendido este modo de ver a la explicación de la especificidad de las acciones enzimáticas. Pero es preciso confesar que estar hablando de configuración molecular de las superficies de enzimas y substratos cuya composición nos es desconocida, no pasa de ser, en el mejor de los casos, un atractivo juego de palabras.

Coagulación de la sangre. Considerando la coagulación de la sangre como un caso particular de acción enzimática, podemos encuadrar aquí el estudio de esta cuestión.

Los glóbulos rojos de la sangre de los vertebrados se hallan en suspensión en un líquido más o menos coloreado, el plasma sanguíneo, que contiene 6 a 8 % de proteínas, además de una cierta cantidad de sales, glucosa y varios productos derivados del metabolismo. Cuando la sangre al salir de los vasos se pone en relación con el medio ambiente, se produce un cambio espontáneo, consistente en que una de las proteínas plasmáticas, el *fibrinógeno*, se convierte en una proteína insoluble, la *fibrina*, la cual forma una red de finas y complicadas mallas entre las cuales quedan aprisionados los glóbulos

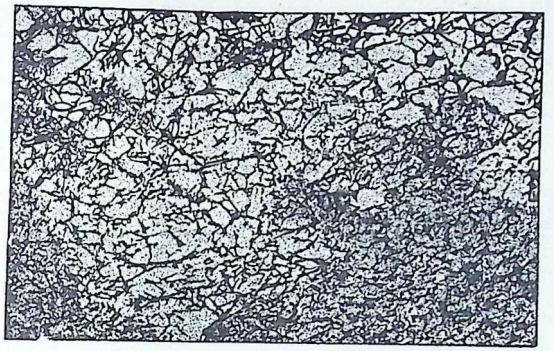


FIG. 40
Red de fibrina en un coágulo sanguíneo. (Según SCHAFER, *Essentials of Histology*)

rojos, dando lugar a la formación de un coágulo. Éste presenta la apariencia de un gel y una cierta elasticidad, produciéndose en el término de pocas horas el fenómeno de la sinéresis y separándose por retracción del coágulo un líquido claro, el suero, cuya composición es la misma del plasma sanguíneo excepto el fibrinógeno. Sobre cuál pueda ser el mecanismo productor de estas modificaciones al ponerse la sangre en contacto con una superficie extraña a la que constituye su medio habitual, ha sido objeto de una serie de investigaciones e hipótesis.

Entre todas la más generalmente aceptada es aquella que atribuye el comienzo del fenómeno de coagulación al estallido de las *plaquetas sanguíneas* contenidas en la sangre, elementos que para algunos autores serían pequeñas células y para otros fragmentos de ciertos elementos celulares. Las plaquetas, al ponerse en contacto con una superficie extraña, estallan (véase página 13), y el rompimiento de las mismas determina la liberación de una enzima, *trombocinasa*, que es necesaria para que el procesc de la coagulación de la sangre se inicie.

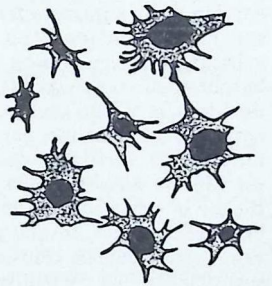


FIG. 41
Plaquetas de sangre de mamífero. (Según SCHAFER, *Essentials of Histology*)

La trombinasa es inactiva en ausencia de iones de $Ca^{\cdot\cdot}$, y por lo tanto estos iones de $Ca^{\cdot\cdot}$ deben ser considerados como una coenzima. Cuando la enzima y la coenzima se hallan juntas actúan sobre una substancia que en estado normal se encuentra en la sangre y que se denomina *trombógeno* o *protrombina,* convirtiéndola en la enzima llamada *trombina.* Entonces la trombina, actuando a su vez sobre el fibrinógeno lo convertiría en fibrina insoluble, de un modo análogo al que hemos visto con la trombocinasa, que al actuar sobre la protrombina da lugar a la formación de trombina. El orden de estas transformaciones podría ser esquematizado en el siguiente cuadro:

Plaquetas → Trombocinasa (enzima)
iones de $Ca^{\cdot\cdot}$ (coenzima)
Protrombina (Zimógeno) → Trombina (enzima)
Fibrinógeno (proteína soluble) → Fibrina (proteína insoluble).

Considerada desde este punto de vista, la coagulación de la sangre sería producida por una doble acción enzimática. A pesar de la complejidad que supone una explicación semejante, ofrece la ventaja de que con este esquema encuentran respuesta adecuada gran número de cuestiones que de otro modo serían difíciles de interpretar. Si se toma la precaución de recoger la sangre en vasos parafinados, puede mantenerse flúida durante largos períodos de tiempo, lo que se explica de la siguiente manera: las plaquetas, al deslizarse sobre una superficie parafinada no estallan, no siendo por lo tanto liberada la substancia esencial para que el proceso de coagulación se inicie. El batido de la sangre, por el contrario, acelera el proceso de coagulación, debido a la relativa mayor superficie que supone la introducción del agitador (constituído por un manojo de piezas de alambre o por un manojo de varillas), que ofrece a las plaquetas más posibilidades de liberar su contenido. Como cabría esperar de lo que llevamos dicho, la privación de iones de $Ca^{\cdot\cdot}$ retardará o impedirá la producción del coágulo, lo que puede ponerse de manifiesto añadiendo a la sangre una cierta cantidad de oxalato potásico, que precipitará los iones de $Ca^{\cdot\cdot}$ en forma de oxalato de calcio insoluble. Del mismo modo actúan los fluoruros solubles, los cuales inactivan el calcio sanguíneo al formar con él fluoruro cálcico. Algunos autores han atribuído también la acción anticoagulante de la *hirudina,* substancia extraída de la cabeza de la sanguijuela, a la capacidad que tendría ésta de combinarse con el calcio, privando así a la sangre de la coenzima de la trombocinasa. Finalmente, la temperatura condiciona también la velocidad de coagulación, acelerándola las temperaturas elevadas y retardándola las bajas temperaturas.

En los crustáceos, el proceso de coagulación se halla asociado, con mayor certeza que en los vertebrados, con el estallido de ciertas células de gran labilidad. Tomando como ejemplo típico la sangre del *Limulus,* podremos observar que contiene, entre otras células, un tipo especial denominado *corpúsculos explosivos,* los cuales al extenderse sobre una superficie extraña se destruyen liberando una substancia semejante a la trombocinasa. La influencia de esta substancia sobre otras presentes en la sangre de los crustáceos da lugar a la formación de un coágulo, el cual comienza a formarse en la proximidad de estas células explosivas destruídas. Análogamente, los primeros filamentos de fibrina observados en la coagulación de la sangre de la

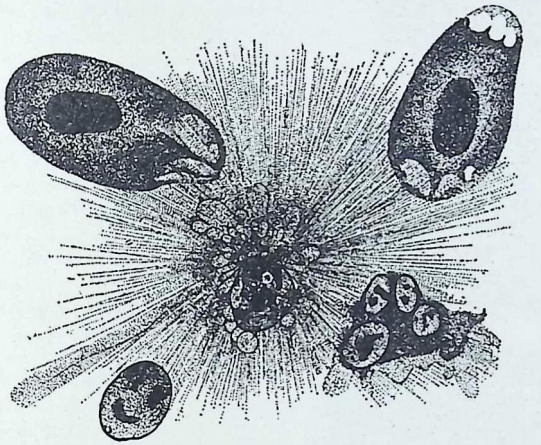


FIG. 42. Representación de plaqueta de salamandra durante los primeros estadios del proceso de coagulación de la sangre. Las finas líneas que parten de ella son filamentos de fibrina. (Según SCHAFER, *Essentials of Histology)*

rana irradian desde acúmulos de plaquetas aglutinadas; éste y otros hechos semejantes abogan en favor de la hipótesis que atribuye a las plaquetas la liberación de una substancia que habría de intervenir en el proceso de la coagulación sanguínea. También se ha sostenido que el proceso puede iniciarse por la intervención de substancias producidas en los tejidos lesionados sobre los que se derrama la sangre, interpretación difícil de contradecir. Probablemente, las substancias liberadas por los tejidos lesionados y que ejercen un efecto similar a las que se desprenden de la destrucción de las plaquetas pueden, sin duda, condicionar también la coagulación, pero la importancia que tengan cada una de ellas en el proceso dependerá de las condiciones en que se produzca la hemorragia. Si, por ejemplo, obtenemos una cantidad de sangre por medio de una cánula introducida en un vaso sanguíneo, habrá que atribuir a la trombocinasa producida por las

plaquetas la formación del coágulo; pero si la sangre se derrama a través de alguna lesión de importancia, el proceso puede muy bien ser provocado por las substancias liberadas por las células de los tejidos mortificados.

En contraposición con la teoría que acabamos de mencionar, sin duda la más generalmente aceptada, se han emitido otras hipótesis, dos de las cuales trataremos de resumir a continuación. Una de ellas considera la coagulación más bien como un fenómeno de naturaleza física, y la otra se funda en que la conversión del trombógeno en trombina es debida a la desaparición de una substancia llamada *antitrombina*. La antitrombina se halla en grandes cantidades en el hígado, órgano del cual puede extraerse sin duda una poderosa substancia anticoagulante, si bien recientemente se ha podido demostrar que ésta puede también ser preparada por hidrólisis de varias proteínas, y, por esta razón, que no se trata de ninguna substancia específica. Por lo tanto, la teoría de la antitrombina espera todavía hechos que la puedan confirmar.

FIG. 43. Distintas fases de la formación de los filamentos de fibrina observados al ultramicroscopio. Su apariencia sugiere la posibilidad de una transformación de sol a gel.
(Según HOWELL, *Physiology*)

En la "teoría física" se tiende a negar la existencia de substancias como la protrombina, la antitrombina, la antiprotrombina (exigida también en la teoría de la antitrombina), etc., y en cambio se atribuyen todos los fenómenos de la coagulación a cambios físicoquímicos de un sistema coloidal complejo. El hecho fundamental en apoyo de esta hipótesis es lo que sucede con el coágulo de la sangre de las aves, el cual pasa primeramente por una fase de gelación reversible, antes de convertirse en un coágulo irreversible después de algún tiempo. Otra sorprendente semejanza entre la coagulación de la sangre y la precipitación que tiene lugar en los sistemas coloidales es el efecto más intenso obtenido cuando añadimos una cantidad determinada de coagulante, por ejemplo, extracto de tejidos, que cuando aquélla se realiza adicionando pequeñas cantidades y a intervalos. Este resultado, denominado "fenómeno de DANSYZ", puede también ser puesto de manifiesto al coagular gelatina con alcohol, obteniendo mucho más efecto coagulante con la

adición de 10 c. c. de alcohol que añadiendo el mismo volumen gota a gota. Parece como si las primeras gotas estabilizasen el sistema frente al efecto de las gotas consecutivas, y del mismo modo como si la adición de las pequeñas porciones de extracto tisular añadidas a la sangre sirviesen para prevenir la acción coagulante de ulteriores cantidades de extracto. Es posible imaginar que el mantenimiento de la fluidez de la sangre esté asegurado por una ligera desintegración de plaquetas, las cuales, liberando continuamente pequeñas porciones de trombocinasa en la sangre, aumentarían la estabilidad del fibrinógeno de ésta, previniendo de tal modo la posibilidad de una coagulación intravascular. Sin perjuicio del desarrollo que ulteriormente tenga reservado esta teoría, en el momento actual es algo imprecisa y especulativa, siendo aventurado esperar cualquier progreso considerable, por este camino, si tenemos en cuenta que el sistema físico-químico que nos ocupa es uno de los de mayor complejidad que conocemos.

Capítulo VI

Constitución física de los componentes celulares

Estructura del citoplasma. El protoplasma de todas las células vivientes presenta la apariencia de una solución heterogénea de mayor o menor viscosidad. En ciertos casos, como, por ejemplo, los que se derivan de la observación de los huevos de erizo de mar y de casi todas las células vegetales, la viscosidad del protoplasma es dos o tres veces mayor que la del agua, pero en otras células del tipo del *Paramecium*, el protoplasma forma un verdadero gel y su viscosidad es algunos miles de veces más elevada.

La naturaleza flúida del protoplasma resulta evidente no sólo por los datos deducidos de las determinaciones viscosimétricas, sino también por lo que se deduce de otras observaciones, cada una de las cuales bastaría por sí sola para mantener tal aserto. Así vemos cómo las vacuolas del citoplasma presentan constantemente forma esférica, que es la que ofrece para un mismo volumen una superficie mínima, correspondiéndole por lo tanto una energía superficial también mínima. Su variabilidad aboga en favor de la fluidez del citoplasma. La segunda observación en apoyo de este modo de ver consiste en el estudio del comportamiento de ciertos microorganismos que pueden penetrar accidentalmente en la célula y cuyos movimientos se desenvuelven sin ninguna dificultad, no hallando más que una resistencia muy débil. En las células musculares ha sido dable comprobar cómo un pequeño parásito monocelular podía, sin ningún impedimento, moverse a través del citoplasma, lo que indica que en éste no existen estructuras rígidas. Por último, en un gran número de células han podido verse "corrientes" desde un extremo a otro de la célula y en suspensión en este movedizo citoplasma, cuerpos de un tamaño relativamente grande, como los cloroplastos vegetales o los gránulos contenidos en el citoplasma de los protozoarios, que pueden trasladarse por tal mecanismo desde un punto a otro de la célula. La existencia de estas corrientes protoplasmáticas indica que el protoplasma se encuentra en estado flúido.

La demostración más directa de la fluidez del citoplasma es la que se deduce del estudio de la viscosidad citoplasmática de varios tipos de célula. Los resultados obtenidos en las investigaciones inspiradas bajo estas líneas directrices han alcanzado recientemente una gran importancia, y por este motivo puede ser útil hacer un bosquejo de los distintos métodos empleados.

La técnica utilizada más corrientemente es la denominada *método de la microdisección*, que ya hemos descrito antes al estudiar la constitución de la membrana celular (pág. 65). Se colocan unas finas agujas de vidrio en el interior de las células, y de la resistencia que ofrezca el citoplasma al desplazamiento de aquéllas obtendremos algún dato acerca de la consistencia del mismo. En caso de que el citoplasma presente una viscosidad muy elevada, el desplazamiento de la aguja motivará un ligero encorvamiento de la fina extremidad de la misma antes de ser desplazada, mientras que si el citoplasma es muy flúido, la aguja se mueve libremente a su través. También pueden obtenerse algunos datos observando la movilidad de varias partes de la célula en relación con el proceso de microdisección, siendo posible adquirir de este modo una noción aproximada de la viscosidad citoplasmática. Los resultados obtenidos de esta suerte no podrán darnos, en el mejor de los casos, más que una idea aproximada acerca del valor de la viscosidad, ya que se ha argüído, con otras objeciones, que el mero hecho de introducir las agujas de microdisección en la célula puede alterar considerablemente la viscosidad del citoplasma.

Una modificación interesante al método de la microdisección consiste en observar el comportamiento de una pequeña cantidad de limaduras de hierro introducidas en el citoplasma y sobre las cuales se hace actuar un imán. Las limaduras son atraídas por el campo magnético producido y progresan en el seno del citoplasma con una velocidad determinada, en relación con la viscosidad del mismo. Este método puede dar resultados cuantitativos muy satisfactorios, pero se le ha hecho la objeción de ser más traumatizante para la célula que el método de microdisección sencillo.

Para soslayar las objeciones hechas al método precedente, se ha utilizado también para determinar la viscosidad del citoplasma el llamado *método gravimétrico*. Con este objeto se recurre a ciertas células vegetales que contienen granos de almidón de un tamaño considerable. Estudiando en las mismas la rapidez de desplazamiento que muestran dichos gránulos, sujetos a la acción de la gravedad en condiciones experimentales adecuadas, puede calcularse la viscosidad del citoplasma aplicando la fórmula de Stokes (pág. 26). Este método permite alcanzar un grado de exactitud considerable respecto a la viscosidad relativa y una medición aproximada de la viscosidad absoluta. La viscosidad de las células vegetales es notablemente baja, siendo su valor, en ciertos casos, sólo el doble referido al que presenta el agua.

El método que acabamos de indicar ha sido mejorado considerablemente, sustituyendo la fuerza de la gravedad por la fuerza centrí-

fuga. Con este objeto se seleccionan células que contengan gránulos, tales como huevos de *Arbacia* o de *Cumingia*, colocados en finos tubos que se centrifugan con una frecuencia de revoluciones y durante un espacio de tiempo conocidos. Una vez terminado el período de centrifugación se mide el desplazamiento de los gránulos a través del citoplasma, y una vez conocido éste nos será relativamente fácil establecer el valor de la viscosidad mediante la aplicación de la ley de STOKES. A pesar de que los resultados así obtenidos son solamente aproximados, ofrecen la suficiente exactitud para sostener que la viscosidad del citoplasma de las células anteriormente mencionadas es sólo unas pocas veces superior a la del agua. En cambio, la viscosidad del Paramecium, determinada de un modo análogo, arroja valores algunos miles de veces superiores a los del agua. Un citoplasma de tales características se puede considerar más bien como sólido que como líquido; no obstante, estrictamente hablando, podemos considerarlo todavía como flúido.

Todos y cada uno de estos métodos de medida sirven para determinar la viscosidad del citoplasma en conjunto, y no la de cada una de las fases que componen el sistema disperso que lo constituye. Esto mismo condiciona una cierta heterogeneidad en los valores que la viscosidad pueda tener en ciertos puntos del citoplasma, y dentro del espacio de unas pocas micras cúbicas pueden variar aquéllos en proporciones extraordinarias (de varios cientos por cien). Ha sido posible comprobar tales diferencias merced al estudio de la velocidad del movimiento browniano en distintos puntos del citoplasma. Además, el mero hecho de que sea dable conservar el movimiento browniano nos indica de un modo manifiesto que, en aquellos puntos en que se observa, la viscosidad no puede ser muy elevada, ya que los gránulos visibles se hallan prácticamente inmóviles en un medio que posea una viscosidad cien veces mayor que la del agua.

Modificaciones de la viscosidad del citoplasma. La viscosidad del citoplasma varía mucho según el tipo de células de que se trate. Los huevos de los anélidos, por ejemplo, son mucho más flúidos que los de erizo de mar. Las neuronas motoras del sistema nervioso de la rana tienen una consistencia semisólida, siendo muy difícilmente penetrables para las agujas de microdisección, mientras que las células del páncreas son de una fluidez tal, que son destruídas completamente con una sencilla punción.

Se han verificado un gran número de aportaciones recientes para demostrar que el citoplasma es mucho menos viscoso antes y en el transcurso de los períodos de división celular que durante las fases de reposo. La fecundación de los huevos de erizo de mar, por ejemplo, va acompañada de un rápido incremento de la viscosidad, como puede ponerse de manifiesto con los métodos de centrifugación o de microdisección. Con el primero de ellos, los gránulos de los huevos sin fecundar se desplazan fácilmente hacia uno de los polos de la célula, mientras que los gránulos de los huevos fecundados permanecen dispersos

por todo el citoplasma, el cual es tan viscoso que casi impide todo desplazamiento de aquéllos. En los primeros estadios de la división celular ha sido observado un incremento de semejante viscosidad. Así, en los huevos de *Arenícola*, estudiados principalmente desde este punto de vista, han sido seguidos estos cambios de viscosidad con la técnica de la microdisección, observándose las siguientes modificaciones: cuando los cromosomas se hallan ocupando el ecuador de la célula, la viscosidad es relativamente elevada, persistiendo todavía alta al separarse los cromosomas, pero al alcanzar éstos los polos de la célula se produce rápidamente una considerable disminución de la viscosidad, pudiendo moverse entonces la aguja de microdisección con relativa facilidad en el seno del citoplasma. Al comenzar a producirse la división, la porción periférica del citoplasma experimenta un ablandamiento, mientras que las áreas que circundan los nuevos agrupamientos cromosómicos conservan una viscosidad elevada, el surco ecuatorial se ahonda en la zona flúida situada entre las dos zonas más viscosas pericromosómicas y la célula se divide en dos.

En el proceso de división celular debemos considerar, por lo tanto, dos fases: en la primera, la viscosidad es relativamente elevada, y en la segunda, se ponen de manifiesto valores más bajos. Experimentalmente ha podido probarse que, si condicionamos el fenómeno disminuyendo la viscosidad durante la primera fase o elevándola durante el segundo estadio, se paraliza la división celular. El éter, a concentraciones muy bajas, puede determinar un descenso de la viscosidad citoplasmática, y en estas circunstancias inhibe la división de los huevos de erizo de mar. En el caso de las células de la *Spirogyra*, el éter retarda la división, al mismo tiempo que aumenta la corriente de cloroplastos (ciclosis) en el interior de las mismas. Otro ejemplo análogo es el que podemos reproducir con el huevo de erizo de mar tratado con agua de mar hipotónica; en estas condiciones, el agua penetra en el interior de las células por un proceso de difusión, diluye el citoplasma, y, al aumentar su fluidez, el proceso de división celular queda inhibido.

Si, por el contrario, las células se encuentran bañadas con agua de mar hipertónica durante la segunda fase, en la cual la viscosidad es normalmente baja, el proceso de división queda también paralizado. El cambio de viscosidad y el paro del fenómeno de división celular son sólo pasajeros, ya que sustituyendo el líquido ambiente por agua de mar ordinaria, la viscosidad citoplasmática asume valores bajo y el proceso de división ovular continúa. Un efecto análogo puede producirse cuando sumergimos los huevos de erizo de mar en solución de éter al 2,5 %, que da lugar a un notable aumento de la viscosidad del citoplasma, el cual a su vez va acompañado de un retardo o paro de la división celular.

Las acciones iónicas pueden condicionar también la viscosidad del citoplasma, el $Na^{\cdot}$ y el $K^{\cdot}$ la disminuyen, mientras que el $Ca^{\cdot\cdot}$ y el $Ba^{\cdot\cdot}$ la aumentan. Estas influencias iónicas se ejercen sin ningún género de duda merced a su efecto sobre la permeabilidad de las mem-

branas, ya que una membrana de elevada viscosidad es posiblemente menos permeable que otra de viscosidad más baja, del mismo modo que un gel concentrado será siempre menos permeable que un gel diluído. Los cambios de permeabilidad de la membrana celular se producen de modo continuo en el transcurso de la vida de la célula, y éstos van acompañados con toda probabilidad de modificaciones de la viscosidad del citoplasma, las cuales serían, por otra parte, temporales y reversibles. Un ejemplo de esta naturaleza podrá apreciarse cuando estudiemos la contracción del músculo.

Gránulos citoplasmáticos. Un gran número de células contienen en su interior gránulos cuyo aspecto puede ser variable. El hecho de que estas formaciones requieran para ser puestas de manifiesto técnicas especiales de tinción y fijación, ha hecho suponer a algunos investigadores que no sean más que artificios de técnica. Aunque tal modo de ver pueda ser cierto en determinados casos, los gránulos han sido observados con frecuencia suficiente en las células vivas para poder afirmar que son constituyentes normales del citoplasma.

Una descripción sistemática de las diferentes modalidades de gránulos estaría aquí fuera de lugar, pero sin embargo, y de un modo general, pueden ser divididos en tres grupos, a saber: gránulos compuestos principalmente por lipoides; aquellos en cuya composición predominan los hidratos de carbono, y aquellos otros constituídos fundamentalmente de proteínas. En ocasiones ha sido dable hallar en la misma célula gránulos de los tres tipos enunciados, pudiendo diferenciarse por sus distintas apetencias colorantes y reacciones químicas.

Los *grumos de Nissl*, hallados en las células nerviosas, pueden tomarse como un ejemplo típico de gránulos del primer grupo, pudiendo considerarse también incluídos en él, los pequeños y escasos gránulos de los linfocitos de la sangre circulante y las granulaciones de las células de la corteza y médula de las cápsulas suprarrenales. Todos estos gránulos son solubles en los disolventes de las grasas, de lo cual se ha deducido su naturaleza lipoidea; no obstante, es muy posible que se hallen constituídos además por substancias proteicas y quizá también por grasas. En las células adiposas, los glóbulos de grasa son muy semejantes a los gránulos, siendo posible seguir en ellas todos los estadios intermedios entre el minúsculo gránulo y la formación de la gruesa gota de grasa.

Los gránulos compuestos de hidratos de carbono, formando los *gránulos de glucógeno*, han sido hallados en las células hepáticas, en las del tejido cartilaginoso, en los leucocitos neutrófilos de la sangre y en la mayor parte de células de los tejidos del feto. Estos gránulos toman una coloración pardo-oscura con el yodo, son fácilmente solubles en agua y por la reacción tintórea que presentan con la solución de carmín de Best. Estos gránulos se han considerado como depósitos de reserva de hidratos de carbono, que pueden ser rápidamente desdoblados en azúcares utilizables en caso de necesidad, del mismo

modo que las gotas de grasa incluídas en las células adiposas se consideran como almacenamientos de substancias grasas de reserva.

Los *gránulos de proteínas* son los que se encuentran con mayor frecuencia, siendo buenos ejemplos de esta modalidad los gránulos de muchas células secretoras (gránulos de zimógeno) y los que se encuentran en los leucocitos polinucleares de la sangre. En algunas células estos gránulos son de una pequeñez extraordinaria; en otras alcanzan tamaños considerables, y en un reducido número de casos, como en los leucocitos de los reptiles, presentan casi siempre una estructura cristalina. Estos gránulos de proteínas pueden ser subdivididos en algunos otros tipos, de acuerdo con la función que se les atribuye. Algunos, como los de apariencia cristalina que acabamos de mencionar, se suponen almacenamientos de reserva de proteínas; otros, como los de las células secretoras, se consideran como una fase de la elaboración de enzimas, y, por el contrario, otros parecen ser productos del metabolismo celular.

Aquí nos referiremos solamente a dos puntos concretos: el primero se refiere a la naturaleza física de los gránulos, y el segundo a sus modificaciones funcionales. Desde el punto de vista físico no es muy atrevido afirmar que cada gránulo se halla constituído sencillamente por un área más concentrada de un emulsoide citoplasmático, ya que no existe línea divisoria alguna que separe el gránulo del medio que lo rodea, y cabiendo considerar los gránulos más bien como una zona en la cual se han concentrado un gran número de substancias de diferente composición, que como una masa homogénea de una proteína determinada. Tal modo de ver es muy probable que sea verdadero en lo que se refiere a los gránulos citoplasmáticos de las células de organismos superiores. Existen aparentes excepciones, como la del huevo de erizo de mar, donde los gránulos parecen formaciones de consistencia casi sólida sumergidos en un citoplasma cuya viscosidad es escasamente mayor que la del agua; sin embargo, aun aquí el límite de separación entre el gránulo y el medio circundante es menos definido de lo que la observación microscópica permite suponer. La principal objeción contra la hipótesis que considera el gránulo constituído por porciones más concentradas de emulsoides citoplasmáticos, la constituye el hecho de que muchos de estos gránulos se hallen animados por movimientos brownianos en el seno del citoplasma; sin embargo, tal objeción no es válida, ya que ha sido dable observar pequeñas masas de gel animadas de movimiento browniano sumergidas en el seno de una solución emulsoide, condiciones que pueden producirse fácilmente en el comienzo de un proceso de gelificación.

La realidad de la existencia de granulaciones intracelulares verdaderas no nos debe hacer perder de vista el hecho de que determinados métodos de fijación y teñido puedan producir artificiosamente un gran número de estructuras muy similares a aquéllas. Por ejemplo, los gránulos de mucina, que se ponen de manifiesto con tanta claridad en las preparaciones fijadas con alcohol y teñidas con colorantes en

disolución alcohólica, no han podido ser observados en las células vivientes, siendo con toda probabilidad producidos por la técnica de fijación utilizada. De un modo análogo pueden considerarse un buen número de las granulaciones del citoplasma de los leucocitos, que no son otra cosa que modificaciones producidas en el seno del citoplasma de acuerdo con las condiciones del medio, y así ha podido observarse un considerable aumento de las granulaciones leucocitarias al sumergir estas células en solución salina, posiblemente debido a precipitados de globulina.

Para terminar puede ser útil resumir brevemente los hechos conocidos acerca de la constitución de ciertos gránulos cuyas propiedades químicas han sido objeto de una sostenida atención por parte de los investigadores (me refiero a los gránulos eosinófilos de los leucocitos que los presentan en la sangre de los mamíferos). Estos gránulos contienen proteínas, las cuales poseen a su vez un grupo escatol, un grupo aldehido y un grupo NH_2, siendo probablemente de naturaleza muy semejante a la melanina o a la queratina. Contienen, además, 10 % de hierro, no habiendo podido demostrarse la presencia de fósforo ni de substancias lipoides. Los gránulos también contienen enzimas del grupo de las oxidasas, todo lo cual pone de manifiesto la gran complejidad de su constitución.

El tamaño y número de los gránulos citoplasmáticos varían considerablemente bajo diferentes condiciones fisiológicas. Los gránulos, o mejor dicho, glóbulos de grasa de las células adiposas, parece que deben ser considerados como elementos de reserva, siendo utilizados durante la inanición y en cualquier otra circunstancia que haga precisa la movilización de las reservas adiposas. De un modo análogo, los gránulos de glicógeno, que no son otra cosa que reservas de hidratos de carbono, disminuyen considerablemente en las mismas circunstancias que hemos indicado para las reservas de grasa. Aquellos gránulos que se hallan en conexión con modificaciones funcionales de las células, más bien que con el mero almacenamiento de un exceso de materiales nutritivos, muestran notables alteraciones durante la actividad de las células a que pertenecen. Las células glandulares, durante su actividad secretora, presentan una notable disminución del número de gránulos, siendo opinión muy compartida la de que los gránulos representan las substancias precursoras de aquellas que han de constituir la secreción propiamente dicha. Otro ejemplo de modificación funcional de los gránulos nos lo ofrecen las variaciones que experimentan los grumos de Nissl de las células nerviosas, los cuales disminuyen en número y tamaño durante la actividad funcional de éstas, llegando casi a desaparecer por completo en las células fatigadas.

El núcleo. Hasta hace muy poco reinaba la mayor incertidumbre acerca del estado físico-químico en que se pudiera encontrar el núcleo en la fase de reposo, y especialmente sobre si éste se encontraba en estado de gel o completamente flúido. La principal dificultad para decidir la cuestión consiste en el hecho, reiteradamente demostrado,

de la notable tendencia a gelificarse que presenta el núcleo, habiéndose podido observar que todos los agentes coagulantes producen casi de modo instantáneo la formación de una red intracelular y también cómo la sencilla punción de la membrana nuclear con la aguja de microdisección puede provocar la precipitación del material nuclear, formando una red de apariencia granulosa. Esta tendencia a la gelificación se atribuye al elevado contenido de ácido nucleico en el núcleo, cuyo poder gelificante es bien conocido.

Por medio de métodos cuidadosos ha podido demostrarse que en estado normal el núcleo en reposo presenta una consistencia flúida, no poseyendo estructuras diferenciadas, excepción hecha del *nucléolo* y de la *membrana nuclear*. Las agujas de microdisección introducidas en el interior del núcleo no encuentran resistencia alguna para su desplazamiento, y si con ellas movilizamos algún nucléolo, éste queda situado en la misma posición en que lo hubiéramos desplazado, como si el medio circundante fuera flúido.

Ha sido probado repetidas veces que el núcleo permanece intacto mientras la membrana nuclear se conserva íntegra, y tan pronto como ésta se desgarra, el núcleo se altera profundamente o queda fijo en forma de un gel consistente. La membrana nuclear parece morfológicamente bien diferenciada; sin embargo, difiere considerablemente de la membrana que rodea al citoplasma a juzgar por los efectos que sobre ella ejercen varias substancias líticas. La saponina, por ejemplo, no entraña la destrucción de la membrana nuclear de los glóbulos rojos de la gallina, a pesar de la enérgica acción destructora que ejerce sobre la membrana celular; en cambio, la acción lítica de los jabones se ejerce de igual manera sobre ambas. No cabe dudar de que la membrana nuclear es semipermeable y que esta propiedad puede ser condicionada por la concentración en que se encuentran determinados iones en el líquido que la rodea, así como también es evidente que, de un modo análogo a lo que sucede con otras membranas citoplasmáticas, la membrana nuclear puede repararse espontáneamente cuando se lesiona un poco. Además, la continuidad de la formación que nos ocupa es indispensable para la vida de la célula, habiéndose demostrado que si la substancia nuclear llega a esparcirse por el citoplasma se produce una rápida gelificación de todo el contenido de la célula.

En las células en desarrollo puede conservarse el núcleo constituído por un número variable de filamentos granulosos, los *filamentos de cromatina* a expensas de los cuales se forman los *cromosomas*, cuya importancia en los mecanismos de división celular es bien conocida. Teniendo en cuenta la facilidad con que se producen precipitados a expensas de los materiales nucleares, cabe suscitar aquí si los filamentos de cromatina y los cromosomas deben considerarse o no como verdaderas estructuras. En el caso particular de los cromosomas, se ha probado mediante experiencias de microdisección que estos elementos pueden aislarse individualmente, habiéndose comprobado también su consistencia gelatinosa y la existencia en cada uno de ellos de un

núcleo central, cuyo índice de refracción es distinto al de las porciones más periféricas. Tampoco puede dudarse de la realidad de los filamentos de cromatina, los cuales se ponen de manifiesto con mucha mayor evidencia cuando lesionamos el núcleo durante la fase preliminar de la división, no siendo posible producir una cosa análoga si la lesión nuclear se realiza en la fase de reposo.

Circunstancialmente, los filamentos de cromatina pueden ser también vistos en el interior de un núcleo intacto, y si en tales circunstancias pinchamos la membrana nuclear, la claridad de la imagen será mucho mayor. Lo que puede afirmarse en todo caso es que los filamentos de cromatina no existen en el núcleo en reposo (o por lo menos no han podido ser vistos), desconociéndose hasta el momento cuál pueda ser el mecanismo de su producción.

La carioquinesis como fenómeno físico. Aunque no es mi propósito considerar el fenómeno de la mitosis en sus múltiples formas y aspectos, creo de interés exponer algunas de las hipótesis que se han emitido para explicar el proceso desde un punto de vista puramente físico.

La primera de ellas encarece la similitud existente entre el huso carioquinético y las líneas de fuerza producidas entre dos polos magnéticos de signo opuesto, y sugiere la posibilidad de que las variaciones de la mitosis se hallen condicionadas por la existencia de dos puntos de carga opuesta en el citoplasma, habiéndose localizado estos dos puntos en los denominados centriolos. También se ha aventurado la suposición de que el huso pudiera ser debido a la contracción y relajación alternativa de dos zonas opuestas del citoplasma, ya que una actividad de esta naturaleza puede generar líneas de fuerza muy semejantes a las que son características del huso carioquinético. Debemos reconocer, no obstante, que ninguna de estas sugestiones, a pesar de su atractiva sencillez, concuerda con el hecho de que los centriolos llevan más probablemente carga del mismo signo que cargas de signo contrario, ya que éstos muestran constantemente marcada tendencia a la mutua repulsión.

Cabe considerar más afortunada la interpretación física dada por LEDUC a estos fenómenos, al localizar en las áreas de cada uno de los dos centriolos los centros de una actividad catabólica que produciría a este nivel un incremento de la presión osmótica. Estos dos polos de difusión se repelerían entre sí, y al hallarse separados por una cierta distancia, la difusión de agua que acarrea otras substancias del citoplasma daría lugar a una serie de líneas de difusión, superponibles en su aspecto a las que caracterizan las que presenta el huso carioquinético.

Este modo de ver, puede que sea mejor comprendido mediante un experimento, que nos permitirá reproducir imágenes semejantes a las de los husos mitósicos por medios puramente físicos. Se colocan en una placa de vidrio perfectamente lisa y mojada en toda su extensión con solución fisiológica dos gotas de una solución salina muy concentrada,

separadas entre sí unos dos centímetros. Entre estas dos gotas hipertónicas, que vendrían a representar las zonas de catabolismo y presión osmótica elevada que ya hemos mencionado antes, se coloca una gota de solución hipotónica coloreada con tinta china. "En estas condiciones nos será dable comprobar cómo se producen las mismas imágenes y movimientos de la carioquinesis en idéntico orden en el que se suceden durante la reproducción celular. La gota central representaría el núcleo y las dos gotas laterales los centrosomas. En una primera fase se produce una especie de ovillo, de apariencia semejante al que presenta la cromatina, el cual se fragmenta poco después en porciones análogas a los cromosomas, fragmentos que luego se orientan en dirección opuesta, acumulándose en ambos polos de difusión hasta formar dos masas pigmentadas. En este punto las cosas, tendrá lugar la partición en la línea media, dándonos al final la aparición de dos células en yuxtaposición, cada una con su núcleo, su citoplasma y su membrana."

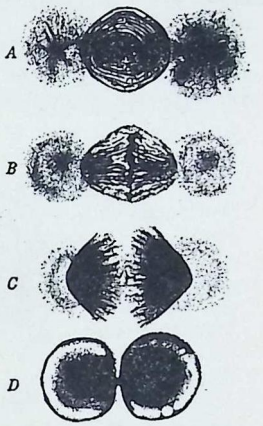


FIG. 44. Cuatro fases de mitosis producidas artificialmente las cuales terminan con la completa separación de dos masas (Según LEDUC)

De estas experiencias tal vez fuera algo aventurado concluir que el proceso esencial de los fenómenos mitósicos sea la difusión; sin embargo, la sorprendente semejanza entre las imágenes obtenidas y las distintas fases de la división carioquinética hacen difícil sustraerse a la idea de que el mecanismo íntimo del fenómeno sea debido a algún proceso físico de no mucha mayor complejidad que el que acabamos de describir. No es menester que diga que la manipulación para obtener las distintas fases del fenómeno descrito es en extremo delicada, cuya consecuencia sólo será posible después de reiterados ensayos.

Mitocondrias. Con muy raras excepciones las mitocondrias se encuentran presentes en todas las células, ya sean animales o vegetales, constituyendo las bacterias, una de las pocas excepciones de esta regla general. Las características que presentan estos elementos celulares son las siguientes:

I. Pueden ser vistas en las preparaciones en fresco, presentando la forma de bastoncitos, gránulos, filamentos o mallas, unas veces distribuídos en toda la extensión del citoplasma y en ocasiones ocupando zonas determinadas. La forma de los elementos mitocondriales puede ser una de las características del tipo de célula, y así, por ejemplo, vemos que en las células glandulares presentan una forma filamentosa, mientras que en las células de los ganglios espinales la forma de bas-

toncitos es la predominante. En los nefrocitos se encuentran dispuestas las mitocondrias en el polo secretor de la célula, siendo esta disposición característica en todas aquellas células que poseen una *polaridad fija*. Se ha podido comprobar repetidamente que la forma y disposición de las mitocondrias dentro de las células presenta una notable constancia, lo que hace verosímil que estas estructuras deban considerarse en íntima conexión con las propiedades fundamentales de las células más bien que como formaciones casuales y transitorias.

II. Las mitocondrias se tiñen de un modo específico con el verde Janus *B* en solución al 1 por 100 000, tomando un color verde oscuro característico.

III. Las mitocondrias se hallan constituídas por substancias muy solubles en alcohol y otros disolventes de los lipoides, como el benceno, éter y cloroformo, siendo generalmente aceptado que en su

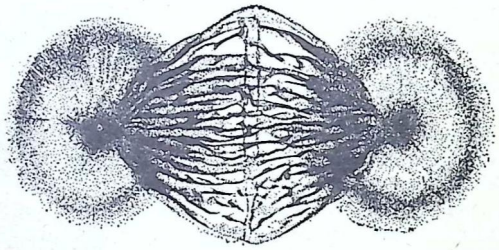


FIG. 45. "Huso carioquinético" producido entre dos polos de difusión. (Según LEDUC)

composición entran lipoides juntamente con proteínas. Parece que en las mitocondrias no ha podido encontrarse hierro, no presentando tampoco las reacciones características de las grasas o de los azúcares. Consideradas desde el punto de vista físico presentan una consistencia semisólida, siendo de interés hacer notar que su naturaleza lipóidica les confiere la propiedad de actuar como disolventes de ciertos pigmentos solubles en los lipoides, gracias a la cual pueden aparecer brillantemente coloreadas algunas veces en las células vegetales.

La función adscrita a las mitocondrias no se conoce muy claramente todavía; sin embargo, la constancia con que se las encuentra en casi todas las células vivas nos autoriza a conferir estas formaciones un papel muy importante en el funcionamiento celular. La abundancia de mitocondrias en los tejidos en crecimiento y el incremento de su número y cambio de forma durante los períodos de gran actividad celular ha hecho surgir la idea de si la principal función de estas formaciones pudiera ser presentar dentro del citoplasma superficies sobre los cuales hubieran de efectuarse las reacciones rápidamente en virtud de procesos de adsorción, etc. Otros autores atribuyen a las mitocondrias una influencia considerable en la respiración celular, localizando en la superficie de

las mismas los fenómenos de oxidación y reducción intracelular. La cuestión se encuentra todavía en el terreno de las suposiciones.

Para terminar haremos hincapié en un hecho que merece ser recordado, y es que las células ricas en gránulos son generalmente pobres en mitocondrias, y viceversa. Si bien esto no constituye una regla invariable, sucede con suficiente frecuencia para hacer pensar en alguna posible relación entre los gránulos citoplasmáticos y las mitocondrias y en la comunidad de ciertas de sus propiedades fisiológicas.

Aparato de Golgi. El aparato de GOLGI está constituído por una porción de citoplasma que ofrece una apariencia reticulada y el cual generalmente se halla situado en relación con la polaridad de la célula. Su constitución química es principalmente lipoidea, como lo atestigua su solubilidad en el alcohol y en los disolventes de los lipoides y el ennegrecimiento que se observa cuando se somete a la acción del ácido ósmico, siendo este reactivo el que se utiliza con mayor frecuencia para demostrar la existencia de esta formación. Exceptuando las células de los invertebrados, el aparato de GOLGI no ha podido ser demostrado en la mayoría de células cuando la observación se realiza sobre preparaciones sin teñir.

Esta formación en las células de los mamíferos y en las pertenecientes a muchos vertebrados, aparece como una espesa red situada entre el núcleo y uno de los polos de la célula. La apariencia de esta red es muy variable y su forma difiere de unas células a otras, y aun dentro de la misma célula puede variar en distintas condiciones funcionales. En los metazoos más inferiores el aparato de GOLGI puede hallarse representado por finos bastoncitos, filamentos o gránulos en lugar de las mallas características. En aquellas células cuya polaridad secretora es bien manifiesta, es interesante constatar que la situación del aparato es siempre la misma, hallándose constantemente entre el núcleo celular y el polo secretor de la célula; tal disposición es la característica de células como las del tejido renal, glándulas salivales y páncreas. En otros elementos celulares, como los que constituyen el tiroides, el aparato de GOLGI nó presenta una posición fija, y durante la fase que se supone coincide con la actividad funcional cambia de posición en una forma notablemente ordenada y alternativamente de un lado al otro del núcleo. Estas observaciones, cuya importancia no puede negarse, nos permiten determinar con seguridad, en el caso de las células secretoras, cuál es el polo secretor, ya que en los períodos de funcionamiento podremos evidenciar la presencia de esta formación entre el polo secretor y el núcleo; sin embargo, en las fases de reposo el aparato de GOLGI puede ocupar una posición variable, orientándose tan pronto como se inicia la actividad secretora hacia la zona anteriormente indicada.

Lo que venimos diciendo no basta para sustentar la afirmación de que el aparato de GOLGI se halle indeclinablemente vinculado con la actividad secretora, ya que esta formación citoplasmática ha sido observada también en células como las neuronas, adoptando en éstas

una disposición semejante a la que es característica de las células secretoras, aunque su forma y posición sean aquí muy variables. Además, la existencia del aparato de GOLGI no es indispensable para el mantenimiento de la vida de todas las células, ya que la mayoría de células vegetales carecen de dicha formación.

Límite del tamaño de la célula. Una cuestión que rápidamente se impone a nuestra curiosidad es la que se refiere al porqué los tejidos se hallan constituídos sin excepción alguna por células y el porqué estos elementos celulares no rebasan más que muy rara vez las dimensiones microscópicas. La respuesta que de ordinario se ha dado a esta pregunta es que las grandes superficies producidas por la subdivisión del protoplasma en células facilitaría los procesos de difusión, dando lugar al mismo tiempo a un gran manantial de energía superficial y asegurando también la persistencia de los componentes celulares dentro de la célula correspondiente. Ninguno de estos hechos puede considerarse apropiado para explicar la pequeñez de las dimensiones de la célula, siendo tan sólo consecuencias de este hecho, pero no la explicación del hecho mismo.

Una explicación más adecuada es la que se deduce de los recientes trabajos de LECOMTE DU NOUY, de un interés apasionante. Cuando en una solución existen substancias como las proteínas, capaces de formar películas moleculares en la superficie, un cierto número de sus moléculas se concentran en ella, y el número de las que se concentran dependerá de la relación existente entre la superficie propiamente dicha y el volumen que ocupe la solución. Al aumentar la superficie, las moléculas se dispondrán en un área cada vez mayor, disminuyendo progresivamente el grosor de la película superficial, pudiendo llegar el agrandamiento de la superficie a una extensión tal, que la película conste sólo de una capa de moléculas, denominándose *película monomolecular*. Si aumentamos la superficie por encima de este valor las moléculas de la capa superficial no alcanzarán a cubrirla. LECOMTE DU NOUY sostiene que el tamaño de la célula es tal, que teniendo en cuenta el conjunto de su superficie ésta alcanza la extensión precisa para que toda ella se halle ocupada por una capa del grosor de una molécula del tipo de las proteicas. Esta hipótesis ha sido objeto de una comprobación experimental realizada sobre células de los acini pancreáticos. Teniendo en cuenta la superficie total que presentaban todos los componentes celulares, membrana celular, membrana nuclear, gránulos citoplasmáticos, etc., se quiso comprobar si las cifras obtenidas se correspondían o no con los equivalentes de energía superficial calculados. Los resultados de estos experimentos arrojan valores de dichas superficies cien veces más bajos de los que cabía esperar en apoyo de la hipótesis de DU NOUY, pero también es indudable que los valores de superficie obtenidos son inferiores a la realidad, quedando por lo tanto en pie la posibilidad de que una sugestión de tanto interés como ésta pueda ser demostrada. Si la hipótesis que acabamos de exponer es correcta, el tamaño celular podrá ser determinado por la extensión de superficie interna, la cual alcanzará

un valor suficiente para acomodarse a la formación de una capa monomolecular de las proteínas tensioactivas contenidas en la célula.

Pero aun cuando las ideas de DU NOUY fuesen definitivamente abandonadas, todavía quedará en pie el hecho comprobado experimentalmente de que el volumen de la célula guarda una relación constante con el desarrollo de su superficie nuclear. Esta relación, que ha sido establecida merced a trabajos de embriología, se conoce con el nombre de *Ley de Boveri*, y se enuncia diciendo que el volumen celular varía proporcionalmente con el área de la superficie del núcleo y también es directamente proporcional al número de cromosomas. Esta ley sólo es cierta para el caso de células en fase de desarrollo, ya que una vez que se han completado los distintos estadios de éste, la relación del área nuclear con respecto al volumen tiende a disminuir.

Fijación celular. La mayor parte de las células son estudiadas por los histólogos previa fijación y teñido, y la cuestión a considerar ahora es si las imágenes obtenidas con tales técnicas pueden ser tomadas como estructuras que tengan su equivalencia en las células vivientes.

La fijación por sí misma puede producir un cierto número de "estructuras" aparentes, las cuales no tienen con toda probabilidad equivalencia en las células vivas. Muchos de los llamados *gránulos* no son otra cosa que pequeñas áreas de precipitación del citoplasma, reconociendo un origen semejante una gran cantidad de otras formaciones, como redes citoplasmáticas y aun vacuolas, que pueden ser fraguadas merced a los métodos de fijación utilizados, siendo posible remedar casi todas las estructuras así halladas aplicando métodos análogos sobre substancias proteicas como la albúmina de huevo y la gelatina. Aplicando sobre la gelatina sublimado corrosivo o ácido ósmico puede producirse una bella apariencia reticular, mientras que la albúmina de huevo presenta las más sugestivas formaciones filamentosas y granulares bajo la influencia de diferentes métodos de fijación. También ha sido posible reproducir artificialmente una de las estructuras que parece más compleja: el "aparato de GOLGI", el cual puede ser evidenciado en la mayonesa sujeta a un tratamiento determinado.

Independientemente de estas preparaciones artificiales podemos constatar la existencia de imágenes distintas aun en la misma célula, cuando modificamos el método de fijación, a pesar de que utilicemos en todo caso la misma técnica de tinción. Además, las estructuras celulares pueden variar su apariencia según la técnica utilizada, y así veremos formaciones distintas según se realice la observación en fresco, con luz ordinaria o con luz ultravioleta. Hemos de reconocer la gran dificultad que presenta la interpretación de los hechos que venimos exponiendo; a pesar de ello, puede considerarse como una regla general que, en células previamente fijadas, cualquier formación intracelular que no pueda ser resuelta con los métodos de observación microscópica usuales (véase más adelante) no debe ser aceptada como una

estructura preexistente, debiendo considerarse con grandes reservas las formaciones de gran tamaño. Tanto los retículos como las formaciones granulares pueden ser producidas con facilidad por las técnicas de fijación. Ahora bien; si logramos establecer en el mismo tipo de célula y utilizando idénticos medios de fijación la misma forma de retículo o de gránulos, no es aventurado suponer entonces la existencia de alguna disposición diferenciada y constante de las estructuras intracitoplasmáticas. Tampoco es necesario admitir más que una correspondencia muy relativa entre las formaciones que nos muestran las células fijadas y teñidas y las que puedan existir previamente en la célula. Así vemos que, aun en el caso de las células nerviosas, en donde los métodos de fijación y teñido revelan siempre la red de neurofibrillas y los grumos de Nissl, cabe dudar sobre si estas estructuras se corresponden estrictamente con las formaciones preexistentes en las células, ya que la observación de éstas *in vivo* y en distintas condiciones de iluminación no ha permitido determinar ninguna imagen análoga, lo cual puede ser debido, entre otras causas, a que dichas formaciones posean un índice de refracción muy semejante al del resto del citoplasma.

Las mismas limitaciones que hemos indicado con respecto a los métodos de fijación pueden hacerse extensivas a los resultados que se obtienen con las técnicas de coloración. Los colorantes se condensan sobre las superficies que constituyen los sistemas heterogéneos de que se compone el citoplasma (siendo probablemente fijados por un proceso de adsorción eléctrica, ya que la reacción parece las más de las veces irreversible). Si el teñido va precedido de la fijación pueden formarse superficies no preexistentes, y el hecho de que estas formaciones artificiales presenten afinidad para los colorantes y aun algunas veces muestren una cierta especificidad a este respecto, no basta para sostener la realidad de su existencia.

Mientras trabajos sucesivos no pongan en claro muchas de las cuestiones que hemos enunciado al ocuparnos de las estructuras citoplasmáticas, hemos de convenir que, aun admitiendo la artificialidad de ciertas formaciones de esta naturaleza, el aparato de Golgi y las mitocondrias deben servirnos como ejemplos de estructuras con existencia real.

Límite de visibilidad. Es criterio muy difundido, con respecto al uso del microscopio, que el asunto de mayor importancia en la utilización de este instrumento es el que afecta al número de diámetros que puede agrandar las imágenes y que utilizando sistemas ópticos de elevado poder amplificador pueden hacerse visibles las estructuras más minúsculas. Tal aserto sólo es cierto en parte, ya que existen dimensiones que, por grande que sea el poder amplificador utilizado, no llegan a percibirse claramente. Cuando esta situación se produce decimos que se ha llegado al *límite de resolución*, el cual puede obtenerse de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$\text{Límite} = \frac{\lambda}{2\,\text{A.N.}}$$

Aquí λ representa la longitud de onda de la luz empleada, la cual se acostumbra a expresar en unidades Angstrom; aunque es más conveniente indicarla en μ. A.N., representa la *abertura numérica efectiva* del sistema óptico. Desde ciertos puntos de vista, este último factor es de la mayor importancia, ya que la longitud de onda de la luz no requiere una regulación, mientras que la abertura numérica es susceptible de ella. Por esta razón consideramos, en primer lugar, lo que afecta a este valor de abertura.

La A.N. se define así:

$$\text{A.N.} = n \cdot \text{seno}\, a,$$

donde n es el índice de refracción más bajo entre la imagen y el objeto y donde a representa el ángulo entre el eje óptico y el extremo del haz de rayos cuyas ondas luminosas penetran por el objetivo. El desarrollo de la ecuación precedente no es necesario para nuestro objeto. El valor del ángulo sólo excepcionalmente puede exceder de 60°, y por lo tanto, el seno muy rara vez podrá ser superior a 0,86. Para aumentar la abertura numérica se sumergen los objetivos en substancias cuyo índice de refracción sea elevado, utilizándose corrientemente el aceite de cedro (cuyo índice de refracción es 1,52). Este artificio nos proporcionará una A.N. de 1,30, que es el valor que comúnmente ofrecen los objetivos de inmersión.

La A.N. que acabamos de indicar es la que puede dar el objetivo en condiciones ideales, que acostumbra a ser distinta de la que puede obtenerse en la práctica, sin una regulación muy cuidadosa. Los factores esenciales de la A.N. *efectiva* del sistema óptico completo son, por una parte, la A.N. del objetivo, y por otra, la A.N. del condensador. Y así, si, por ejemplo, trabajamos con un objetivo cuya A.N. sea de 1,3, y con un condensador de A.N. igual a 0,6 (que es el tipo que con mayor frecuencia llevan los microscopios corrientes), el conjunto de este sistema presentará un valor de A.N. no mayor de 0,95, del cual dependerá su poder de resolución. Para obtener un poder de resolución elevado será preciso, por lo tanto, utilizar un condensador cuya A.N. se aproxime o aun exceda a la del objetivo; por ejemplo, condensadores de abertura numérica de 1,2, 1,3 y aun 1,4. Además, será preciso que la cara superior del condensador se halle cubierta también con aceite de cedro, para que entre los distintos elementos ópticos del sistema no pueda interponerse ninguna capa de aire.

Otra dificultad que debe superarse para poder alcanzar el límite de resolución es la que depende de la iluminación, ya que aquél sólo podrá conseguirse cuando la intensidad lumínica en el sistema óptico sea *crítica*. No entra en nuestro propósito discutir las condiciones precisas para llegar a la iluminación crítica; sin embargo, mencionaremos las tres más esenciales. En primer lugar, el haz luminoso deberá pasar a través del sistema por su centro, lo que puede conseguirse merced al ajustamiento adecuado del condensador. En segundo término, la fuente luminosa debe ser enfocada sobre el objeto que haya de ser examinado

(este requisito es descuidado con mucha frecuencia por los escolares). Cuando el manantial luminoso se enfoca adecuadamente, la silueta de aquél tendrá que ser visible al mismo tiempo que el objeto, si se observa con un aumento débil. Si la fuente de luz es una llama, el objeto deberá aparecer situado en el área ocupada por la imagen de la llama. Esta condición es imprescindible para obtener un buen enfoque. El tipo corriente de lámpara para microscopio apenas se usa, ya que los filamentos de la misma constituyen un grave inconveniente al ser enfocados sobre la preparación, y si se trata de oscurecer estos filamentos interponiendo un cristal opaco, no tendremos manera de encontrar el foco de iluminación. Con objeto de obviar tales inconvenientes se han utilizado aparatos de iluminación especiales, como la llama aplanada de una lámpara de petróleo, y las lámparas llamadas "Pointolite", en las cuales la fuente de luz procede de una esfera de tungsteno incandescente. Cualquiera de estos medios de iluminación puede servirnos, teniendo cuidado de enfocar la luz sobre la preparación y valiéndonos como punto de referencia de la llama o de la esferilla luminosa.

La última de las tres condiciones que hemos enunciado consiste en que la longitud del tubo del microscopio sea perfectamente adecuada para las características del objetivo que haya de utilizarse.

Una vez conseguida la luminosidad crítica, el límite de resolución dependerá de la longitud de onda de la luz que usemos, dividida por el duplo de la abertura numérica efectiva. La longitud de onda de la luz blanca, que es la más corrientemente utilizada en los trabajos de microscopia, es de 5607 unidades Angstrom (aproximadamente 0,5 μ). Si la abertura numérica es la unidad, el límite de resolución será de 0,25 μ, lo que equivale a decir que dos puntos separados por menos de 0,25 μ no pueden ser distinguidos claramente uno de otro, o dicho de otro modo, que una línea matemática nos daría la imagen de una línea borrosa de 0,25 μ de ancho. La medición cuidadosa de objetos más pequeños que el límite de resolución es completamente imposible, ya que no podemos obtener de ellos una imagen real, sino imágenes imprecisas.

Si sustituímos la luz blanca por la luz azul (de longitud de onda 4700 unidades Angstrom), el límite de resolución será más bajo todavía. El siguiente cuadro consigna los límites de resolución correspondientes a varios valores de abertura numérica para la luz blanca y para la luz azul respectivamente:

A.N.	Luz blanca	Luz azul	A.N.	Luz blanca	Luz azul
0,10	2,8	2,35	0,95	0,29	0,25
0,25	1,12	0,94	1,00	0,28	0,23
0,50	0,56	0,47	1,25	0,22	0,18
0,66	0,42	0,35	1,32	0,21	0,17
0,85	0,32	0,27	1,40	0,20	0,16

En la práctica es muy difícil obtener una A.N. superior a 1,1 ó 1,2, a menos que utilicemos la iluminación sobre fondo oscuro. El límite de resolución más pequeño obtenido puede ser fijado en 0,2 μ aunque se emplee la luz azul. Los detalles cuyas dimensiones sean más pequeñas no pueden ser resueltos con los métodos corrientes. Recurriendo a ciertas formas de iluminación sobre fondo oscuro y con objetivos cuya A.N. sea de 1,4, podemos obtener un límite de resolución algo más pequeño.

No siendo posible construir sistemas ópticos cuya A.N. sea mayor de 1,4, la única posibilidad de reducir por debajo de 0,2 μ el límite de resolución habrá de consistir en utilizar luz cuya longitud de onda sea todavía inferior a las antes mencionadas. Estas condiciones pueden obtenerse recurriendo a la luz ultravioleta, cuya longitud de onda es de unas 2400 unidades Angstrom, lo que nos permitirá llevar el límite de resolución hasta 0,1 μ. Pero no siendo los rayos ultravioletas visibles por nuestra retina, para el estudio de las preparaciones será preciso recurrir al examen de microfotografías de las mismas. Esta técnica presenta grandes dificultades, siendo muy arriesgado asegurar que la preparación estuviera debidamente enfocada, por lo cual se reserva este método para casos de excepción.

Desde un punto de vista teórico podría intentarse aguzar más todavía el límite de resolución, haciendo uso de radiaciones de longitud de onda más corta, como las que son características de los rayos Röntgen; pero los tejidos vivos son transparentes para esta clase de radiaciones, siendo por lo tanto imposible hacer uso de semejante método.

Los hechos que acabamos de referir tienen una importancia singular en la investigación de las estructuras, ya que gracias a ellos ha sido dable esclarecer la morfología de los gránulos, retículos, etc. del citoplasma.

Determinación del tamaño de un objeto microscópico. Cuando es menester medir un objeto microscópico, las limitaciones inherentes al sistema óptico utilizado revisten la mayor importancia, ya que el borde de la estructura observada no puede aparecer como una línea bien precisa, sino como un contorno borroso, cuyo grosor será equivalente al límite de resolución. Así, en las condiciones más óptimas, un gránulo de 0,5 μ de diámetro, aparecerá rodeado de un borde borroso de 0,2 μ de espesor, lo que dificulta mucho la medida del diámetro del gránulo en cuestión. Este borde borroso se denomina *ribete espurio*, y el que realmente corresponde al gránulo o a cualquier otro objeto que se trate de medir se encuentra en la parte media de esta zona borrosa. Por lo tanto, para determinar el verdadero diámetro de un objeto microscópico será preciso situar sus dos puntos extremos en la parte media del falso ribete que lo rodea.

Esto sólo puede realizarse de la siguiente manera: El gránulo, célula u objeto microscópico cuyo tamaño haya de ser determinado, se fotografía utilizando para ello la mayor amplificación posible y el poder de resolución más fino que podamos disponer; para mayor comodidad, la imagen microfotográfica puede ser todavía ampliada ulteriormente, pudiendo luego medir sobre ella con una fina escala

el tamaño del objeto que nos interese, teniendo en cuenta que debemos tomar como punto de referencia dos puntos situados en la parte media del ribete superior, el cual se distingue bien en el contorno de la formación que nos interese medir. Únicamente siguiendo la técnica que acabamos de describir es posible determinar con exactitud el tamaño de un objeto, ya que la medida directa que puede obtenerse mediante un micrómetro situado en el ocular no puede suministrarnos un valor exacto, a menos que el tamaño del objeto sea lo suficientemente grande para que un error de 0,2 μ sea prácticamente despreciable. Como se comprende, las mediciones de objetos cuyo radio sea aproximadamente igual al límite de resolución no pueden ser muy exactas, ya que en tales condiciones todo él aparecerá borroso gracias a la presencia del ribete espurio en el borde del objeto que se trate de medir. Por tal motivo, las mediciones de objetos de menos de 1,0 μ deben ser acogidas con cautela, y las medidas de aquellos cuyo diámetro sea de 0,25 μ tienen poquísimo valor.

Debe ser recordado aquí un método muy ingenioso para la medición del diámetro de objetos microscópicos cuyo contorno sea aproximadamente circular, del tipo de los glóbulos rojos, micrococos, etc. Este método se denomina *método de difracción,* y tiene su fundamento en el hecho conocido de la formación en torno de los focos luminosos de una serie de halos circulares y coloreados cuando aquéllos se encuentran separados del observador por una zona neblinosa. El diámetro de estos halos coloreados o *espectros de difracción* depende del tamaño de las partículas que constituyen la neblina. Para medir el tamaño de objetos microscópicos con este método se interpondrá una película de los elementos cuyo tamaño se desee conocer entre el ojo del observador y un foco luminoso, midiendo el diámetro del espectro de difracción producido por las células, del cual podremos deducir por cálculo el diámetro problema. Esta técnica posee ciertos inconvenientes, ya que el valor exacto del diámetro de las células sólo podrá obtenerse empleando un foco de luz monocromática. Por otra parte, el método ofrece la garantía de que, midiéndose simultáneamente millones de elementos, el valor promedio se deduce directamente con la formación del mismo espectro de difracción.

De un modo semejante a lo que se ha visto sucedía con el método de medición directa, el método de difracción no puede ser aplicado a la medida de objetos cuyo diámetro tenga el valor aproximado de la longitud de onda de la luz.

Capítulo VII

Tejido muscular

Estructura del músculo. Existen tres variedades distintas de tejido muscular: la variedad de *fibra estriada,* la de *fibra lisa* y la propia del *músculo cardíaco.* En los vertebrados, los músculos de fibra estriada se encuentran indefectiblemente bajo la influencia de la voluntad, denominándose por este motivo *músculos voluntarios* o *de la vida de relación.* Los músculos lisos no se hallan bajo el influjo inmediato de la voluntad, y por esta razón se conocen con el nombre de *músculos involuntarios,* llamados también de la *vida vegetativa.* Conviene recordar que esta terminología sólo es válida para los vertebrados, ya que algunos invertebrados, como los crustáceos e insectos, poseen músculos involuntarios estriados (por ejemplo, la capa muscular del intestino) (1).

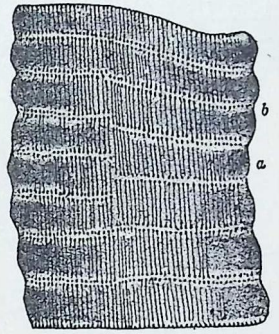


Fig. 46
Músculo de fibra estriada. Los sarcostilos están dispuestos longitudinalmente. *a* y *b* son las bandas claras y oscuras respectivamente. (Según Schafer, *Essentials of Histology*)

Los elementos componentes del músculo estriado son las denominadas *fibras musculares,* constituídas por una sola célula cilíndrica revestida por una delicada membrana que se conoce con el nombre de *sarcolema.* Debajo del sarcolema están situados varios núcleos, de ordinario en número de dos o tres. El citoplasma celular, o *sarcoplasma,* presenta una notable y compleja estructura cuando se examina con métodos de tinción adecuados, observándose una serie de bandas transversales dispuestas alternativamente, unas claras y otras oscuras, las

(1) En los mismos vertebrados esta clasificación presenta excepciones; por ejemplo, las fibras musculares de la capa muscular de la vejiga urinaria son lisas y pueden contraerse por la intervención de influjos voluntarios, y la fibra muscular del corazón, que es un caso particular de fibra estriada, se contrae independientemente de la voluntad. — *N. del T.*

cuales son responsables de la apariencia estriada. Cada banda oscura aparece dividida en dos partes por una línea clara llamada *línea de Hensen,* mientras que las bandas claras aparecen cruzadas por una línea oscura conocida por *línea de Dobie.*

La estriación de las fibras musculares es mucho más manifiesta en los músculos de las alas de insectos, siendo más fácilmente reconocible en éstas que en las fibras musculares de la mayoría de vertebrados. El sarcoplasma aparece constituído por finas fibras llamadas *sarcostilos,* que corren de un extremo al otro del músculo, engrosándose al pasar a través de las bandas oscuras y presentando una apariencia más fina al atravesar las zonas claras. Las líneas de HENSEN y de DOBIE son muy manifiestas, y cuando las fibras musculares se disocian en sentido transversal la ruptura de las mismas se produce siempre por una de las líneas de DOBIE. Por estas y otras razones es creencia muy extendida que estas líneas representan membranas transversales (la hipotética membrana que corresponde a la línea de DOBIE se conoce con el nombre de *membrana de Krause,* y la otra membrana, que se supone corresponde a la línea de HENSEN, no tiene denominación alguna) o finas divisiones entre dos áreas de sarcoplasma de diferente índice de refracción. Admitiendo la existencia de estas membranas o divisiones, cabría imaginar la fibra muscular constituída por una serie de *sarcómeras,* apiladas unas encima de las otras, comprendiendo cada uno de estos elementos la porción de fibra limitada entre dos membranas de KRAUSE, y por lo tanto un disco oscuro entre dos medios discos claros.

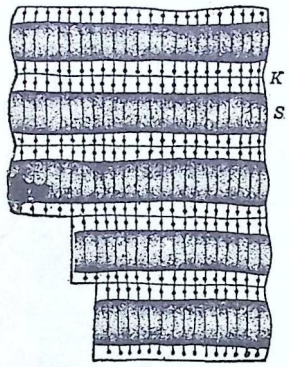


FIG 47
Representación esquemática de la estructura del músculo estriado (músculo de ala de insecto). *K* es la membrana de KRAUSE que divide la fobra en sarcómeras. (Según SCHAFER, *Essentials of Histology)*

Hasta qué punto pueden representar estas líneas y fibras verdaderas estructuras es muy dudoso. Existen motivos para suponer que el sarcoplasma es flúido; KUHNE, examinando músculos infestados por parásitos, pudo observar cómo uno de ellos había recorrido toda la extensión de una fibra muscular sin modificar la apariencia estriada de la misma. Para que esto pueda suceder parece lo más lógico considerar el sarcoplasma en estado flúido sin que existan las supuestas membranas limitantes de las sarcómeras. La existencia de la estriación producida por la alternancia de bandas claras y oscuras ha podido también ser observada en células vivientes, lo cual indica que esta apariencia de las fibras no es debida a los artificios técnicos de tinción y fijación.

El examen de las fibras musculares mediante luz polarizada hace aparecer las bandas claras como oscuras porque son *isótropas,*

mientras que las bandas oscuras toman una apariencia clara por ser *anisótropas* (birrefringentes). Algunos autores sostienen que, durante la actividad contráctil, la substancia anisótropa de los discos oscuros se desplazaría hacia las zonas claras; pero este punto de vista no ha conseguido la aquiescencia de la mayoría. Dejando aparte esta cuestión, de lo expuesto puede deducirse un hecho de singular interés, y es el que resulta de comprobar la coexistencia de la substancia birrefringente en las estructuras contráctiles y la relación que pueda existir entre la actividad de estas estructuras con la presencia de substancia anisótropa, la cual ha sido también hallada en el citoplasma de los organismos monocelulares.

La estructura de los músculos de fibra lisa difiere notablemente de la que hemos visto presenta la variedad estriada. Las fibrillas en huso se hallan revestidas por el sarcolema; contienen un solo núcleo, situado en el centro de las mismas, en lugar de la localización que es típica de los elementos estriados. La fibra lisa no presenta ninguna estructura que se corresponda con la estriación característica de los músculos voluntarios; sin embargo, pueden considerarse como representación de los sarcostilos el gran número de finísimas estrías que van de un extremo a otro de la célula. Algunos autores han localizado en esta fina estriación la actividad contráctil, del mismo modo que en los músculos estriados se consideran los sarcostilos como los elementos responsables de la contracción.

El tejido muscular del corazón se aproxima más a las características de la variedad estriada que a la de fibra lisa; pero difiere de aquélla en que la estriación no es tan manifiesta, así como en la disposición de los núcleos situados en el espesor del sarcoplasma y la de sus fibrillas, formando, en conjunto, un *sincitio.*

FIG. 48. Fibra de músculo involuntario. (Según SCHAFER, *Essentials of Histology)*

La consideración de estas tres modalidades de tejido muscular demuestra que en el estado actual de nuestros conocimientos no es preciso vincular las propiedades contráctiles del tejido con alguna de las estructuras que hemos examinado, ya que ninguna de ellas se presenta de un modo constante en las tres variedades de fibra muscular, a menos de considerar la fina estriación longitudinal de la fibra lisa como representante en ésta de los sarcostilos. Ya hemos dicho que algunos autores consideran estos elementos como las unidades contráctiles del músculo; pero ya veremos al examinar otras formas de contracción más sencillas que es en extremo dudoso que para ello sea preciso admitir la existencia de "elementos contráctiles" diferenciados.

Toda fibra muscular lisa o estriada se halla en conexión con una fibra nerviosa motora, la cual penetra en la fibra muscular casi siempre por su porción media. El neurilema de la fibra nerviosa se continúa a través del sarcolema y el nervio termina en el sarcoplasma mediante una curiosa ramificación rodeada por una zona más clara. Esta forma de terminación se ha denominado *placa motriz.*

Para estudiar las propiedades fisiológicas del músculo se acostumbra a utilizar una preparación compuesta de un solo músculo, con su nervio motor correspondiente. Ésta, que corrientemente se conoce con el nombre de *preparación neuromuscular,* puede obtenerse siguiendo la técnica señalada en cualquier manual de prácticas de fisiología. En los trabajos de prácticas se utiliza corrientemente el gastrocnemio de rana, por lo fácil que resulta su disección y por la ventaja que supone la penetración del nervio por uno de sus extremos; pero en trabajos más delicados se prefiere el músculo sartorio, que presenta sus fibras dispuestas en línea recta, difiriendo en esto las del gastrocnemio, que presentan un ángulo de inclinación determinado por su forma; además, el músculo sartorio ofrece otras ventajas, y por su poco espesor puede mantenerse oxigenado con más facilidad. Cuando hayamos de trabajar con músculos separados del organismo deben mantenerse sumergidos en solución fisiológica, siendo una de las mejores para este objeto la solución de LOCKE.

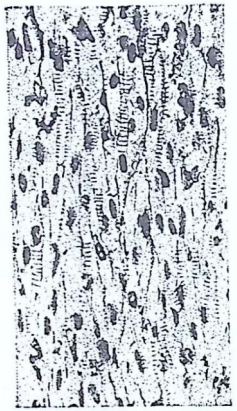


FIG. 49. Fibras de músculo cardíaco formando sincitio. (Según SCHAFER, *Essentials of Histology*)

Composición química del músculo. Además del agua, que constituye la fracción más importante de los componentes del tejido muscular, éste contiene proteínas, hidratos de carbono, lipoides y sales.

Entre las proteínas que entran en la composición del músculo, las dos más importantes son el *miosinógeno* y el *paramiosinógeno.* La primera de éstas es una albúmina soluble en agua y que coagula a 70°; la otra es una globulina soluble en soluciones fisiológicas, pero no en agua, y cuya temperatura de coagulación es a 56°. Ambas substancias pueden dar lugar, en determinadas circunstancias, a la formación de una proteína insoluble, la *miosina.* Después de la muerte del organismo puede producirse esta transformación de un modo espontáneo, y a ella es debida la rigidez cadavérica.

Los principales hidratos de carbono que contiene el músculo son el *glucógeno* y una monosa derivada de éste, la *glucosa.* También se encuentra una cierta cantidad de ácido láctico derivado a su vez de la transformación de la glucosa.

El músculo en reposo presenta un metabolismo poco intenso, el cual puede determinarse colocando el músculo en un *microespirómetro,* valorando la cantidad de O_2 consumido durante el mismo. La cantidad de O_2 consumido en estas condiciones es muy pequeña: alrededor de unos 30 mm.^{3} por gramo de músculo y por hora. El contenido de ácido láctico es extraordiiariamente reducido (0,01 %). Determinando la cantidad de glucógeno que existe en el músculo al comienzo y al final de un período de reposo, y conociendo simultáneamente la cantidad de O_2 empleado en el mismo lapso de tiempo, tendremos los elementos suficientes para darnos cuenta del metabolismo del músculo en reposo. Las mediciones más recientes han mostrado que para una cantidad de glucógeno de 160 miligramos, la cantidad de O_2 consumido es de unos 130 c. c., siendo ésta la cantidad de O_2 precisa para que pueda efectuarse la reacción en la forma siguiente:

$$C_6H_{10}O_5 + 6\,O_2 = 6\,CO_2 + 5\,H_2O;$$

de la que podemos deducir que el metabolismo del músculo en reposo consiste en la combustión de una cierta cantidad de glucógeno mediante la intervención del O_2 necesario para formar CO_2 y agua. Se ha visto también que la presencia de O_2 es indispensable para que el metabolismo de reposo pueda tener lugar.

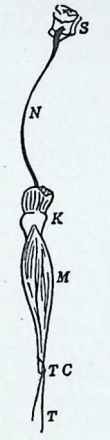


FIG. 50. Preparación neuromuscular de gastrocnemio de rana. *N* es el nervio sujeto a *S*, que representa la porción inferior de la columna vertebral, el cual penetra en el músculo *M* a través de la articulación *K*. *TC* es el tendón del músculo, y *T* el hilo para sujetar la preparación a la palanca.

Colocando el mismo músculo en una atmósfera de nitrógeno en lugar de la de O_2 o de aire, la transformación química que hemos indicado, cuyos productos finales son CO_2 y agua, no podrá realizarse. En consecuencia, el metabolismo seguirá una dirección diferente, descomponiéndose el glucógeno o la glucosa en ácido láctico. No es preciso considerar el detalle de estas transformaciones; bastará recordar el producto inicial de la reacción y el resultado de la misma, mediante la cual una molécula de glucosa se convierte en dos moléculas de ácido láctico:

$$C_6H_{12}O_6 = 2\,C_3H_6O_3.$$

En tales circunstancias, la cantidad de ácido láctico que aparece en el músculo después de un cierto período de reposo equivale exactamente a la cantidad de glucógeno desaparecido, desenvolviéndose el cambio metabólico en armonía con la ecuación que hemos consignado anteriormente. Si el músculo se mantiene un espacio de tiempo suficiente en ausencia de O_2, todo el glucógeno puede transformarse

en ácido láctico, pudiendo ser tan elevada la concentración de éste, que provoque la coagulación del miosinógeno y paramiosinógeno del sarcoplasma y la muerte del músculo.

Si después de un cierto tiempo de permanecer el músculo en una atmósfera desprovista de O_2, se le pone en contacto con una atmósfera de este gas, se producirá una disminución del ácido láctico y un incremento de la cantidad de glucógeno, al mismo tiempo que una mayor utilización de O_2 que el consumido en condiciones de reposo muscular en una atmósfera de aire. Este aumento en la rapidez del consumo de O_2 puede ser atribuído a que el O_2 es utilizado

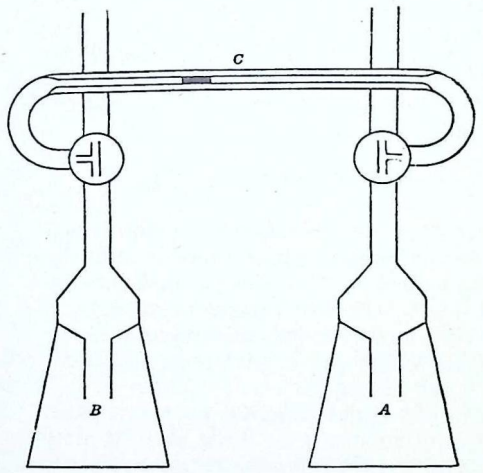


FIG. 51. Microespirómetro. Los dos recipientes *A* y *B* están en relación con el capilar *C*, que contiene una pequeña gota de aceite. (Véase pág. 233.)

para llevar el ácido láctico contenido en el músculo a la fase de CO_2 y agua, de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$C_3H_6O_3 + 3\,O_2 = 3\,CO_2 + 3\,H_2O.$$

Esto podría explicar la desaparición del ácido láctico del músculo; pero esta explicación es insuficiente, ya que cuando se mide la cantidad de O_2 consumido durante la desaparición del ácido láctico vemos que sólo alcanza para atender a la oxidación de una quinta parte del ácido láctico que desaparece. Esta quinta parte es indudable que se oxida hasta la fase de CO_2 y agua, indicada en la ecuación precedente. Pero, ¿cuál es el destino de los cuatro quintos restantes? Los cuatro quintos de ácido láctico que no han sido oxidados vuelven a sintetizar la substancia que les dió origen, convirtiéndose por lo tanto en glucógeno.

Estos procesos constituyen los cambios metabólicos del músculo en reposo, los cuales son esencialmente tributarios del metabolismo de los glúcidos. Las transformaciones de esta naturaleza que tienen lugar durante la actividad contráctil serán expuestas más adelante.

Los lipidos contenidos en el músculo pertenecen en su mayor parte al grupo de las lecitinas y del colesterol; esta última substancia se encuentra en proporciones considerables en el músculo cardíaco. Se ha emitido la idea de que sean precisamente los lipidos musculares los responsables de la zona de birrefringencia que se pone de manifiesto cuando se observa el músculo con la luz polarizada. Respecto al papel que puedan desempeñar estas substancias en el metabolismo de reposo y en la fase de actividad se desconoce en absoluto.

Las sales contenidas en el tejido muscular son principalmente cloruros, fosfatos y bicarbonatos, pero su concentración difiere considerablemente de la que tienen estas mismas sales en los líquidos orgánicos. El ClNa, por ejemplo, no entra en la composición normal del músculo de rana a pesar de encontrarse con abundancia en el plasma sanguíneo. El Cl_2Ca entra en la composición de las fibras musculares, siendo indispensable su presencia para que la fibra muscular pueda contraerse al ser estimulada. El papel de los fosfatos será discutido más adelante; mientras tanto, bastará con indicar que estas sales se combinan probablemente con la glucosa del músculo para formar un *difosfato de hexosa*. Los bicarbonatos, juntamente con los fosfatos, actúan como sales amortiguadoras (buffer) en la regulación del *p*H del sarcoplasma, función de particular importancia en un tejido como éste, de cuyo metabolismo derivan cantidades considerables de ácido láctico.

Cambios del músculo durante su contracción. Cuando un músculo es estimulado pasa del estado de reposo al de contracción, y al contraerse puede levantar un peso o producir cualquier otra forma de trabajo. Si sus dos extremos se fijan, no pudiendo acortarse al excitarlo, desarrollará una cierta tensión, y al no producir trabajo liberará un equivalente de energía en forma de calor. Resulta algo difícil dar una idea clara de la naturaleza física de esta tensión desarrollada por el músculo; pero recurriendo a la comparación utilizada por BAYLISS, podemos imaginar dos muelles espirales estirados, uno de ellos constituído por alambre de plomo y el otro de acero. Cuando el músculo pasa al estado de contracción podemos decir que cambia sus propiedades, pasando de las que presenta la espiral de alambre de plomo a las que desarrolla la espiral de acero estirada, la cual es capaz, al soltar uno de sus extremos, de levantar un peso, del mismo modo que un músculo cuando entra en contracción; sin embargo, si los dos extremos del resorte elástico son fijados, se producirá un cierto estado de tensión semejante al que hemos visto desarrolla el músculo cuando se impide su acortamiento por fijación de sus dos extremos.

Exceptuando los cambios de tensión que se ponen de manifiesto cuando el músculo se halla fijado por sus dos extremos, si dejamos libre uno de éstos permitiendo el acortamiento del músculo, obtendremos una modalidad de contracción que se acompañará de las modificaciones siguientes: en primer lugar se producen *cambios de potencial eléctrico,* los cuales preceden a la manifestación de los fenómenos mecánicos de la contracción. Los cambios *químicos* que ya se venían realizando en el músculo en reposo se modifican en sentido cuantitativo durante el período contráctil y también durante el que sigue inmediatamente a la contracción. Paralelamente a las transformaciones químicas se producen variaciones *térmicas* y el incremento de los fenómenos químicos va acompañado de un desprendimiento de calor más elevado. Además, durante la fase de actividad las célu-

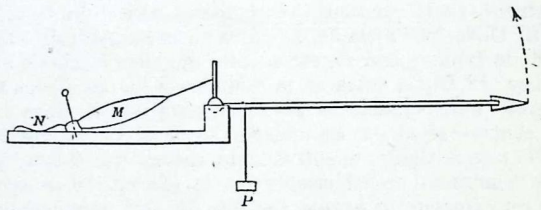


FIG. 52. Dispositivo para determinar la contracción isotónica del músculo. El músculo se acorta y levanta la palanca tarada con el peso *P*

las musculares presentan alteraciones de su *permeabilidad,* que se ponen de relieve por un aumento de la conductibilidad durante la contracción, lo cual indica que la célula se ha hecho más permeable a los electrólitos.

Trabajo máximo. Un músculo, al contraerse, puede realizar trabajo elevando un peso determinado a una cierta altura, siendo éste un procedimiento aproximado para averiguar el trabajo producido, valor que puede obtenerse multiplicando el peso por la altura a que la actividad del músculo lo haya desplazado. Si, por ejemplo, el músculo levanta 10 gramos de peso a una altura de 3 cm., el trabajo, *T,* será igual a 30 centigrámetros, ya que

$$T = P \times A$$

P indica el peso y *A* la altura alcanzada.

Esta forma de contracción en la que el músculo se acorta y realiza un trabajo se denomina *isotónica.* A poco que se analice esta forma de medir el trabajo vemos que ofrece muy pocas garantías de exactitud, si consideramos que, al ser desplazado el peso, la tensión del músculo disminuye invariablemente. Además, en el comienzo de la

contracción, el músculo estira de un peso inmóvil, mientras que al final de la contracción el peso conserva un cierto movimiento debido al impulso inicial desarrollado por la contración musular. No existiendo uniformidad de las condiciones mecánicas en el transcurso del período durante el cual el trabajo se realiza, toda medida de éste tendrá sólo un valor aproximado.

También podemos averiguar el trabajo desarrollado por un músculo teniendo en cuenta no el desplazamiento de un peso, sino determinando la tensión desarrollada cuando el músculo se acorta muy poco, o sea en *contracción isométrica.* Supongamos que el múscu-

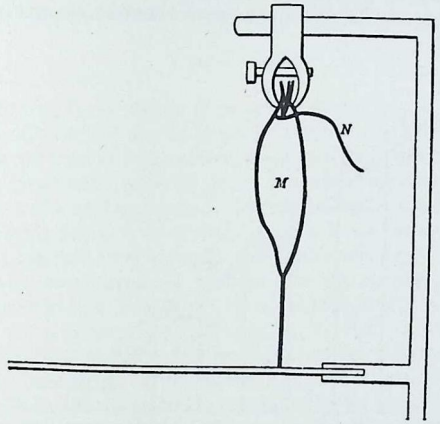


FIG. 53. Dispositivo para obtener la contracción isométrica en el músculo. El músculo, *M,* estira al contraerse de una varilla fija y elástica, que evita todo acortamiento apreciable

lo inicialmente relajado desarrolla unas tensiones T_1, T_2, T_3, etc., cuando en la fase de contracción se permiten acortamientos sucesivos y que varían entre sí por intervalos pequeños y equidistantes, $\triangle L$. Midiendo las tensiones y multiplicando su equivalencia mecánica por el valor de L, que representa la longitud del acortamiento permitido, tendremos $T_1 \triangle L$, para el primer intervalo; $T_2 \triangle L$, para el segundo, y así sucesivamente. Si el acortamiento del músculo tuviera lugar desde el valor de la longitud inicial E, asociada a una tensión T_1, a la longitud C, con una tensión de muy pequeña magnitud T_9, el trabajo desarrollado en el transcurso de toda la contracción será:

$$T = T_1 \triangle L + T_2 \triangle L + T_3 \triangle L \ldots\ldots T_9 \triangle L,$$

o cuando $\triangle L$ es infinitamente pequeña,

$$T = \int_C^E T \cdot dL$$

En la integral precedente, C representa la longitud del músculo cuando se halla completamente contraído, y E la longitud del músculo en reposo.

Para determinar el valor de T es preciso conocer primeramente las variaciones de T a distintos valores de L, lo cual puede averiguarse mediante la técnica siguiente: se fija el músculo, sujetándole por uno de sus extremos mediante una pinza que puede deslizarse en dos direcciones opuestas, con objeto de graduar la longitud del mismo a voluntad; el otro extremo del músculo se fijará a un fuerte resorte que, aun siendo ligeramente deformado por la actividad contráctil, impida su acortamiento. La deformación del resorte nos dará la medida de la tensión desarrollada por el músculo, pudiéndola poner de manifiesto adicionando al resorte una larga palanca cuyas desviaciones sean registradas

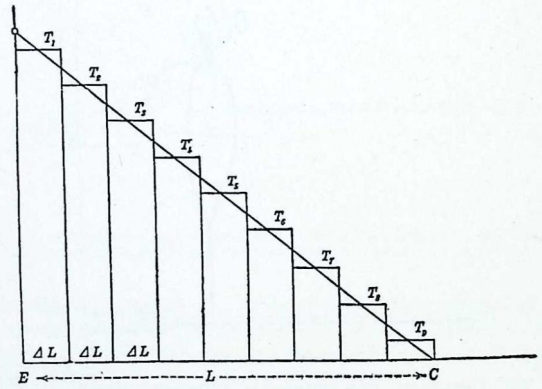


FIG. 54. (Según HOGBEN)

por una pequeña escala dispuesta de un modo adecuado, o bien mediante el empleo de una "palanca óptica", que consiste en utilizar las desviaciones que pueda presentar un rayo de luz que se refleja en un espejo adosado al resorte para medir los cambios de elasticidad de éste, determinados por los distintos valores de la tensión muscular. Las mediciones se comienzan en cuanto el músculo se encuentra en situación de reposo, con su longitud normal y sin que la sujeción de sus dos extremos suponga la menor relajación ni estiramiento. En estas condiciones se aplica un estímulo sobre el músculo, registrando la tensión desarrollada; a continuación se procura desplazar 1 mm. la pinza que sujeta una de las extremidades, en forma que durante la contracción sucesiva el músculo pueda acortarse 1 mm., midiendo entonces nuevamente la tensión; después se gradúa el micrométrico para que el desplazamiento sea de 2 mm. y se verifica la lectura de la tensión asociada al nuevo acortamiento, y así se continúa hasta que el músculo se halle en tales condiciones que una nueva contracción no pueda ejercer sobre el resorte tensión alguna. La distancia entre la posición inicial de la pinza y la que tenga al final de la observación nos dará el valor del acortamiento del músculo en una contracción aislada.

Disponiendo ahora la serie de valores obtenidos de T y de L de modo que formen una curva, el área limitada por ésta nos suministrará el trabajo producido por el músculo durante su contracción, el cual dependerá, por otra parte, de la longitud del músculo estudiado. HILL ha demostrado que el trabajo producido durante la contracción viene representado por esta área, y varía proporcionalmente con la longitud de las fibras y con la tensión T que puedan ejercer las mismas en una contracción isométrica, en forma que

$$T = T \cdot L/6;$$

en esta fórmula, L representa la longitud de las fibras. Si, por ejemplo, el músculo tiene 3 cm. de largo y la tensión determinada en una contracción isométrica (contracción en la cual la longitud del músculo permanece invariable) es de 50 gr., el trabajo rendido por el músculo equivaldrá a 25 centigrámetros. Siendo el equivalente térmico de $4{,}26/1^{-4}$ centigrámetros de trabajo igual a 1 microcaloría, el trabajo dado por el músculo en el ejemplo precedente será igual a 5,86. (10^{-4}) microcalorías, expresando el trabajo por su equivalencia térmica.

La determinación exacta del calor desprendido por el músculo al contraerse ha sido llevada a cabo por A. V. HILL, el cual ha puesto de manifiesto que el calor desprendido por un músculo durante su contracción isométrica es el mismo que se obtiene de la relación $T = T \cdot L/6$. De esto podríamos concluir que en el proceso contráctil toda la energía potencial del músculo puede transformarse íntegramente en energía mecánica, y en ciertas condiciones ideales ésta daría a su vez una cantidad equivalente de trabajo. Pero esto, en todo caso, sería válido solamente para las contracciones isométricas. En realidad, cualesquiera que sean las condiciones en que el músculo entre en actividad corrientemente, nunca da lugar al trabajo máximo que podría deducirse del cálculo, porque en el proceso parece inevitable un gran desprendimiento de energía. Por este motivo, el trabajo que rinde un músculo al contraerse será siempre mucho menor del que cabría esperar si el trabajo se realizara sin acortamiento.

Trabajo útil. Existen múltiples razones para establecer una diferencia manifiesta entre el *trabajo máximo teórico* que el músculo es capaz de rendir teóricamente y el trabajo actual o útil que puede desarrollar. Imaginemos un músculo que deba levantar un peso excesivo; en estas circunstancias el acortamiento será incompleto. Si, por el contrario, el peso es muy pequeño con relación a las posibilidades del músculo, la fuerza desarrollada por éste no será aplicada

al desplazamiento del mismo, y, por lo tanto, en ambas circunstancias apuntadas el *trabajo útil* será inferior al trabajo máximo calculable. A la misma conclusión llegaremos si estudiamos el comportamiento del músculo cuando al contraerse levanta un peso proporcionado a la capacidad mecánica del músculo; el trabajo útil será también inferior al trabajo teórico máximo, por iniciarse la relajación de una parte de las fibras musculares antes de que la contracción haya sido completa.

Estos factores, que contribuyen a la disminución del rendimiento mecánico del músculo, pueden ser descartados oponiendo a la acción muscular la *inercia de una masa* en lugar de una carga fija, y de esta manera el acortamiento es completo antes de que se inicie la relajación.

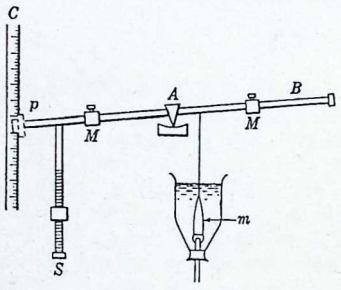


FIG. 55. Palanca de inercia para determinar el trabajo útil. *m* es el músculo sumergido en solución fisiológica, y tirando de la palanca *B*, cuyo punto de apoyo se halla en *A*. *MM* son dos contrapesos, y *p* es un peso pequeño. Uno de los extremos de la palanca se desplaza frente a la escala *C* y puede regularse con el tornillo *S*. (Según LOVATT EVANS)

Estas condiciones pueden realizarse del modo siguiente: Se dispone una *palanca de inercia*, constituída por una varilla metálica montada por su parte media sobre una cuchilla afilada y llevando a cada uno de los lados del pivote una masa de 100 gr.; el músculo se fija por uno de sus extremos en uno de los brazos de esta palanca a una distancia *a* del pivote, mientras que el otro brazo de palanca sostiene un pequeño peso de 1 a 5 gr. y su extremidad se desplaza frente a una escala graduada. Este pequeño peso mantiene el músculo extendido a una longitud constante. El momento de inercia de este sistema referido a su eje será MK^2, representando M la masa total en equilibrio y K su momento de inercia. El movimiento producido en el sistema por la contracción muscular es igual a una masa balanceada MK^2/a^2 llamada "masa equivalente", que puede variar cambiando la posición de las masas en la palanca (modificándose con esto el valor K), o bien variando el punto de fijación del músculo a. Cuando el músculo se contrae levanta el pequeño peso p a una altura h de la escala, y así obtendremos el trabajo $(p \cdot h)$ rendido.

Los valores de la masa y del pequeño peso suspendido se varían por tanteo, hasta llegar a establecer el valor máximo del trabajo $p \cdot h$ realizado por el músculo. Si, por ejemplo, este resultado se consigue cuando p sea igual a 1,5 gr., cuando la masa efectiva tenga un valor de 900 gramos y la altura a la cual se ha elevado p sea de 7 centímetros, tendremos que el valor del trabajo realizado será igual a 10,5 centigrámetros. Midiendo los valores del trabajo útil máximo en

diversas condiciones experimentales se ha visto una relación constante entre T y L, siendo T la tensión desarrollada por el músculo durante la contracción isométrica y L la longitud del mismo. En realidad, el trabajo útil máximo es equivalente a $TL/20$, y si recordamos que el trabajo máximo teórico se ha calculado como igual a $TL/6$, veremos que el trabajo útil o realizable es solamente una tercera o cuarta parte de aquél.

La gran diferencia existente entre el trabajo teórico y el trabajo útil parece ser debida a que el músculo no constituye solamente un *sistema elástico*, sino un *sistema elástico viscoso*. En el comienzo de la contracción el acortamiento del músculo es dificultado por la elevada viscosidad del sarcoplasma y mucha de la energía que se desarrolla durante la contracción muscular se gasta en vencer la resistencia que supone este aumento de la viscosidad de su sarcoplasma, interviniendo también esta modificación en el mecanismo íntimo del proceso. Todo ello pone de manifiesto la gran dificultad que existe para que el músculo pueda desarrollar de un modo completo el trabajo teórico, ya que la gran resistencia que supone la viscosidad del sarcoplasma en reposo alcanza valores aún mayores tan pronto como se inicia la contracción. Se han observado modificaciones análogas en la viscosidad del citoplasma de organismos unicelulares como la Amoeba, el cual, al ser estimulado, pasa rápidamente al estado de gel, siendo muy probable que el proceso de contracción vaya generalmente acompañado de aumento de viscosidad, y que el músculo, a este respecto, no sea más que un caso particular de aquellas modificaciones.

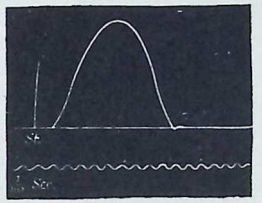


FIG. 56
Sacudida muscular simple. *St* indica el momento del estímulo. Tiempo en 1/100 de segundo. (Según BAINBRIDGE y MENZIES, *Essentials of Physiology*)

Cambios de forma. Si aplicamos un estímulo aislado sobre un músculo y permitimos su acortamiento, condicionándolo con un peso proporcionado, se producirá una *sacudida muscular simple*, en la que nos será dable observar cambios de forma, los cuales pueden ser evidenciados con mayor claridad si registramos el fenómeno sobre el papel ahumado de un cilindro inscriptor.

La curva que el músculo hace inscribir al estilete del miógrafo podemos considerarla en tres períodos. En el primer período de corta duración, aproximadamente 0,01 de segundo, no se pone de manifiesto ningún cambio de forma y se conoce con el nombre de *período de latencia*. A continuación sigue el período contráctil propiamente dicho, durante el cual el músculo se acorta sin presentar ningún cambio de volumen y tiene una duración aproximada de 0,04 de segundo. En el tercer período, llamado también período de relajación, el músculo recupera la longitud inicial del estado de reposo, siendo la duración

del mismo proporcional al peso que soporta el músculo, por tratarse de un fenómeno pasivo; con un peso mediano, este período puede tener lugar en 0,05 de segundo. Como hemos visto, todo el ciclo de una sacudida muscular puede ser realizado en 0,1 de segundo.

La forma de la curva que hemos descrito puede variar considerablemente en relación con la carga que el músculo ponga en movimiento al contraerse. Si, por ejemplo, el músculo no está tenso al comenzar la contracción, en el período de latencia puede ponerse de manifiesto una fase de ondulaciones producidas durante el tiempo necesario para vencer esta laxitud, apareciendo por la misma causa en el período contráctil un ascenso gradual en vez del ascenso rápido característico. También pueden ser causa de modificaciones de la curva las imperfecciones técnicas del sistema de registro, las cuales hallará el lector fácilmente previstas en cualquiera de los manuales de prácticas de fisiología, no siendo éste el lugar más adecuado para su exposición.

FIG. 57. Onda de contracción pasando a través del músculo. (Según SCHAFER, *Essentials of Histology*)

El proceso de la contracción muscular observada al microscopio puede mostrarnos las modificaciones que presentan las fibras musculares durante el proceso. El paso de una onda de contracción a lo largo de una fibra se caracteriza por un aumento de tamaño de las bandas oscuras (birrefringentes) y un estrechamiento de las bandas claras (monorrefringentes), al mismo tiempo que la fibra se acorta y engruesa.

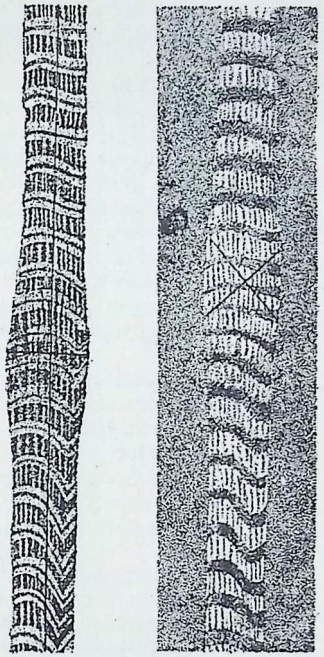
Cambios químicos durante la contracción. Los cambios químicos que tienen lugar durante la actividad de los músculos no difieren de los que presentan en la fase de reposo más que desde el punto de vista cuantitativo.

Si estimulamos un músculo en una atmósfera de nitrógeno se producirá por desdoblamiento de glucógeno una cantidad equivalente de ácido láctico, pero si continuamos la estimulación, la cantidad de éste acumulada en el tejido muscular puede llegar a impedir su contracción. Sustituyendo la atmósfera de nitrógeno, siempre que el músculo no haya dejado de responder por exceso de ácido láctico acumulado, éste será en parte oxidado, dando lugar a una cierta cantidad de CO_2 y agua y en parte sintetizado otra vez en glucógeno de la misma manera que hemos visto tenía lugar en el caso del músculo en reposo; pero estos dos procesos necesitan el concurso de oxígeno para que se produzca, ya que en su ausencia no pueden tener lugar.

Si hacemos entrar el músculo en actividad en una atmósfera de oxígeno en lugar de la atmósfera de nitrógeno del ejemplo antes

citado, la cantidad de oxígeno utilizada en estas circunstancias será de diez a cincuenta veces mayor que cuando el músculo se encuentra en estado de reposo. El glucógeno se descompone del mismo modo en ácido láctico; sin embargo, en presencia de oxígeno la oxidación y resíntesis del ácido láctico se producen con suficiente rapidez para que el ácido láctico no se acumule en grandes cantidades; siempre que los estímulos no se repitan con excesiva celeridad, el músculo puede seguir manifestando su actividad contráctil indefinidamente. Así, un músculo cuya circulación se mantenga intacta, puede contraerse durante horas enteras cuando los estímulos se suceden con intervalos de cinco a seis segundos, mostrando después de un tiempo considerable poco disminuído su poder contráctil.

La energía que se manifiesta durante la actividad muscular parece ser suministrada por la transformación del glucógeno en ácido láctico; sin embargo, el mecanismo mediante el cual estas transformaciones se produzcan es conocido de un modo insuficiente (1). MEYERHOF hace intervenir en el metabolismo intermediario una substancia que considera como un difosfato de



A B

FIG. 58. Aspecto del músculo en contracción observado con luz polarizada. Las líneas transversales indican la posición de los prismas del nicol. En las zonas en contracción las bandas oscuras (que se ven claras a través del nicol en *B*) aparecen más anchas. Las bandas monorrefringentes son estrechas en la zona de contracción. (Según SCHAFER, *Essentials of Histology*)

(1) Las transformaciones químicas que tienen lugar en el músculo están siendo objeto en el momento actual de rectificaciones fundamentales por parte de los fisiólogos ingleses y alemanes. Así, los EGGLETON, y FISKE y SUBBAROW al descubrir el fosfágeno (compuesto de creatina y ácido fosfórico) en el músculo de rana y señalar las variaciones cuantitativas de este compuesto, en distintas condiciones experimentales, abren un nuevo camino en el estudio de la bioquímica muscular. LUNDSGAARD, recientemente obtiene, mediante la intoxicación del músculo con ácido monoyodoacético, contracciones musculares en ausencia absoluta de ácido láctico, no encontrando por ello modificada la capacidad de contracción. La disociación del fosfágeno serviría para la formación de fosfato de hexosa, y al mismo tiempo constituiría la fuente de energía necesaria para la actividad del músculo, quedando el ácido láctico relegado a facilitar la resíntesis del fosfágeno. MEYERHOF y sus colaboradores han podido comprobar la certeza de esta nueva interpretación de los fenómenos bioquímicos de que es asiento el músculo durante su actividad, que, por otra parte, concuerdan con los resultados de las previsiones termodinámicas. — *N. del T.*

hexosa, la cual daría por desdoblamiento ácido láctico, quizá de acuerdo con la ecuación que sigue (1):

$$5(C_6H_{10}O_5) + 5H_2O + 8HK_2PO_4$$
$$= 4C_6H_{10}O_4(K_2PO_4)_2 + C_6H_{12}O_6 + 8H_2O$$
$$= 8C_3H_6O_3 + 8HK_2PO_4 + C_6H_{12}O_6$$

El fundamento de esta hipótesis es muy complicado para ser expuesto aquí, a pesar de lo cual existe un considerable número de hechos en apoyo de que este fosfato de hexosa, $C_6H_{10}O_4(K_2PO_4)_2$, sea un cuerpo intermediario del metabolismo del glucógeno. De un modo semejante se ha puesto de manifiesto la intervención de esta substancia intermediaria en la resíntesis muscular. Confirmando este modo de ver, podemos apreciar que en el trabajo muscular la intervención de los fosfatos tiene singular importancia, ya que la cantidad de glucógeno desdoblado por el músculo en el transcurso de sus contracciones es mayor en presencia de fosfatos que cuando éstos se encuentran en muy poca cantidad.

Cambios térmicos. Como hemos ya indicado someramente, el músculo desprende calor durante su actividad, y en el caso de la contracción isométrica (en la cual hay desarrollo de tensión sin acortamiento) se produce una cantidad de calor equivalente al trabajo teórico máximo que podría desarrollar. Este calor se produce durante el corto período de contracción. La cantidad de energía calorífica que se desprende es muy pequeña, y para su determinación exacta es preciso recurrir a métodos de gran precisión (2). Los métodos para determinar el desprendimiento de energía por los músculos han sido extraordinariamente perfeccionados por HILL y sus colaboradores, quienes han recurrido al uso de *termopilas* compuestas p r una serie de pares constituídos de metales distintos, oro-níquel ', cobre-cons-

(1) EMBDEN y ZIMMERMANN sostienen que el lactacidógeno debe ser considerado como un *monofosfato de hexosa*, siendo el difosfato de hexosa un producto más estable, resultante de la unión del monofosfato de hexosa y de una molécula de ácido fosfórico. Por lo tanto, la ecuación ideada por MEYERHOF podría modificarse en la forma siguiente:

1. *Fase anaerobia o contráctil:*

$$5/n\ (C_6H_{10}O_5)n + 5H_2O + 4PO_4HK_2$$
$$= 4C_6H_{11}O_5(PO_4K_2) + C_6H_{12}O_6 + 4H_2O$$
$$= 8C_3H_6O_3 + 4PO_4K_2 + C_6H_{12}O_6$$

2. *Fase aerobia o de recuperación:*

$$8C_3H_6O_3 + PO_4HK_2 + C_6H_{12}O_6 + 6O_2$$
$$= 4C_6H_{11}O_5(PO_4K_2) + 6CO_2 + 10H_2O$$
$$= 4/n\ (C_6H_{10}O_5)n + 4PO_4HK_2 + 6CO_2 + 10H_2O \quad .$$ *N. del T.*

(2) Sgún HILL, en la sacudida muscular del músculo sartorio de la rana a 20° se produce un aumento de temperatura de 0,003° C. — *N. del T.*

tantan, siendo estos últimos los mejor adaptados para el objeto propuesto; los músculos cuyo desprendimiento de calor tenga que ser determinado se colocan en el interior de cámaras apropiadas, dis-

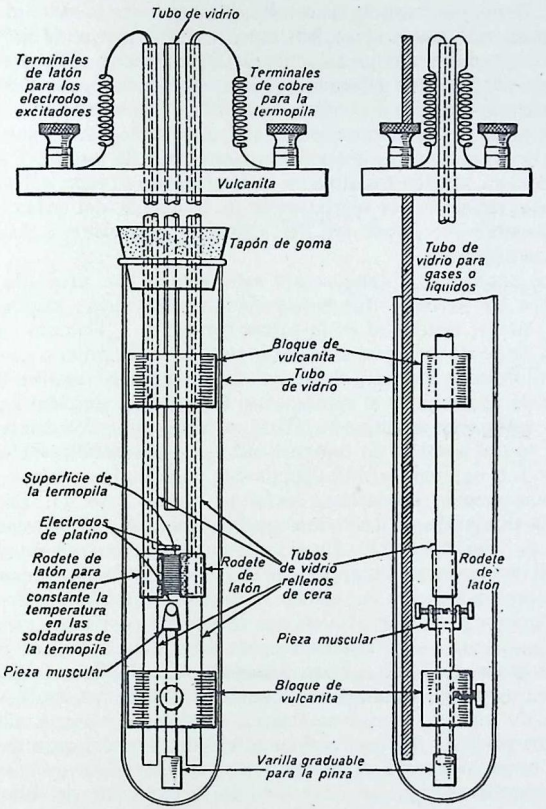


FIG. 59. Representación esquemática de una termopila para determinar el calor desprendido por el músculo. Se sujetan dos músculos a cada uno de los lados de la placa de la termopila. Los extremos superiores son fijados por un hilo que pasa a través del tubo de vidrio a una palanca isométrica. En el esquema se indica la explicación.
(Según HILL, *Muscular Activity*. The Williams y Wilkins Co.)

puestas en forma que el calentamiento producido por la contracción de aquéllos actúe sobre los pares de la termopila, produciéndose de este modo una corriente eléctrica proporcional al desprendimiento de calor. La corriente originada de esta manera puede ser medida valiéndonos de un registro galvanométrico muy sensible, que nos per-

mitirá calcular el calor desprendido por el músculo en distintas condiciones experimentales. En la práctica se utilizan pequeñas termopilas aplanadas, colocando los dos músculos sartorios de una rana frente a cada una de las dos caras de los pares de cobre-constantan, en forma que el calentamiento de la termopila durante la contracción muscular sea lo más uniforme posible. Los músculos se hallan en el interior de la cámara, sumergidos en solución de RINGER oxigenada, y en conexión con dispositivos adecuados para estimularlos con excitaciones eléctricas de magnitud y ritmo conocidos. Los cambios de tensión pueden también ser determinados al transmitirse por intermedio de un hilo a un palanca de inscripción isométrica. En cuanto a los cambios térmicos pueden seguirse en todo momento gracias a la inscripción fotográfica de los movimientos de la cuerda del galvanómetro, cuya sensibilidad puede ser del orden de una cienmillonésima de grado centígrado.

Los resultados obtenidos con este método han arrojado mucha luz sobre los procesos que acompañan la contracción muscular, los cuales pueden resumirse en la forma siguiente: I. Cuando estimulamos un músculo con una excitación aislada se desprende una cierta cantidad de calor durante el proceso de contracción, desprendimiento que puede prolongarse si mantenemos la actividad contráctil por medio de estímulos continuados. Esta primera fase del fenómeno se conoce con el nombre de *calor inicial o de contracción*. El calor de contracción equivale aproximadamente al trabajo máximo teórico de la contracción isométrica, según ya hemos visto. II. En el período de relajación se desprende también calor, denominándose *calor inicial de relajación*. III. Cuando la relajación ha terminado y el músculo vuelve a su longitud normal, nos será dable constatar un nuevo desprendimiento energético, el llamado *calor diferido de recuperación*, con la particularidad de que éste puede continuar produciéndose algunos minutos después de haber terminado la fase de contracción propiamente dicha. Pero antes de seguir adelante conviene destacar un hecho de singular importancia. Si el proceso contráctil se produce en una atmósfera rica en oxígeno, se pondrán de manifiesto los períodos de desprendimiento calórico anteriormente descritos; pero si colocamos el músculo en una atmósfera de nitrógeno, podremos observar que sólo se producirá la liberación de calor de las fases iniciales durante la contracción, sin que al terminar ésta puedan apreciarse nuevos desprendimientos energéticos. Pero, tan pronto como nosotros permitimos el paso de oxígeno en la atmósfera de nitrógeno, el calor diferido se pondrá de manifiesto en la misma proporción que lo hubiera hecho de permanecer el músculo en presencia de oxígeno durante toda la experiencia.

Cuando el músculo se contrae isométricamente desarrolla una tensión determinada, pero sin efectuar ningún trabajo, manifestándose toda la energía liberada en forma de calor. Si aprovechando esta circunstancia establecemos la diferencia entre la cantidad de calor

producida en una contracción isométrica cuando el músculo entra en actividad en una atmósfera de nitrógeno y el calor desprendido en una contracción análoga, pero en presencia de oxígeno, veremos que es igual al calor liberado en la fase de recuperación; desprendimiento energético este último que deja de manifestarse cuando el músculo se contrae en una atmósfera de nitrógeno. Para dar una idea de lo que venimos diciendo expondremos a continuación algunos valores de la energía que se libera en estos procesos. De ordinario se acostumbra a representar el calor desprendido en calorías por gramo de ácido láctico producido, teniendo en cuenta que en condiciones anaerobias la producción de 1 gramo de ácido láctico se corresponde con unas 370 calorías.

	Calorías por gramo de ácido láctico	
En atmósfera de nitrógeno:		
Contracción	178	
Relajación	118	De donde calor inicial = 296
Recuperación	74	
Total	370	
En atmósfera de oxígeno:		
Contracción	178	
Relajación	118	De donde calor inicial = 296
Recuperación	444	
Total	740	

La lectura de las cifras precedentes nos enseña que los valores del calor inicial son los mismos en medio aerobio que anaerobio, y además que la cantidad de calor desprendido en la fase de recuperación es de importancia sólo en presencia de oxígeno, ya que la pequeña cantidad de calor que se desprende en este período, en medio anaerobio, se atribuye al calor de neutralización producido cuando las proteínas y otras substancias amortiguadoras (buffer) reaccionan con el ácido láctico producido durante la contracción, interpretación que ha sido comprobada mediante el cálculo.

Aun siendo importante la cantidad de calor puesto en libertad durante el proceso de recuperación, resulta completamente insuficiente si se le quiere considerar como resultado de la completa oxidación de todo el ácido láctico formado por el músculo. Hemos visto que el calor de recuperación por gramo de ácido láctico es igual a 444 calorías; aun añadiendo las 296 calorías desprendidas durante la contracción llegaremos a la suma de 740 calorías, mientras que la combustión de 1 gramo de ácido láctico *in vitro* produce 3600 calorías. Por lo tanto, sólo una quinta parte del ácido láctico producido durante la contracción podrá ser oxidado en CO_2 y agua, aproximadamente la misma cantidad que hemos visto se oxidaba en el metabolismo del músculo en reposo, pudiendo también suponer un destino análogo en ambos casos para los cuatro quintos restantes, es decir, su transformación en

glucógeno. Este modo de ver encuentra apoyo en el hecho de reaparecer una cierta cantidad de glucógeno después de la actividad contráctil, precisamente en la fase de recuperación, observándose que en todo el transcurso del proceso sólo ha sido utilizado un quinto del glucógeno que intervino en el mismo. El músculo se comporta así como una máquina ideal de gran eficiencia, la cual fuera capaz de convertir cuatro quintas partes del humo y ceniza producidos durante su actividad en el combustible originario.

Fenómenos eléctricos. En los músculos en reposo todos los puntos de su superficie son isoeléctricos, es decir, presentan el mismo potencial, lo que podemos evidenciar conectando dos puntos cualesquiera en un circuito en el cual hayamos intercalado un galvanómetro. Pero así que cualquier punto de su superficie se lesiona

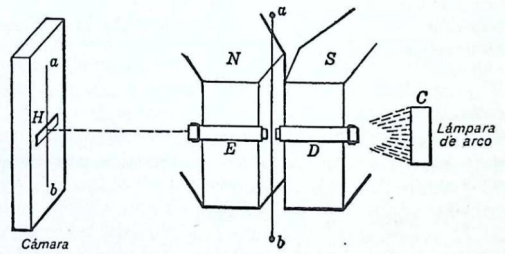


FIG. 60. Esquema del galvanómetro de cuerda. La luz del arco *C* pasa a través de los microscopios *D* y *E* e ilumina la ranura *H* de la cámara. La cuerda *ab* se halla extendida entre los magnetos *N* y *S*. (Según BAINBRIDGE y MENZIES, *Essentials of Physiology*)

o estimula se hace electronegativo con respecto al resto del músculo, produciéndose una corriente eléctrica que dará lugar a la desviación del dispositivo galvanométrico. Las corrientes originadas por estas variaciones de potencial son de muy poca intensidad, necesitando para su registro el uso de galvanómetros especiales. La diferencia de potencial originado en el músculo sartorio de rana por lesión de uno de sus extremo puede determinarse fácilmente utilizando un galvanómetro de espejo de tipo corriente; este instrumnto es, sin embargo, muy poco usado para medir corrientes de excitación, por la rapidez con que se producen (alrededor de 0,01 de segundo). Con este objeto se utilizan otros modelos de inscripción más rápida que los aparatos de espejo, siendo los dos tipos más usados el *galvanómetro de cuerda* y el *electrómetro capilar*.

El galvanómetro de cuerda está constituído por un hilo finísimo de cuarzo plateado, suspendido entre dos potentes electroimanes. La corriente que hayamos de medir pasa a lo largo del hilo de cuarzo, el cual se desplazará entonces en el campo electromagnético gene-

rado por los electroimanes. Los movimientos de la cuerda pueden ser observados fácilmente por medio de un dispositivo que permite proyectar un rayo de luz a través del campo en que la cuerda se mueve y amplificarlos mediante un microscopio. La imagen de la cuerda amplificada, así como su rápida movilidad, pueden ser registradas fotográficamente sobre una película de papel sensible. El aparato debe calibrarse previamente en tal forma, que conozcamos antes de empezar la desviación de la cuerda cuando es atravesada por potenciales de 0,5 milivolt., de 1 milivolt. y de 1,5 milivolt. Los extremos de la cuerda deben hallarse conectados mediante electrodos apropiados con el músculo o tejido cuyas modificaciones eléctricas nos interese determinar, realizando a continuación el registro y la medida del fenómeno. Gracias a la poca inercia de la cuerda, ésta puede registrar variaciones eléctricas muy rápidas.

El electrómetro capilar es un aparato de uso más limitado. Fundamentalmente se halla constituído por un fino capilar de vidrio de un diámetro aproximado de 10 micras. Se llena este capilar con mercurio, y gracias a su fino calibre esta substancia no puede fluir sino cuando sobre la columna actúan presiones superiores a 140 mm.; se sumerge luego el capilar en una copa que contenga ácido sulfúrico (al 20 %), el cual asciende por el interior del capilar hasta ponerse en contacto con el menisco de mercurio, formando en este punto una superficie de separación ácido-mercurio, de muy pequeña sección transversal. Esta superficie puede ser observada con un microscopio dispuesto en tal forma, que su desplazamiento en sentido vertical quede asegurado, midiendo las excursiones del menisco con una escala dispuesta en el ocular del microscopio. El instrumento habrá sido calibrado previamente aplicando diferencias de potencial conocidas, las cuales actuarán sobre la columna líquida ácido-mercurio, conectando uno de los polos del circuito con el ácido y el otro con el mercurio. Las variaciones de potencial producirán en la superficie ácido-mercurio modificaciones de tensión superficial que se traducen por cambios en la posición del menisco. Una vez determinada la relación existente entre el desplazamiento del menisco y el potencial aplicado, puede emplearse el aparato para el estudio de las variaciones eléctricas de los músculos o de cualquier otro tejido viviente. Los cambios de posición que observamos en la superficie ácido-mercurio, nos darán la magnitud de la variación eléctrica desarrollada por el tejido. Como los cambios de potencial en la mayor parte de tejidos son de muy corta duración, con frecuencia se recurre a fotografiar los movimientos del menisco de mercurio de un modo semejante al que ya hemos visto se utiliza en la inscripción de los movimientos de la cuerda del galvanómetro. Gracias a la poca inercia del electrómetro capilar, por su intermedio pueden ser determinadas las variaciones de potencial de los tejidos por pequeñas y rápidas que sean, del mismo modo que hemos visto con el dispositivo galvanométrico.

Lo mismo si utilizamos el galvanómetro de cuerda que el electrómetro capilar, es imprescindible que los electrodos que se hayan

de poner en contacto con los tejidos cuyas modificaciones eléctricas queramos conocer sean *impolarizables*. Esto es obligado porque todos los metales, al ponerse en contacto con tejidos humanos, provocan un acarreo de electrólitos de los mismos tejidos, lo cual determina diferencias de potencial entre los dos electrodos, dando lugar a la producción de corrientes de polarización. Un tipo de esta clase de electrodos puede ser elaborado con un mechón de lana embadurnado con

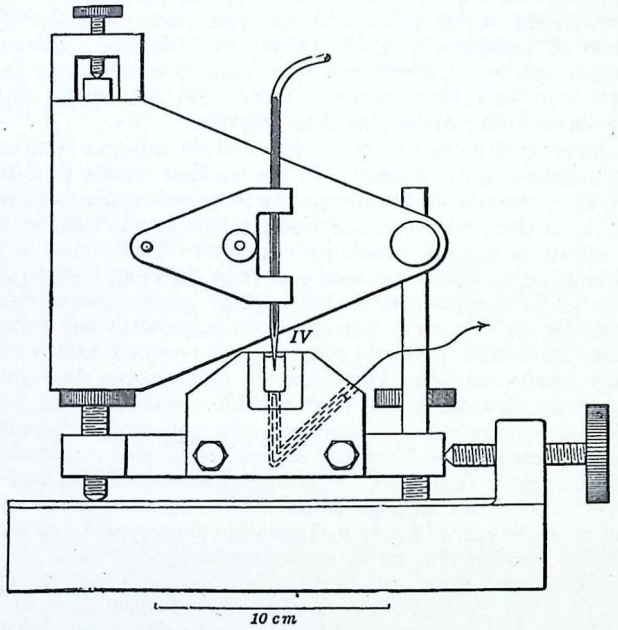


FIG. 61. Esquema de electrómetro capilar. (Modelo de KEITH LUCAS.) El fino capilar que contiene mercurio se sumerge en el recipiente *IV*. El instrumento se halla sujeto a un fuerte soporte, provisto de numerosos medios de ajuste. (KEITH LUCAS, del *Journal of Physiology*)

una mezcla arcillosa de caolín y solución isotónica de ClNa, dándole luego una forma alargada y sumergiendo uno de los extremos de esta mecha en un vaso que contenga sulfato de zinc y una varilla de zinc. Colocando el extremo libre de este electrodo en contacto con el músculo, la corriente en el electrodo seguirá la dirección siguiente de la varilla de zinc al sulfato de zinc, del sulfato de zinc a la mecha de caolín, y de aquí al músculo. Cualquier modificación que tenga lugar en estos electrodos se producirá en la superficie de contacto zinc-sulfato, pero nunca a nivel del mismo tejido cuyas variaciones eléctricas queremos conocer.

Por medio de cualquiera de las técnicas que hemos descrito podemos poner de manifiesto que, cuando un músculo es estimulado, el punto primeramente afectado por el proceso de excitación se hace electronegativo con respecto al resto de la superficie del músculo, y esta *área de negatividad* se propaga rápidamente desde la zona estimulada a las otras partes del músculo. Supongamos que un músculo es estimulado por uno de sus extremos; en el esquema de la figura 62 en *P:* inmediatamente este extremo se hace electronegativo con respecto a su homólogo opuesto *D*. Si en estas condiciones experimentales ambos extremos se encuentran conectados por un circuito en el que hemos intercalado un galvanómetro, pasará a través del circuito una corriente desde el extremo de más alto potencial *D* hacia *P*. Al propagarse el área de negatividad, llegará un momento en que ésta se encontrará en la porción media entre *P* y *D*, y en estas circunstancias, hallándose *P* y *D* con el mismo potencial, no pasará corriente alguna a través del galvanómetro, marcando éste la posición de reposo. Por fin, la excitación llega a *D*, creándose entonces aquí un área de negatividad y por el circuito pasará una corriente en la dirección de *P* a *D*, o sea en dirección diametralmente opuesta a la que pasó en el comienzo. Al progresar la onda de negatividad de un extremo a otro del músculo hemos visto producirse, en primer lugar, una corriente eléctrica en una dirección, luego un momento de neutralidad seguido por una corriente de dirección opuesta que termina volviendo el circuito a tener todos sus puntos a un mismo potencial.

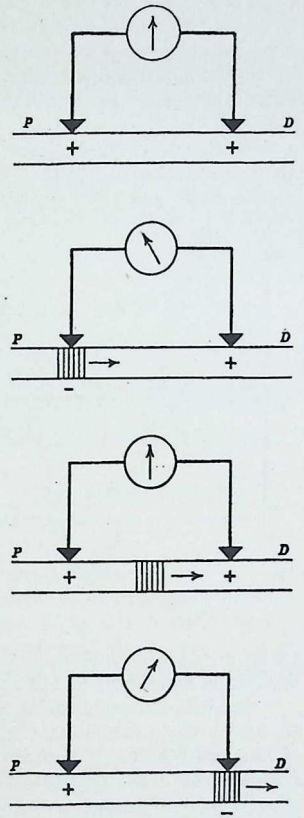


FIG. 62. (Según FULTON)

La representación gráfica de estos cambios eléctricos puede apreciarse en la figura 63, en la cual vemos una primera desviación con vuelta a la línea cero, seguida por otra onda en sentido contrario que termina por fin en la línea de reposo eléctrico. Esta doble desviación que hemos descrito se denomina *variación difásica*.

La variación difásica precede al fenómeno contráctil cuando afecta alguna fibra aislada, pero cuando todo el músculo entra en actividad,

ambos procesos se superponen ligeramente. Aunque toda contracción va siempre precedida y acompaña por cambios de potencial, la presencia de fenómenos eléctricos no indica que necesariamente haya de producirse la contracción muscular. En el caso del músculo cardíaco, la supresión del ion calcio, por ejemplo, no modifica los fenómenos eléctricos, anulando, en cambio, las manifestaciones mecánicas de la actividad cardíaca. Por esta razón, los cambios eléctricos deben considerarse como debidos a algún proceso preliminar necesario para la contracción, pero de naturaleza distinta a la de este último proceso.

Corriente de lesión. Cuando lesionamos la extremidad de un músculo, cortándolo con un cuchillo afilado, se pondrá de manifiesto a nivel de la superficie seccionada una zona de electronegatividad, mientras que la superficie intacta ofrece una carga positiva. Esto se demuestra colocando los dos electrodos impolorizados de un circuito, uno sobre la superficie lesionada y el otro en algún punto de la superficie íntegra; el primero de estos electrodos se hallará en contacto con el contenido de las células musculares (ya que la superficie lesionada está constituída por un sínnúmero de fibras musculares cortadas a su vez), mientras que el segundo electrodo entrará en conexión con la superficie externa de las células. El origen del potencial que encontramos aquí puede ser atribuído en circunstancias normales a diferencias de carga eléctrica entre la cara externa y la cara interna de la membrana celular, diciéndose entonces que la membrana se encuentra *polarizada*.

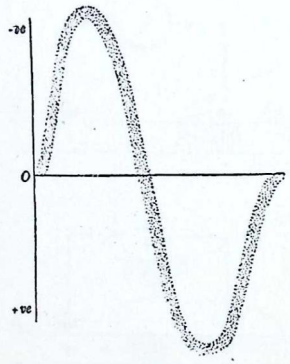


FIG. 63

Si estimulamos un músculo lesionado se producirá una corriente de acción de la misma naturaleza que la que hemos visto presentaba el músculo intacto, pero en estas circunstancias la corriente de lesión quedará casi completamente anulada, ya que al producirse la variación negativa desaparece la polarización de la membran.

Tratemos de averiguar ahora el motivo de la polarización de la membrana en el músculo en reposo y el porqué de la ausencia de este fenómeno durante la actividad muscular. Pero antes de seguir adelante no estará de más recordar que el fenómeno de la polarización puede ocurrir no sólo en el músculo, sino también en cualquier otro tejido viviente, según pudo establecer DU BOIS REYMOND en 1848, al observar cómo se producía una débil corriente de 20 a 100 milivoltios en diversos tejidos previamente lesionados, en los cuales colocaba un electrodo en la superficie lesionada y el otro en la superficie íntegra; estas observaciones fueron llevadas a cabo sobre músculos, nervios, fragmentos de piel de diversas frutas, hojas, etc. OSTWALD dió una explicación de estos hechos, que es la actualmente aceptada, según la cual, la diferencia de potencial que origina la débil corriente que estamos analizando es debida a una diferencia de concentración iónica en ambos lados de la membrana celular de los tejidos, siendo ésta, como ya hemos visto, permeable sólo para los aniones e impermeable para los cationes. Cuando dicha diferencia de potencial desaparece, según vimos sucedía al excitar el músculo, coincide con una modificación de la permeabilidad de las membranas, que en estas circunstancias se hacen permeables no sólo para los aniones, sino también para los cationes.

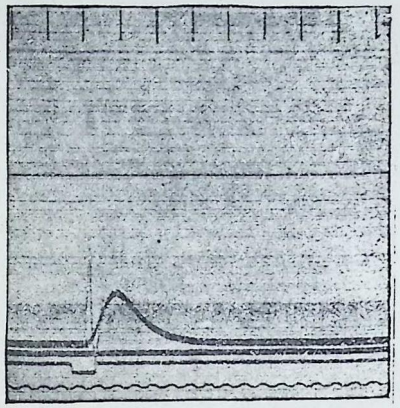


FIG. 64. Contracción muscular precedida por la variación eléctrica. Registro fotográfico. (Según FULTON, *Contraction and the reflex control of movement*. The Williams y Wilkins Co.)

Ya hemos visto anteriormente que la mayor parte de membranas celulares presentan una permeabilidad desigual para los aniones y para los cationes, pero no vamos a insistir otra vez sobre este hecho, que además basta para explicar la diferencia de potencial observada a ambos lados de la membrana. Se han dado distintas explicaciones acerca del mecanismo mediante el cual desaparece la impermeabilidad de la membrana y la diferencia de potencial originada por ella al excitar el músculo. Una de éstas atribuye el cambio de permeabilidad a una rápida liberación de ácido láctico procedente del desdoblamiento del glucógeno muscular; pero este modo de ver es susceptible de una objeción fundamental, ya que el cambio eléctrico puede tener lugar antes de que la masa del músculo entre en contracción y probablemente antes de haberse liberado una cantidad apreciable de ácido láctico. Es más verosímil que el cambio en la permeabilidad de la membrana y la equivalencia iónica dentro y fuera de la misma sean más bien debidos a una acción primitiva de la excitación que a una acción secundaria desarrollada por este proceso, tal como la liberación de ácido; como veremos más adelante, este punto de vista será confirmado

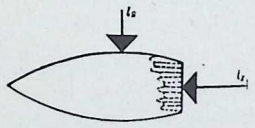


FIG. 65

cuando consideremos el mismo fenómeno en los conductores nerviosos.

Fatiga. Si aplicamos sobre un músculo estímulos repetidos separados entre sí por intervalos de uno o dos segundos, las primeras contracciones que se producen aumentan de magnitud progresivamente. Este resultado se conoce con la denominación de *fenómeno de*

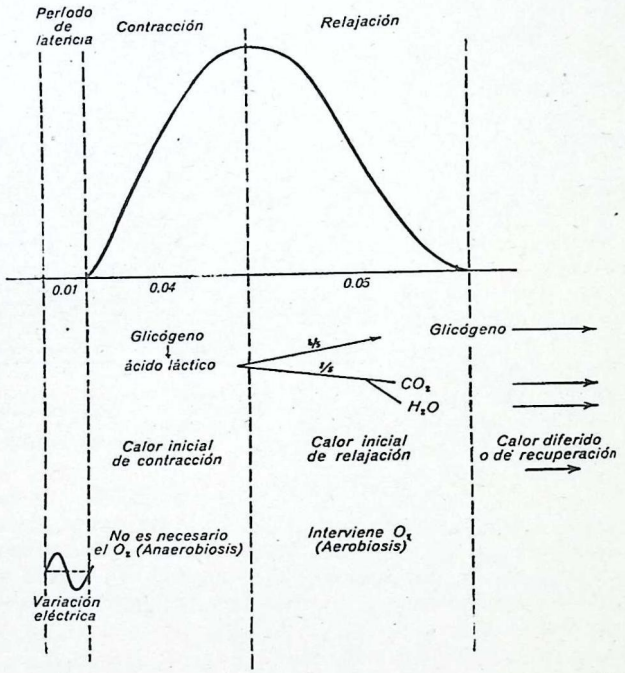


FIG. 66. Esquema resumiendo las principales modificaciones que tienen lugar durante la contracción muscular sencilla

la escalera, siendo probablemente debido a un doble mecanismo. En primer lugar, a consecuencia de la primera contracción, el músculo se calienta ligeramente, y esta modificación influye sobre la contracción consecutiva, produciendo un ligero refuerzo de la misma. En segundo término, parece que la presencia de una pequeña cantidad de ácido láctico ejerce un influjo favorable al proceso contráctil.

Si la sucesión de estímulos se prolonga suficiente espacio de tiempo, llegaremos a una fase en la cual el músculo presenta un rendimiento de trabajo fijo en cada contracción. El glucógeno utilizado para el suministro de energía liberará una cierta cantidad de ácido

láctico, y la acumulación de éste en el músculo provoca la aparición de la fatiga. Como primera manifestación de la fatiga observaremos una incapacidad del músculo para relajarse en el tiempo que media entre dos estímulos sucesivos. Poco después el músculo presenta una disminución gradual de la amplitud de la contracciones y al mismo tiempo se acentúa la lentitud ya iniciada de la fase de relajación, hasta que por fin deja de responder a las excitaciones. Al llegar a este período de fatiga podemos constatar que el músculo contiene poca cantidad de glucógeno y, en cambio, presenta fuertes cantidades de ácido láctico, siendo la acumulación de esta substancia la que se considera responsable de la producción de fatiga. La fatiga se ha localizado no en la fibra muscular propiamente dicha, sino en la placa neuromotriz. Esto puede demostrarse del modo siguiente: una vez conseguida la fatiga del músculo por su estimulación a través del nervio, si aplicamos el excitante directamente sobre las fibras musculares veremos producirse la contracción. Repitiendo las excitaciones sobre el mismo músculo obtendremos tan sólo un pequeño número de contracciones que irán siendo cada vez más débiles, hasta que por fin queda fatigado del todo.

Si dejamos el músculo fatigado en reposo y en una atmósfera de oxígeno, o mejor todavía, sumergido en una solución de RINGER bien oxigenada, la capacidad contráctil se recupera rápidamente, produciéndose al mismo tiempo la resíntesis del glucógeno a partir del ácido láctico acumulado. En el caso particular de los músculos de nuestra economía bañados con sangre oxigenada, este proceso de recuperación es extraordinariamente rápido, hasta tal punto que resulta verdaderamente difícil provocar la fatiga en ellos, ya que el ácido láctico es eliminado o se convierte en glucógeno casi con tanta rapidez como se forma. Cuando sobreviene la fatiga en los músculos del organismo humano consecutivamente a la realización de un trabajo, no se trata de un fenómeno que hayamos de localizar en el mismo músculo, sino en los centros nerviosos de la motilidad voluntaria, ya que la estimulación directa de los músculos, así como la de los troncos nerviosos que conducen la excitación, provoca la actividad contráctil a pesar de que los centros motores estén completamente fatigados.

Tétanos. Cuando la frecuencia de los estímulos que caen sobre un músculo es muy rápida, puede suceder que el músculo tenga que entrar nuevamente en contracción antes de terminar el ciclo de fenómenos que caracterizan el proceso contráctil provocado por el estímulo precedente. En estas circunstancias, el músculo no puede nunca completar su relajación, pasando, en cambio, por un estado de contracción continua que se conoce con el nombre de *tétanos.* Como puede deducirse fácilmente si consideramos los procesos que acompañan a la contracción muscular, este estado de contracción continuada no puede prolongarse mucho tiempo. Durante el mismo, el glucógeno habrá dado, por desdoblamientos sucesivos, una cierta cantidad de ácido láctico, el cual, faltando la fase de recuperación (durante la que se

produce la oxidación o resíntesis del ácido láctico), se irá acumulando hasta alcanzar un cierto "máximum" incompatible con la persistencia de contracción. Cuando esto ocurre, el músculo, agotadas sus reservas de glucógeno, se relaja; si en estas condiciones verificamos el *p*H del músculo, podremos comprobar una notable acidez, debida a la acumulación del ácido láctico.

La contracción tetánica ofrece particular interés porque constituye la forma de contracción de los músculos de nuestro organismo, ya que éstos no entran en actividad por sacudidas aisladas, sino en virtud de breves contracciones tetánicas que se corresponden con una frecuencia de unas 40 excitaciones por segundo. Este hecho puede ser comprobado colocando dos electrodos sobre los músculos

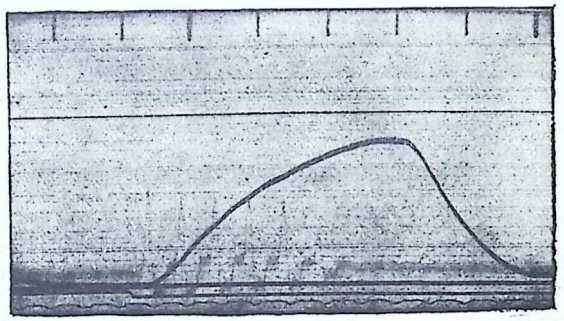


FIG. 67. Registro fotográfico de un corto período de tétanos provocado en una preparación de gastronemio por la aplicación de estímulos de una frecuencia de cincuenta excitaciones por segundo. Modificaciones eléctricas provocadas por el mismo estímulo que produce una sola contracción. (Según FULTON, *Contraction and the reflex Control of Movement*. The Williams y Wilkins Co.)

del antebrazo y registrando las variaciones eléctricas derivadas de su contracción por medio de un galvanómetro de cuerda. Como cada contracción elemental de las que constituyen el tétanos dará lugar a una variación difásica, podremos observar unas 40 de éstas por segundo. Como quiera que los movimientos voluntarios muy breves pueden constar de 3 ó 4 contracciones superpuestas, éstos se hallarán formados por otros tantos tétanos de muy pequeña duración.

Influencia de la temperatura. Con el aumento de la temperatura, el período de latencia del músculo se acorta, la contracción se produce con mayor rapidez y también es más breve el período de relajación. Las contracciones más rápidas acostumbran a elevar a mayor altura un peso determinado, y este hecho da la impresión de que el incremento de la temperatura aumenta el trabajo realizado por el músculo; sin embargo, tal modo de ver no tiene fundamento sólido,

ya que se ha demostrado experimentalmente que la tensión desarrollada por un músculo a la temperatura de 18° equivale a la mitad de la que se pone de manifiesto a la temperatura de 0°. Esto indica que el mecanismo mediante el cual se produce la tensión muscular posee un *coeficiente de temperatura negativo*. Tales coeficientes de temperatura negativos, desconocidos para los procesos químicos, se presentan, sin embargo, como característicos de aquellos procesos físicos dependientes de la tensión superficial; estos resultados parecen confirmar la hipótesis que considera el proceso contráctil dependiente de algún cambio de tensión superficial.

El proceso químico de recuperación tiene un coeficiente de temperatura positivo, como puede deducirse por el mayor consumo de O_2 en las temperaturas elevadas, en comparación de lo que sucede con las temperaturas bajas, lo cual armoniza con el hecho de ser el proceso de recuperación de índole química.

El calentamiento del músculo por encima de 45° debilita la intensidad del proceso contráctil, el cual acaba por desaparecer muy pronto. Este fenómeno es debido a una coagulación irreversible del paramiosinógeno del sarcoplasma. Las temperaturas muy bajas alargan considerablemente el período de latencia, disminuyen la amplitud de la contracción y prolongan mucho el período de relajación; estos efectos han sido atribuídos en parte al aumento de la viscosidad del citoplasma muscular por las bajas temperaturas.

Teorías de la contracción. Se ha admitido de un modo general que el factor primario de la contracción muscular consiste en la liberación de ácido láctico a expensas del glucógeno almacenado en el músculo.

A primera vista, el hecho de que un músculo agotado en una atmósfera de nitrógeno se relaje completamente, aparece en contradicción con esta hipótesis. No obstante, es opinión muy compartida la que considera el fenómeno de contracción debido no sólo al acúmulo de una cierta cantidad de ácido láctico de un modo indeterminado, sino que éste se localizaría en ciertas zonas especiales de la fibra muscular, por ejemplo, en la superficie de la membrana o en las superficies de los sarcostilos. Esta localización sería pasajera, ya que desencadenada bajo su influencia la acción contráctil, intervendría un proceso de difusión encargado de igualar el contenido de ácido de la zona afectada con el de las otras porciones del músculo; terminada con esto la fase de actividad, comenzaría el período de relajación.

El mecanismo íntimo mediante el cual este acúmulo de ácido láctico actúe produciendo la contracción nos es todavía desconocido. Para explicarlo se han emitido distintas hipótesis, siendo las tres principales la teoría de la *tensión superficial*, la de la *presión osmótica* y la de la *imbibición*. La primera de estas hipótesis reposa sobre la afirmación de que el ácido láctico se acumularía en las superficies intercelulares, aumentando la tensión superficial de las mismas, que

tenderían a deformarse adoptando la forma esférica, siendo esta deformación concomitante con el proceso contráctil. La teoría de la presión osmótica tiene su fundamento en los cambios de permeabilidad de las membranas de las células musculares, cuya semipermeabilidad se modificaría temporalmente en virtud de la formación de ácido láctico. La producción de esta substancia daría lugar al paso de agua de unas partes a otras de la fibra muscular, por ejemplo, de las bandas claras a las oscuras, atribuyéndose la contracción a estos cambios osmóticos. Esta concepción ofrece visos de verosimilitud, ya que es perfectamente lógico pensar que el desmoronamiento de moléculas de gran tamaño, como el glucógeno, en otras de tamaño molecular más pequeño, determina alteraciones de la presión osmótica. La tercera de las hipótesis enunciadas sostiene que la producción de ácido láctico acarrea un proceso de imbibición, por el cual los coloides de la célula fijan una cantidad de agua. Si recordamos que los coloides celulares se hallan dispuestos con una orientación determinada, los sarcostilos, dispuestos de un extremo a otro de la célula, veremos que un proceso semejante es factible que pueda producir la contracción; ste último mecanismo podría compararse a la contracción que experimenta una cuerda al ser humedecida.

Ninguna de las teorías mencionadas es capaz de resistir una crítica severa en el momento actual, y por este motivo sólo nos limitamos a una sucinta enumeración de las mismas.

Músculo cardíaco. Los fenómenos que acompañan al proceso de contracción en el músculo cardíaco son muy semejantes a los que hemos visto se desarrollan en los músculos voluntarios. Los cambios eléctricos que preceden a la contracción, las variaciones de tensión y acortamiento que acompañan a la realización de trabajo, el desprendimiento de calor por desdoblamiento y combustión del glucógeno y ácido láctico, así como las características transformaciones sintéticas del período de recuperación, son todos ellos fenómenos superponibles a los que hemos estudiado para los músculos estriados. Sin embargo, esta modalidad de tejido muscular ofrece características que lo distinguen del músculo voluntario, unas constituyendo diferencias efectivas, y otras que no son más que aparentes. Dos de ellas son de la máxima importancia, a saber: existencia de período refractario, y la gran sensibilidad a los electrólitos.

Entendemos por *período refractario,* un período durante el cual la fibra muscular es incapaz de responder a la estimulación. La duración de éste es extremadamente corta (más corta que el período de latencia) en los músculos voluntarios, ya que la aplicación de dos estímulos consecutivos con tal rapidez que el segundo caiga dentro del período de latencia del primero producirá un efecto doble, respondiendo el músculo a ambos estímulos. En cambio, el músculo cardíaco presenta un período refractario largo, continuándose además durante toda la fase de contracción. Si estimulamos las fibras musculares cardíacas cuando se hallan en contracción, el estímulo será completamente ineficaz y sólo al encontrarse aquéllas en la fase de relajación volverán a ser sensibles al estímulo respondiendo con otra contracción. La duración del período refractario depende, dentro de ciertos límites, de la intensidad del estímulo aplicado.

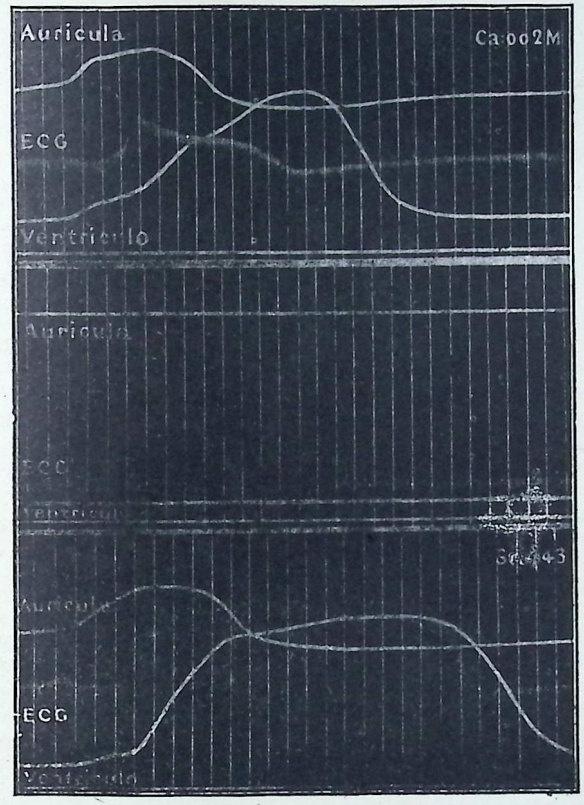


FIG. 68. Modificaciones eléctricas sin contracción concomitante en el corazón de rana. Los trazados mecánicos de aurícula y ventrículo son registrados al mismo tiempo que el electrocardiograma. *Trazado superior:* Contracción normal acompañada por la variación eléctrica correspondiente. *Segundo trazado:* Efecto de la supresión del Ca. Persisten los cambios eléctricos, sin ir acompañados de contracción. *Tercer trazado:* Efecto de la adición de Sr. Cambios eléctricos acompañados de fenómenos mecánicos. (Según MINES, en el *Journal of Physiology)*

Si examinamos la influencia que ejercen los iones sobre el músculo cardíaco veremos que pueden actuar, ya modificando los cambios eléc-

tricos que preceden a la contracción, o bien sobre los fenómenos mecánicos sin influir lo más mínimo el proceso eléctrico; algunas veces los iones pueden ejercer ambas influencias. El paro del corazón de rana cuando suprimimos el calcio del líquido nutricio no va acompañado de ninguna alteración de los fenómenos eléctricos, siendo modificado solamente el mecanismo contráctil. En el corazón del cangrejo, sin embargo, cuando se perfunde con exceso de calcio se produce también paro cardíaco, pero en esta circunstancia acompañado también de la supresión de los fenómenos eléctricos. Además, un exceso de $Na^{\cdot}$ o $K^{\cdot}$ paraliza la contracción cardíaca, sin influir sobre las variaciones eléctricas, mientras que un aumento de *p*H por encima de 6,8 produce una disminución progresiva de los fenómenos eléctricos, que dejan de manifestarse simultáneamente con la desaparición de la actividad contráctil.

Los resultados experimentales hasta aquí obtenidos no permiten establecer una regla general que comprenda los efectos observados sobre el músculo cardíaco con los distintos iones. Los iones polivalentes $Mg^{\cdot\cdot}$, $Ce^{\cdot\cdot\cdot}$ y $La^{\cdot\cdot\cdot}$ actúan a veces de un modo semejante al ion $Ca^{\cdot\cdot}$ y otras veces ejercen un efecto contrario. Existe un evidente antagonismo entre la acción del $Na^{\cdot}$ y $K^{\cdot}$ por una parte y del $Ca^{\cdot\cdot}$ por otra, hecho que si bien se manifiesta con toda claridad en el caso del corazón de la rana (pág. 119), no puede extenderse a todos los casos posibles. El problema del modo como actúen estos iones o combinaciones de iones es de una gran semejanza al problema planteado acerca de la influencia de determinados iones sobre la permeabilidad de la membrana y que, como ya hemos visto, no es una cuestión que pueda ser resuelta de un modo sencillo e inmediato.

Dejando por el momento esta cuestión, vamos a referirnos someramente a una clásica controversia, siempre de actualidad, acerca de cuál pueda ser el origen de la contracción cardíaca entre los que sostienen que la contracción se inicia en las fibras musculares mismas *(teoría miógena)* y los que creen que la actividad cardíaca depende de un modo directo de los ganglios y nervios que se hallan en relación directa con el miocardio *(teoría neurógena)*. La más preponderante de las teorías indicadas es la miógena, mediante la cual encuentran explicación adecuada la mayor parte de hechos experimentales; sin embargo, debe hacerse la salvedad de que ciertos casos concretos no pueden ser explicados con ella (véase pág. 390). El músculo cardíaco puede seccionarse en forma de zigzag, de modo que queden excluídas todas sus conexiones nerviosas, a pesar de lo cual las fibras musculares siguen contrayéndose. El corazón del embrión de pollo comienza a presentar contracciones hacia el cuarto día, mucho antes de que se hayan establecido conexiones nerviosas. Por último, y como argumento el más concluyente de todos, los cultivos de fibras musculares cardíacas aisladas presentan contracciones, aunque no exista en ellas el menor indicio de tejido nervioso.

Tono. Los músculos voluntarios no se encuentran en estado normal completamente relajados, sino que presentan constantemente un ligero grado de contracción. Sólo habrá relajación completa en el caso de hallarse el músculo separado de sus conexiones con el sistema nervioso central, como podemos comprobar en la preparación nervio-músculo. En cambio, en el músculo de fibra lisa podemos observar el estado de contracción tónica, aun cuando lo separemos del organismo, ya que en realidad el estímulo que llega a ellos desde el sistema nervioso central es de naturaleza inhibidora, tendiendo a producir relajación.

En el caso del músculo liso ya citado, el tono puede mantenerse durante días enteros fuera del organismo; los músculos de un fragmento de íleon de gato, por ejemplo, pueden conservar su tono después de haberlo tenido en hielo durante varios días y cuando el tiempo transcurrido permite suponer la completa degeneración de todos los elementos nerviosos. Un ejemplo más notable es el que nos ofrece el molusco *Dioxinia*, cuyas valvas se mantienen cerradas por la acción de un fuerte músculo adductor que opone una resistencia a la separación de las mismas de unos 2,5 millones de dinas, pudiendo continuar el tono adductor sin modificarse durante un mes entero. Otro ejemplo más corriente es el que podemos constatar en el caso de las ostras, ya que cualquiera ha tenido ocasión de comprobar la fuerza que es menester para abrir sus valvas. No es probable que el estado de contracción del músculo adductor en el *Dioxinia* y del músculo correspondiente de las ostras pueda considerarse como una contracción propiamente dicha, ya que es muy problemático considerarla como tal; su larga duración (durante más de treinta días), sin presentar señales de fatiga, se aviene mal con lo que conocemos respecto a los fenómenos mecánicos y químicos del tejido muscular.

Si observamos lo que sucede con el *Pecten* al sacarlo del agua, veremos que abre y cierra las valvas de su concha una o dos veces antes de su cierre definitivo, circunstancia que podemos aprovechar para colocar un pedazo de madera entre las dos valvas; éstas, al cerrarse definitivamente, lo hacen con tal fuerza que pueden convertir en astillas la madera interpuesta, quedando aprisionadas durante semanas enteras. Una vez cerradas las valvas, si intentamos mover el pedazo de madera de un lado a otro hasta liberarlo completamente podremos verificar cómo aquéllas quedan entreabiertas, bastando el simple contacto de un dedo para provocar su cierre inmediato, hecho que contrasta con la enorme cantidad de energía necesaria para determinar su apertura. Disecando el *Pecten* durante un período en que sus valvas se hallen cerradas, veremos que el músculo que entra en actividad en esta fase presenta una consistencia cartilaginosa, mientras que en estado de reposo este mismo músculo ofrece una consistencia blanda. Esta forma de actividad muscular no es equiparable a la contracción de los músculos voluntarios, debiendo considerarse

más bien como *contracción postural* que como una contracción propiamente dicha.

Insistiendo sobre lo que se refiere al *Pecten,* veremos que el movimiento de su concha se halla condicionado por dos músculos distintos, un *músculo motor,* constituído de fibras estriadas y que actúa aproximando las valvas para su cierre, y el otro, denominado *músculo de enganche* o músculo tónico), cuya función consiste en mantener unidas las valvas previamente aproximadas por el músculo motor. Si extirpamos el músculo de enganche, al contraerse el músculo motor se produce el cierre de la concha, pero sólo durante el período que dure la contracción, ya que al relajarse el músculo motor la concha vuelve a abrirse. En efecto, el comportamiento de este último músculo se asemeja estrechamente al de cualquier otro músculo estriado y pronto presenta el fenómeno de la fatiga. No podemos decir lo mismo del músculo tónico, el cual es capaz de manifestar durante días y semanas enteras su actividad. La manera como este fenómeno tiene lugar se representa corrientemente con un sencillo símil que, sin embargo, no da indicación alguna sobre el mecanismo íntimo del proceso: en la figura 69, las dos placas dentadas que representa pueden ser movidas fácilmente deslizando una sobre otra de izquierda a derecha, no pudiendo efectuar dicho deslizamiento en sentido contrario, es decir, de derecha a izquierda. De un modo análogo parece que el músculo de enganche pasa al estado de contracción incapaz para acortarse, como si sus fibras constituyentes se encontrasen trabadas por un mecanismo semejante al de una cremallera.

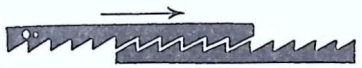


FIG. 69. (Según BAYLISS, *Principles of General Physiology*)

Tienen singular interés para un conocimiento adecuado de la naturaleza de este curioso fenómeno los datos que resultan del estudio de los cambios químicos y eléctricos que acompañan a la contracción. Los cambios químicos no son superiores a los que presenta ordinariamente el músculo en reposo; así, por ejemplo, el *Pecten* utiliza cuando su concha permanece abierta unos 0,67 mg. de oxígeno, y cuando se halla completamente cerrada 0,68 mg. Esto viene en apoyo de la suposición de que el músculo tónico no se encuentra en estado de contracción propiamente dicho y que el fenómeno que nos ocupa difiere fundamentalmente de las contracciones tetánicas. Si nos fijamos en lo que sucede con los cambios eléctricos, veremos que tienen lugar en dos fases: una de corta duración, sincrónica con la contracción, y otra en la cual la variación eléctrica persiste durante el mismo tiempo en que se manifiesta el estado de tono. Para explicar las relaciones que puedan existir entre el mecanismo del cierre y los fenómenos antes estudiados se han emitido diversas hipótesis, sin que ninguna de ellas sea completamente satisfactoria.

Fenómenos muy semejantes al del funcionamiento del músculo de enganche del *Pecten* pueden ser observados en algunas especies de invertebrados. Las espinas del erizo de mar presentan insertados en su base dos series de músculos: una de funcionamiento "motor" y otra de músculos "tónicos". Un estímulo aislado produce la contracción de la primera serie de músculos citada, inclinando la espina hacia un lado; sin embargo, la repetición de estímulos afecta también los músculos tónicos, de lo que resulta un desplazamiento de la espina bastante tiempo después de que el estímulo ha cesado.

La oruga de Coso, después de hacer su capullo presenta ciertas contracciones rítmicas; después de cada una de ellas permanece inmovilizada durante un corto espacio de tiempo en la misma posición adoptada en la contracción precedente, no pudiendo modificarla sino a costa de aplicar una fuerza considerable. Para terminar, diremos que se han descrito en ciertas holoturias mecanismos muy semejantes al que hemos visto presenta el *Pecten.*

Antes de finalizar este breve resumen acerca de las notables propiedades del mecanismo que regula el funcionamiento del músculo de enganche, hemos de mencionar el control que sobre dicho mecanismo ejerce el sistema nervioso a través de dos clases de nervios. La estimulación de uno de dichos troncos nerviosos produce una contracción del músculo, que ya hemos visto continúa indefinidamente; la estimulación del otro nervio da lugar a una relajación del músculo contraído. Estos hechos pueden explicar hasta cierto punto cómo entra el músculo en contracción y cómo se relaja, pero no aclaran el mecanismo de la persistencia del estado contráctil durante tan largos períodos, ya que si cortamos ambos nervios durante el estado de tono, éste continúa del mismo modo que hubiera continuado de hallarse los nervios intactos. Hay que reconocer que el estado de tono, una vez seccionados ambos nervios, puede ser permanente, ya que con ello excluímos la posibilidad de que el músculo se relaje mediante la intervención de un impulso inhibidor a través del nervio correspondiente.

En el caso de los músculos voluntarios, podemos constatar la persistencia del tono muscular mientras el músculo se halla en conexión con el sistema nervioso central, lo cual puede ponerse de manifiesto viendo cómo desaparece el tono al seccionar los nervios motores. Los influjos nerviosos que intervienen en el mantenimiento del tono siguen las mismas vías de los impulsos que determinan la actividad motora. En estado normal, el tono muscular se halla bajo el condicionamiento inmediato de los impulsos provenientes del núcleo rojo del cerebro medio; la destrucción de este núcleo o la sección de la médula espinal determina en los músculos cuya inervación se encuentra libre del control del núcleo rojo un estado de hipertono que se conoce con la denominación de *rigidez descerebrada.* En cierta manera, este estado de tono que persiste durante largos períodos de tiempo se asemeja al

que se pone de manifiesto en el músculo de enganche de los moluscos, ya que si una vez determinado el estado tónico estimulamos el nervio que conduce estímulos inhibitorios, dicho estado desaparece en seguida. Además, análogamente a lo que hemos visto sucedía con el desprendimiento de calor durante el cierre de las valvas de los moluscos, en el caso de la rigidez descerebrada, el calor producido es mucho menor que el que se origina a consecuencia de una contracción tetánica de la misma duración.

Para explicar la naturaleza del estado tónico en el músculo voluntario han sido emitidas principalmente las consideraciones que extractamos a contiuación. La primera de ellas sostiene que la naturaleza de la contracción tónica es distinta a la de la contracción muscular simple; sin embargo, la diferencia entre ambos procesos no ha sido todavía establecida exactamente. En segundo término hay que considerar que en el caso del cierre de la concha de los moluscos intervienen el músculo "motor" para juntar las valvas y el músculo "enganche" para mantenerlas juntas, hallándose vinculado el fenómeno del tono prolongado sólo con este último. Recientemente se ha dicho que en el músculo voluntario existen dos clases de fibras distintas, unas que se corresponderían con las del músculo motor de los moluscos y las otras representarían el músculo de enganche, atribuyéndose a estas últimas la propiedad de producir el tono prolongado. Entre las dos clases de fibras citadas existirían diferencias morfológicas que habrían de corresponderse con su distinto comportamiento funcional, si bien acerca de tales diferencias estructurales los fisiólogos no están todos de acuerdo. La diferencia funcional estriba en considerar adscritas a una clase de fibras la ejecución de la contracción voluntaria, mientras que las otras fibras, por analogía con las del músculo de enganche, serían responsables de la contracción tónica. El punto esencial que permite sostener estas diferencias estriba en la doble inervación de los músculos esqueléticos, los cuales por la acción de los nervios motores procedentes del asta anterior de la médula entrarían en contracción, mientras que las fibras responsables del tono serían inervadas por fibras del simpático.

No vamos a exponer aquí los detalles de la discusión entablada por los que aceptan con los que rechazan este modo de ver, y sólo daremos los principales argumentos esgrimidos contra la dualidad que supone la hipótesis precedente. En primer lugar, aun admitiendo la inervación del músculo voluntario por fibras simpáticas, no existe acuerdo sobre si ambas clases de fibras nerviosas (simpáticas y motoras) podrían actuar sobre la misma fibra muscular en vez de aceptar la existencia de dos clases de fibras. En segundo término se ha visto que excitando directamente el simpático que inerva el músculo voluntario, o inyectando adrenalina, no ha sido dable observar ningún aumento del tono. Tampoco ha sido posible observar nunca contracciones consecutivas a la extirpación de los nervios simpáticos. Teniendo en cuenta todo lo dicho, las hipótesis para explicar el mecanismo del

tono muscular se hallan actualmente en estado poco satisfactorio. Para terminar diremos que aun aceptando para el mantenimiento del tono la existencia de unas fibras musculares diferenciadas todavía desconocidas, no estaríamos mejor informados acerca de la naturalez del proceso contráctil, ya que tendríamos que buscar entonces explicación adecuada para un tipo de contracción muscular de duración indefinida, que, sin manifestar señales de fatiga, presentase al mismo tiempo una modalidad metabólica especial.

CAPÍTULO VIII

Movimiento ciliar, movimiento amiboideo y contracción de los melanóforos

La contracción muscular constituye una modalidad de movimiento producido en una célula diferenciada para realizar aquella función. En este capítulo vamos a considerar otras modalidades de movimiento más sencillas que la característica de la célula muscular y que son propias de células mucho menos diferenciadas. Estas distintas formas de movimiento son el movimiento ciliar, el amiboideo y el de las células denominadas *melanóforos*.

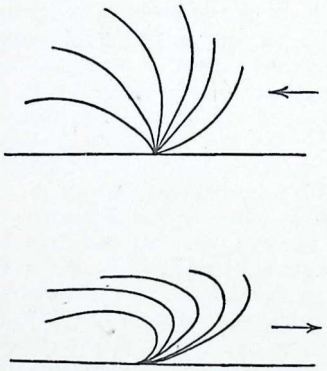


FIG. 70. Esquema del movimiento ciliar. Figura superior: contracción hacia delante o efectiva. Figura inferior: contracción hacia atrás o de recuperación. (Según GRAY)

Movimiento ciliar. Las células ciliadas típicas poseen uno o varios cilios dispuestos en uno de sus bordes, muy cerca de los cuales pueden verse un cierto número de pequeños gránulos. Si los cilios son grandes, puede ponerse de manifiesto en ellos la existencia de una membrana consistente que limita una cantidad de substancia aparentemente homogénea y que se continúa con el citoplasma de la célula. El movimiento de los cilios es tan rápido que difícilmente puede ser seguido con los ojos, a menos que el movimiento sea primeramente retardado. Cada *contracción* consta de un rápido desplazamiento hacia delante, seguido de un desplazamiento más lento hacia atrás. Durante la primera fase se produce una corriente en el medio flúido que rodea el cilio y en el transcurso de la misma puede constatarse la rigidez de éste, mientras que durante el desplazamiento hacia atrás o fase de recuperación el cilio se halla completamente relajado.

Aun teniendo en cuenta las diferencias morfológicas fundamentales existentes entre las células ciliadas y las que constituyen el tejido muscular, no podemos dejar de reconocer cierta analogía entre ambas formas de contracción. Lo que haya de justificado en esta analogía puede hallar confirmación si comprobamos que durante el movimiento ciliar se produce: I, el consumo de una cantidad de oxígeno que se corresponda de algún modo con el trabajo dado por el

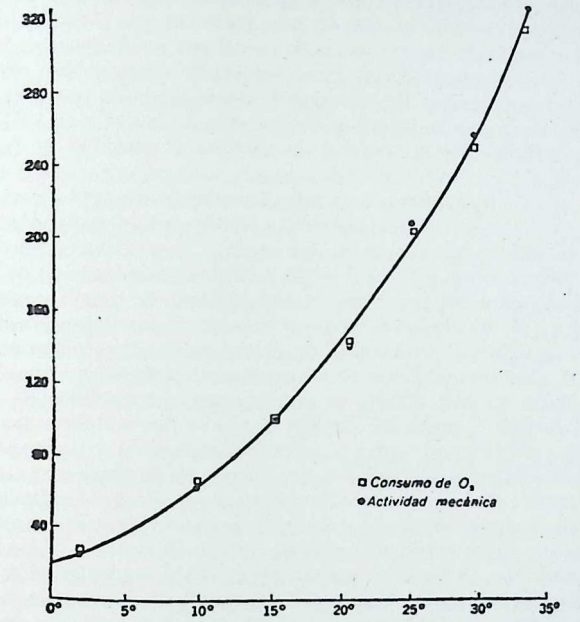


FIG. 71. Influencia de la temperatura sobre el consumo de oxígeno y la actividad mecánica de los cilios. Ambos procesos son afectados en la misma proporción por las variaciones térmicas. (Según GRAY)

cilio durante un período de tiempo suficientemente grande, y II, una cierta cantidad de ácido láctico.

La demostración del consumo de oxígeno durante el movimiento ciliar ha sido dada con toda evidencia, así como la similitud que a este respecto existe con el proceso de la contracción muscular. La medición de trabajo realizado durante el movimiento ciliar se realiza de acuerdo con unidades algo arbitrarias, como son las que resultan de medir el tiempo que un pequeño peso de platino tarda en recorrer una distancia determinada, impulsado por la actividad de los cilios, y en tales circunstancias el consumo de oxígeno es determinado colocando

las células ciliadas en un microespirómetro análogo al que se utiliza en el caso particular del músculo. Con esta técnica ha podido demostrarse que existe una estrecha relación entre el consumo de oxígeno y el trabajo desarrollado por los cilios, observándose también un aumento del consumo de oxígeno y del trabajo cuando se produce una elevación de temperatura. Por otra parte, se ha visto también que los cilios pueden continuar contrayéndose en ausencia de oxígeno, lo que ha hecho pensar a algunos investigadores si las células ciliadas contendrían alguna reserva de oxígeno en forma combinada; sin embargo, a este respecto no está de más recordar que el músculo colocado en análogas circunstancias puede continuar mostrando su actividad contráctil, siendo precisa la intervención del oxígeno sólo durante la fase de recuperación. Es interesante comprobar cómo también en esto prosiguen las analogías, ya que en el caso de la actividad ciliar la fase más influída por la ausencia de oxígeno es también la fase de recuperación. Una diferencia cabe señalar, sin embargo, entre ambos procesos, si las observaciones recogidas a este respecto son correctas: el músculo, durante sus cambios nutritivos, utiliza solamente hidratos de carbono (glucógeno, glucosa, ácido láctico, etc.), y, en cambio, en el proceso que acompaña a la actividad ciliar, los hidratos de carbono no parece que desempeñen un papel importante, además de que la presencia de glucógeno en las células ciliadas no ha sido nunca demostrada (1).

Para estudiar la producción de ácido por parte de las células ciliares ha sido necesario recurrir a métodos indirectos, ya que la determinación química directa es prácticamente imposible. El único medio de abordar el problema consiste en tratar de establecer las relaciones que puedan existir entre la actividad contráctil y la concentración de hidrogeniones del medio externo. Ha podido observarse que la acidez paraliza el movimiento ciliar, disminuyendo gradualmente el número de contracciones, pero sin que se modifique su amplitud, hasta que por fin se produce el paro de los movimientos ciliares en la fase de relajación. Como ya hemos visto (pág. 117), no se trata aquí de una acción del ácido sobre la superficie, sino que el efecto obtenido se debe a la penetración del ácido en el interior de las células, habiéndose obtenido diferencias considerables respecto a la concentración de $H^{\cdot}$ iones de distintos ácidos en sus efectos paralizantes del movimiento ciliar. La adición de algún álcali cuando se ha logrado paralizar el movimiento de los cilios por la intervención de un ácido puede determinar el retorno de las contracciones en un espacio de tiempo que variará según la cantidad de ácido y de álcali usados. De todo ello puede deducirse que la movilidad de los cilios se halla en estrecha dependencia con la concentración de hidrogeniones y que tal vez los $H^{\cdot}$ iones producidos en el interior de la célula puedan ser los responsables de la iniciación de la movilidad ciliar. No obstante, conviene poner de manifiesto que todavía no ha podido ser demostrado que la contracción de los cilios coincida con la producción de ácido en el interior de la célula.

(1) En relación con este problema, recuérdese lo que dijimos en nuestra nota de la pág. 181 al considerar los cambios químicos que se producen en el músculo y las nuevas orientaciones que se siguen conducentes a delimitar la importancia otorgada a los glúcidos en el metabolismo muscular. — *N. del T.*

Teniendo en cuenta todos los hechos apuntados, GRAY ha elaborado una teoría para explicar el movimiento ciliar. Según esta hipótesis, la primera fase del movimiento ciliar sería tributaria de un proceso de imbibición concomitante, el cual, a su vez, dependería de la producción de ácido en el interior de la misma célula; la producción del ácido tendría lugar con cierta periodicidad y a su vez resultaría del desdoblamiento de substancias cuya composición no sería del todo análoga a un glúcido. Este primer período durante el cual los cilios se mueven hacia delante, va seguido de la fase de recuperación, durante la cual es utilizado el oxígeno. La liberación de ácido que desencadena el latigazo de los cilios no parece haya de necesitar la intervención del oxígeno. En esto existe una cierta semejanza entre el proceso fundamental que origina la contracción del músculo y el del movimiento ciliar, siendo oportuno recordar aquí una de las teorías de la contracción muscular, que considera la imbibición como causa del fenómeno contráctil (pág. 196).

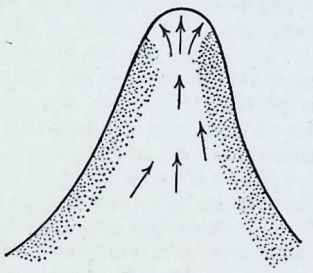


FIG. 72
Esquema que muestra la formación de un seudópodo. (Según CHAMBERS)

Movimiento amiboideo. El movimiento amiboideo constituye una modalidad de movimiento aún más fundamental que la contracción muscular, y desde luego mucho más de lo que pueda considerare el movimiento ciliar propiamente dicho. Es el medio de locomoción corriente de muchos protozoarios, así como el de algunas células de los organismos superiores, tales como los leucocitos de la sangre y las células emigrantes de los tejidos.

Para el estudio de este movimiento constituye un excelente material el que nos ofrecen los ejemplares de *Amoeba limax*, cuyos movimientos se producen siguiendo una línea relativamente recta; por lo tanto, no estará fuera de lugar dar aquí un breve esquema de su estructura. El citoplasma aparece dividido en dos zonas, una más flúida, *endoplasma*, y otra externa, de mayor consistencia, *ectoplasma*, pudiéndose considerar la primera como un sol y la última como un gel. En el espesor de cada una de estas dos zonas se encuentra incluído un buen número de gránulos de distintas dimensiones. También se ha podido poner de manifiesto, sin ningún género de duda, merced a los métodos de microdisección, una fina membrana que recubre toda la superficie del ectoplasma. En el protoplasma pueden observarse continuas corrientes (de apariencia muy

semejante a los fenómenos de ciclosis que presentan muchas células vegetales), que van de un polo a otro de la célula y que son determinadas en apariencia por liquefacción de diferentes zonas del ectoplasma, en donde se originan corrientes dirigidas hacia el endoplasma flúido, tomando una consistencia de gel en el polo opuesto, hacia el cual se dirigen los gránulos.

Observando cuidadosamente cómo se producen los fenómenos que acompañan el movimiento amiboideo, podemos ver que se suceden con una cierta regularidad. En el punto que haya de fraguarse un seudópodo tiene lugar un proceso local de liquefacción, los gránulos del endoplasma se derraman en el área fluidificada, la membrana superficial se abomba y la corriente de gránulos penetra en el interior del abombamiento. En estas condiciones se constituye un corto tubo vacío de extremidad redondeada, cuyas paredes están compuestas por la membrana superficial sostenida especialmente por su base por una capa de ectoplasma de grosor variable que contiene endoplasma flúido, el cual penetra invariablemente en su interior desde la base hacia su extremidad. Así que esta corriente de endoplasma alcanza la porción redondeada del seudópodo refluye hacia atrás, mientras que el contenido del fondo de saco del seudópodo se solidifica por gelificación del endoplasma.

En la *Amoeba limax*, la producción del seudópodo siempre tiene lugar en su parte anterior, de lo que resulta un movimiento en línea recta. Procurando que las condiciones experimentadas se mantengan constantes, el movimiento continúa, no variando más que en la proporción de un 5 % durante varias horas. La velocidad es determinada corrientemente por el tiempo que el organismo tarda en atravesar el campo microscópico, medido por una escala micrométrica.

Las observaciones acerca del consumo de oxígeno por la *Amoeba limax* son escasas; sin embargo, son suficientes para afirmar que su actividad motora se halla asociada con la producción de una cierta cantidad de ácido. La demostración de los cambios de reacción que se realizan en el citoplasma de esta amiba han sido puestos de relieve mediante el rojo neutro (este indicador difunde a través de la membrana rápidamente), habiéndose podido establecer que el ectoplasma presenta en estado normal y en reposo un *p*H de 7,2, mientras que el endoplasma, en análogas condiciones, presenta un *p*H de 7,6; además, durante la emisión de seudópodos el indicador toma un color rojo, lo que denota una cierta desviación del *p*H hacia valores ácidos, y cuando los seudópodos se retraen se produce un cambio en sentido opuesto que da lugar a un empalidecimiento del indicador como resultado de una disminución de la concentración de iones $H^{\cdot}$.

La constatación de estos hechos condujo a PANTIN a establecer su teoría del movimiento amiboideo, en la que atribuye este fenómeno a cambios de la reacción actual, los cuales producirían una imbibición de agua en la porción anterior de la amiba, que daría razón del proceso de liquefacción. Al mismo tiempo, en la

porción posterior del organismo se produciría una disminución de la concentración de $H^{\cdot}$ iones que determinaría un proceso de gelificación local, con la pérdida de una cierta cantidad de agua, al retraerse por sinéresis la zona de endoplasma gelificado. La energía desarrollada en el proceso de retracción impulsaría el endoplasma flúido hacia la zona fluidificada de la amiba y condicionaría la progresión de la misma. Como vemos, el contenido de esta hipótesis acerca del movimiento amiboideo tiene como fundamento una transformación reversible gel-sol.

La mayor parte de células aisladas, las amibas y todas las células que presentan movimientos amiboideos ofrecen una sensibilidad extraordinaria para ciertos electrólitos. CHAMBERS y sus colaboradores, estudiando los efectos producidos por distintos electrólitos sobre estas células, han podido establecer, merced a las técnicas de microdisección y microinyección, el antagonismo entre distintos iones. Y así, mientras el ClNa y el ClK producen al ser inyectados una fluidificación del citoplasma, el Cl_2Ca causa una gelificación del protoplasma en el punto de la inyección. Las mezclas de sales antagonistas, en determinadas proporciones, anulan sus efectos respectivos. Las amibas marinas son destruídas en soluciones de ClNa, ClK, Cl_2Ca y Cl_2Mg, y, sin embargo, conservan su actividad fisiológica en soluciones que contengan las mismas sales en proporciones adecuadas. El ion $Ca^{\cdot\cdot}$ parece un elemento esencial para que se produzca el movimiento amiboideo. A pesar del considerable interés de estos estudios, no arrojan mucha luz acerca del mecanismo íntimo de la movilidad de las amibas.

El movimiento amiboideo varía considerablemente con la temperatura, presentando cada especie de amibas una temperatura óptima para sus movimientos. Así, la *Amoeba limax* presenta su óptimo de temperatura a los 20°; los leucocitos de la sangre de animales homeotermos necesitan un óptimo más elevado (unos 37°). El incremento de la temperatura parece influir acelerando la reacción fundamental, lo mismo que sucede en el caso particular de la contracción de los músculos, que también tiene una temperatura óptima; cuando ésta se rebasa, el fenómeno deja de producirse, por la probable destrucción de alguna substancia indispensable para la realización del proceso contráctil y que alguien ha sugerido pueda ser una enzima. Lo cierto es que al elevar la temperatura 5° por encima del óptimo, y aunque volvamos en seguida a temperatura más adecuada, podremos constatar que la intensidad del movimiento es mucho menor que en el caso de llegar a ella a partir de temperaturas más bajas. En cuanto al coeficiente de temperatura que corresponda al movimiento amiboideo no sabemos cómo pueda ser, si positivo o negativo, ya que si bien es cierto que el coeficiente en lo que se refiere a la velocidad del movimiento es positivo, ello puede no ser una indicación verdadera del signo del coeficiente que convenga aplicar a la reacción que se desarrolla, ya que siendo la viscosidad de la amiba el principal impedi-

mento de su propia movilidad, la vemos disminuir continuamente con el aumento de la temperatura.

Con respecto a la teoría a que hicimos referencia al hablar de la tensión superficial (pág. 14) atribuyendo el movimiento amiboideo a variaciones de la tensión de superficie, se considera actualmente inadecuada. La principal objeción que se ha hecho contra esta hipótesis es la que resulta de comprobar mediante los métodos de microdisección la consistencia semisólida de la cutícula superficial de la *Amoeba* y de los organismos amiboideos.

Movimientos de los melanóforos. Los crustáceos, peces, reptiles y anfibios se hallan provistos de unas células pigmentadas espe-

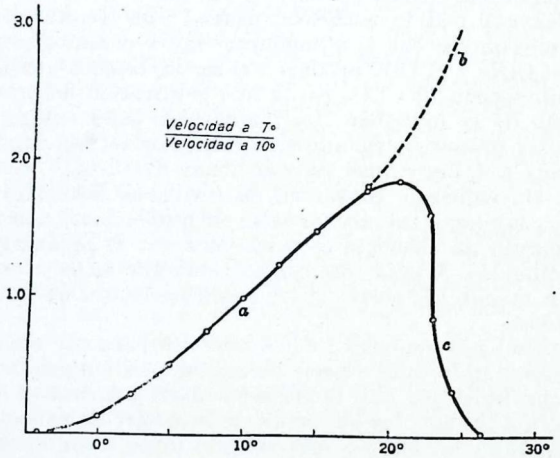


FIG. 73. Influencia de la temperatura sobre la velocidad del movimiento amiboideo. La velocidad alcanza su máximo a los 21°. (Según PANTIN)

ciales cuya contracción y relajación determina el color del animal con respecto al medio que le rodea. Más adelante (pág. 284) insistiremos acerca del funcionamiento de las mismas; mientras tanto, haremos mención únicamente de lo que concierne a su mecanismo contráctil.

Estas células pigmentadas, *melanóforos*, contienen en su interior un pigmento negruzco. Cuando colocamos al animal sobre un fondo blanco se produce la "contracción" de estos elementos, no pudiéndose atribuir este fenómeno a la retracción de las pequeñas prolongaciones que la célula posee, sino al vaciamiento de las mismas de su contenido en pigmento, el cual irá a concentrarse en las zonas centrales de la célula, siendo estas modificaciones más parecidas a corrientes protoplasmáticas que a ciertas formas de contracción.

En realidad, se desconoce cuál puede ser el mecanismo de agregación o dispersión de estos gránulos; lo único que sabemos a ciencia cierta es que el fenómeno puede ser provocado por la aplicación de diversos estímulos. Un choque de inducción aislado, por ejemplo, no basta para hacer entrar en actividad los melanóforos; sin embargo, la sucesión de una serie de excitaciones da lugar al desplazamiento de los gránulos de pigmento desde la periferia al centro de la célula después de un período de latencia de unos 5 segundos. La "contracción de la célula va seguida, transcurrido un minuto, de una fase de "relajación", durante la cual una corriente de pigmento vuelve a llenar las prolongaciones celulares.

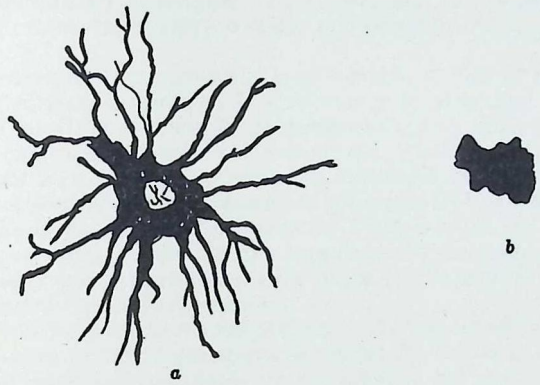


FIG. 74. Melanóforos de Fundulus: *a*, dispersados; *b*, contraídos. (Según SPAETH)

Algunos electrólitos pueden condicionar el desplazamiento de los gránulos. El ClNa produce expansión de los melanóforos, pasando el pigmento a las últimas arborizaciones del protoplasma celular; el ClK y el Cl_2Ca ejercen una influencia contraria, dando lugar a una contracción inmediata. Si mezclamos en proporciones adecuadas ClNa, ClK y Cl_2Ca puede obtenerse una solución que no ejerza influencia alguna sobre los melanóforos. El efecto de Cl_2Ba es particularmente notable; si, por ejemplo, tratamos los melanóforos del *Fundulus* con una solución de Cl_2Ba 0,01 normal, veremos que después de un largo período de latencia, cuya duración oscila de media a una hora, aquéllos entran súbitamente en actividad, relajándose y contrayéndose alternativamente todas las células de la preparación y pudiendo continuarse el fenómeno durante horas enteras.

La contracción de los melanóforos ha sido objeto de un interés especial a causa de la similitud que algunos autores han querido ver entre este fenómeno y el de la contracción del músculo liso. Si esto

fuera así estaríamos autorizados para considerar la contracción del músculo, los movimientos de los melanóforos, la motilidad de los cilios y la emisión de seudópodos como manifestaciones distintas de un mismo tipo de reacción fundamental. La demostración de una semejanza manifiesta entre estas distintas formas de actividad celular es algo muy deseable; sin embargo, hasta el momento actual tal similitud dista mucho de ser evidente.

Capítulo IX

Tejido nervioso

Estructura de los nervios. Cada fibra nerviosa procede de una célula diferenciada, neurona o citón, que presenta ciertos caracteres típicos.

La forma de las neuronas es muy variable, si bien la disposición morfológica más corriente es la piriforme y la piramidal. La membrana de la célula nerviosa es de consistencia muy fina, hallándose constituída principalmente por substancias lipoideas. El núcleo es voluminoso y en él puede apreciarse la existencia de un nucléolo. El citoplasma contiene unas formaciones grumosas de naturaleza lipoidoproteínica, los llamados *gránulos de Nissl,* además de una complicada red de *neurofibrillas* que atraviesa el citoplasma en todas direcciones y que se continúa con las fibras que habrán de constituir los conductores nerviosos o nervios.

La neurona posee una larga prolongación, denominada *axón,* y un cierto número de prolongaciones más cortas, las llamadas *dendritas,* las cuales establecen relaciones de contigüidad con otras dendritas pertenecientes a células vecinas, estableciéndose de este modo las conexiones interneurónicas en una zona determinada. El axón se halla constituído por un fino y largo filamento, en el cual ha sido dable mostrar, gracias a métodos adecuados, finas neurofibrillas en conexión con las que presenta el citoplasma de la célula nerviosa de que procede. En los nervios mielínicos (nervios sensitivos y motores, y fibras preganglionicas de los sistemas simpático y parasimpático), el axón o *cilindroeje* se halla rodeado de una *cubierta* de mielina, a la que se ha atribuído por algunos una función aisladora, mientras que otros la consideran como una vaina nutricia. La vaina de mielina recubre el fino axón, desde su origen en la célula hasta muy cerca de su terminación, siendo las substancias que normalmente entran en su composición de naturaleza lipoidea. La continuidad de esta cubierta de mielina se encuentra interrumpida por estrangulaciones, los llamados *nudos de Ranvier.* Limitando la capa de mielina existe una fina membrana que se denomina *neurilema.* La estructura de las fibras nerviosas *amielínicas* es muy semejante a la de las fibras mielínicas que acabamos de describir, difiriendo solamente en que aquéllas no poseen la cubierta de lipoides.

Cuál pueda ser la verdadera estructura del cilindroeje es asunto que lleva consigo un gran número de incógnitas, ya que es muy verosímil que las neurofibrillas descritas en aquéllos, lo mismo que las descritas en el interior de las neuronas, no sean más que falsas apariencias cuyo origen quizá se encuentra en la técnica. De la observación realizada sobre los nervios de la babosa ha podido deducirse que el axón de las neuronas de estos animales es probablemente flúido, única disposición que parece compatible con los cambios de longitud que estos animales experimentan durante su reptación, ya que pueden aumentar hasta dos veces la longitud inicial de sus nervios. Por el contrario, cuando la babosa se contrae, los nervios también experimentan una retracción. El estiramiento de los nervios no va acompañado de ningún cambio fisiológico, exceptuando la velocidad de conducción a través del nervio elongado, que es mayor que la del nervio retraído; en cuanto a la excitabilidad y conductibilidad, no se modifican. Todo ello no parece compatible con el hecho de atribuir al axón una "estructura" en el sentido morfológico de la palabra y hace suponer que se encuentre en estado flúido. El citón presenta, cuando se examina con el método

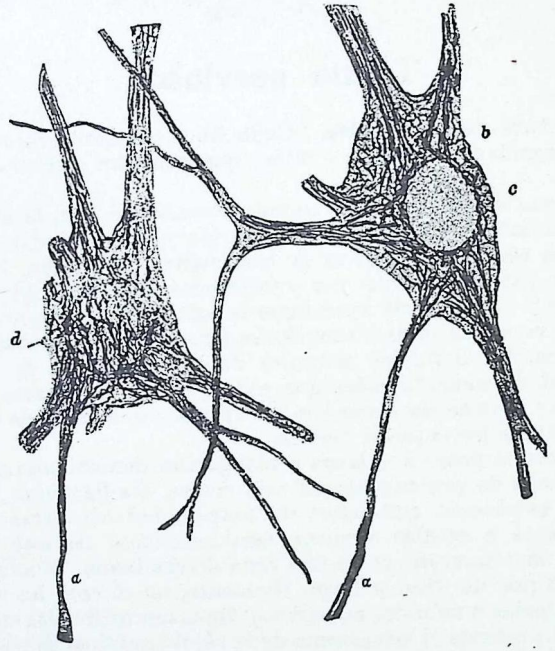


FIG. 75. Neuronas típicas con su axón. *a*, dendritas y red de neurofibrillas, *b*, *c*, *d*. (Según RAMÓN y CAJAL, *Elementos de Histología*)

de la microdisección, una consistencia gelatinosa, lo cual no es óbice para considerar el axón constituído por elementos en estado físico distinto.

Las prolongaciones de neuronas distintas pueden conectarse por medio de relaciones de contigüidad, establecidas mediante *sinapsis*. La conexión simpática se considera realizada por una especie de membrana que se denomina *membrana sináptica*, la cual, en armonía con la estructura que recientemente se ha atribuído al axón, se hallaría constituída por una especie de membrana coloidal que separaría las prolongaciones neuronales. Sólo un pequeño número de autores sostiene todavía la hipótesis de que las conexiones entre las neuronas se realizan merced al paso de las neurofibrillas desde las prolongaciones de unas neuronas a las otras. Dejando aparte el enjuiciamiento definitivo de esta cuestión, se destaca un hecho indudable, cual es la completa independencia fisiológica de las prolongaciones de las distintas neuronas en lo que afecta a los procesos nutritivos, ya que cada prolongación del citoplasma se halla bajo el control de la neurona de que procede.

Teniendo en cuenta las condiciones del proceso de excitación en el nervio, debemos tener presente que la terminación nerviosa o placa terminal constituye una formación de extraordinaria importancia en lo que hace referencia a la conducción del estímulo. Estas terminaciones nerviosas, aun hallándose en íntima conexión con el nervio, resisten mucho mejor que éste el proceso de degeneración, habiéndose podido comprobar la persistencia de dichas placas terminales en el músculo seis semanas después de haber degenerado todas las fibras nerviosas conectadas con ellas.

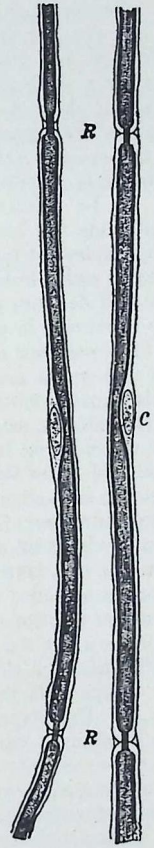


FIG. 76
Fibras nerviosas mielínicas con su núcleo *c* y nudos de RANVIER (Según RAMÓN y CAJAL, *Elementos de Histología*)

La excitación en el nervio. Para el estudio de los complejos cambios que tienen lugar en el nervio cuando se estimula, se recurre a la preparación neuromuscular del gastrocnemio de la rana. Los estímulos que se aplican sobre el nervio pueden ser muy variables en su naturaleza, y así podemos obtener el proceso de *excitación* en el nervio utilizando estímulos eléctricos, químicos, mecánicos o térmicos. La excitación se inicia localmente en el punto donde se aplica el estímulo, propagán-

dose a lo largo del nervio el *impulso* u onda de excitación hasta llegar al efecto muscular a través de la placa neuromotriz, en la cual se producen las modificaciones que han de determinar la contracción o *respuesta* del músculo.

Consideremos, en primer lugar, el proceso de excitación producido en el nervio por un estímulo eléctrico. Las características más importantes de este proceso son las siguientes: la excitación se produce siempre a nivel del cátodo al aplicar la corriente excitadora y en el ánodo al abrir el circuito de excitación; la intensidad del estímulo que produce el proceso es siempre mínima, yendo éste siempre seguido de un *período refractario,* durante el cual la aplicación de un segundo estímulo es ineficaz para dar lugar a una nueva fase de excitación.

I. La *diferencia polar* de la corriente estimulante había sido establecida por los primeros investigadores que se ocuparon de las propiedades del músculo y del nervio. Al aplicar la excitación eléctrica, el estímulo actúa sobre el cátodo, hacia el cual se desplaza una cantidad de iones positivos en el interior mismo del nervio, a la par que disminuye la excitabilidad en el ánodo, punto del cual proceden los iones positivos en movimiento. Al interrumpir la corriente se engendra una nueva excitación, esta vez a nivel del ánodo, dirigiéndose hacia aquí los iones positivos desplazados anteriormente, y siendo la región catódica asiento de una fase de depresión de la excitabilidad, que coincide con la tendencia al establecimiento de una posición de equilibrio de los iones positivos. Suponiendo por un momento que la causa de la excitación sea este movimiento de iones, para que un estímulo pueda ser eficaz será preciso que posea: (*a*) intensidad suficiente para producir un gran transporte de iones, y (*b*) duración necesaria para que esta translación iónica pueda manifestarse. Las dos condiciones enunciadas son indispensables, ya que si la duración del estímulo es inferior a un cierto mínimo la excitación no se producirá, cualquiera que sea el voltaje empleado, modo de ver que encuentra confirmación en el comportamiento de las corrientes de alta frecuencia, incapaces de producir excitación a pesar de su elevado voltaje.

II. Una experimentación cuidadosa ha puesto de manifiesto que el estímulo capaz de producir la excitación en una fibra nerviosa es constantemente *mínimo*. Por esto se ha dicho que un estímulo submínimo es incapaz de producir excitación sobre una fibra nerviosa determinada, y que aumentando la intensidad del estímulo por encima del nivel mínimo necesario, no se obtiene una respuesta mayor de la que se produce con un estímulo mínimo. Con otras palabras, la excitación en una fibra nerviosa se produce siempre con arreglo al principio del *todo* o *nada,* no existiendo grados de excitación intermedios. Estas afirmaciones parecen hallarse en contradicción con el hecho conocido, de que un estímulo intenso produce una contracción muscular mayor que la que pueda obtenerse mediante un estímulo débil; sin embargo, esta contradicción es más aparente que real, ya que la ley del "todo o nada" es aplicable al caso de la

fibra nerviosa aislada, pero no lo es al conjunto de las que constituyen un tronco nervioso. Lo que sucede es que al aplicar un estímulo fuerte sobre el nervio el número de fibras excitadas es mucho mayor que las que pueda afectar un estímulo menos intenso, pero en todo caso, cada una de las fibras excitadas se acomoda completamente a la ley del todo o nada. La mayor intensidad de la respuesta del efecto muscular cuando excitamos el nervio con estímulos fuertes, no debe ser atribuída a una mayor intensidad de la excitación, sino al hecho de entrar en juego un mayor número de fibras, cada una de las cuales muestra el mismo grado de excitación. Si recordamos, además, que cada una de estas fibras nerviosas termina en una fibra muscular y que la intensidad de la contracción del músculo depende del número de sus

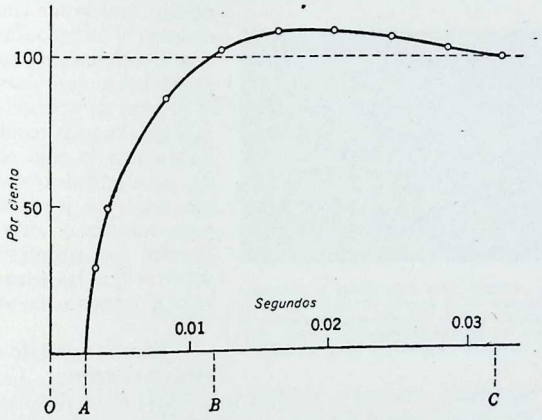


FIG. 77. Período refractario absoluto *O-A*, período refractario relativo *A-B* y fase supernormal *B-C* en el nervio. (Según ADRIAN y KEITH LUCAS)

fibras que entran en actividad, podremos deducir fácilmente que la intensidad de la respuesta contráctil dependerá del número de fibras nerviosas que sean estimuladas.

La fase de excitación va seguida de un *período refractario absoluto* y luego de un *período refractario relativo.* Durante el período refractario absoluto, cualquier estímulo, por fuerte que sea, es incapaz de producir excitación. La duración de este período es, aproximadamente, de 2 a 3 σ (el símbolo σ indica 0,001 de segundo). El período refractario relativo dura aproximadamente unas 10 σ, y un estímulo aplicado sobre el nervio durante esta fase desarrollará un efecto excitante de menor intensidad que la del estímulo normal precedente. El período refractario relativo va seguido de una *fase supernormal,* durante la cual las excitaciones darán lugar a un efecto más intenso y cuya duración es de unos 15 a 20 σ. Para que dos es-

tímulos consecutivos caigan dentro del período refractario relativo o de la fase supernormal deberán sucederse con una gran rapidez; sin embargo, si el intervalo entre los estímulos es suficientemente corto para que el segundo estímulo caiga sobre el nervio durante el período refractario absoluto producido por el primero, el segundo estímulo no ejercerá ningún efecto excitante.

De esto podemos deducir que durante el período refractario absoluto debe faltar alguna condición necesaria para que el proceso de excitación se produzca. De todo lo que hemos dicho últimamente podemos concluir que el nervio, al ser excitado, es asiento de una profunda alteración, no produciéndose la vuelta a la normalidad hasta que no haya compensado por un proceso de recuperación las modificaciones a que dió lugar el estímulo precedente. El período refractario relativo puede ser considerado como el período durante el cual el nervio se repone de las alteraciones que acompañan al proceso de excitación, y la fase supernormal como aquella durante la cual el estado de restablecimiento es todavía inestable y a propósito para reaccionar ante los estímulos con respuestas más intensas que las características del estado normal.

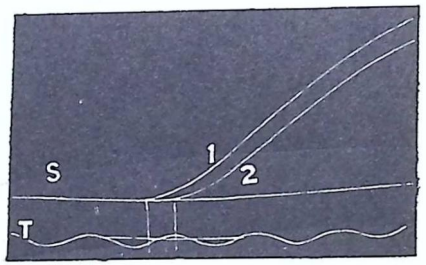


FIG. 78. Gráfica para determinar la velocidad de conducción en el nervio. *S*, momento de la estimulación; 1 y 2, sacudidas musculares; *T*, tiempo en centésimas de segundo. (Según MITCHELL, *General Physiology*, Mc.Graw-Hill)

La velocidad de conducción en el nervio. Cuando se excita un tronco nervioso se produce en el lugar estimulado una alteración que se propaga desde el punto excitado en todos sentidos. Esta alteración se denomina impulso nervioso, y su propagación a lo largo del nervio, *conducción del impulso*. El estado de excitación es un fenómeno completamente distinto al de la conducción del impulso, lo cual puede ponerse en evidencia anestesiando una zona de nervio y observando cómo el impulso no es capaz de atravesar la zona anestesiada.

El impulso nervioso se propaga a lo largo del nervio a una velocidad mensurable, siendo por esta razón completamente inadecuado el compararlo a las ondas eléctricas transmitidas por un conductor metálico, ya que el flúido eléctrico, en condiciones ideales, se propaga con la misma velocidad que la luz. La velocidad de conducción en el nervio puede ser determinada valiéndose de una preparación neuromuscular cuya porción de nervio sea lo más larga posible, y excitando primeramente en el extremo más próximo al efector muscular y luego en el extremo de nervio más alejado del músculo. Después se miden los períodos de latencia correspondientes a cada una de las sacudidas musculares obtenidas con las dos excitaciones, y la diferencia existente

entre ambos períodos de latencia, relacionada con la longitud de nervio que hubo de recorrer el impulso más alejado del efecto muscular, nos proporcionará los elementos para el cálculo de la velocidad de conducción. Si, por ejemplo, la longitud de nervio recorrida es de 3 cm. y la diferencia entre los períodos de latencia de las dos sacudidas musculares es de 0,001 de segundo, la velocidad de conducción será de 30 metros por segundo. La velocidad de conducción varía considerablemente en las distintas especies animales, como puede deducirse de las cifras que siguen:

Animal		Velocidad en metros por segundo
	Hombre	120
	Lagarto	14
	Rana	27
Peces	Sollo	0,2 a 9,0
	Torpedo	14 a 30
	Ciclóstomo	3
Moluscos.	Loligo	4
	Octopus	2
	Anodonte	0,01
	Langosta	6
Gusanos..	Sanguijuela	56
	Arenícola	126
	Bispira	606
	Aphrodite	56
	Nereis	133
	Glycera	441
	Medusa	0,14

Es imposible generalizar a base de los datos precedentes; sin embargo, parece indudable que las velocidades de conducción en los conductores nerviosos de los gusanos son realmente extraordinarias y también que los valores más bajos que se han registrado corresponden a los nervios de vertebrados inferiores y de los moluscos. Además, se ha comprobado una cierta variabilidad en la velocidad de conducción de los distintos nervios de un mismo animal, siendo mucho más veloz la transmisión de los impulsos en los nervios que terminan en músculos de contracción rápida que en aquellos otros que inervan músculos de contracción lenta. Por ejemplo: la velocidad de conducción en los nervios que afluyen a los músculos de la laringe es nueve veces mayor que la de aquellos otros que inervan músculos de contracción lenta, como los del esófago.

Lo velocidad de conducción del nervio varía con los cambios de temperatura, pudiendo llegar a reducirse por enfriamiento a un décimo de su valor normal. Los narcóticos pueden asimismo influir sobre la velocidad de conducción, no influyendo, sin embargo, la intensidad del estímulo empleado, lo que armoniza con el hecho de que cualquiera que sea la intensidad del estímulo utilizado podrá tan sólo dar lugar a impulsos de una intensidad uniforme.

Zonas de decremento. El proceso de excitación, al propagarse a la largo de un nervio normal, no sufre disminución de intensidad alguna por el mero hecho de su paso a través del nervio. Así, si estimulamos la extremidad de un nervio, daremos lugar a la producción de un impulso cuyo efecto sobre el músculo será independiente en absoluto de la longitud del nervio que haya tenido que atravesar. Ahora bien; si anestesiamos una porción de nervio con vapores de alcohol, por ejemplo, el estímulo irá disminuyendo de intensidad al pasar a través de la región narcotizada, y si ésta es suficientemente larga puede llegar a producir el bloqueo total del impulso, el cual, en estas circunstancias, no ejercerá efecto alguno sobre el músculo reactivo.

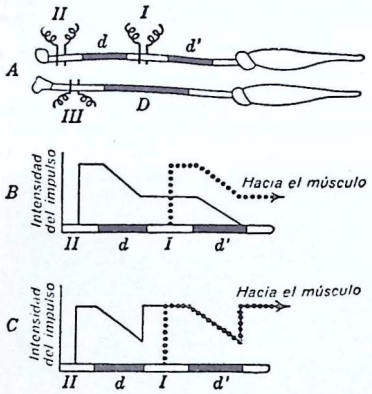


FIG. 79. Esquema de ADRIAN representando la recuperación de un impulso nervioso a su paso a través de una zona de decremento. *A*, dos preparaciones neuromusculares, la primera con dos zonas de narcosis *d* y *d'*, y la segunda con una sola zona narcotizada *D*, cuya longitud equivale a la suma de las dos zonas precedentes: *I*, *II* y *III*, electrodos de excitación. *B* representa lo que sucedería con la intensidad del impulso si al pasar por las dos regiones *d* y *d'* no recobrase su intensidad inicial en la porción normal intermedia. El impulso se extinguiría completamente antes de franquear *d'*. En *C* se esquematiza lo que realmente sucede cuando el impulso atraviesa las zonas de decremento. En la primera etapa, la magnitud del impulso sufre una disminución evidente, de la cual se recupera tan pronto como llega a la zona de nervio normal. Sólo en el caso de que la región narcotizada sea muy larga (por ejemplo, *D*) el impulso llega a extinguirse por completo.
(Según ADRIAN, *Journal of Physiology*)

Realizando experimentos de esta naturaleza se han obtenido resultados muy notables, ya que mientras determinados impulsos pueden extinguirse en su paso a través de la zona anestesiada, puede también darse el caso de no aparecer influídos en su intensidad.

No existen, como podría esperarse, estados intermedios en que se compruebe una atenuación de la intensidad de los impulsos antes de producirse la completa abolición de los mismos, ya que una zona de narcosis suficientemente larga puede provocar la extinción de un impulso y, sin embargo, otra ligeramente más corta no ejerce en apariencia ningún efecto sobre la conducción. Análogamente, una porción de nervio narcotizado de considerable longitud será más capaz de bloquear los impulsos nerviosos que la misma longitud de nervio narcotizado subdividida en dos porciones, entre las cuales hubiera interpuesta una zona de nervio intacta.

La explicación de estos interesantes resultados fué dada primero por ADRIAN en una serie de experimentos que expondremos a continuación. Utiliza dos preparaciones neuromusculares procedentes de la misma rana y produce en el nervio de una de ellas, mediante la aplicación de vapores de alcohol, una zona de narcosis de longitud conocida. En el nervio de la otra preparación establece la narcosis en dos pequeñas zonas, cada una de ellas de una longitud igual a la mitad de la porción anestesiada en el primer nervio. En estas circunstancias se aplica sobre las dos preparaciones una excitación incapaz de atravesar una determinada región de narcosis. En el caso de la preparación con una sola zona extensa de narcosis, el efector muscular quedará inmóvil, señal indudable de que el impulso nervioso ha sido bloqueado a su paso por ella; por el contrario, en la otra preparación se produce la respuesta muscular con la misma intensidad que se pone de manifiesto en las preparaciones no afectadas por zonas de narcosis.

Para explicar estos hechos se ha dado la siguiente interpretación: el impulso nervioso, a su paso a través de una zona narcotizada, sufre una disminución o *decremento* proporcional a la longitud de nervio afectada, y así la cuantía de la disminución de un impulso a su paso por una zona de unos 2 cm. será cerca del doble de la producida cuando atraviesa una zona de narcosis de 1 cm. de longitud. Pero tan pronto como el impulso ha conseguido atravesar el área narcotizada recupera su primitiva intensidad, manteniéndose en ella mientras corre a través del nervio normal.

Este modo de comportarse explica satisfactoriamente el hecho de que el paso a través de dos pequeñas zonas de narcosis ejerza un efecto considerablemente menor que el producido por una sola de longitud equivalente. Al pasar por la primera porción de nervio narcotizada, supongamos que el impulso sufra un decremento equivalente a la mitad del valor de su magnitud inicial; pero una vez franqueada aquélla, el impulso recupera su valor anterior al pasar a través de una pequeña zona de nervio normal. Alcanzando después la segunda región de narcosis sucederá lo mismo que hemos visto sucedía con la primera, es decir, el estímulo disminuye en intensidad, y, sin embargo, vuelve a su valor primitivo al llegar de nuevo a la región normal. Después de pasar el impulso a lo largo de dos pequeñas zonas de narcosis, conserva todavía su intensidad inicial. En cambio, si el mismo impulso corre a través de una longitud narcotizada equivalente, pero continua, sufre una disminución tan intensa que puede llegar hasta su completa desaparición, lo que se comprueba al no actuar el impulso sobre el músculo reactivo.

El hecho de que un estímulo recupere su intensidad inicial al pasar de una región de decremento a otra normal, indica que estas zonas de narcosis actúan sobre los estímulos produciendo ya su completa abolición o no modificándolos en absoluto. De acuerdo con esto, si la región narcotizada es lo bastante larga para abolir el impulso por completo, no se producirá la respuesta efectora consecutiva. En cambio, si la zona de narcosis es insuficiente para bloquear el estímulo por completo, al llegar el impulso a la zona normal recuperará su primitiva intensidad, y, como resultado de ésta, la respuesta del músculo será de la misma magnitud que hubiera sido al no atravesar el impulso ninguna zona de decremento.

De lo que venimos diciendo se deduce que, si el impulso inicial es intenso, será precisa una región de narcosis mayor para bloquearlo que para el caso de que sea más débil. Esta propiedad puede ser utilizada para la medición de la intensidad del impulso. La medición, con arreglo a esta técnica de los impulsos generados por estímulos de distinta intensidad, ha servido para demostrar que la intensidad de los impulsos es la misma, sea cual fuere el valor de los estímulos aplicados sobre el nervio. Lo que varía es la cantidad de fibras afectadas, pudiendo entrar en actividad todas ellas o solamente algunas. Pero, en todo caso, el impulso que pasa por cada una de las fibras posee siempre una intensidad específica con arreglo a la ley del todo o nada. No existen, pues, grados de intensidad de los impulsos, no pudiéndose hablar de "impulsos débiles" ni de "impulsos fuertes" en el nervio normal. El impulso normal tiene un valor invariable y es efectivo *in totum* o no lo es en absoluto.

Keith Lucas ideó un ejemplo que tiene una cierta analogía con lo que sucede con los impulsos nerviosos. Si consideramos lo que ocurre con un reguero de pólvora, en uno de cuyos extremos colocamos un barril de la misma substancia y en el otro una llama, veremos que ésta se propagará a lo largo del reguero de un modo semejante al de la excitación a través de un tronco nervioso. Al producirse la combustión de la pólvora el fenómeno ígneo no se propaga de un modo simultáneo en todo su trayecto, sino que, a semejanza de lo que acontece con el impulso nervioso, las modificaciones que tienen lugar pasan de unos puntos a las porciones inmediatas. Supongamos humedecida una pequeña porción del reguero de pólvora; al llegar aquí la llama, el calor liberado será en parte utilizado en evaporar el agua; la elevación de la temperatura será menor, de suerte que la transmisión del fenómeno químico se hallará condicionada por la longitud del reguero que hayamos humedecido, la cual puede llegar a interrumpir la propagación de la llama; pero una vez salvada esta dificultad, si la combustión llega a prender en la porción seca de la pólvora, la intensidad del fenómeno será la misma que al iniciarse y, llegando al barril de pólvora, provocará su explosión. Es obvio que hagamos notar la analogía existente entre las zonas de decremento del nervio y las regiones humedecidas del reguero de pólvora, así como el paralelismo que puede evidenciarse entre el reactivo del nervio, que es el músculo, y la respuesta detonante del barril de pólvora terminal en el ejemplo.

Para que la analogía sea más completa, imaginemos todavía que un hombre, situado inmediatamente detrás del punto donde se produjera la ignición del reguero, fuese reemplazando a lo largo del mismo la pólvora recientemente quemada. Para reponer la continuidad del reguero emplearía una cierta cantidad de tiempo; éste correspondería al período refractario del nervio, ya que hasta terminar la fase de reposición del nuevo reguero no será posible el paso de un segundo "impulso" hacia el efecto que representa en este símil la respuesta muscular. Si inmediatamente después de acondicionar el nuevo reguero producimos su ignición, veremos que el fenómeno tendrá lugar más fácilmente que en el reguero anterior, a causa del calentamiento producido por el paso del "impulso" precedente. Esto podría asimilarse a la "fase supernormal", dentro de la cual un segundo "impulso" pasa a lo largo del reguero mucho más fácilmente que el primero.

Tales analogías quizá se aparten demasiado de la realidad de los hechos, pero ofrecen la aproximación suficiente para comprender las principales características del impulso nervioso. Si la analogía es válida cabrá esperar por lo menos dos clases de cambios: desprendimiento de calor al paso del impulso nervioso y consumo de oxígeno con desprendimiento de anhídrido carbónico. Se ha demostrado, en efecto, que todos ests cambios tienen lugar en el nervio, así como ciertas variaciones eléctricas en un todo semejantes a las que hemos visto producía al músculo durante su actividad.

Consumo de O_2 por el nervio. La determinación del consumo de O_2 por el nervio, en estado de reposo o durante la conducción de un estímulo, debe ser determinada encerrando el nervio en un microespirómetro de suficiente sensibilidad. Esencialmente, el microespirómetro se compone de dos pequeñas cámaras de vidrio que puedan ser conectadas entre sí a través de un estrecho tubo capilar o abrirse al aire según convenga. El capilar contiene una pequeña cantidad de aceite que actúa como émbolo, moviéndose a lo largo del mismo en una dirección u otra, de acuerdo con el cambio de volumen de las cámaras. Se coloca el nervio en uno de los recipientes, se conecta luego con el otro y se van registrando los cambios de volumen en intervalos de tiempo sucesivo. Si colocamos una pequeña cantidad de HOK en la cámara que contiene el nervio, teniendo buen cuidado de que no se halle en contacto con éste, el CO_2 producido por el nervio será absorbido. En estas circunstancias, los cambios de volumen de la cámara corresponderán a la utilización de oxígeno. El aparato requiere una calibración muy cuidadosa y el mayor número de precauciones, para evitar cualquier cambio de temperatura durante el transcurso del experimento.

Las mejores mediciones del consumo de O_2 en el nervio en reposo (ciático de la rana) dan valores de 0,0013 a 0,0014 c. c. por gramo y por minuto. Cuando verificamos el consumo de O_2 durante la estimulación del mismo nervio obtenemos un aumento del gasto de O_2 de unos 0,0013 centímetros cúbicos, lo que significa un aumento equivalente al doble.

Las mediciones de CO_2 desprendido por el nervio son algo más satisfactorias que las realizadas sobre el consumo de O_2 y parecen variar de acuerdo con el tipo de nervio utilizado en los experimentos. A continuación pueden verse algunos valores entresacados de los trabajos de distintos autores sobre este asunto:

Nervio de	Estado funcional	Desprendimiento de CO_2 por gramo y por minuto	Autor
Cangrejo	Reposo	0,0033 c. c.	Tashiro
	Excitación	0,0046 c. c.	
Rana	Reposo	0,0027 c. c.	
	Excitación	0,0043 c. c.	
Lija	Reposo	0,0046 c. c.	Parker
	Excitación	0,0054 c. c.	
Rana	Reposo	0,0044 c. c.	
	Excitación	0,0050 c. c.	
	Reposo	0,0004 c. c.	Thumberg

Aunque de las cifras precedentes no es posible deducir cuál pueda ser el *cociente respiratorio del nervio,* parece bien establecido, merced a determinaciones muy escrupulosas, que durante el reposo como en la fase de actividad su valor es igual a la unidad (el cociente respiratorio se obtiene de la relación CO_2/O_2, siendo igual a la unidad cuando el consumo de O_2 es igual que el desprendimiento de CO_2). Esto parece indicar que el metabolismo del nervio se realice mejor a expensas de los hidratos de carbono que de las substancias proteicas, etc.

Ya hemos visto que el desprendimiento de CO_2 aumenta cuando el nervio conduce un estímulo, aumentando también el consumo de O_2 en semejantes condiciones. Es verdad que los aumentos observados no son muy grandes, pero, sin embargo, lo son bastante para indicar que la transmisión del impulso no podrá realizarse en ausencia absoluta de oxígeno. Se ha probado experimentalmente que a pesar de que todo nervio puede conducir impulsos sumergido en una atmósfera de nitrógeno, sobreviene la fatiga rápidamente, mientras que en una atmósfera que contenga oxígeno la preparación puede ser estimulada durante horas enteras sin que aparezca la fatiga. Todos los hechos que hemos expuesto hasta aquí, abogan en favor de que puedan ser debidos a la utilización de alguna substancia química durante el paso de los impulsos a lo largo del nervio.

Producción de calor en el nervio. Como consecuencia de la reacción química que da lugar al consumo de O_2 y a la producción de una cierta cantidad de CO_2, se produce un desprendimiento de calor. La cantidad de calor desprendida durante la conducción de los impulsos nerviosos es muy pequeña, requiriéndose técnicas especiales para su medida. A. V. Hill y sus colaboradores han perfeccionado considerablemente los métodos para efectuar estas mensuraciones.

El calor desprendido por el nervio se mide valiéndose de unas termopilas especiales de grandísima sensibilidad, construídas con alambre de constantan, parcialmente plateado, y poniendo el nervio en contacto con las soldaduras de plata-constantan. Se conecta la termopila con un galvanómetro, obteniendo de tal suerte un sistema cuya sensibilidad frente a cualquier variación térmica es realmente extraordinaria, ya que 1 mm. de desviación de la cuerda

galvanométrica corresponde a $2 . (10^{-12})$ amperios. El sistema así constituído tiene además la ventaja de poder despistar variaciones térmicas muy rápidas, por la poca inercia de sus elementos esenciales.

Utilizando una termopila de esta naturaleza han podido determinarse, con la estimulación del nervio ciático de la rana, modificaciones térmicas de unas 10^{-7} calorías. Esta pequeña cantidad de calor que acompaña al paso del impulso va seguida de un segundo desprendimiento cuando la estimulación es discontinua. El *calor diferido* se produce después de la excitación y su duración es considerable (unas 5000 veces la del calor inicial), siendo su valor alrededor de diez veces el del *calor inicial* que acompaña a la estimulación. El calor diferido equivaldrá, por lo tanto, a 10^{-5} calorías. El calor inicial cesa tan pronto como deja de actuar el estímulo, pudiendo desprenderse por este motivo en un espacio de tiempo considerablemente corto. Ahora bien; cuando el estímulo es prolongado, las cantidades de calor inicial y de calor diferido pueden interferirse, aumentando la cantidad de calor rápidamente, hasta alcanzar el máximo, y disminuyendo con gran lentitud.

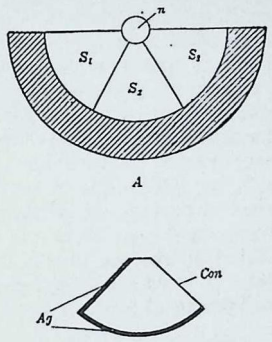


Fig. 80. Esquema de la termopila que se utiliza para medir el calor prendido por el nervio. S_1, S_2 y S_3 son tres sectores, cada uno de los cuales se halla constituído por constantan y alambre de plata, dispuestos como se indica en *B*. Éstos rodean la mitad inferior del nervio *n*. Tres sectores análogos se encuentran en contacto con la mitad superior. (Según Downing, Gerard y Hill)

En principio se considera el calor inicial como debido a la combustión en el nervio de alguna substancia durante el paso del impulso, ya que mientras éste se produce tiene lugar el desprendimiento de calor inicial; esta liberación calórica cesa tan pronto como se extingue el proceso de excitación. Desde muchos puntos de vista el calor inicial del nervio puede equipararse al que se desprende en la primera fase de la contracción muscular, dejando aparte la cantidad, que es considerablemente menor. El calor diferido se halla vinculado al proceso de recuperación del nervio, siendo superponible por su origen al producido por el músculo en circunstancias análogas. La semejanza entre los dos procesos que estamos comparando resalta más todavía si tenemos en cuenta que, con toda probabilidad, el paso del impulso no requiere la presencia de oxígeno, en tanto que, por el contrario, sí la requiere el proceso de recuperación. Tal modo de ver encuentra apoyo en el hecho de la rápida instauración de la fatiga en un nervio que, sumergido en una atmósfera privada de oxígeno, haya de conducir una serie de impulsos. También el cociente respiratorio de ambos procesos es igual a la unidad (dentro de las limitaciones que exigen los resultados relativamente satisfactorios obtenidos con la

determinación del gasto de O_2 y de la producción de CO_2), lo que pone de manifiesto, del mismo modo en los cambios químicos de que es asiento el nervio que en los que se producen en el músculo, que las substancias que se catabolizan durante la fase de actividad son muy probablemente glúcidos.

Siguiendo el criterio de que el período de recuperación del nervio se halla en íntima conexión con el desprendimiento del calor diferido, podremos deducir que tal fase del proceso abarca dentro de ella el período refractario absoluto, el período refractario relativo y la fase supernormal. Todo ello parece indicar que el nervio recupera su conductibilidad antes de que el ciclo de transformaciones químicas que acompañan a la conducción se haya completado, y además que la vuelta al estado de excitabilidad normal no es tributario de la evolución total del proceso de recuperación. En el músculo sucede algo muy análogo durante su contracción, ya que en él, el período refractario absoluto termina mucho antes de que haya transcurrido el proceso de recuperación del estímulo precedente. En el caso del músculo voluntario, es sabido que el período refractario termina antes de que se inicie el período de acortamiento. Es evidente, por lo tanto, que, lo mismo en el caso del nervio que en el del músculo, el estado de excitabilidad sobreviene mucho antes de que la "recuperación" sea completa, a juzgar por la complejidad de los cambios metabólicos que acompañan al proceso de excitación.

Variaciones eléctricas. Al hablar de la actividad muscular dijimos que toda porción de músculo al entrar en contracción se hacía electronegativa con respecto a las porciones en reposo, variaciones éstas que se podían poner en evidencia por medio del galvanómetro. De un modo análogo, el nervio, durante su excitación, es asiento de una onda de negatividad que se propaga de los puntos del nervio en actividad a las zonas de reposo.

Estas variaciones eléctricas pueden ser recogidas colocando sobre el nervio unos electrodos impolarizables e intercalando en el circuito un galvanómetro de cuerda o un electrómetro capilar. Las modificaciones obtenidas al paso de los impulsos por el nervio son idénticas a las que vimos se producían durante la contracción muscular, pudiendo referirnos a la figura 62 para la representación gráfica de ambos procesos. El modo de producirse la curva difásica de la variación eléctrica ya fué expuesto en aquella ocasión, y para leer en la figura citada bastará que el lector imagine que los puntos *P, D,* representan una porción de nervio a cuyo través pase un impulso nervioso, el cual desarrollará una variación eléctrica de las mismas características.

La variación difásica es uno de los fenómenos que acompañan invariablemente el paso de los impulsos nerviosos, por lo cual debemos considerarla en estrecha dependencia con el proceso íntimo de la excitación. Según algunos autores, cuando se produce una zona de decremento por narcosis de una porción de nervio, el decremento sufrido

por el impulso nervioso va también acompañado de una disminución de la variación eléctrica, y cuando el impulso recupera su intensidad primitiva, la corriente de acción adquiere asimismo su valor normal. Tal vez no tenga justificación pedagógica entrar en la discusión de las causas a que deban atribuirse estos fenómenos eléctricos, aunque es muy probable que reconozcan un origen semejante al de la variación eléctrica que se produce en la contracción muscular; v. gr., alteraciones en la polarización de las membranas que recubren las fibras nerviosas. Debemos recordar que en el caso del músculo la variación difásica precede a la contracción, no siendo ambos fenómenos absolutamente sincrónicos. En el nervio existe también tal asincronismo entre la conducción del impulso y la manifestación eléctrica de su actividad.

Teoría de la excitación de Nernst-Hill. Como ya hemos visto, el estado de excitación en el nervio encuentra explicación adecuada atribuyéndolo a una migración de iones en las regiones excitadas. Esta hipótesis nos da razón del porqué las corrientes muy débiles o de elevada frecuencia son incapaces de producir excitación, ya que en el primer caso el estímulo no basta para poner en movimiento una cantidad de iones suficiente, y en la segunda eventualidad el estímulo no actúa suficiente tiempo en una dirección determinada para provocar una migración iónica persistente.

A partir de este supuesto, NERNST elaboró una expresión matemática, en la que relaciona la intensidad eficaz mínima de la corriente utilizada como estímulo, *i*, con el tiempo durante el cual tiene que actuar un estímulo semejante para producir la excitación. El razonamiento fundamental que le llevó a derivar esta ecuación consiste en atribuir el proceso de la excitación a la diferencia de concentraciones iónicas a nivel de la membrana o membranas que recubren la fibra nerviosa, dependiendo el tiempo que debe actuar el estímulo de la intensidad de la corriente excitante y de la constante de difusión de los iones que intervengan. Para corrientes constantes la expresión será:

$$k = i\sqrt{t},$$

y para corrientes alternas de frecuencia *n*,

$$i = k'\sqrt{n}\,.$$

La fórmula de NERNST constituye sólo una primera aproximación, no siendo válida más que dentro de ciertos límites marcados por determinados valores de *i* y *t*. Más recientemente HILL ha deducido una expresión modificada, que explica los hechos notablemente mejor y que representada en su forma más sencilla dice:

$$i = \frac{\lambda}{1 - \mu\theta^t}$$

en la que i representa la intensidad de la corriente excitante y t su duración. La ecuación contiene, además, tres constantes, λ μ y θ. las cuales dependen de la distancia existente entre las membranas a cuyo nivel se supone tiene lugar la concentración de iones, del número de iones que acarrea una cantidad de electricidad dada, de la constante de difusión de estos mismos iones y de una constante arbitraria.

Admitida esta teoría según la cual la excitación del nervio depende de diferencias en la concentración iónica a nivel de las membranas, es oportuno que nos hagamos eco de la existencia y disposición de tales estructuras. Alguien ha lanzado la sugestión de que tales membranas se hallarían dispuestas transversalmente, cruzando el cilindroeje; sin embargo, tal modo de ver parece poco probable. Es más verosímil localizar la diferencia de concentración iónica a nivel de la membrana del cilindroeje. Si admitimos la presencia de neurofibrillas en el axón, éstas pueden suministrar superficies adicionales sobre las cuales el proceso de concentración iónica pueda tener lugar.

La teoría de la excitación que acabamos de exponer se refiere tan sólo al proceso de la excitación mismo, y no afecta en lo más mínimo a los cambios químicos que pueden tener lugar en el nervio a consecuencia de la estimulación. Tales cambios químicos se realizan probablemente después de haberse producido las diferencias de concentración iónica que supone la aceptación de la hipótesis de NERNST-HILL; del mismo modo que las transformaciones químicas que acompañan a la contracción muscular, se producen con posterioridad a los cambios de polarización de las membranas de las células musculares.

El símil del núcleo de hierro. LILLIE, al idear la "demostración del núcleo de hierro", nos ofrece un ejemplo objetivo acerca de cuál pueda ser el mecanismo de excitación y conducción en el nervio, bajo las líneas generales de la hipótesis de NERNST-HILL. Sumergiendo un fragmento de alambre de hierro en ácido nítrico concentrado primero y luego en ácido nítrico diluído, el alambre así tratado adquirirá un estado especial denominado "pasivo". Este núcleo de alambre "pasivo", colocado después en un tubo que contenga una solución de ácido nítrico comercial al 60 %, permanecerá inalterado durante un período de tiempo indefinido. Si en estas condiciones tocamos el alambre así preparado con un fragmento de hierro corriente o con una varilla de zinc se producirá una reacción local acompañada de ennegrecimiento de la superficie del metal, liberándose al mismo tiempo burbujas de gas, modificación que se transmite desde el punto estimulado a lo largo del núcleo en ambas direcciones. Después de uno o dos segundos las modificaciones provocadas por la excitación dejan de manifestarse, volviendo el alambre a su primitivo estado pasivo. Tan pronto como se produce este retorno al estado pasivo se recupera la capacidad de entrar otra vez en excitación y de propagarse ésta en la misma forma que la onda precedente; sin embargo, inmediatamente después del paso de una onda de excitación, el alambre presenta un período refractario, del

mismo tipo que el del nervio después de haber sido atravesado por un impulso. En este sistema pueden elaborarse "impulsos" mediante distintos estímulos mecánicos producidos con algún material inerte como el vidrio, habiéndose podido comprobar que son más eficaces las series de estímulos frecuentes que los estímulos aislados, poniéndose con ello en evidencia otras de las analogías que ofrece el ejemplo que nos ocupa con respecto al modo cómo reacciona el nervio.

Además, el alambre pasivo conduce los impulsos de acuerdo con el principio del "todo o nada", ya que la onda producida por la excitación o se transmite en toda su integridad o no se transmite en absoluto. En los casos que hemos considerado hasta ahora, los estímulos son de naturaleza química o mecánica, pero para estudiar los efectos que sobre un tal sistema ejercen los estímulos eléctricos, bastará la siguiente ligera modificación: se colocan dos alambres de hierro pasivo situados paralelamente en un tubo que contenga ácido nítrico al 60 %, conectándolos con un elemento de 2 voltios; al cerrar el circuito, el alambre catódico es estimulado, sin que el anódico presente el

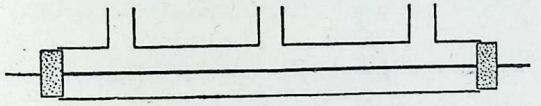


FIG. 81. Esquema del dispositivo para la demostración del núcleo de hierro. El alambre de hierro indicado por la línea gruesa se halla rodeado por el ácido nítrico contenido en el tubo. Las aberturas de la parte superior permiten hacer llegar al alambre las excitaciones

menor cambio. Finalmente, la relación entre la intensidad de la corriente estimulante i y la duración necesaria para producir una respuesta se acomoda también a las expresiones $k = i\sqrt{t}$ para las corrientes constantes, e $i = k'\sqrt{n}$ para las corrientes alternas.

Por las observaciones antedichas parece muy lógico suponer una estrechísima semejanza entre la transmisión de los "impulsos" por el alambre hecho pasivo y la transmisión del impulso nervioso. En el experimento de LILLIE, la causa del impulso debe ser atribuída a una alteración local de la fina cutícula que separa el núcleo de hierro del ácido nítrico circundante. Cualquier alteración local de la película que recubre el alambre originará una diferencia de potencial en este punto con respecto a las porciones adyacentes de la cutícula, que será responsable del establecimiento de una corriente local que pasará, por una parte, desde una zona de la cutícula a las regiones vecinas a través del ácido nítrico, y, por la otra, a través del núcleo de hierro. Estos cambios en la constitución de la película superficial, asociados a una redistribución de iones, han hecho suponer que en el nervio tendría lugar una movilización de iones al paso de los impulsos. Si esto fuera así, la propagación del impulso nervioso consistiría en series de polarizaciones y despolarizaciones alternadas de la membrana super-

ficial que rodea las fibras nerviosas. El impulso partiría de una pequeña porción de nervio a más bajo potencial que la porción inmediata, y esta diferencia electromotriz engendraría una corriente local que, a su vez, estimulando la región inmediata del nervio y despolarizando su membrana, sería la responsable de una nueva variación local, y así sucesivamente. El impulso pasaría de esta suerte a lo largo del nervio, interesando pequeñas porciones que se sucederían rápidamente unas a otras.

Pero a pesar de lo atractiva que resulta una concepción de esta naturaleza, no puede resistir el análisis crítico cuando se la examina a la luz de datos cuantitativos. Si admitimos que la superficie de las fibrillas nerviosas se halla cubierta por una fina película, en la cual puede producirse una reacción química o una redistribución de iones, podemos calcular el calor desprendido por una reacción de este tipo. El calor desprendido en la neutralización de 1 gramo molécula de ácido por 1 gramo molécula de álcali es de 13 000 calorías y el

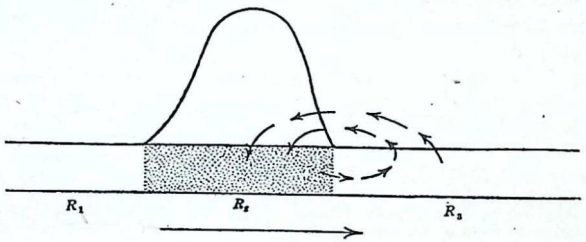


FIG. 82. Paso de la corriente a través del hierro "pasivo". El impulso sigue la dirección desde R_1 a R_2. La porción R_2 varía de potencial con respecto a la porción R_3. La dirección de la corriente engendrada localmente es la indicada por las flechitas. (Según LILLIE)

calor de oxidación de una molécula gramo de ácido láctico equivale a 144 000 calorías. Sin embargo, el calor que desprende el nervio, referido a la molécula gramo de la substancia que constituye la hipotética película superficial, se ha determinado experimentalmente y es sólo de 0,3 de caloría como máximo. La diferencia es suficientemente grande para llegar a concluir que la analogía entre los fenómenos que se producen en el experimento del hierro pasivo y la de aquellos que tienen lugar en los nervios, sólo puede ser sostenida a base de una limitadísima propagación del proceso que acompaña a los impulsos a nivel de la superficie de las fibras nerviosas, cosa que dista mucho de haber sido demostrada.

Inhibición. En muchas ocasiones, la estimulación de un nervio produce en los órganos efectores, músculo, glándula, etc., un efecto depresor y aun la cesación completa de su actividad en lugar de un incremento de la misma. El efecto así obtenido se conoce con el nombre de *inhibición*, y los nervios cuya estimulación desencadena semejantes acciones se denominan *nervios inhibidores*. Los nervios

inhibidores se distribuyen principalmente por tres clases de tejido: el músculo de fibra lisa, el músculo cardíaco y sobre las glándulas. A continuación ofrecemos unos ejemplos característicos.

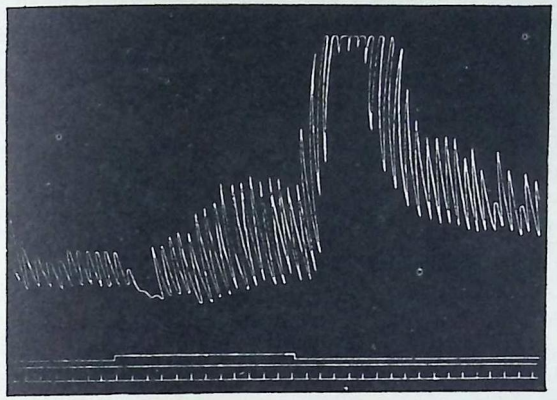


FIG. 83. Influencia de la estimulación del nervio vago sobre la musculatura intestinal. La excitación se produce durante el período indicado por la señal. En el trazado puede apreciarse un gran aumento de tono. (Según BAYLISS y STARLING, *Journal of Physiology*)

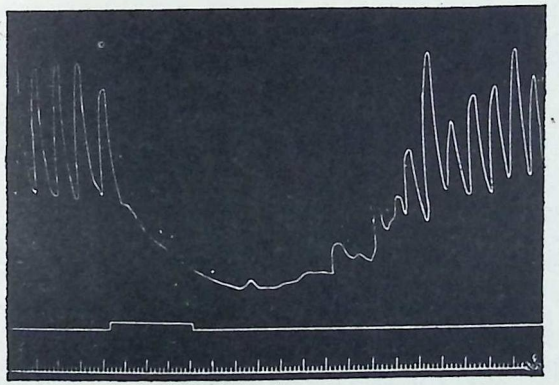


FIG. 84. Influencia de la excitación de los nervios simpáticos sobre la musculatura del intestino. El período de excitación está indicado por la señal. Se produce una parálisis de los movimientos intestinales y una disminución del tono. (Según BAYLISS Y STARLING, *Journal of Physiology*)

I. Los músculos involuntarios del intestino se hallan bajo la influencia de dos series de influjos nerviosos, una de ellas derivada del sistema nervioso simpático y la otra de los nervios vagos (sistema nervioso parasimpático). La estimulación de los nervios vagos produce

aumento del tono de la musculatura intestinal, así como de la intensidad de las contracciones de las fibras musculares; por el contrario, la estimulación de las fibras nerviosas de origen simpático da lugar a una disminución del tono y a la abolición de las contracciones normales. Como vemos, los nervios simpáticos ejercen sobre la musculatura intestinal una marcada acción inhibidora, la cual es en absoluto independiente de la naturaleza del estímulo que actúa sobre ellos, ya que obtendremos idénticos efectos si estimulamos las terminaciones nerviosas mediante la inyección de adrenalina (substancia activa segregada por la médula suprarrenal) que al aplicar estímulos eléctricos sobre el tronco nervioso. En el caso particular de la acción de estos nervios sobre los músculos esfinterianos del intestino los efectos son inversos, y aquí la excitación del simpático producirá contracción, mientras que la del vago será una acción inhibidora.

II. El fenómeno de inhibición puede ponerse de manifiesto con toda claridad en el mecanismo nervioso que regula la actividad del músculo "tónico" que mantiene juntas las valvas del *Pecten*. Sobre este músculo actúan dos nervios procedentes de puntos simétricos y opuestos del animal. La estimulación del nervio situado a la izquierda produce la contracción del músculo tónico y, por lo tanto, las valvas se mantendrán cerradas; la estimulación del nervio situado a la derecha producirá relajación, pudiendo en estas circunstancias abrir fácilmente las valvas.

III. El corazón, lo mismo que el intestino, recibe filetes nerviosos de dos distintas procedencias, simpáticos y parasimpáticos. La excitación de los que proceden del sistema simpático produce aceleración de los latidos cardíacos, mientras que la estimulación de los filetes parasimpáticos, que llegan al corazón a través de los nervios vagos, disminuye la frecuencia, llegando a producir el paro de los latidos cardíacos. Por lo tanto, los vagos son los nervios inhibidores del corazón.

IV. Se ha dicho que ciertas glándulas poseen, entre las fibras que las inervan, algunas cuya estimulación ejerce un efecto inhibitorio de la actividad glandular. Sin embargo, la demostración de la realidad de su existencia no ha sido todavía establecida de un modo satisfactorio.

V. Un excelente ejemplo de esta clase de influencias nos lo suministra el estudio del mecanismo nervioso que interviene en la regulación del tono de las arteriolas. Existen aquí dos tipos de nervios distintos: nervios simpáticos o *vasoconstrictores*, cuya estimulación aumenta el tono de la musculatura lisa de los vasos, y nervios parasimpáticos o *vasodilatadores*, los cuales, al ser estimulados, producen una relajación de aquélla. Ambas series de fibras se hallan contenidas en los nervios sensitivos que inervan la piel, llegando con las fibras sensitivas hasta los órganos terminales de la piel y suministrando la doble inervación a las arteriolas de la región de la cual proceden las fibras sensitivas. La existencia de estas dos clases de fibras en el mismo tronco nervioso puede dar lugar por su excitación a la producción de efectos vasoconstrictores o vasodilatadores. Los estímulos fuertes afectan principalmente las fibras vasoconstrictoras, mientras que los estímulos débiles influyen sobre las vasodilatadoras.

En cada uno de estos casos es evidente que el efecto inhibidor se produce por una acción directa sobre las células afectadas. En el músculo de enganche de los moluscos, por ejemplo, no existe la menor duda de que, desprovisto como está de toda célula nerviosa, las acciones que hemos mencionado se realizan directamente. Volviendo de nuevo al caso del músculo de fibra lisa del intestino, las contracciones se inician en las mismas fibras musculares y, por lo tanto, una paralización de su actividad motora producida por excitaciones sobre las fibras simpáticas debe ser atribuída a una acción directa sobre las fibras musculares. Algo análogo podríamos decir respecto a la acción inhibidora del vago sobre el músculo cardíaco, ya que mientras persiste esta influencia, toda excitación llevada directamente sobre el miocardio resulta ineficaz. El mecanismo íntimo del proceso inhibitorio no se conoce todavía y permanecerá probablemente desconocido mientras no sepamos a qué atenernos de un modo cierto respecto al mecanismo de la excitación. Todo hace suponer que ambos procesos se hallen relacionados entre sí muy estrechamente, y si el proceso de excitación es debido, en último término, a variaciones de la concentración iónica a nivel de las membranas celulares, el de inhibición podría consistir en el establecimiento de condiciones que evitasen que dicha variación iónica pudiera producirse, o que con respecto a dichas hipotéticas membranas se produjera un reparto de iones totalmente distinto.

El sistema nervioso sináptico. La modalidad más sencilla de sistema nervioso que se conoce es la que presentan los tentáculos de ciertas anémonas de mar, que consta de una célula nerviosa con su axón y su arborización terminal en las fibras musculares. El impulso generado en la célula es transmitido por el corto trecho de fibra y se convierte en respuesta en los elementos musculares de los tentáculos. En los celenterios la disposición de los elementos es más complicada, hallándose las células nerviosas conectadas entre sí por una compleja red de fibras, a través de la cual pasan los impulsos hacia las células epiteliomusculares de los tentáculos. En esta red de fibras no existen vías de conducción especiales, pudiendo difundirse los estímulos en todas direcciones. La naturaleza de los impulsos nerviosos en este sistema es, probablemente, la misma que la de cualquier otro, siendo su velocidad de transmisión a través de la red nerviosa relativamente baja (0,14 metros por segundo). Una vez puesto el impulso en movimiento pasa a través de la red nerviosa, en forma de una onda, produciendo una respuesta general de todos los efectores musculares. Al mismo tiempo, el retículo nervioso es capaz de conducir impulsos desde la superficie del animal hacia las células nerviosas, como puede ponerse de manifiesto estimulando distintos puntos de la superficie del cuerpo. Por lo tanto, la misma fibra nerviosa puede actuar como *eferente*,

conduciendo los impulsos desde las células nerviosas, y como *aferente,* transportándolas hacia ellas. En las medusas, la disposición de sus estructuras nerviosas es algo más compleja, ya que disponen de *órganos receptores* especiales, los cuales reciben los estímulos del

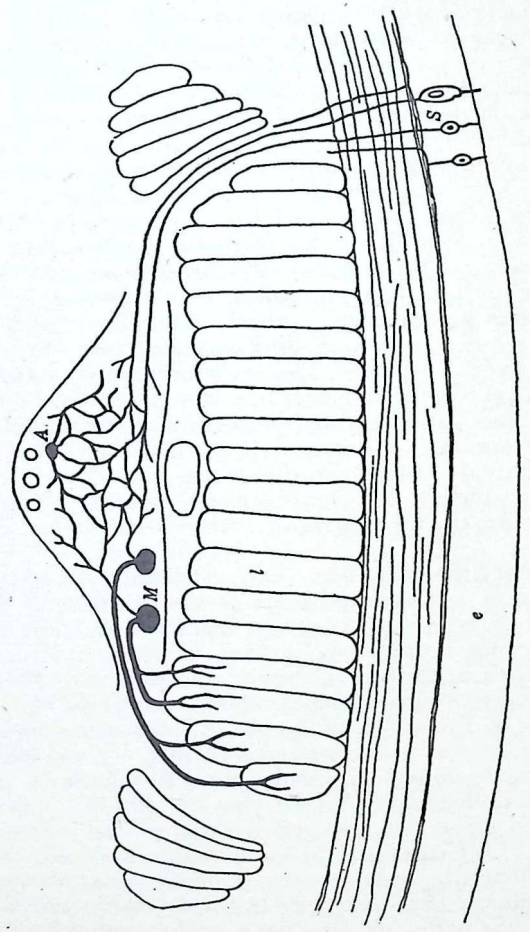


FIG. 85
Esquema del sistema nervioso de la lombriz de tierra.
S, neuroma sensitiva del tegumento externo; *M*, neuroma motora que inerva los músculos longitudinales *l*; *A*, neuroma de asociación. (Según BAYLISS, *Principles of General Physiology*)

medio que rodea al animal. Los impulsos aferentes que van hacia las células nerviosas generan en éstas nuevos impulsos que se dirigen a los órganos efectores.

En los gusanos, las células nerviosas se unen formando series de ganglios metaméricos que reunidos constituyen la cadena nerviosa

ventral, cuya extremidad cefálica presenta un ganglio mayor, que se considera ordinariamente como la representación del ganglio cerebral o "cerebro". Los impulsos emitidos por los receptores cutáneos son conducidos a los ganglios de las metámeras correspondientes por intermedio de nervios aferentes, y en los ganglios pueden elaborarse impulsos que serán llevados a los efectos musculares por los nervios eferentes de la misma metámera. Esta disposición constituye la modalidad más sencilla de un *arco reflejo,* en el cual la excitación sería acarreada por las fibras sensitivas desde los órganos receptores a las células nerviosas ganglionares y desde éstas se iniciará el impulso celulífugo que, siguiendo por las fibras eferentes, habrá de terminar en un *órgano efector,* músculo o glándula. Además de estos arcos reflejos, que podríamos denominar metaméricos y que tienen lugar dentro de los elementos constituyentes de cada segmento, pueden producirse reflejos más complicados por intermedio de *fibras de asociación,* las cuales, conectando metámeras sucesivas, procuran la difusión de los influjos nerviosos.

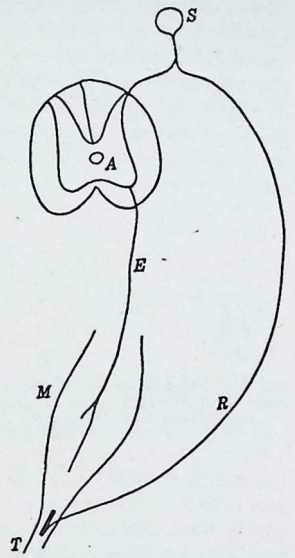


FIG. 86. Vías nerviosas del reflejo rotuliano. *T*, tendón rotuliano; *R*, fibra aferente; *S*, ganglio espinal; *A*, medula espinal; *E*, fibra eferente; *M*, músculo.

En los arcos reflejos del sistema nervioso de los cefalópodos existen una o más sinapsis intercaladas entre las vías por las que son transmitidos los impulsos. Los receptores cutáneos emiten excitaciones que, pasando a través de fibras aferentes, van a parar alrededor de las células de un ganglio estrellado por intermedio de sus arborizaciones terminales. En las células del ganglio se generan nuevos impulsos que, llevados por fibras eferentes a los músculos, dejarán cerrado el reflejo. Sin embargo, aquí no existirá una relación de continuidad entre el órgano receptor y el efector situados en los extremos del arco reflejo, sino que el impulso será transmitido desde las terminaciones arborescentes de las fibras sensitivas a las células ganglionares por medio de una sinapsis que representa una conexión funcional entre la discontinuidad anatómica de estos elementos.

En todos los animales superiores, el sistema nervioso sináptico se halla constituído esencialmente con arreglo al mismo sencillo esquema que acabo de indicar y que reemplaza a las redes neurofibrilares de los invertebrados. En el hombre, uno de los reflejos más sencillos es, probablemente, el *reflejo rotuliano,* que puede provocarse

por la estimulación del tendón rotuliano y en el cual entran en contracción los extensores de la articulación de la rodilla. El tendón rotuliano contiene, como todos los músculos voluntarios y sus tendones, unos órganos receptores que se denominan *husos musculares*, los cuales se hallan constituídos por grupos de pequeñas células en relación con fibras sensitivas destinadas a conducir las excitaciones procedentes de estos órganos hacia la médula espinal. Las fibras aferentes penetran en la médula por las raíces posteriores y establecen sinapsis con las células del asta anterior, desde las cuales parten las fibras eferentes que llevan la excitación a los músculos extensores de la rodilla. Así considerado este reflejo estaría constituído por dos neuronas y una sinapsis, siendo el más sencillo de los reflejos que cabe imaginar. La percusión del tendón da lugar a un impulso cuyo punto de partida son los elementos constituyentes de los husos musculares, y a través de fibras aferentes asciende a la médula, desde donde será reflejado siguiendo fibras eferentes hasta las terminaciones de los músculos extensores que entran en contracción.

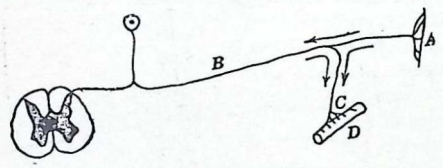


FIG. 87. Esquema de un reflejo axónico. *A*, zona cutánea; *B*, fibra nerviosa; *C*, colateral; *D*, vaso sanguíneo. (Según BAINBRIDGE y MENZIES, *Elementos de Fisiología*)

Por otra parte, no existe límite preciso en lo que se refiere a la extensión de las posibles conexiones sinápticas de cualquier arco reflejo, y así, por ejemplo, una fibra procedente de un huso muscular, al penetrar en la médula, puede no pasar directamente a la célula del asta anterior, sino a través de una neurona intermediaria, la cual se hallaría en relación sináptica con la fibra aferente, por una parte, y por otra, con la célula del asta anterior. Este reflejo contendrá ahora tres neuronas y dos sinapsis y tendrá una mayor complejidad. En muchos reflejos el número de sinapsis puede ser de cinco o seis, y en los reflejos en que interviene la corteza el número de conexiones sinápticas puede ser considerablemente mayor.

En los animales de sistema nervioso sináptico existe una modalidad de respuesta nerviosa que se aparta de la regla general: es el llamado *reflejo axónico*. Estimulando ciertas zonas cutáneas por la aplicación local de un emplasto de mostaza se produce un enrojecimiento debido a la vasodilatación en el área afectada. Esta vasodilatación no es de naturaleza refleja, *strictu sensu*, ya que puede observarse después de haber sido cortada toda conexión nerviosa con el sistema nervioso central. Este fenómeno se explica de la siguiente forma: los nervios que llevan las excitaciones de los receptores cutáneos, al ser estimulados por la acción revulsiva de la mostaza, llevarían la excitación en sentido aferente, pero una parte del impulso se derivaría otra vez hacia la periferia por las colaterales que de

estos nervios van a terminar en los vasos sanguíneos de la región afectada, provocando la vasodilatación local.

La sinapsis. La conexión entre las neuronas se considera realizada por una especie de *membrana sináptica* a través de la cual pasan los impulsos desde una fibra nerviosa a otra sin existir entre ellas continuidad anatómica. Esta independencia estructural viene demostrada por el hecho de que al interrumpir la continuidad de una de las fibras que entran en relación sináptica se produce la degeneración del fragmento de fibra distal (con respecto a la célula de que procede), sin que el proceso degenerativo alcance a la otra fibra nerviosa con la que se hallaba conectada. Por otra parte, la continuidad fisiológica es evidente, ya que es fácil comprobar el paso de los estímulos de unas fibras nerviosas a las otras. La membrana sináptica presenta cuatro propiedades principales.

I. La membrana sináptica deja pasar los impulsos en una sola dirección. Si excitamos el cabo central de un nervio eferente, podremos comprobar que en el nervio aferente que le corresponde no se produce ninguna variación eléctrica. Por el contrario, estimulando el cabo central del mismo nervio aferente después de un corto intervalo, comprobaremos en el nervio eferente homólogo una variación eléctrica. Estos hechos se atribuyen al funcionamiento de la membrana sináptica, la cual deja pasar los impulsos desde las fibras aferentes a las eferentes, pero no en sentido contrario.

II. Todos los impulsos no poseen la suficiente intensidad para poder atravesar la membrana sináptica, que se comporta como una región de decremento no muy distinta a las producidas artificialmente en el nervio por medio de narcóticos. Pero a pesar de la disminución que experimenta el estímulo a su paso por la sinapsis, si logra franquearla, la intensidad del estímulo vuelve a su valor primitivo.

III. A su paso por la sinapsis los impulsos experimentan algún retardo, cuya duración puede medirse en la siguiente forma: se recurre a un reflejo como el reflejo rotuliano, que se verifica con la intervención de una sola sinapsis. Una vez el tendón patelar ha sido estimulado, podemos observar: *a*) el momento en que aparece la variación eléctrica en el nervio aferente; *b*) cuando se manifiesta el mismo fenómeno en el nervio eferente; *c*) cuando llega la diferencia de potencial a la extremidad del nervio más próximo al músculo, y *d*) el momento de producirse la respuesta contráctil del músculo. Una vez determinado el tiempo que tarda el impulso en recorrer las porciones aferentes y eferentes del arco reflejo y el tiempo transcurrido en la elaboración del impulso por los receptores, así como el que empleen las fibras musculares para responder, sumando todos estos valores y restando la suma del total de tiempo empleado para que se produzca la respuesta, obtendremos la fracción correspondiente al paso del impulso a través de la sinapsis. Para el reflejo rotuliano el valor de esta fracción es de unas 2 σ. En el *reflejo* flexor el tiempo de sinapsis

es de unas 4 σ, y teniendo que producirse este reflejo a través de dos sinapsis, podremos calcular alrededor de 2 σ el tiempo necesario para franquear cada conexión sináptica (1).

IV. Existen motivos para localizar la fatiga que se produce consecutivamente a la repetición de un reflejo en la membrana sináptica, en lugar de considerarla adscrita a los troncos nerviosos o a las neuronas mismas, ya que las manifestaciones de agotamiento de las células nerviosas se producen algún tiempo después de haberse manifestado la fatiga.

Las modificaciones de que es asiento la membrana sináptica no se conocen aún con certeza. La principal dificultad para encontrar una explicación satisfactoria de aquel proceso deriva de considerar el proceso de excitación como debido a una movilización de iones, ya que en este caso sería preciso admitir que los iones sólo pueden movilizarse en una dirección. Desde el punto de vista físico-químico puede señalarse algún ejemplo de membranas que presentan tales características. Y así podemos ver que ciertas membranas que contienen a uno de sus lados una substancia en solución constituída por un anión de gran tamaño y por un pequeño catión, son permeables solamente para este último. Sin embargo, es poco probable que pueda compararse un sistema físico tan sencillo a lo que sucede en la membrana sináptica.

"Descargas". Si comparamos un trazado mecánico de la contracción de los músculos afectados por el reflejo rotuliano con el resultante de una sacudida muscular sencilla, podremos constatar algunas diferencias. La más importante consiste en la duración del fenómeno contráctil, que es mucho mayor en el caso de la respuesta refleja que en el de la sacudida simple, así como las variaciones eléctricas que acompañan a la contracción, que son más sostenidas en el primer caso que en el segundo.

La explicación de esta ostensible diferencia estriba en que la contracción producida en el reflejo rotuliano dista mucho de ser una simple sacudida. Para poner en claro este fenómeno, recordemos que el músculo se halla inervado por un gran número de fibras nerviosas, cada una de las cuales se halla en relación con una fibra muscular de las que intervienen en el fenómeno contráctil. Esta disposición requiere que un cierto número de impulsos pueda pasar a lo largo del nervio simultáneamente si todas las fibras musculares han de contraerse al mismo tiempo. Este grupo de impulsos simultáneos que ha de emitir la médula espinal y que ha de alcanzar al mismo tiempo un gran número de fibras musculares, se denomina *descarga sincrónica,* en virtud de la analogía que presenta el fenómeno con el fuego por descargas de un pelotón de soldados. La descarga sincrónica dará lugar a un trazado característico, ya que recibiendo todas las

(1) σ = 0,001 de segundo.

fibras musculares el impulso en el mismo momento, se contraerán a la vez, dando lugar a una rápida elevación del estilete y a un trazado como el indicado en la figura 88, *A*. Una vez ha tenido lugar la contracción se produce la relajación simultánea en todas las fibras, viéndose una rápida caída del estilete, que da un trazado en *ángulo* agudo, volviendo luego a la línea de reposo. La desviación eléctrica que se manifiesta en la descarga sincrónica es muy rápida y termina antes que el fenómeno mecánico se haya iniciado.

Vamos a considerar a continuación lo que sucede cuando la descarga es *asincrónica,* es decir, cuando los impulsos son liberados desde la médula con alguna intermitencia y provocan la contracción de unas fibras musculares antes que otras. La elevación del estilete inscriptor será en este caso un poco menos rápida y de menor altura, ya que el comienzo del fenómeno contráctil se va cumpliendo aquí por etapas sucesivas. La duración del trazado es algo mayor por

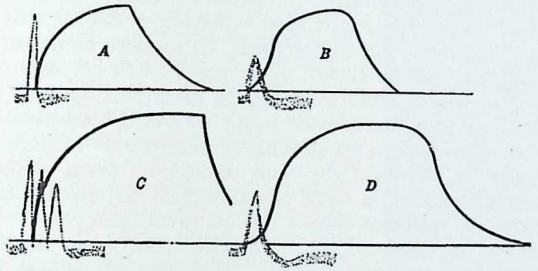


FIG. 88

no contraerse todas las fibras musculares al mismo tiempo, y mientras en un grupo de ellas se inicia la relajación, las otras se encuentran todavía contraídas. La tensión desarrollada en esta forma de contracción será menor que la manifestada en la descarga sincrónica. Cuando se inicia la fase de relajación, el "ángulo" que presenta aquí el trazado será menos agudo, pues mientras un cierto número de fibras se relajan, otras se encontrarán todavía en fase de actividad contráctil. Además, la desviación eléctrica será más sostenida, ya que contribuyendo a ella todas las fibras musculares, la contracción escalonada de las mismas alargará considerablemente el tiempo en que se produzca, si lo comparamos con lo que sucede en la descarga sincrónica (fig. 88, *B*).

Consideremos ahora lo que acontece cuando actúan varias descargas sincrónicas. Aquí, el comienzo del trazado será el mismo del caso *A*, ya que depende de la primera descarga sincrónica, y el final de la curva también será igual, ya que se encuentra condicionado por la última de las descargas que actúen. En cuanto a la duración del fenómeno mecánico será tributaria del número de descargas que cai-

gan sobre los efectores. Las desviaciones eléctricas se corresponden numéricamente con las descargas (fig. 88, *C*), suponiendo que éstas sean sincrónicas en absoluto, pero, sin embargo, en la práctica puede no ser un criterio de gran exactitud el fundado en esta repetición de las variaciones eléctricas, ya que un ligerísimo cambio de fase puede ser suficiente para suprimir o enmascarar alguna de ellas.

Finalmente, otro de los casos posibles es el de las descargas asincrónicas repetidas (fig. 88, *D*). El trazado mecánico mostrará en estas circunstancias el comienzo lento característico de las descargas asincrónicas, así como la ausencia del ángulo al principio de la relajación, típico del asincronismo. El período de contracción es prolongado y las variaciones eléctricas no indican la existencia de varias descargas de impulsos, ya que la variación producida por la primera enmascara la producida por la segunda, y así sucesivamente.

El análisis de la gráfica correspondiente a la respuesta mecánica del reflejo rotuliano demuestra que aquélla pertenece al último de los tipos que hemos descrito y que la contracción es debida a la emisión de cuatro a ocho descargas asincrónicas. El número de descargas será determinado teniendo en cuenta la duración de la respuesta sobre la base de que las descargas se producen en intervalos de unas 6 a 10 σ. Por lo tanto, un sencillo estímulo puede provocar respuestas reflejas que, como la que afecta a los músculos extensores de la rodilla, deben ser consideradas más bien como un tétanos de corta duración que como una simple sacudida. Esta modalidad de respuesta refleja es la más sencilla que podemos obtener en los mamíferos.

Las descargas asincrónicas nunca han podido ser determinadas experimentalmente por estimulación de los nervios motores, ya que en todas las condiciones experimentales que se han imaginado, los impulsos pasan a lo largo de cada fibra nerviosa al mismo tiempo. Las descargas asincrónicas son verosímilmente atribuíbles a modificaciones peculiares de los elementos constituyentes del sistema nervioso central sobre los estímulos a su paso por ellos, siendo además muy dudoso que en las respuestas reflejas tengan cabida descargas de tipo sincrónico.

Inervación recíproca. Si ejercemos una fuerte presión sobre la planta del pie de un perro "espinal" tendrá lugar la extensión refleja de la pata, ofreciéndonos esta respuesta un excelente ejemplo de *inervación recíproca*. En efecto, al mismo tiempo que se produce la extensión de la pata, gracias a la contracción de los músculos extensores del muslo, disminuye el tono normal de los flexores. La respuesta refleja consta, pues, de dos acciones simultáneas y antagonistas, contracción de los extensores y relajación de los flexores, músculos que, como es sabido, poseen inervación recíproca. Otro ejemplo sencillo de inervación recíproca es el que nos ofrecen los músculos del ojo, y así el movimiento provocado en el globo ocular por la contracción del músculo recto externo se acompaña de la relajación del músculo recto interno.

El proceso de relajación de los músculos antagonistas es un proceso activo, consistente en la disminución o abolición total del tono de los músculos o grupos musculares de acción opuesta a los que se contraen. Hemos dicho que la contracción de un músculo determinado lleva consigo aparejada una influencia inhibitriz sobre los músculos antagonistas, pero esta acción inhibidora no reconoce el mismo mecanismo de las que hemos tenido ocasión de examinar hasta aquí, es decir, que el proceso se produzca en el mismo órgano efector, sino que, por el contrario, aquél se encuentra bajo el control inmediato de las células nerviosas. Veamos lo que sucede, por ejemplo, con el *reflejo del rascado* en el perro: éste consiste en una serie de movimientos alternativos de extensión y de flexión de la pata con un ritmo de unos cuatro por segundo, que pueden ser puestos en marcha estimulando la piel en la región torácica. En esta serie de movimientos necesariamente entran en juego influencias inhibidoras que afectan de modo alternativo unos grupos musculares u otros, según sea el grupo que se halle en contracción. Esta regulación corre a cargo de las células nerviosas de la médula espinal, como puede evidenciarse estudiando la acción que la estricnina produce sobre estas células. En efecto, la inyección de una cierta cantidad de estricnina disminuye la capacidad de producir esta alternancia y la aplicación del estímulo da lugar en estas condiciones a una contracción simultánea de flexores y de extensores.

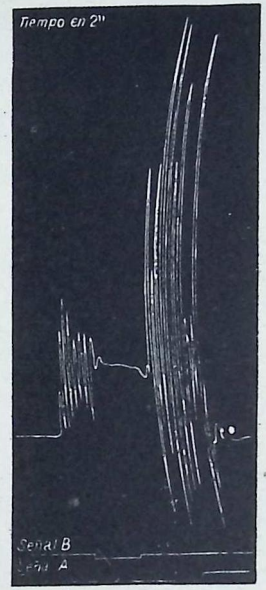


FIG. 89. Reflejo del rascado, inhibido temporalmente por la estimulación simultánea del pie. En *A*, estimulación del área cutánea que provoca la respuesta refleja del rascado. La señal *B* indica el momento de la excitación inhibidora. (Según STARLING, *Principles of Phisiology*, J. A. Churchill)

Aun el examen más somero de estos mecanismos de correlación motora nos señala la enorme importancia que revisten los procesos de inervación recíproca, ya que en todo momento se ponen en actividad grupos musculares de acción opuesta. Durante la marcha, por ejemplo, cuando los extensores de la rodilla se contraen, los flexores se relajan, y en el momento que los flexores entran en contracción se relajan los extensores. Si ambos grupos musculares se contrajeran al mismo tiempo, las articulaciones de la rodilla y cadera quedarían inmóviles, y si fueran los músculos extensores sin que entraran en relajación activa los flexores, el movimiento de la articulación sería más dificultoso.

Naturaleza de la inhibición. El fenómeno de la inhibición, como ya hemos visto, puede presentarse bajo dos modalidades distintas: en la primera de ellas, la inhibición de los órganos efectores (glándula o músculo) puede ser provocada por la estimulación de nervios inhibidores especiales. La otra modalidad de inhibición es la producida cuando al estimular un nervio anulamos una acción refleja puesta en marcha por la excitación de algún otro nervio. Ahora bien; cualquiera que sea la diferencia o analogía fundamental que exista entre estas dos formas de inhibición, hemos de señalar una diferencia manifiesta entre ambos procesos, ya que en el primero de los casos considerados el fenómeno puede tener lugar aun cuando el nervio y el efector de que se trate se hallen separados del sistema nervioso central, mientras que en el segundo la conexión con los centros nerviosos es indispensable para que se produzca. Ya hemos dicho que la primera modalidad de inhibición puede ser explicada probablemente por un mecanismo muy semejante al de la excitación de un órgano efector; con respecto al proceso íntimo de la inhibición central se han realizado varios intentos para armonizar las hipótesis ideadas en el proceso de inhibición periférica, siendo las dos hipótesis de más importancia las que vamos a exponer a continuación.

La primera de estas teorías es la llamada *teoría de la interferencia*, y en ella se recurre para explicar el fenómeno de la inhibición a propiedades bien conocidas en los nervios periféricos. Pero antes convendrá que recordemos las condiciones en que queda el nervio después de haber sido atravesado por un impulso. En efecto, según vimos, el nervio pasa por distintos estadios; en primer lugar, por un período muy corto de inexcitabilidad, el llamado período refractario absoluto; éste va seguido de un período refractario relativo, considerablemente más largo, y luego de una fase supernormal. Los impulsos consecutivos, si alcanzan al nervio en el período refractario absoluto, quedan anulados; si llegan en el período refractario relativo la conducción se realiza, pero disminuyendo considerablemente la intensidad del impulso; por el contrario, si caen sobre el nervio durante la fase supernormal, la conducción se efectúa reforzando la intensidad de aquéllos. Teniendo en cuenta lo que llevamos dicho, consideremos ahora el significado que puede darse del esquema de la figura 91: supongamos que X sea la vía nerviosa principal que va hacia el músculo A, y que la vía nerviosa Y lo sea del músculo B. Entre las dos vías antes indicadas existen otras dos secundarias que relacionan X con Y e Y con X. Imaginemos, además, que los músculos A y B se hallen sujetos en su funcionamiento al mecanismo de la inervación recíproca, y que las vías del esquema representen las conexiones que se realizan a nivel de la médula espinal.

Supongamos la vía nerviosa X dividida en varias porciones, xx_1, x_1x_2, x_2x_3, x_3x_4, y la Y de un modo análogo. Una de estas porciones puede representar una sinapsis, por ejemplo, x_1x_2. Supongamos también que la porción xx_1 tenga un período refractario tal, que

puedan pasar a su través 100 estímulos por segundo, sin que ninguno de ellos sea modificado en su intensidad, por no caer en el período

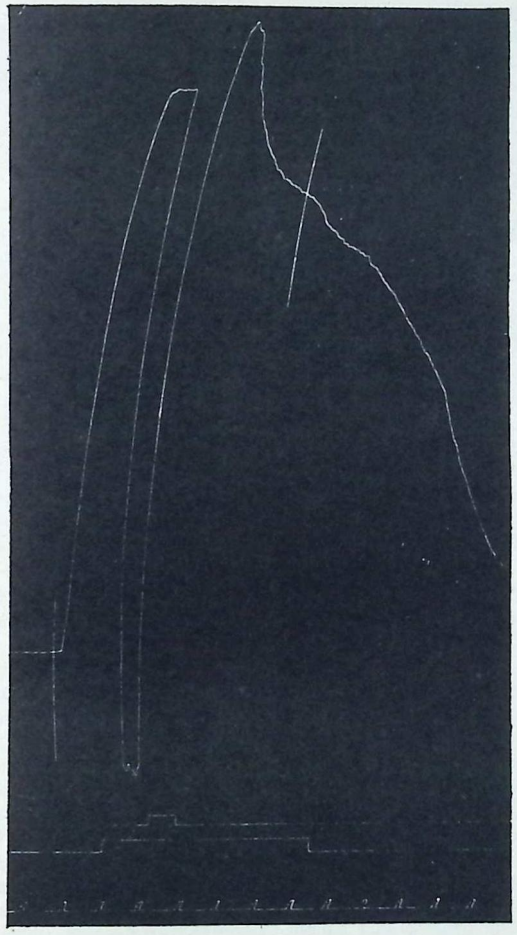


FIG. 90. Inhibición refleja del tono consecutivo a la descerebración. Señal inferior, aumento de tono por estimulación del pie del lado opuesto. Señal superior, estimulación del pie del mismo lado que da lugar a una completa inhibición del tono producido por la primera. (Según SHERRINGTON, *Proceedings of the Royal Society of London)*

refractario o en el supernormal del estímulo precedente. Si consideramos que la porción x_1x_2 posee un período refractario cuya duración

es tal que produzca el bloqueo alternativo de los estímulos que lleguen a ella, tendremos que sólo dejará pasar 50 impulsos por segundo a la porción x_2x_3. Mientras tanto, Y podrá enviar por intermedio de su anastomosis 100 impulsos por segundo a la porción x_2x_3, frente a los 50 que podrán llegar de X. Imaginemos todavía que la duración del período refractario de la zona x_2x_3 sea tal, que los impulsos que lleguen a ella con una frecuencia de 50 por segundo, la encuentren sucesivamente en la fase supernormal debida al estímulo inmediato anterior; mientras que los de frecuencia igual a 100 estímulos por segundo, cayendo sobre la zona citada durante el período refractario producido por el estímulo que le precede inmediatamente, serán bloqueados en su totalidad. Como resultado de lo que venimos diciendo, tendremos que el ritmo de impulsos eficaz para atravesar la zona x_2x_3 y llegar a producir la contracción del músculo A habrá de ser el de 50 por segundo, y, por lo tanto, el ritmo de impulsos procedente de Y será ineficaz en absoluto, de lo que fácilmente se deduce que el músculo A entrará en contracción sólo por los influjos procedentes de X. Además, si podemos atribuir el estado de ligera contracción tónica en que se encuentra el músculo A a una serie de impulsos que lleguen a x_2 por alguna otra vía nerviosa, veremos que éstos, a su vez, serán bloqueados al intervenir sobre la misma zona los impulsos que proceden de Y. Por lo tanto, los impulsos procedentes de Y, cuya nula eficacia para activar el efecto muscular A ya hemos visto, ejercerán una acción inhibidora sobre el tono, de la que resultará la relajación del músculo A.

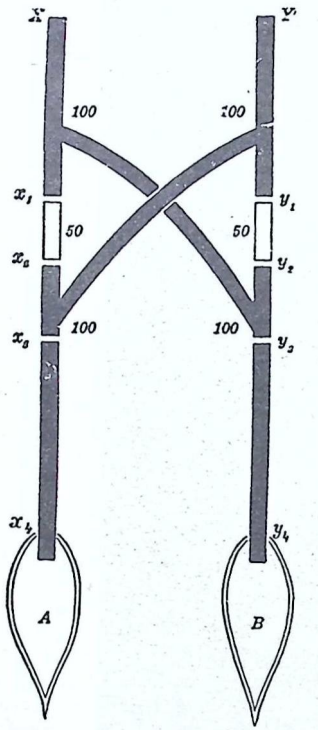


FIG. 91. Esquema de KEITH LUCAS para explicar la inhibición mediante la teoría de la interferencia

La teoría de la interferencia ha experimentado en estos últimos tiempos un auge considerable, y aunque el sencillo esquema que acabamos de indicar sólo puede proporcionarnos una débil idea de la misma, las aportaciones experimentales que le sirven de apoyo son más numerosas y satisfactorias cada día. No obstante, ha podido comprobarse que este modo de enfocar el problema de la inhibición no es aplicable a ciertas formas de inhibición de los centros nerviosos. La otra teoría que ha sido objeto de particular atención es la denominada *teoría química de la inhibición*. Esta hipótesis considera el proceso inhibitorio debido a la liberación de substancias inhibdoras específicas, que evitarían continuase el proceso de excitación de la célula nerviosa, quizá por una especie de combinación química con otras substancias excitadoras localizadas en el interior de las células. Este modo de ver tropieza con la objeción de que la substancia inhibidora es completamente hipotética. En relación con lo que venimos diciendo, no estará de más que recordemos que la estimulación de los nervios vagos del corazón de la rana da lugar a la producción de una substancia que, incorporándose al líquido de perfusión, puede reproducir los efectos típicos de la inhibición vagal, al ponerse en contacto con otro corazón testigo.

La vía común final. Siendo limitado el número de efectores musculares, es evidente que los mismos grupos de músculos habrán de ser utilizados en la realización de acciones reflejas completamente distintas. Y así, por ejemplo, los flexores y extensores del muslo entrarán en juego en el reflejo del rascado, que, como es sabido, puede ponerse en marcha estimulando adecuadamente los flancos del animal y también por el reflejo de extensión que se provoca haciendo actuar una fuerte presión sobre la planta del pie. En los dos casos, las vías nerviosas son distintas; sin embargo, los efectores musculares son idénticos para ambos reflejos. Por esta razón, a las vías nerviosas que, partiendo de los centros, van directamente a los efectores se las conoce con el nombre de *vía común final* o vía efectora común, pues aunque las vías aferentes en los dos reflejos considerados son distintas, la porción motora es común a ambos.

Es importante hacer notar que, en un tiempo dado, la vía efectora común sólo puede ser recorrida por una serie de impulsos determinada y, por lo tanto, si varios influjos nerviosos sensitivos entran al mismo tiempo en relación con los elementos nerviosos de la vía efectora, sólo uno de ellos podrá ser reflejado. Si provocamos, por ejemplo, el reflejo del rascado estimulando la piel de la pared torácica y aplicamos después un estímulo fuerte sobre la planta del pie, se establecerá el reflejo extensor, quedando abolido el reflejo del rascado Análogamente, si una vez establecido el reflejo extensor aplicamos un fuerte estímulo sobre la pared torácica, éste será sustituído por el reflejo del rascado. Cuando las magnitudes de los dos estímulos son desiguales, siempre prevalecerá el estímulo más fuerte, pero cuando los dos estímulos simultáneos sean aproximadamente de la misma intensidad, predominará la respuesta más útil para el animal. Se denomina *reflejo prepotente* al que se realiza a expensas de la anulación de otro.

Facilitación. Se ha observado que un estímulo incapaz de provocar por sí solo una respuesta refleja, si se repite un número suficiente de veces intercalando pequeñas interrupciones entre ellos, acaba por determinar el reflejo. El reflejo del rascado nos ofrece un

ejemplo típico de tal comportamiento, ya que un estímulo aislado, sea cual fuere su intensidad, es incapaz de provocar la respuesta, pudiendo, sin embargo, obtenerla fácilmente cuando hacemos actuar separados por cortos intervalos estímulos débiles y frecuentes. En estas circunstancias, los primeros estímulos ineficaces parece que aumentan la permeabilidad del arco reflejo para los estímulos sucesivos, que llevan a recorrerlo en toda su integridad. Este proceso se conoce con el nombre de *facilitación*.

Del mismo modo que la reactividad del arco reflejo se aumenta con los primeros estímulos de una serie, ha sido dable observar que la repetición de un reflejo acrecienta la respuesta para los estímulos siguientes. Por lo tanto, un acto reflejo tendrá lugar tanto más fácilmente cuantas más veces se haya realizado con antelación. De esta suerte, movimientos delicados y complejos que requieren habilidad (como los que realizamos con las manos y con los dedos al escribir o tocar el piano) llegan a ser, gracias a su frecuente repetición, actos automáticos que pueden realizarse sin la intervención de esfuerzos conscientes.

Reflejos condicionados. De acuerdo con las recientes experiencias de PAVLOV y sus discípulos, los reflejos pueden dividirse en dos grandes grupos: uno de ellos, constituído por aquellos reflejos innatos que presenta todo animal y que son relativamente independientes de las condiciones que lo rodean; el otro grupo está constituído por los reflejos que se desarrollan en el animal como resultado de anteriores experiencias. Los que constituyen el primer grupo se denominan *reflejos incondicionados* y son del tipo del reflejo extensor, del reflejo rotuliano, reflejo del rascado, de los reflejos de micción y defecación, todos ellos sencillos y que se producen con idénticas características en los animales de la misma especie. En el segundo grupo se reunen todos aquellos reflejos que no son innatos y que puede ser totalmente distintos aun en los individuos de la misma especie; a estos reflejos adquiridos se les conoce con la denominación de *reflejos condicionados*.

En términos generales, para obtener un reflejo condicionado se estimula un órgano receptor (vista, oído, piel, etc.) al mismo tiempo que producimos la estimulación refleja de un efector determinado, por ejemplo, un músculo o grupo de músculos. Supongamos que al mismo tiempo que se provoca el reflejo rotuliano, percutiendo sobre el tendón patelar (excitación refleja de un órgan efector), hacemos sonar una campana (estimulación del oído, órgano receptor). En los primeros ensayos el reflejo rotuliano sólo podrá ser provocado por la estimulación del tendón patelar, pero si la estimulación simultánea se realiza con suficiente asiduidad, llega a establecerse el reflejo condicionado, y entonces los extensores de la rodilla pueden contraerse por el influjo del sonido de la campana, sin que el tendón patelar haya de ser estimulado. El mismo resultado puede obtenerse recurriendo a otros efectores, y así, si provocamos la secreción de saliva mediante la administración de alimentos sabrosos y simultáneamente encendemos una luz cercana al animal de experiencia, al cabo de un cierto número de ensayos la aparición del estímulo lumínico, sin la presentación del alimento, bastará para que las glándulas salivales entren en actividad. Tomemos otro ejemplo todavía: si tocamos una campana simultáneamente con la introducción de alimentos en una jaula que contenga ratones, éstos, al cabo de unas cuantas veces de repetir la experiencia, correrán hacia el lugar por donde solían recibir alimento, en el momento de llegar a sus oídos el estímulo *condicionado* del toque de campana.

Pueden establecerse reflejos condicionados en animales a base de los efectores más diversos, y así, entre otros, han sido utilizados el corazón, los movimientos de los párpados, el sistema vasomotor, la contracción de distintos músculos voluntarios, las secreciones glandulares y los procesos de micción y defecación. La facilidad con que estos distintos reflejos pueden llegar a instaurarse depende de factores distintos; sin embargo, de un modo general es tributaria de la intensidad de los estímulos empleados simultáneamente. Además, la intensidad y persistencia del reflejo, una vez establecido, también dependen, dentro de límites muy amplios, de la intensidad del estímulo utilizado para su producción. Los estímulos débiles producen reflejos condicionados con menos rapidez que los fuertes, y una vez establecidos presentan una duración mucho menor.

El interés que lleva consigo el estudio de los reflejos condicionados es considerable. En primer lugar, porque del análisis de tales reflejos podemos deducir datos de gran interés sobre ciertos actos que se derivan del estudio de la conducta animal, ya que muchas reacciones en apariencia "inteligentes" que presentan los animales (y también el hombre) son, sin duda alguna, reflejos condicionados de mayor o menor complejidad. Un ejemplo corriente es el que nos ofrecen los llamados "caballos calculadores" que se exhiben en los circos, los cuales parecen capaces de realizar operaciones aritméticas sencillas, como sumas y restas, dando los resultados mediante el correspondiente número de golpes de pezuña contra el suelo. Esta aparente habilidad para el "cálculo" no es otra cosa que el resultado de establecer series de reflejos condicionados mediante un largo entrenamiento. En segundo término, la capacidad para establecer reflejos condicionados experimentalmente puede servirnos como un medio excelente para analizar de un modo objetivo ciertas modalidades de la sensación. Supongamos, por ejemplo, que deseamos conocer los efectos que sobre la percepción del tono de los sonidos puede ejercer la destrucción de la porción superior del caracol en el perro. Primero se establecen una serie de reflejos condicionados mediante la emisión de sonidos de distinto número de vibraciones, y así estabelceremos que una nota de 10 000 vibraciones por segundo sea el estímulo condicionado de un movimiento muscular y que otra de 11 000 produzca otro movimiento muscular diferente, y así sucesi-

vamente para otros sonidos. Una vez conseguido esto, se procede a la destrucción de una porción determinada del caracol. Después de la operación se repiten los estímulos condicionados establecidos con anterioridad, pudiendo verificar entonces que aquellos sonidos cuya recepción corría a cargo de la porción de órgano de CORTI destruída, dejaban de producir el reflejo en absoluto, mientras que aquellos otros que eran percibidos por la porción intacta, continuaban produciendo con toda normalidad la excitación condicionada de los reflejos preestablecidos. Con esta técnica es posible determinar las porciones del órgano de CORTI capaces de percibir las notas de distinto tono. Y también ha sido posible establecer que el perro puede percibir notas de una altura de 120 000 vibraciones por segundo. Con una técnica análoga, pero utilizando el receptor visual, se ha puesto también de manifiesto que los perros y gatos no pueden distinguir entre diferentes luces coloreadas de la misma intensidad.

En los animales inferiores es posible determinar reflejos condicionados; así, por ejemplo, la babosa, que normalmente puede reptar a lo largo de una pared en la dirección de su extremidad anterior o posterior, de un modo completamente indiferente, rectificando muchas veces la dirección de sus movimientos llega a producirse de un modo condicionado que el animal siga siempre la misma dirección. La misma estrella de mar puede ser entrenada a orientar sus movimientos en una dirección determinada dentro del tanque donde la tengamos.

Centros nerviosos. Aunque la mayor parte del sistema nervioso central se halla constituído por células y fibras dispuestas en forma de poder relacionar las distintas regiones de que consta, se acostumbra a designar determinadas localizaciones funcionales con el nombre de *centros*. En la circunvolución frontal ascendente se ha localizado el centro motor, ya que la estimulación de esta zona provoca movimientos musculares a distancia, mientras que su extirpación va seguida de parálisis. De un modo análogo, la zona situada por detrás de la cisura de ROLANDO se conoce con la denominación de área sensitiva, ya que su extirpación provoca la anestesia de distintas zonas de la piel.

Las más importantes localizaciones que se han establecido en el hombre son las siguientes:

I. El *área motora*, que se halla situada en el área o circunvolución precentral del cerebro; los elementos celulares que la constituyen su mayor parte tienen una forma piramidal; estas células envían sus axones a las porciones profundas de los hemisferios cerebrales para constituir el *haz piramidal*. Las fibras constituyentes de estos haces pasan a través de los pedúnculos cerebrales, protuberancia, bulbo y médula espinal, terminando alrededor de las células del asta anterior de la médula del lado opuesto al de su origen. Desde estas células del asta anterior parten las fibras motoras que inervan los músculos voluntarios.

La estimulación de la porción superior del área motora interesa las fibras piramidales que actúan sobre la motilidad de los miembros inferiores, mientras que las porciones más bajas de esta circunvolución tienen bajo su control los movimientos de la cabeza y del cuello. La porción intermediaria afecta las fibras piramidales que influyen sobre los movimientos de los músculos del tronco y de las extremidades superiores. De esta suerte podemos comprobar que la disposición de los distintos centros del área motora que intervienen en la regulación de los movimientos de la pierna, tronco, brazos y cabeza siguen la dirección de arriba hacia abajo. Bien entendido que cuando excitamos cualquier zona del área motriz de un lado obtendremos la respuesta

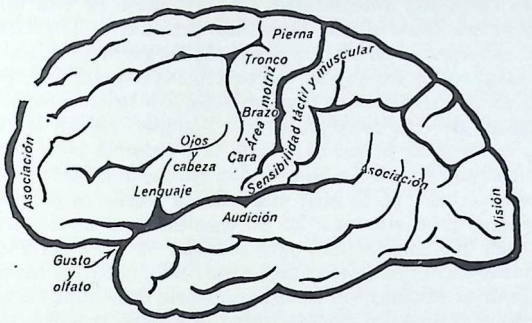


FIG. 92. Esquema de las principales localizaciones cerebrales. (Según BAINBRIDGE y MENZIES, *Elementos de Fisiología*)

contráctil de los músculos interesados del lado opuesto, ya que las fibras que constituyen el haz piramidal se cruzan en la porción inferior del bulbo.

II. El *área sensitiva* reside en la circunvolución postcentral. La disposición de los centros sensitivos es simétrica a la de los centros motores; es decir, que a la porción más baja de la circunvolución afluyen las fibras sensitivas procedentes de la cabeza, terminando en la parte superior las procedentes de la extremidad inferior. La extirpación de estas zonas determina la anestesia cutánea del territorio que corresponde al área lesionada del lado opuesto al de la lesión.

III. Las sensaciones visuales son conducidas a la porción posterior del lóbulo occipital. La exéresis de la corteza occipital de un lado produce pérdida de la capacidad de percibir los objetos situados en la mitad opuesta del campo visual de ambos ojos (hemianopsia bilateral homónima). La extirpación de toda la corteza del lóbulo occipital determina la ceguera completa. Estimulando el *área visual* se producen destellos luminosos (fosgenos) y movimientos de los globos oculares.

IV. *El centro auditivo* se halla localizado en la circunvolución temporal superior, acarreando la extirpación de la corteza de esta región sordera parcial de ambos oídos. Las características de este trastorno de la audición se comprenden muy bien teniendo en cuenta que las conexiones de cada uno de los receptores con los centros corticales de la audición se verifica por intermedio de haces de fibras cruzadas y en parte directas.

V. Las localizaciones correspondientes a las sensaciones del *gusto* y del *olfato* se consideran situadas en la circunvolución del hipocampo en la superficie inferior de los hemisferios cerebrales.

VI. En las circunvoluciones *supramarginal* y *angular* se hallan situados los centros de la memoria visual, del lenguaje escrito y de los objetos vistos con anterioridad. La extirpación de esta zona, que se encuentra más desarrollada en muchas personas en el lado izquierdo que en el derecho, ocasiona un estado de "ceguera psíquica", en la cual las imágenes de los objetos son percibidas con claridad, pero, sin embargo, no son reconocidas o recordadas. Un sujeto afecto de una lesión extensa de esta zona puede, por ejemplo, ver un lápiz y, sin embargo, no recordar lo que es cuando se le presenta poco después de haberle explicado su uso. La destrucción parcial de esta región acarrea la "ceguera verbal", en la cual una palabra escrita es percibida con toda claridad, pero sin recordar su significado o no reconocer las letras, o bien una incapacidad para recordar las palabras o letras de algún idioma extranjero previamente conocido, mientras las palabras o letras de otros idiomas son comprendidas sin dificultad. En estas circunvoluciones residen un cierto número de otros centros de la memoria.

Además de las localizaciones que hemos citados en la corteza cerebral, existen gran número de otros centros a los cuales se les asigna funciones especiales. Como ejemplos de tales localizaciones recordaremos el *centro respiratorio,* integrado por grupos de elementos nerviosos situados en el bulbo, y el cual tiene a su cargo la regulación de los movimientos respiratorios; el *centro vasomotor,* situado muy próximamente al anterior y que ejerce el control del mecanismo de vasoconstricción y vasodilatación de los vasos sanguíneos; el *centro cardiomoderador,* en el núcleo de origen del vago, etc. En los ganglios grises de la base del cerebro y en la misma substancia gris de la médula espinal existen también una serie de centros secundarios que intervienen en la regulación de distintos reflejos (por ejemplo, el centro de la micción, situado en los segmentos lumbares de la médula). En princio, toda agrupación de células nerviosas puede constituir un "centro", aunque esta percepción de la palabra no sea la usada con mayor frecuencia.

En los mamíferos, si bien la disposición de los centros cerebrales puede diferir algo de la que hemos visto es característica del hombre, en general se acomoda con la salvedad apuntada a lo que acabamos da esquematizar. En los vertebrados inferiores y en las aves, la extirpación completa del cerebro anterior no va seguida de la muerte del

animal, sino de la pérdida de todos los movimientos voluntarios. Las aves descerebradas conservan su posición normal, a menos de que procuremos su desplazamiento mediante excitaciones adecuadas, pudiendo permanecer días enteros en la misma posición; son incapaces de alimentarse por sí mismas y conservan la capacidad de volar como en estado normal. Análogos resultados han sido obtenidos en las ranas descerebradas, las cuales conservan la integridad de la mayor parte de reflejos, pero son incapaces para la motilidad voluntaria y para la captación espontánea de sus alimentos. En cuanto a los perros y gatos se ha podido demostrar que pueden extirparse zonas muy amplias de sus hemisferios cerebrales sin que presenten más modificaciones apreciables que las dependientes de la motilidad voluntaria; habiéndose llegado a suprimir en otros animales porciones del área motora del cerebro sin que se produjesen más que parálisis pasajeras, exceptuando a ciertos antropoides superiores y al hombre, en los que las amplias lesiones de esta zona producen trastornos definitivos. No cabe explicar esta recuperación de la motilidad voluntaria por un proceso de regeneración en el área lesionada o por la acción vicariante de otras zonas de la corteza, sino más bien por el desplazamiento de alguna de las funciones que previamente existían en la corteza motora a los ganglios basales del cerebro.

El sistema nervioso autónomo. Los reflejos que afectan a las vísceras, o *reflejos viscerales,* se hallan principalmente bajo el control de un sistema de formaciones que constituyen el *sistema nervioso autónomo.* Este sistema puede definirse diciendo que se halla constituído por unidades que a su vez constan de tres partes distintas: una *fibra preganglionica,* un *ganglio* y una *fibra postganglionica.* Se divide en dos grupos de formaciones, el *sistema nervioso parasimpático* y el *sistema nervioso simpático,* el primero constituído por algunos nervios craneales y sacro, y el simpático emergiendo de la médula espinal desde las metámeras correspondientes al primer nervio torácico hasta la del tercer lumbar.

La diferencia fundamental entre el sistema parasimpático y el simpático consiste en la longitud de las fibras preganglionicas que suministran a cada una de sus unidades. En las formaciones parasimpáticas, la fibra preganglionica es larga y la postganglionica corta, mientras que en las formaciones simpáticas sucede todo lo contrario: las fibras preganglionicas son cortas y las postganglionicas largas. En los dos sistema las fibras preganglionicas son siempre mielínicas y las postganglionicas amielínicas. La fibra preganglionica establece sinapsis a nivel de las células nerviosas contenidas en el ganglio desde el cual parten las fibras postganglionicas, y en el caso de que encuentre más de un ganglio en su trayecto puede considerarse como regla general que la sinapsis se efectuará en el que se encuentre más distante.

El *sistema parasimpático* cefálico se halla constituído por los pares craneales tercero, séptimo y décimo.

a) Las fibras parasimpáticas del tercer nervio craneal (motor ocular común) emergen de la calota peduncular y se dirigen al *ganglio ciliar*. Aquí se verifica la sinapsis con las células que dan las fibras postgangliónicas que terminan en los músculos que regulan la acomodación y la abertura pupilar.

b) Las fibras autónomas del facial se destacan al pasar el séptimo nervio por el oído medio, y siguiendo trayectos distintos van a terminar a vasos de la cabeza, del cuello y de las glándulas salivales. Los ganglios que reciben las fibras constituyentes de este nervio son muy numerosos, siendo los más importantes el *ganglio ótico* (las fibras de la glándula parótida), el *ganglio submaxilar* (las fibras de la glándula sublingual) y el *ganglio de Langley* (las fibras de la glándula submaxilar). Desde estos ganglios parten cortas fibras postgangliónicas que van a terminar sobre las mismas células glan-

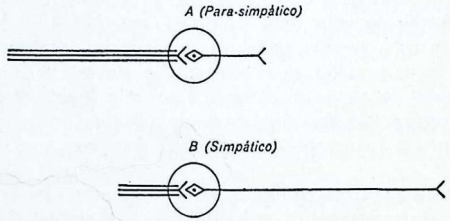


FIG. 93. Esquema que muestra la diferencia entre el sistema nervioso simpático y parasimpático. En *A*, la fibra preganglionica es larga y la postganglionica corta (parasimpático). En *B*, la fibra preganglionica es corta y la postganglionica larga (simpático).

dulares. La excitación de las fibras parasimpáticas produce la actividad secretora de las glándulas que inervan.

c) Las fibras parasimpáticas del décimo nervio (vago) se hallan extensamente repartidas por las vísceras torácicas y abdominales, terminando en pequeños ganglios generalmente situados en el espesor de las paredes de las vísceras que inerva. Desde estos pequeños ganglios parten fibras gangliónicas muy cortas, que van a terminar directamente a los órganos efectores (glándulas o músculos). En términos generales podemos decir que la excitación de las fibras parasimpáticas distribuídas por estas regiones produce contracción de la musculatura intestinal y vasodilatación de las arteriolas; sin embargo, es posible señalar algunas excepciones a esta regla.

El sistema parasimpático de los órganos pélvicos se origina del segundo y tercer pares sacros de la médula y constituye los *nervios erectores*, que envían sus impulsos sobre los músculos de los órganos pélvicos y sobre los vasos sanguíneo de la pelvis.

Las fibras preganglionicas del sistema nervioso simpático proceden de las células que constituyen la *columna de Clarke*, un grupo de células situadas en la porción lateral de la substancia gris de la

médula. Desde el nivel del primer nervio torácico, hasta el que ocupa el tercer nervio lumbar de cada segmento medular, las fibras pregan-

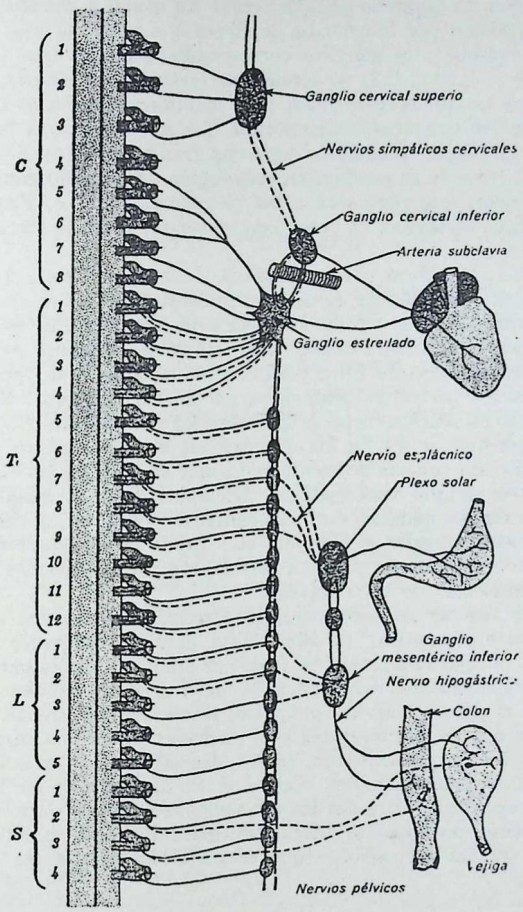


FIG. 94. Disposición esquemática de los elementos constituyentes del sistema nervioso simpático. Las fibras preganglionicas que emergen desde *T 1* y *L 3* están indicadas por líneas de trazos. Las fibras postgangliónicas, por línea continua. Las fibras preganglionicas que salen de las 2 y 3 metámeras sacras pertenecen al sistema parasimpático *(S 2* y *3)*. (Según BAINBRIDGE y MENZIES, *Elementos de Fisiología)*

gliónicas salen de la médula con las fibras que constituyen las raíces anteriores, a las que dejan a su vez para terminar en los ganglios que constituyen la llamada *cadena simpática.*

Esquemáticamente podemos imaginar que todas las metámeras espinales, desde la C. 1 a S. 4., se encuentran cada una de ellas en relación con un pequeño ganglio; entre los ganglios pueden establecerse conexiones por intermedio de fibras que pasan de unos a otros. Pero en realidad, los ganglios correspondientes a las tres primeras cervicales (C.1, C.2, C.3) se condensan formando el *ganglio cervical superior,* y los que corresponden a las metámeras cervicales restantes y a las cuatro primeras torácicas (C.4, T.4, se reunen para formar el *ganglio estrellado.* Además de estas dos grandes condensaciones ganglionares, también se produce en esta región un pequeño ganglio cervical inferior, que pertenece a las metámeras C.4 — 8. Por debajo de T.4, cada metámera se corresponde con un pequeño ganglio simpático (1).

Cuando las fibras preganglionicas, desde la metámera T.1 hasta la L.3 salen de la médula, se dirigen hacia el ganglio correspondiente al segmento de que proceden. Una vez aquí pueden seguir una de las dos vías siguientes: *a*) Pueden tener una estación celular en el ganglio, y, en este caso, la fibra postganglionica, al salir del ganglio se incorporará a las raíces posteriores del mismo segmento; siguiendo su trayecto en sentido distal actúa sobre los vasos cutáneos como nervio vasoconstrictor. *b*) La mayor parte de las fibras pasan a través del ganglio sin conectarse, yendo a formar sinapsis en las células de algún otro ganglio más distante. Ejemplos de estos ganglios más distantes son los ganglios cervicales superior e inferior, el celíaco, los mesentéricos superior e inferior, etc. Desde estos ganglios parten fibras postganglionicas y van a terminar a las formaciones glandulares y músculos de las vísceras.

Debe tenerse en cuenta que la disposición anatómica que acabamos de esquematizar es sólo válida para determinadas especies animales (siendo el animal que mejor se adapta a ella el gato), existiendo considerables variaciones de unas a otras especies. En los anfibios, el sistema nervioso simpático se encuentra bastante desarrollado, aunque en proporciones más modestas que en los animales de sangre caliente; sin embargo, en los elasmobranquios se halla reducido a unos pocos ganglios viscerales. Si descendemos en la escala filogenética y consideramos las formaciones nerviosas de los vermes, tropezaremos con grandes dificultades para distinguir en ellos cuáles puedan ser las formaciones que corresponden al sistema nervioso autónomo.

(1) Las iniciales C, T, L y S, como ya habrá supuesto el lector, hacen referencia a metámeras cervicales, torácicas, lumbares y sacras. — *N. del T.*

Capítulo X

Secreción

En los organismos vegetales y en los animales se dan tipos de secreción tan diversos que es imposible considerarlos bajo un denominador común, ni aceptar como válidos para todos ellos un conjunto de modificaciones determinado. Por esto creemos de utilidad referirnos, antes de abordar el estudio de esta función orgánica, a unos pocos ejemplos de distintos fenómenos agrupables bajo el mismo enunciado.

Por razones fáciles de comprender, los tipos de secreción que han sido objeto de un estudio detenido son la secreción de orina, la de las glándulas digestivas y la del sudor, que, como sabemos, intervienen en la eliminación de los productos catabólicos y en la elaboración de las enzimas digestivas. A éstas podemos agregar, por lo bien conocida, la secreción mucilaginosa de los anfibios, etc. En los animales inferiores obsérvanse formas del mismo proceso que son menos conocidas. Así, por ejemplo, el molusco *Dolium galea* segrega por una especie de glándula salival un jugo que contiene un 4 % de ácido sulfúrico y un 0,5 % de ácido clorhídrico, utilizando tan elevada concentración de ácido para disolver las espinas de la estrella de mar y la cubierta de los equinodermos que le sirven de nutrimento. Una secreción de ácido semejante produce el *Pleurobranchia meckelii,* no pudiendo sustraernos a la idea de asociar esta modalidad secretoria de ácido libre con la producción de ClH en el estómago del hombre. La producción de venenos como el del escorpión y el de ciertas serpientes puede considerarse también como una modalidad del proceso que nos ocupa. Ciertos cefalópodos, como la sepia, elaboran una especie de tinta que les sirve para ocultarse de sus enemigos, y muchos cefalópodos, por ejemplo, el *Ectopus,* segregan venenos paralizantes de gran eficacia.

La secreción de gas en la vejiga natatoria de los peces puede también ser considerada como una modalidad secretoria, siendo producida por un órgano especial diferenciado. Las paredes sólidas de que se rodean ciertos organismos inferiores, como las diatomeas y foraminíferos, están compuestas de un material calcáreo, considerándose debidas a un proceso de secreción, y de un modo análogo las pa-

redes de celulosa que recubren las células vegetales tienen probablemente un origen secretor. Para terminar mencionaremos la formación de seda por determinados insectos, que por el interés científico e industrial que supone ha sido objeto de atentos estudios.

Algunos autores señalan la conveniencia de distinguir entre los procesos de "secreción" y los de "excreción"; el primero comprendería aquella forma de actividad mediante la cual se produce la elaboración de alguna substancia que habría de ser utilizada ulteriormente en el organismo, y el segundo se aplicaría a la serie de procesos destinados a eliminar los productos de desecho. Según este criterio, la orina, la leche y el sudor tendrían que ser considerados como excreciones, mientras que el jugo gástrico, la saliva y la bilis constituirían secreciones propiamente dichas. Desde el punto de vista de la fisiología celular, tal distinción es innecesaria e inaceptable. El definir una función a juzgar por el destino que tengan los productos resultantes de ella, constituye un criterio ya casi abadonado en Fisiología General.

I. Secreción en general

La secreción desde el punto de vista físico. Para fijar ideas a este respecto veamos lo que sucede con un modelo "secretor" de naturaleza física. Supongamos un tubo de vidrio cuya extremidad inferior hayamos ocluído mediante un fragmento de papel pergamino o alguna otra membrana semipermeable (fig. 95). Se llena el tubo con una substancia que sea impermeable con respecto a la membrana (o relativamente impermeable, como el azúcar de caña) y se sumerge en agua, en forma que la extremidad opuesta del tubo sobresalga de la superficie de ésta. La diferencia de presión osmótica dentro y fuera del tubo dará lugar a una corriente de agua de fuera adentro que, atravesando la membrana semipermeable, irá aumentando el nivel del líquido en el interior del mismo; pero llegará un momento en que el líquido contenido en el tubo rebosará por su extremidad superior. Lo mismo ocurre si, para acercarnos más a la realidad, obstruímos el orificio superior con una membrana permeable, por ejemplo, una porción de tejido de seda. El modelo continuará "segregando" tanto tiempo como persista la diferencia de presión osmótica entre el interior y el exterior del tubo, y la "secreción" estará constituída por la substancia contenida en el tubo, diluída en agua. Las condiciones esenciales que debe reunir el modelo son las siguientes: que el tubo contenga una solución de presión osmótica más elevada que la del medio en que lo hayamos sumergido, y que la membrana de la extremidad del tubo en contacto con la solución externa (agua en este caso) sea semipermeable para las substancias del interior del tubo, mientras que la membrana de la extremidad opuesta es permeable para ellas.

Se ha descrito una disposición muy semejante en ciertos hongos (Philobus). Éstos poseen órganos secretorios, compuestos de columnas de células, los cuales segregan gotas de agua sobre la superficie exterior

na por un proceso en apariencia análogo al que hemos descrito precedentemente. En determinadas circunstancias, una forma de secreción semejante puede ser también observada en el riñón de los mamíferos.

En el modelo que acabamos de describir, aunque la "secreción" que fluye por la extremidad del tubo contiene algo del soluto existente en el tubo (azúcar, por ejemplo), la verdadera secreción es la del agua, ya que ésta deja el vaso en el cual hemos introducido el tubo, mezclándose en el interior del mismo con el soluto y liberándose de nuevo por la extremidad superior. Cualquier cantidad de soluto que acompañe a la "secreción" procederá del tubo que representa a la célula y no del vaso externo que hace las veces de corriente sanguínea. Fundado en el mismo principio podemos construir un modelo que segregue efectivamente sales procedentes de la corriente sanguínea que el vaso representa, pero en este caso será evidente que la presión osmótica de la secreción será algo más baja que la del vaso. Si consideramos ahora un tipo de proceso secretorio en el cual la presión osmótica del líquido segregado sea mucho mayor que la de la sangre (6,5 atmósferas) podremos concluir que la secreción no es producida por un sencillo proceso físico, sino que las células de la glándula secretora habrán contribuído al proceso realizando un determinado trabajo. En circunstancias normales la secreción renal posee una presión osmótica considerablemente mayor que la de la sangre, teniendo que realizar, por lo tanto, las células renales un trabajo osmótico. En el caso de secreciones del tipo de la saliva, leche y bilis, la secreción posee una presión osmótica más baja que la de la sangre, siendo susceptibles por ello de una explicación física, aunque parece establecido de un modo cierto que aquí las células de la glándula también realizan un trabajo.

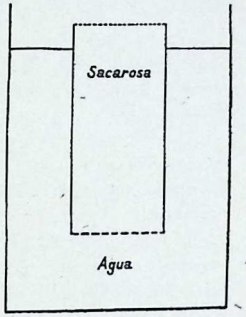


FIG. 95

El modelo a que nos hemos referido presenta además otra característica, y es: que el proceso de "secreción" que en él se produce se realiza sin que sea menester la presencia de oxígeno, o dicho de otro modo, sin ir acompañado de cambios metabólicos. Asimismo, la cantidad de calor que se desprende es insignificante. Por el contrario, en un proceso que haga precisa la actividad de las células, observaremos un aumento considerable del consumo de oxígeno al mismo tiempo que el desprendimiento de una cierta cantidad de calor.

Para poder calificar como proceso estrictamente físico a un proceso secretor determinado será necesario que reúna las dos condiciones siguientes: I, que la secreción tenga un nivel osmótico más bajo que el del plasma sanguíneo, y II, que la actividad secretora no requiera un incremento del consumo de oxígeno u otra manifestación metabólica concomitante. Tal sucede, en determinadas circunstancias,

con la secreción de orina en el riñón de los mamíferos; la ingestión de grandes cantidades de agua o la inyección de fuertes cantidades de soluciones salinas en la sangre producen una orina cuya presión osmótica es mucho más baja que la del plasma sanguíneo, por la gran eliminación de agua. Esta mayor eliminación de agua por la glándula renal no va acompañada de un incremento en el consumo de oxígeno sobre el nivel normal, pudiendo equipararse la secreción en estas condiciones a un proceso de naturaleza física, aunque un fenómeno de tales características constituye más bien una excepción.

Pero no debemos olvidar, cuando enjuiciemos este sencillo mecanismo secretor, que la sangre, con una determinada presión, tiende a dejar pasar sus componentes difusibles a través de las membranas que se hallan bajo su riego. Si imaginamos que el líquido contenido en el vaso en el cual hemos sumergido el tubo esté a una cierta presión, la que corresponde, por ejemplo, a la presión sanguínea (120 milímetros de mercurio) equivalente a un sexto de atmósfera, aun descontando 30 mm. de Hg., valor de la presión desarrollada por las proteínas del plasma, pasará a través de la membrana no sólo agua, sino también una cierta cantidad de substancias disueltas. En el glomérulo del riñón podrían darse circunstancias muy parecidas de filtración, sin necesidad de tener que recurrir para explicarla a diferencias osmóticas entre las células que recubren el glomérulo y la sangre, o al suministro de una cantidad de trabajo por parte de las células secretoras, por tener la presión sanguínea del glomérulo valores que exceden de los 30 mm. Hg. Esta explicación puramente física del fenómeno glomerular es muy dudoso pueda hacerse extensiva a otros casos que no sean el que acabamos de considerar y el de la secreción del líquido céfalorraquídeo por los plexos coroides, ya que en estos casos la sangre sólo se encuentra separada del lugar donde se vierte el líquido de secreción por una sencilla membrana constituída por un corto número de células; sin embargo, en el caso del tubo renal, así como en otros muchos ejemplos que nos ofrecen las glándulas secretoras, las células que constituyen la membrana de separación se comportan de un modo muy distinto, siendo más bien un obstáculo para el paso del agua.

Finalmente, considerar la secreción como un proceso de filtración pura y simple no puede ser admitido ni aun para los animales inferiores, por ejemplo, peces, en los cuales la presión sanguínea no es superior a la presión osmótica de los coloides hemáticos.

Consumo de O_2 durante la secreción. La cantidad de oxígeno utilizado por los órganos secretores, como el riñón o la glándula submaxilar, se determina midiendo la cantidad de oxígeno de la sangre arterial que lleva al órgano estudiado y la de la vena emulgente del mismo, así como el volumen de sangre que pasa en un tiempo dado. Estas mediciones del contenido de gases de la sangre se realiza mediante el aparato de Barcroft (véase pág. 363).

La glándula submaxilar en reposo representa un consumo de oxígeno considerable, alrededor de 0,02 c. c. por gramo de glándula. Durante las fases de actividad provocada bien sea por la estimulación de los nervios secretores que inervan la glándula o por la administración de drogas, el consumo de oxígeno aumenta hasta alcanzar valores equivalentes al doble de la cantidad anteriormente consignada. Como detalle digno de especial mención haremos notar que el máximo del gasto de oxígeno tiene lugar después de haberse producido la fase de mayor actividad secretora. Ya hemos visto con anterioridad que el consumo de oxígeno por el músculo se produce principalmente durante el período de recuperación, siendo en esta fase mucho más intenso que durante el período de trabajo propiamente dicho. La analogía de los resultados obtenidos para la actividad de las glándulas secretoras hace pensar que éstas pueden contener substancias que, actuando como reservorios energéticos, permitan su actividad aun en ausencia de oxígeno. En apoyo de este modo de ver señalaremos el hecho de que la secreción puede tener lugar en proporción más reducida, aunque impidamos completamente el aflujo de sangre. No es menos cierto, sin embargo, que la glándula necesita para su actividad del aporte de oxígeno y que la energía que pueda haber almacenada en las células glandulares es relativamente pequeña.

La cantidad de O_2 gastado por la glándula durante su actividad es, aproximadamente, igual a la cantidad de CO_2 desprendido. El cociente respiratorio, o sea la relación $\frac{CO_2}{O_2}$ es igual a la unidad, lo que hace pensar que el material energetógeno que se consume durante el proceso secretor sean hidratos de carbono. Algunos investigadores han podido establecer una disminución de la glucosa sanguínea en la sangre que emerge de la glándula submaxilar durante su actividad, lo que armoniza con los resultados que hemos indicado acerca del cociente respiratorio.

Los resultados obtenidos respecto a desprendimiento de calor durante la fase de secreción son contradictorios, y tal vez fuesen mejor precisados aplicando la misma técnica de las termopilas que se utiliza para determinar el desprendimiento de calor en el músculo.

Cambios histofisiológicos que acompañan a la secreción. Las principales modificaciones microscópicas que se producen durante la secreción afectan a los gránulos del citoplasma. Durante las fases de reposo son de tamaño considerable y se encuentran distribuídos homogéneamente a través del citoplasma. Estos gránulos se consideran constituídos por complejos zimógenos. Durante la actividad moderada desaparecen, en primer lugar, los gránulos situados en la periferia de las células, como si se hubieran disuelto en el seno del citoplasma; pero si la actividad secretora se prolonga, las células glandulares quedan completamente vacías de gránulos.

También ha sido dable observar en algunas células glandulares desplazamientos del aparato de Golgi. En las células en reposo del páncreas y de las glándulas salivales se encuentra casi siempre en la misma posición, pero en las mismas células, durante la fase de secreción, el aparato de Golgi se encuentra invariablemente situado entre el núcleo y el polo secretor. Las mitocondrias, de ordinario se encuentran situadas en el polo opuesto al que se halla el aparato de Golgi.

Durante el período de actividad pueden registrarse cambios en el volumen de la glándula y, verosímilmente también, en el volumen de las células, con tendencia siempre a la disminución.

Variaciones eléctricas. Las variaciones eléctricas que se producen durante la secreción en la glándula submaxilar, en la cual han sido casi exclusivamente estudiadas, presentan cierta dificultad de interpretación. La dificultad más ostensible es la que resulta de la doble inervación simpática y parasimpática que actúa sobre la glándula, ya que la excitación de ambas series de nervios puede poner en marcha el proceso secretor y la variación eléctrica correspondiente.

Si colocamos los electrodos, uno en el extremo de la glándula por donde llegan los vasos, y el otro en la porción de donde parte el conducto excretor, podremos ver cómo se produce un intenso cambio de potencial, consecutivamente a la estimulación de los nervios parasimpáticos, al mismo tiempo que se manifiesta una secreción de saliva flúida. Si estimulamos los nervios simpáticos que van a la glándula observaremos un cambio de potencial más pequeño y de dirección opuesta al obtenido en las condiciones antes citadas, mientras que la saliva será muy viscosa. Bayliss fué quien primero hizo notar estos hechos, atribuyendo la diferencia de signo observada a la diferencia de la secreción elaborada en la glándula, pues mientras que en el primer caso ésta segregaría agua con una corta cantidad de sales disueltas, en el segundo el líquido segregado contendrá los verdaderos constituyentes de la saliva. Ahora bien; hasta el momento, no disponemos de una explicación satisfactoria del mecanismo por el cual las diferencias entre las substancias segregadas ocasionan el cambio de signo de la variación eléctrica, ya que las investigaciones realizadas en este sentido no son suficientemente demostrativas.

En la secreción del jugo pancreático ha sido dable observar cambios de potencial. También han sido registradas variaciones eléctricas semejantes durante la actividad de las glándulas sudoríparas, y de un modo especial en las glándulas contenidas en la piel y en la lengua de la rana. Ninguna de estas variaciones ha sido objeto de un análisis detenido, aunque parece indudable que son originadas por los cambios que experimentan las células, siendo la opinión predominante la que se funda en el reparto desigual de iones, algo análogo a lo que ya vimos al considerar las corrientes de acción en el músculo. En apoyo de este modo de ver diremos que en las células de las glándulas secretoras se producen cambios de permeabilidad durante su

funcionamiento. Durante la fase de actividad secretoria, la permeabilidad aumenta del mismo modo que pudimos ver aumentaba la de las células musculares durante la contracción, de lo que tal vez pueda inducirse que ambos fenómenos reconozcan un origen análogo.

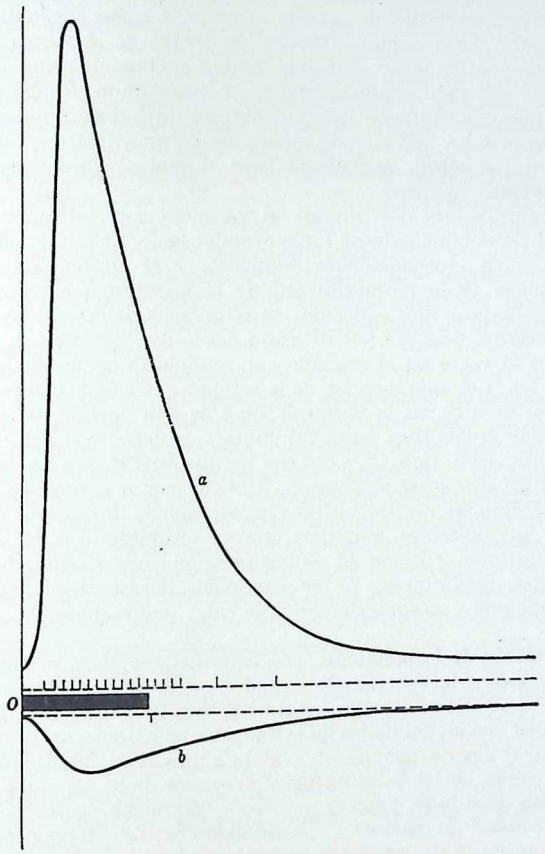


Fig. 96. Variaciones eléctricas en la glándula submaxilar durante la secreción. La señal (indicada en negro) muestra la duración del estímulo. El número de gotas de secreción viene indicado sobre las líneas de trazos, situadas por encima y por debajo de la señal. *a*, trazado de los cambios eléctricos debidos a los nervios parasimpáticos; *b*, trazado de las variaciones eléctricas consecutivas a la excitación del simpático

El mecanismo de secreción en las glándulas. Estudiaremos la secreción glandular como integrada por dos procesos elementales: el almacenamiento de las substancias que han de ser segregadas

y su liberación en el conducto glandular cuando se produce la secreción.

Con respecto a la primera parte del proceso, es muy poco lo que se sabe. Las substancias que constituyen la secreción son tomadas en último término de la corriente sanguínea, lo que nos autoriza a suponer que son captadas del medio circulante como substancias de peso molecular bajo, siendo sintetizadas dentro de la misma célula. Una vez reconstruídas o sintetizadas las substancias que han de constituir la secreción se almacenarían en los gránulos citoplasmáticos de las células glandulares, los cuales aumentarían de número y de tamaño durante los períodos de reposo. Se ha sostenido que esta fase anabólica de la célula se hallaría bajo el control de determinados nervios (nervios tróficos).

La segunda fase del proceso se considera corrientemente como adscrita al desdoblamiento de estas grandes moléculas de substancias almacenadas en moléculas más pequeñas, y al mismo tiempo con modificaciones de la permeabilidad de la membrana celular. Esta producción de pequeñas moléculas en el interior de las células determina un acarreo de agua por difusión desde la corriente sanguínea, agua que a su vez sería el vehículo que conduciría las moléculas simplificadas hacia el polo secretor de la célula y a través de la membrana celular. Por otra parte, la permeabilidad de esta porción de la membrana celular se modifica hasta tal punto, que permite el paso de moléculas de un cierto tamaño, como son las que constituyen las enzimas. Cuando el proceso secretor persiste, probablemente se produce la restitución de algunas de las substancias segregadas durante la fase de actividad. Los cambios químicos que se producen con la síntesis de estas substancias y con su descomposición para el suministro de los productos que hubieren de ser segregados, llevan consigo un cierto gasto de oxígeno y desprendimiento de calor por la glándula.

Regulación de la secreción. La actividad secretora se encuentra influída por la intervención de un doble mecanismo, nervioso uno y humoral el otro. Es muy posible que ulteriores investigaciones puedan reducir estas dos modalidades de influencias efectoras a un denominador común, si llega a ponerse en evidencia que los estímulos químicos actúan a través de las terminaciones nerviosas de la glándula.

Muchas glándulas poseen una doble inervación, constituída por filetes nerviosos simpáticos y parasimpáticos. La inervación parasimpática procede de los pares craneales tercero, séptimo, noveno y décimo, que se hallan en conexión directa con el sistema nervioso central, mientras que los nervios simpáticos procederían de los ganglios simpáticos situados entre el primer segmento torácico y el tercer lumbar. Los efectos producidos por la excitación de cada una de estas series de fibras ofrecen variaciones individuales para cada glándula, pero es lo cierto que, al ser estimuladas ambas, pueden dar lugar a la secreción. En la glándula submaxilar, por ejemplo, la estimulación

de los filetes parasimpáticos contenidos en la cuerda del tímpano produce una secreción de saliva muy flúida, mientras que la estimulación de los nervios simpáticos procedentes de los cuatro primeros segmentos torácicos hace segregar una saliva espesa rica en ptialina. La diferencia puede ser atribuída a los efectos que la excitación nerviosa produce sobre el riego sanguíneo de la glándula, y así, mientras que la excitación de los elementos parasimpáticos desencadena un efecto vasodilatador, los estímulos sobre los filetes simpáticos producen un efecto vasoconstrictor. De esto resulta que el riego sanguíneo de la glándula es mucho menor cuando excitamos el simpático, lo que puede explicar las características de la saliva así producida. Es muy probable que, exceptuando su distinta acción sobre los vasos sanguíneos, la influencia de ambas clases de fibras nerviosas sea la misma. En lo que se refiere a la secreción pancreática, los efectos de la estimulación de sus elementos nerviosos produce una acción muy ligera, mas no así en el caso particular de las glándulas gástricas, las cuales responden del mismo modo que hemos visto lo hacían las glándulas salivales a la estimulación de los filetes nerviosos de origen simpático y parasimpático (vago).

Los efectos de los estimulantes químicos que circulan con la sangre son de mayor importancia. Estas substancias estimulantes de la secreción puede ser, bien medicamentos tales como la pilocarpina inyectada en la sangre, o bien substancias elaboradas en las glándulas de secreción interna del propio organismo. La acción de la pilocarpina parece que actúa precisamente sobre las terminaciones nerviosas de aquellos nervios considerados como secretores, como lo prueba el hecho de que, en el caso de la glándula submaxilar, que ha sido a este respecto la mejor estudiada, la atropina contrarreste la acción de la pilocarpina. Como sabemos que la atropina paraliza las terminaciones nerviosas parasimpáticas, hemos de deducir que la acción de la pilocarpina tiene lugar sobre estas mismas terminaciones contenidas en la glándula. Lo mismo puede decirse de la hormona segregada por las cápsulas suprarrenales — la adrenalina —, que actúa de excitante de la secreción en la glándula submaxilar del gato. Puesto que la adrenalina actúa electivamente sobre las terminaciones nerviosas simpáticas del organismo, es lógico suponer que en el caso de la glándula submaxilar actuará sobre tales terminaciones y que, como se ha demostrado experimentalmente, su acción será estimulante de la secreción.

El ejemplo más demostrativo de la influencia que sobre la secreción de una glándula puedan ejercer las substancias producidas por el mismo organismo transportadas por vía humoral lo proporciona el páncreas. Cuando la bilis, o, según otros observadores, el ClH del jugo gástrico llega al duodeno, las células de la mucosa de este tramo intestinal elaboran una substancia que pasa a la sangre. Esta substancia es llamada *secretina*. Conducida por la corriente sanguínea, llega al páncreas y provoca una secreción de jugo pancreático. Las

estructuras duodenales que segregan la secretina no son aún conocidas, y ni siquiera sabemos lo que respecta al probable estímulo — bilis o ClH del jugo gástrico — que da lugar a la producción de secretina. Bayliss y Starling, de cuyas experiencias resultó el descubrimiento de la secretina, afirmaron que era el ácido clorhídrico el responsable de este estímulo; pero recientemente se han aportado argumentos poderosos según los cuales el estímulo es imputable a la colina contenida en la bilis.

La secretina pertenece a ese grupo de substancias llamadas *hormonas,* que, una vez producidas en un tejido, van a ejercer sus efectos sobre tejidos muy distantes. La estructura molecular de estas substancias es complicada. El jugo segregado por el páncreas bajo la influencia de la secretina es análogo al obtenido por el estímulo de los nervios que inervan la glándula y al que se vierte en el intestino en el curso de la digestión. Por otra parte, después de repetir las inyecciones de hormona, las células de los acini muestran signos de fatiga: depleción de gránulos, disminución del volumen celular, etc. Es absolutamente cierto que la secretina no actúa sobre los nervios situados entre las células, y es improbable que su acción se ejerza sobre las terminaciones nerviosas, siendo, pues, necesario concluir que las células son directamente estimuladas por la hormona.

En el estómago se supone la existencia de otra hormona, la *gastrina* o gastrosecretina, que sería segregada por las células de la región pilórica y que aparecería al entrar en contacto el estómago con los alimentos, siendo más abundante cuando la carne predomina en la alimentación. Se supone que esta substancia circula por los vasos y es llevada otra vez al estómago, excitando la secreción de jugo gástrico. En realidad no puede afirmarse nada concreto a este respecto, pues aunque la inyección de un extracto ácido de la mucosa pilórica da lugar siempre a una secreción de jugo gástrico, quedamos en la duda de si ello es debido a la hormona gástrica, cosa que no tiene muchos visos de verosimilitud si consideramos que los extractos ácidos de otros tejidos producen el mismo efecto. Seguramente, el proceso secretorio del estómago está bajo el control del sistema nervioso.

Un caso muy peculiar es el que afecta a la secreción de bilis por el hígado. He aquí un caso de autorregulación. Esta secreción es activada por la misma hormona que actúa sobre el páncreas, la secretina. La secreción de bilis depende, de una parte, de la producción de secretina, y ésta, recordémoslo, se segrega, según unos, por el estímulo de la bilis sobre las células de la mucosa duodenal. Además, la inyección de sales biliares disueltas excita al hígado a producir bilis, y como las sales biliares están absorbiéndose continuamente durante la digestión, hemos de aceptar que el hígado es un órgano que segrega bajo el estímulo de los mismos productos por él segregados.

No parece admisible que existan nervios de acción inhibitoria sobre las glándulas, puesto que en los pocos casos en que se ha investigado su existencia se han obtenido resultados contradictorios.

II. Secreciones en particular

Estructura del riñón. En los mamíferos el riñón consta esencialmente de una región cortical, en la que están los *corpúsculos de Malpigio.* y una región medular, que contiene los *tubos contorneados* o *canalículos.*

El corpúsculo de Malpigio consiste en un pequeño fondo de saco limitado por una membrana muy fina que envuelve un ovillo de capilares, el glomérulo. De la envoltura del glomérulo parte el tubo contorneado de primer orden formado por células de grandes núcleos y protoplasmas granulosos, o sea de aspecto secretor. Sigue luego la porción llamada *asa de Henle,* formada por células planas, claras, que por su aspecto no parecen destinadas a producir secreción.

El asa de Henle se continúa con el tubo contorneado de segundo orden formado por células análogas a las del primer tubo contorneado. Finalmente vienen los tubos colectores rectos, que se abren en la pelvis renal.

Las células de los tubos contorneados tienen mitocondrias y aparato reticular de Golgi, estando situadas las primeras cerca del polo celular que mira a la luz del tubo y en el polo opuesto el aparato de Golgi. La existencia de estas formaciones aduce pruebas en favor de la actividad secretora de estas células. Ésta es la opinión de algunos histólogos, quienes dicen que la secreción formada se acumula en la dirección de la luz tubular.

En el riñón de los anfibios, entre el corpúsculo de Malpigio y el primer tubo contorneado, hay un largo tubo limitado por epitelio vibrátil, que es el que forma también la porción denominada asa de Henle. Las células de los tubos contorneados poseen mitocondrias y aparato de Golgi, pero en los anfibios estas diferenciaciones protoplasmáticas no están siempre dispuestas tal como se encuentran en el riñón de los mamíferos. En el *Necturus,* el interior de los tubos comunica con la cavidad celómica por medio de pequeños poros. Esta disposición permite que ciertas substancias, tales como colorantes, etc., inyectadas en la cavidad peritoneal, pasen directamente a los tubos a través de los poros, en lugar de llegar a ellos por la corriente sanguínea.

Por otra parte, la irrigación sanguínea es también diferente en los mamíferos y en los anfibios. En los primeros, de la arteriola que nutre el glomérulo nacen luego capilares que van a nutrir los tubos que dependen de este glomérulo. En los segundos, la irrigación no es tan complicada, sino que acusa una diferenciación mucho menor.

Secreción renal. Su mecanismo. Las investigaciones hechas para aclarar este punto han sido muy numerosas, debido tanto a que su estudio tiene una indudable importancia práctica, como a lo complicados que aparecen los fenómenos relacionados con esta secreción. Desde luego, es necesario recordar que la secreción del riñón presenta dos aspectos diferentes, que se corresponden con la función del glomérulo y con la de los canalículos.

Los anfibios son útiles a este respecto, puesto que en ellos pueden estudiarse por separado ambos mecanismos, por ser la irrigación sanguínea independiente en glomérulos y tubos. Los glomérulos son irrigados por las arterias renales y los tubos por las venas portas renales; esto hace posible aislar la circulación de los glomérulos, o bien la de los tubos, por medio de ligaduras hechas en uno de los dos citados sistemas de vasos, y asimismo perfundir únicamente el glomérulo o el tubo, según se desee. Realizando estas experiencias se ve que si se suprime la irrigación sanguínea del glomérulo deja inmediatamente de producirse orina, desapareciendo, sin embargo, esta anuria cuando inyectamos una substancia como la urea, de marcada acción específica sobre las células de los tubos; la orina obtenida operando de este modo es altamente concentrada y poco abundante; contiene sulfatos, cloruros y urea, y excepcionalmente presenta reacción ácida.

Si perfundimos los vasos glomerulares obtenemos una orina algo menos concentrada, producida por una simple filtración a través de la membrana que limita el glomérulo, dependiendo la cantidad de orina obtenida de la presión a la cual circule el líquido de perfusión.

En cambio, cuando son perfundidos los vasos que riegan los tubos, deja de producirse orina si la presión del líquido de perfusión es inferior a la presión venosa normal.

De los experimentos practicados en el riñón de los anfibios se deducen las siguientes conclusiones en lo que respecta a la composición de la orina glomerular y tubular, respectivamente: *a*) La secreción en los glomérulos tiene la apariencia de una simple filtración, gracias a la cual pasan agua, sales y pequeñas cantidades de glucosa y urea. La presión osmótica del filtrado glomerular es aproximadamente igual a la del plasma sanguíneo, pudiéndose decir, en síntesis, que los glomérulos filtran un líquido de composición análoga a la del plasma sanguíneo, aunque con pequeñas diferencias respecto a ciertos componentes nitrogenados y proteicos. Esta filtración no puede ser calificada de secreción, puesto que el consumo de oxígeno no aumenta en las células que forman la membrana glomerular. *b*) No así en los tubos; en éstos hay un consumo de energía que puede demostrarse experimentalmente cuando se inyectan substancias de acción específica sobre las células renales (urea). En estas condiciones se ve que las células de los tubos de estructura apropiada para que pueda suponérseles una función secretora aumentan el consumo de oxígeno sobre lo normal. La secreción vertida por los tubos difiere mucho de la del glomérulo; contiene menos agua y mayor cantidad de sales, urea y materiales nitrogenados.

Cabe ahora preguntar si estos resultados obtenidos en los anfibios pueden hacerse extensivos a los mamíferos. Debido a la distinta irrigación sanguínea del riñón de los mamíferos, resulta imposible verificar en éstos los experimentos de perfusión o de isquemia parcial que se practican en aquéllos. Sin embargo, hay pruebas que permiten suponer que la secreción glomerular es un simple filtrado. La primera

experiencia demostrativa de esto es la que se practica bloqueando las células de los tubos con inyecciones de sublimado corrosivo. La orina así obtenida procede únicamente de los glomérulos y su composición es semejante a la del plasma sanguíneo menos las proteínas. Puede decirse que es un simple filtrado del plasma. A un resultado semejante se llega ingiriendo grandes cantidades de agua, o tras la inyección de grandes cantidades de solución salina isotónica. El agua pasa a través de las membranas de los glomérulos llevando disueltas algunas sales y formando una orina muy diluída, que no se diferencia del plasma sanguíneo más que por la ausencia de proteínas. Es importante observar que en estos casos el consumo de oxígeno en el riñón no aumenta sobre las cantidades usadas por el órgano en reposo, así como que la presión osmótica de la orina no es superior a la del plasma. Estos hechos apoyan, evidentemente, la hipótesis de que en el glomérulo tiene lugar un proceso de filtración o de difusión. Esta hipótesis viene, además, ratificada por el hecho de que la cantidad de orina es directamente proporcional a la presión de la sangre, y que cuanto mayor sea la rapidez con que la orina se forme, mayor será también su semejanza con el plasma sanguíneo, aunque descontando las proteínas, y, finalmente, si por pinzamiento del uréter elevamos la presión de la orina en los conductos excretores, ésta deja de formarse o se forma en menor cantidad.

No puede determinarse con la misma claridad la función encomendada a los canalículos. En primer término, parece ser que en ellos se reabsorbe una cierta cantidad de agua, pues si esto no sucediera, la orina debería contener en el mismo volumen la misma concentración de cloruro sódico que el filtrado glomerular y, por lo tanto, que el plasma sanguíneo. Pero esta concentración es, en la sangre, de 0,87 %, y en la orina, una cantidad que oscila poco alrededor del cuádruple de esa proporción. Existen solamente dos posibilidades para explicar este hecho en armonía con la idea de que el glomérulo se limita a filtrar ciertas substancias del plasma sanguíneo. La primera es que el filtrado glomerular se concentra antes de llegar a la pelvis renal, por verificarse una reabsorción de agua a nivel de los tubos; la segunda, que las células de los tubos segregan cloruro sódico que viene a juntarse al filtrado glomerular, elevando así su concentración. Pero hay muchas razones para creer que esto último no es cierto, y que las células de los tubos lo que hacen es precisamente lo contrario, o sea absorber una cierta proporción del cloruro sódico disuelto en el filtrado glomerular. Admitida esta última posibilidad como cierta, no hay modo de explicar por qué la orina contiene el cloruro sódico en mayor concentración que el filtrado glomerular, si no es admitiendo que en los tubos se verifica una reabsorción de agua. De la cantidad de cloruro sódico en el plasma y en la orina respectivamente, se ha deducido que el litro y medio de orina que por término medio elimina el hombre en las veinticuatro horas representa aproximadamente seis litros de filtrado glomerular, habiendo sido absorbidos, por lo tanto, cuatro

litros y medio a nivel de los tubos. Este proceso de reabsorción de agua es, indudablemente, muy beneficioso para el organismo, pues de otro modo se perdería diariamente una cantidad de agua mucho mayor, lo que traería como consecuencia la necesidad de ingerir grandes cantidades de este líquido para que el contenido de él en el organismo pudiera mantenerse a un nivel constante.

Tendremos que explicar ahora el hecho de que algunas substancias, tales como la glucosa y varios aminoácidos que se hallan normalmente en el filtrado glomerular, no aparezcan en la orina. Habrá que admitir, para explicar esto, que las células de los tubos absorben también estas substancias. Esto puede demostrarse experimentalmente perfundiendo el riñón de la rana con solución de RINGER y observando que la orina obtenida es de presión osmótica más baja que el líquido de perfusión, lo cual puede interpretarse como debido a que, efectivamente, se realiza la reabsorción de sales de que hablamos. Bloqueando los tubos cesa la reabsorción y la orina segregada es de presión osmótica igual a la del líquido de perfusión, o a la sangre si sigue el riñón irrigado como normalmente por sus vasos. Estos mismos hechos han sido demostrados en los mamíferos disponiendo las experiencias de modo que la orina se produzca bajo la influencia de una presión elevada al comprimir el uréter. En estas condiciones, la orina queda por más tiempo en contacto con las células de los tubos, y, en consecuencia, la reabsorción de cloruros es más intensa y la orina fluye conteniendo menos cloruros que cuando la secreción se verifica normalmente. De un modo análogo ha sido demostrada la reabsorción de la glucosa del filtrado glomerular; en condiciones normales la glucosa es completamente reabsorbida en los tubos, no apareciendo, por lo tanto, en la orina. Sin embargo, cuando por cualquier motivo se produce una diuresis, el paso de orina por los tubos puede ser tan rápido que no dé tiempo a que la glucosa se reabsorba completamente y a que aparezcan vestigios de ella en la orina. Esta glucosuria, fugaz y poco intensa, se produce con frecuencia bajo impresiones morales intensas y también por la acción de ciertos medicamentos y por otras causas.

Aparte de esta capacidad de reabsorber agua, cloruros, glucosa, aminoácidos, etc., las células de los tubos probablemente segregan urea y otras substancias nitrogenadas. Por lo que se refiere a la urea, esto es fácil de comprender, ya que el filtrado glomerular contiene mucha menos urea que la orina. La reabsorción de agua no basta para explicar esto. Si no hubiera más que esta reabsorción, tendrían que ser segregados por los glomérulos 28 a 30 litros para que la cantidad de urea en la orina alcanzara la proporción en que normalmente se encuentra, y entonces ocurriría que el cloruro sódico se eliminaría mucho más abundantemente. Además, la presencia de urea en la orina de una rana cuya circulación sanguínea glomerular ha sido suprimida, y, por otra parte, la disminución de la cantidad de urea en la orina cuando las células de los tubos son bloqueadas con un veneno (sublimado corrosivo), evidencian que las células de los tubos tienen una función secretora indiscutible. No faltan, sin embargo, las críticas de estas observaciones, y así muchos fisiólogos niegan rotundamente esta función secretora de las células de los tubos, sin excluir la posibilidad de que se realice una reabsorción de agua. En resumen, es en extremo difícil decidirse en pro de cualquiera de las dos hipótesis que propugnan respectivamente que las células de los tubos segregan sin absorber, o bien que absorben sin segregar, a pesar de las experiencias llevadas a cabo para dilucidar esta cuestión.

Las mayores dificultades que han surgido en estos últimos tiempos estriban al pretender explicar el modo como son eliminados en los tubos las substancias con umbral *(threshold bodies)*, del tipo de la glucosa, las cuales son absorbidas por los tubos en diferente proporción, según sea la de esta substancia en la sangre inferior o superior al nivel normal. En la hipótesis de CUSHNY sobre el funcionamiento renal, los tubos contorneados absorben una solución de sales, azúcares, etc., que viene a ser idéntica a la solución de RINGER y, desde luego, isotónica con el plasma sanguíneo y de la misma composición química. Otras substancias tales como la urea y la creatinina se consideran productos catabólicos no aprovechables y que deben ser eliminados, no reabsorbiéndose, por lo tanto, en los tubos, sino que, por el contrario, llegan a la pelvis renal y se eliminan luego formando parte de la orina. Las experiencias demuestran que si la composición del plasma se altera, el filtrado glomerular también se modifica, y los tubos condicionan entonces su trabajo de tal modo que la composición del plasma vuelve a la normalidad. Lo que no puede explicarse todavía es cómo se realiza esta función reguladora de la composición del plasma, o sea cómo actúan el glomérulo y el tubo, al combinar la secreción por el glomérulo con la secreción y la reabsorción por el tubo.

Se ha objetado que una célula no puede segregar y absorber al mismo tiempo. La objeción puede rechazarse recordando lo que decíamos en la página 80. Pero hay razones morfológicas según las cuales no es preciso que las mismas células secretoras sean las encargadas de segregar y de reabsorber, sino que en los tubos pueden existir por lo menos dos clases de células. Así, la secreción se produciría en las células de los tubos contorneados y la reabsorción en las células planas que limitan el asa de HENLE. Esta hipótesis tiene muchos visos de verosimilitud, pero es curioso constatar que en la rana, en cuyo riñón, sin duda alguna, se verifica también una reabsorción análoga a la de los mamíferos, presenta, en cambio, la parte correspondiente al asa de HENLE formada de epitelio ciliado, morfológicamente muy distinto del epitelio de células claras y planas que en esta porción de tubo se encuentra en el mamífero.

La secreción de ácido. Es un hecho digno de mención el que ciertas glándulas, como las del estómago en el hombre, o las salivales de los peces del género *Dolium galea* (Gasterópodos), segreguen un

ácido fuerte, cosa tanto más extraña cuanto que los humores del organismo son de reacción alcalina. No cabe duda que este ácido (ClH en el caso de las glándulas gástricas; H_2SO_4 y ClH en el caso del *Dolium*) no se encuentra libre en el interior de las células, puesto que las determinaciones hechas en este sentido midiendo el *p*H citoplasmático no denuncian una desviación de la neutralidad más acentuada que en las de otro tipo de células.

Vamos a citar tres de las teorías ideadas para explicar la secreción de ácidos. La primera se basa en el hecho de que si colocamos una disolución de fosfatos en un tubo de diálisis expuesto al aire, las sales ácidas que se forman por la acción de CO_2 difunden más rápidamente que las sales alcalinas, volviéndose ácida la reacción en el medio que rodea al tubo. Puede suponerse que el ácido clorhídrico del jugo gástrico se forma de un modo análogo a partir del cloruro sódico y los fosfatos de la sangre. Pero si hemos de admitir lo que precede, tendremos que hacerlo extensivo a todas las otras glándulas, cuya secreción sería entonces ácida y no alcalina, como en realidad sucede con la mayoría de las glándulas.

La segunda teoría supone que las membranas de las células de la mucosa gástrica son permeables a los iones Na^+ de los alimentos, y no a los Cl'. Los primeros pasarían a las células por absorción, dejando en libertad a los iones de cloro en el jugo gástrico, facilitando así su unión con los H^+ iones difundidos en el jugo desde los tejidos para formar ClH. Esta hipótesis carece de argumentos que la apoyen, habiendo, en cambio, hechos que la contradicen formalmente. Como tal puede considerarse la demostración de que un jugo gástrico ácido puede ser segregado aunque el estómago no contenga alimentos, como acontece cuando el nervio vago es estimulado.

La tercera teoría tiene su fundamento en que haciendo pasar una corriente de CO_2 a través de ciertas proteínas (edestina, por ejemplo) disueltas en solución de cloruro sódico, se obtiene una combinación de las proteínas con ClH, según la siguiente ecuación:

$$\text{Proteínas} + \text{ClNa} + H_2O + CO_2 \rightarrow \text{Proteínas} \cdot \text{ClH} + CO_3HNa.$$

La misma combinación puede obtenerse si se hace burbujear el CO_2 a través de una suspensión de glóbulos rojos en solución de ClNa, uniéndose la hemoglobina con el ClH. Puede suponerse que en las células de la mucosa gástrica puede realizarse una combinación entre las proteínas y el ClH, y que en determinadas circunstancias el ClH puede separarse de las proteínas y segregarse. Ninguna de estas tres teorías puede ser considerada como explicación definitiva. La principal dificultad en los trabajos experimentales dimana de la labilidad del trabajo secretor, ya que la secreción de ácido se inhibe tan pronto como el estómago o su mucosa se encuentran en condiciones de experimentación. En realidad, no se ha demostrado todavía que las células de la mucosa gástrica segregen ácido, creyendo aún algunos fisiólogos que el jugo gástrico es segregado por las células como

un líquido de reacción alcalina, convirtiéndose en ácido después de haber salido de las células, o sea ya en la cavidad gástrica. Esto es improbable, pues las más ligeras trazas de álcali destruyen el pepsinógeno y la pepsina. De todos modos, las dificultades encontradas para la resolución de pequeños detalles indican lo difícil que será resolver acertadamente el proceso en toda su integridad.

Faltan trabajos experimentales en los invertebrados que segregan ácidos (*Dolium*, por ejemplo), pero se supone que el ácido sulfúrico producido derive de los sulfuros ingeridos en la alimentación.

Secreción de venenos. Son muchos los animales que poseen la propiedad de segregar venenos, pero en los que adquiere más importancia es en los reptiles, cefalópodos e insectos. En los primeros se han hecho más estudios que en los restantes. Generalmente se considera a la glándula venenógena de los reptiles como homóloga de las glándulas salivales de otros animales. Histológicamente aparece como una glándula de estructura acinosa. En las células de los acini se encuentran gránulos que son muy solubles en agua y que aparentemente son los vectores del tóxico. Éste es expulsado de la glándula por la contracción de bandas musculares situadas entre los acini, o, en algunos reptiles, por fibras musculares que mantienen tensa una cápsula fibrosa que envuelve la glándula. La trasplantación de la glándula a una parte cualquiera del organismo ocasiona la necrosis y la desintegración de las células, lo que evidencia que entonces falta la influencia de los nervios. La pilocarpina ejerce sobre estas glándulas que elaboran venenos la misma acción que sobre la glándula submaxilar. La inyección de este medicamento provoca una ruptura de los gránulos venenógenos y una secreción abundante que dura poco tiempo. Una vez vertida la secreción, la glándula tarda alrededor de una hora en volverse a llenar.

Poco se sabe de la fisiología de la secreción de venenos en los cefalópodos, pero se conoce, en cambio, la composición química del tóxico. Éste es la *parahidroxifenieltilamina*, substancia derivada de la tirosina. La substancia de aspecto como de tinta segregada por el *Octopus* deriva del mismo aminoácido, siendo interesante anotar que tanto la toxina de los reptiles como la secreción del *Octopus* tienen cierta semejanza química con la adrenalina, hormona segregada por las cápsulas suprarrenales de los vertebrados.

Con respecto a la composición química de los venenos de ciertos insectos y reptiles sabemos muy poco. Ambos parecen contener algunos glucósidos semejantes a la saponina junto con substancias próximas a la peptona.

La secreción de gases. Ciertos protozoos, tales como la *Arcella*, forman burbujas de gas en el agua. Estas burbujas, adhiriéndose a la superficie del microorganismo, le ayudan a subir hasta la superficie del agua para buscar oxígeno. La pobreza del agua en este cuerpo determinaría la formación de las burbujas.

El ejemplo más demostrativo de la secreción de gas se encuentra, sin embargo, en los peces que poseen vejigas flotadoras que les ayudan a alcanzar la superficie del agua. Estas vejigas se encuentran en los Teleósteros y en los Ganoideos; contienen oxígeno solamente, y a veces a gran presión. El oxígeno es producido por una glándula que no es más que una proliferación de las células que limitan la vejiga, junto con una espesa red de capilares, denominada *red admirable*. El gas pasa a la glándula de la sangre, siendo sorprendente que pueda suceder así, pues la presión del gas en la sangre es inferior a la que tiene en la glándula. Para conseguir que estos peces llenen las vejigas no tenemos más que colgarles unos pesos; el aumento de presión del agua en una profundidad mayor actúa como estímulo para la secreción del gas.

En algunos de estos peces, las vejigas comunican con el esófago por medio de un conducto, por el cual pueden desembarazarse del gas en un momento dado. En la mayoría, sin embargo, el vaciamiento se logra por una reabsorción del gas que tiene en un espacio de forma ovalada situado en la misma pared de la vejiga. Este espacio se cierra por la acción de un esfínter, que impide que escape el gas contenido en la vejiga.

La secreción de gas ocasiona, indudablemente, un aumento del consumo de oxígeno. Las glándulas encargadas de esta secreción están bajo el control del sistema nervioso.

Secreción de substancias fosforescentes. La producción de luz, bien en órganos especializados, bien en el organismo en general, se ha estudiado en bacterias, hongos, en muchos protozoos, en algunos grupos de celenterios, en los fylozoos, poliquetos, crustáceos, miriápodos, insectos, cefalópodos, en algunos otros moluscos, y relativamente en pocos peces. La fosforescencia es un fenómeno frecuente en los reinos animal y vegetal. En los miriápodos y en algunos otros animales, el material fosforescente es extracelular, apareciendo como una mancha repartida por toda la superficie del cuerpo o limitada a regiones pequeñas. En muchos insectos, crustáceos, cefalópodos y peces, la fosforescencia está localizada en órganos especiales, que pueden considerarse análogos a las glándulas. Algunas veces, los órganos luminosos son únicos, como en las luciérnagas, mientras que otras veces son múltiples y se hallan esparcidos por la superficie del cuerpo, como en los cefalópodos y peces. Algunos de estos órganos luminosos son de una estructura muy complicada: poseen células que reflejan y amplifican la luz producida; lentes que producen destellos luminosos, e incluso en un género de peces existe un diafragma iris que funciona intermitentemente produciendo destellos. Estos órganos están profusamente inervados.

Es característico de estos aparatos de iluminación que la producción de luz no vaya acompañada de desprendimiento de calor, siendo por tanto mucho más eficaces que cualquier otro tipo de aparato de iluminación. La luz se produce por la reacción de dos substancias, una

denominada *fotogenina*, y otra *fotofeleína*, las cuales pueden obtenerse aisladas tratándolas con agua caliente, que destruye la fotogenina y deja la fotofeleína sin alterar. Puede obtenerse la fotogenina aislada, sometiendo a la acción del agua fría los animales fosforescentes y dejando luego reposar el líquido hasta que desaparezca completamente la fosforescencia, lo cual indica que no queda ya fotofeleína. Si ahora se mezcla este líquido con otro que contenga fotofeleína, se reproduce inmediatamente la fosforescencia al reaccionar ambas substancias.

La fotogenina es una substancia coloide de composición parecida a las proteínas. Es capaz de originar fosforescencia si se somete a determinadas condiciones, debiéndose decir que este proceso no supone gasto energético. La fotofeleína es de peso molecular más bajo que la fotogenina, de composición parecida a las peptonas, soluble en alcohol, y en cierto modo de acción específica, de tal modo que la fotofeleína de las luciérnagas, por ejemplo, producirá fosforescencia al combinarse con la fotogenina de otros insectos, pero carecerá, en cambio, de efecto sobre la de los crustáceos. Por otra parte, se produce luminiscencia cuando a la solución de fotogenina se unen soluciones de saponina, sales biliares, éter, cloroformo, etc. Newton Harvey, a quien se debe la mayor parte de lo que se conoce acerca de estas cuestiones, cree que el efecto de estas substancias y el de la propia fotofeleína es el de aumentar la dispersión del coloide fotognina para facilitar las oxidaciones.

Conviene recordar que existen substancias orgánicas capaces de producir luminiscencias si se tratan con agentes oxidantes. Entre aquéllas podemos citar el pirogalol, ciertos aldehidos y terpenos, ácido tánico, lecitina, colesterol, ácidos biliares y ciertas ceras. El pirogalol se torna fosforescente cuando es tratado con peroxidasas de las plantas o de la sangre, si las soluciones que se mezclan están a concentraciones adecuadas, porque un exceso o un déficit de peroxidasas impide la producción de luz. Es probable que en los órganos luminosos de los insectos ocurran fenómenos parecidos a éstos y que lo fundamental sea una oxidación de la fotogenina con formación de oxifotogenina en presencia de la fotofeleína. Luego, esta oxifotogenina engendra fotogenina por reducción, con lo cual se explica que haya siempre la misma cantidad de fotogenina.

Órganos eléctricos. Si consideramos los órganos eléctricos de ciertos peces como glándulas secretoras modificadas, resulta justificado que sean estudiados en este capítulo. En estos órganos, la descarga eléctrica que acompaña a la secreción es mucho más intensa que en ningún otro tipo de glándulas.

Se han descrito tres tipos de órganos eléctricos, correspondientes cada uno a los siguientes géneros de peces: Torpedo, Gymnotus y Malapterurus. Los órganos productores de electricidad de estos peces tienen una disposición que recuerda la de la pila de Volta, constan de muchos discos circulares que se encuentran provistos de gran nú-

mero de terminaciones nerviosas. La electricidad deja de producirse inmediatamente después de seccionados sus nervios. Se supone que la electricidad está repartida en pequeñas cargas acumuladas en la superficie de estas células discoideas, y que la inervación se halla dispuesta de tal modo que permite la descarga simultánea de todas las células, lo que tiene lugar en una fracción de tiempo sumamente pequeña, de 0,005 de segundo, y con un ligerísimo desprendimiento de calor.

FIG. 97. Órgano eléctrico de la liza. *a*, séptum; *b*, plexo nervioso terminal; *c*, *d*, *e* y *f* representan las tres capas del disco; *g* y *h*, capas de tejido conectivo de sostén. (Según BURDON-SANDERSON y GOTCH, del *Journal of Physiology*)

La corriente liberada por el órgano eléctrico del Torpedo es aproximadamente de 30 voltios, y, además, directamente proporcional a la temperatura absoluta, como sucede con la fuerza electromotriz de una batería. Sin embargo, el potencial de la corriente formada por el *Malapterurus* es de 450 voltios, debiéndose esto, tal vez, a que la inervación del aparato productor de electricidad de este animal sea mucho más perfecta, y que, por lo tanto, las cargas parciales se fusionen con un sincronismo rigurosamente absoluto. Esto podría explicarse suponiendo que hubiera una sola neurona para cada grupo de discos, en lugar de la infinidad de ellas que hay en el Torpedo.

Se ignora el proceso por el cual las células discoideas vuélvense a cargar de electricidad. Es posible que ello ocurra de un modo análogo a como sucede en los cambios eléctricos de los músculos, o sea por una distribución especial de los electrólitos. En un músculo traumatizado de rana se produce una diferencia de potencial entre la parte sana y la traumatizada de 0,05 voltios, pero cuando se disponen varios músculos traumatizados en uno de sus extremos, de modo que el extremo sano de uno contacte con el traumatizado de otro, la diferencia de potencial puede aumentar hasta un voltio. No debe sorprendernos que un órgano particularmente adaptado a producir electricidad, que contenga gran número de superficies opuestas entre sí, origine una diferencia de potencial treinta o trescientas veces mayor que la que se obtiene con una disposición tan sencilla como es la que nos ofrece un músculo de rana lesionado.

III. Secreciones internas

Glándulas de secreción interna. Además de las glándulas de secreción que vierten sus productos al exterior, se encuentran en todos los vertebrados otras glándulas que poseen la propiedad de verter sus secreciones en la corriente sanguínea. Éstas son las denominadas glándulas endocrinas, cuyas características pueden compendiarse como sigue:

a) Muchas de estas glándulas son absolutamente necesarias para la vida, no pudiendo el organismo, en modo alguno, prescindir de las secreciones de ellas. En general, influyen poderosamente en el crecimiento del organismo y en el funcionamiento de los distintos aparatos. La extirpación total del lóbulo anterior de la hipófisis puede acarrear la muerte. Lo mismo ocurre si se extirpan las paratiroides, las porciones corticales de las suprarrenales o los islotes de LANGERHANS del páncreas. La extirpación parcial de estas glándulas no conduce a tan funestos resultados, pero origina perturbaciones graves del metabolismo, que también se presentan cuando se extirpan el tiroides, el lóbulo medio de la hipófisis o la porción medular de las cápsulas suprarrenales.

b) Muchas de las glándulas endocrinas son resultado de la evolución de algunos órganos especiales de los animales inferiores. Así, la glándula tiroides se corresponde con la hendidura hipobranquial de los Cordados, órgano revestido por epitelio ciliado, con una función especializada para la aprehensión de los alimentos. Los lóbulos medio y anterior de la hipófisis son diferenciados de una parte del epitelio de la cavidad bucal. La porción cortical de las suprarrenales se forma de las células del mesodermo de la cavidad celómica primitiva; la porción medular proviene de las mismas células que originan los ganglios simpáticos. La evolución de las glándulas de secreción interna puede considerarse como un caso de diferenciación de ciertos tejidos que, a veces, pueden, sin embargo, encontrarse en el adulto como formaciones embrionarias que han persistido sin diferenciarse.

c) Las glándulas endocrinas segregan substancias de acción específica denominadas *hormonas*, aunque el término más propio sería el de *autacoides*. STARLING introdujo la palabra hormona y dió de ellas la siguiente definición: substancias elaboradas normalmente en determinadas regiones del organismo y transportadas por la corriente sanguínea a otros tejidos para regular el funcionamiento del organismo. Esta definición tiene el inconveniente de ser demasiado amplia, puesto que el agua, por ejemplo, debería ser incluída entre las hormonas si se aceptara la definición de STARLING, ya que producida por el intestino, aunque de un modo indirecto, como resultado de la absorción de los alimentos, llega por la sangre al riñón, al cual excita a formar orina, lo que contribuye, naturalmente, a mantener el organismo en buen estado de funcionamiento. Lo mismo puede decirse del CO_2, que eliminado por los tejidos pasa a la sangre y excita el centro respiratorio.

Con la palabra autacoide nosotros restringimos el concepto de la hormona a una substancia específica, elaborada por las glándulas endocrinas y transportada por la sangre a otros tejidos, a los cuales excita o inhibe en su actividad. Los autacoides comprenden un grupo de substancias excitadoras, que son las *hormonas,* y otro grupo que comprende las substancias de acción inhibidora, que son las *chalonas.* Esta clasificación es preferible al empleo de una sola voz, hormona, para indicar con ella las substancias excitadoras y las inhibidoras. Sin embargo, en la práctica es muy difícil, a veces, distinguir las hormonas de algunas chalonas, por lo que ha prevalecido el uso de la palabra hormona empleada en sentido general para designar las substancias elaboradas por las glándulas de secreción interna.

Estas substancias tienen algunas características que las definen. Son cristaloides, de peso molecular bajo, fácilmente dializables, termoestables, y solubles en algunos disolventes orgánicos. Algunas de ellas han sido aisladas, aunque, de éstas, no todas se han logrado obtener en estado de absoluta pureza; podemos citar la tiroxina; adrenalina; paratirina, de los paratiroides; insulina, de los islotes de LANGERHANS del páncreas; pituitrina, del lóbulo posterior de la hipófisis, etc. Se conoce la composición química de la adrenalina y de la tiroxina, las cuales han podido obtenerse sintéticamente. Manifiestan su actividad aun encontrándose en pequeñísimas cantidades, y son altamente específicas; la adrenalina actúa solamente sobre las terminaciones nerviosas del simpático; la pituitrina sobre los músculos lisos; la insulina regula el metabolismo de los hidratos de carbono, etc. Es evidente que las hormonas no pueden confundirse con los fermentos, con los que coinciden tan sólo en que son segregadas por tejidos especializados en el sentido de elaborar secreciones, ya que pueden aducirse diferencias tan marcadas como la de que en la actuación de las hormonas hay gasto energético y, en cambio, los fermentos actúan como catalizadores.

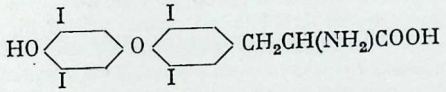
En los invertebrados no se conoce la existencia de hormonas, no pudiéndose asegurar si en ellos se encuentra adrenalina. Desde luego, ninguna hormona ha sido aislada. En los vegetales se sospecha también la existencia de hormonas. Las substancias estimulantes del crecimiento encontradas en las hojas del *Bryophyllum,* que pasan a las partes más inferiores de las ramas a causa de la curvadura debida al geotropismo (pág.308), podrían ser llamadas hormonas, puesto que encajan en la definición dada de ellas. En la *Mimosa púdica* encontramos un ejemplo todavía más demostrativo de las acciones hormonales en las plantas; la aproximación de las hojas se debe al estímulo de una substancia producida en otros tejidos para actuar sobre las hojas; esta substancia influye en la permeabilidad de las células de las hojas y ramas.

Tiroides. La glándula tiroides, considerada desde un punto de vista filogenético, constituye una diferenciación de la hendidura hipobranquial, que se encuentra en la faringe de los ciclóstomos como un

espacio cubierto de epitelio ciliado en el cual quedan aprisionados los pequeños organismos que sirven de alimento al animal. En los peces y en los vertebrados superiores, esa hendidura se ha diferenciado en una glándula endocrina, y en algunos elasmobranquios se encuentran, entre el tejido glandular, trozos de epitelio ciliado, restos de la primitiva hendidura hipobranquial. En los embriones de los mamíferos se observa que la glándula tiroides en formación comunica con la faringe por el conducto tireogloso, que con el feto a término está ya completamente ocluído.

Histológicamente considerado, el tiroides presenta una estructura vesicular. Está formado por una agregación de vesículas revestidas de cúlulas epiteliales planas que contienen una secreción denominada *coloide.* La irrigación sanguínea de las vesículas es abundante merced a los capilares que las rodean. La substancia coloide aparece en la décima semana de la vida del feto y se encuentra en poca abundancia cuando las glándulas se hallan en plena actividad, debiéndose probablemente a que es vertida en la sangre en lugar de ser almacenada por las células. Las células formadoras de coloide presentan un aparato de GOLGI muy evidente, situado entre el núcleo y la porción de membrana que limita el interior de la vesícula. La situación de esta formación citoplasmática indica que el polo secretor de la célula es el que limita la cavidad de la vesícula, aunque en ocasiones está situada en el polo opuesto de la célula, o sea entre el núcleo y los capilares que rodean la vesícula. Esto podría indicar que la célula puede verter su secreción tanto en la vesícula como en los capilares.

La substancia activa segregada por el tiroides es denominada *tiroxina,* cuya composición química ha sido recientemente averiguada. Es un derivado tetrayodado del éter *p*-hidroxifenol de la tirosina, cuya estructura molecular es:



HARINGTON y BARGER la han obtenido por síntesis, siendo ésta tan activa como la extraída de la propia glándula.

La hormona natural se extrae desmenuzando el tiroides de peces o de animales vacunos y tratando luego este material con solución de RINGER, calentando a 95° durante cinco o diez minutos. Hecho esto se separa por filtración el coágulo de proteínas y se obtiene un líquido que contiene la substancia activa, aunque en estado de relativa pureza.

El extracto de tiroides acelera el metabolismo y estimula, a veces, la proliferación celular. La misma acción ejerce la hormona obtenida por síntesis. En el adulto en completo estado de desarrollo, el efecto más marcado consiste en un aumento del *metabolismo basal,* o sea del metabolismo del organismo en reposo cuando sólo funcionan los

órganos esenciales para la vida. En estas condiciones, por cada metro cuadrado de superficie exterior del organismo se pierden unas 40 calorías por hora; la pérdida de calórico en un hombre de estatura media es, aproximadamente, de 2000 calorías en veinticuatro horas. La inyección de 3 mgr. de tiroxina aumenta esta pérdida en un 20 %, y una dosis mayor de hormona puede duplicar esta cantidad. Junto con este aumento del metabolismo basal, en las células de la médula ósea pueden encontrarse signos de una proliferación muy acentuada. Los efectos más notables obtenidos con la administración de extracto tiroideo se ven en animales que sufren un proceso de metamorfosis (larva, etc.) antes de llegar a adultos; las primeras observaciones se hicieron en las larvas de la salamandra mejicana, que en condiciones normales persiste definitivamente en este estado, pudiendo metamorfosearse y adquirir la forma adulta si se le administra extracto tiroideo o se la alimenta con papilla de tiroides. Poco tiempo después fué observado que los renacuajos alimentados con esta papilla pasan al estado adulto mucho más rápidamente que en condiciones normales.

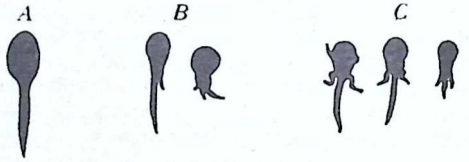


FIG. 98. Renacuajos de sapo que muestran la aceleración que sobre la metamorfosis ejercen los extractos de tiroides. *A*, control; *B*, efecto producido por la adición durante cinco días de extracto tiroideo; *C*, efectos obtenidos a los 15 días de adicionar tiroides. (Según SCHAFER, en su obra *Órganos endocrinos)*

Si se dispone de renacuajos control para comparar, se ve que los sometidos a alimentación tiroidea evolucionan más de prisa y pierden la cola antes que los testigos. Los resultados son más evidentes en los renacuajos de *Rana catesbana*, que normalmente completan su total desarrollo en unos nueve meses, y que, sometidos a una alimentación con tiroides de buey, tardan solamente seis semanas en adquirir la forma de rana. Parece ser que no influye en los resultados la especie animal de la que obtenemos el tiroides para los ensayos citados, puesto que se obtienen efectos idénticos con el tiroides de los mamíferos que con el de los propios anfibios. Estas experiencias pueden realizarse de otro modo: extirpando el tiroides de las larvas de anfibios se impide la aparición de la metamorfosis. Los renacuajos tiroidectomizados evolucionan normalmente hasta la fase en que empiezan a iniciarse los miembros posteriores, en la cual quedan detenidos, continuando el crecimiento en tamaño, pero sin sufrir cambios evolutivos ulteriores. Si entonces se les alimenta con extractos tiroideos, la evolución, que se había detenido, continúa de nuevo hasta que de esos renacuajos de tamaño superior al normal se forman ranas

más o menos bien desarrolladas. Los mamíferos experimentan también alteraciones en su crecimiento cuando el tiroides no funciona normalmente, pero así como en los anfibios la hormona tiroidea influye casi únicamente sobre el desarrollo evolutivo de las larvas, en los mamíferos la alteración tiroidea modifica el desarrollo en todo momento. En los animales de corta edad se detiene el crecimiento somático o el mental, detención que persiste mientras dura la insuficiencia tiroidea y que puede ser combatida cuando se administra, bien por vía parenteral o por vía oral, la hormona tiroidea.

Hay motivos para suponer que el tiroides ha de necesitar de algún estímulo para verter en la sangre su secreción. En los anfibios

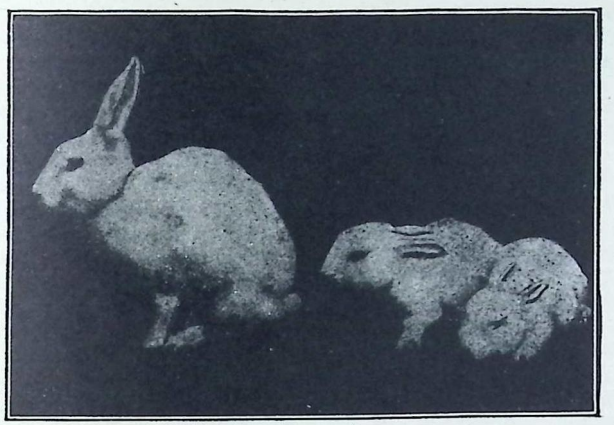


FIG. 99. Conejo normal y otros dos tiroidectomizados de la misma edad. (Según SCHAFER en su obra *Órganos endocrinos)*

se consigue que la glándula se vacie de su contenido en tiroxina añadiendo a la alimentación compuestos yodados, lo cual, junto con el yodo que entra en la composición de la tiroxina, hace suponer que éste intervendría en la metamorfosis. Pero las larvas tiroidectomizadas no sufren procesos de metamorfosis aunque se les administre compuestos yodados junto con la alimentación, como tampoco los experimentan en estas circunstancias las larvas con tiroides insuficientes. Es, por lo tanto, mucho más verosímil que los compuestos yodados no sean los principales agentes de dicha metamorfosis y que existan otros factores que intervengan también en el acto de estimular el tiroides a verter su secreción en la sangre. Entre estos factores debe incluirse la hormona segregada por el lóbulo anterior de la hipófisis, cuya presencia parece ser necesaria para que el tiroides elabore su secreción y para que ésta sea activa.

En los invertebrados no se encuentra una glándula que pueda referirse al tiroides. La inyección de extractos tiroideos o la adición a los alimentos de extractos tiroideos no altera en nada el ciclo evolutivo de estos seres.

La tiroxina carece de acción manifiesta sobre el corazón, los vasos sanguíneos y las otras vísceras. El efecto más marcado se ejerce sobre la médula ósea, cuyas células proliferan más activamente, determinando un aumento en la cantidad de elementos formadores de células sanguíneas. Este efecto puede observarse tanto en los mamíferos como en los anfibios.

Lóbulo anterior de la hipófisis. La glándula pituitaria, o hipófisis, se compone de dos lóbulos separados por una hendidura, y de tres porciones: porción anterior, por delante de la hendidura; parte intermedia, situada inmediatamente por detrás de la hendidura, y porción nerviosa, situada por detrás de la parte intermedia. De estas tres porciones sólo dos son conocidas como productoras de hormonas. La parte anterior se origina a partir de la bóveda de las fosas nasales, siendo, por lo tanto, de origen epitelial. Consta de gran número de agrupaciones celulares, separadas entre sí por espacios vascularizados y dispuestas de un modo aparentemente caprichoso. Indudablemente, esta porción segrega una hormona específica; sin embargo, todos los esfuerzos hechos para aislar la supuesta hormona han sido infructuosos, de lo que resulta que la función de esta glándula no se halle aún bien esclarecida. Lo que sabemos de ella puede estudiarse bajo los enunciados siguientes: I, efectos de la extirpación de la parte anterior; II, efectos de su hiperfunción, y III, sus efectos sobre la metamorfosis.

I. Los mamíferos a los que se les extirpa totalmente la parte anterior de la hipófisis presentan una disminución considerable de su metabolismo basal junto a síntomas de estupor mental, muriendo luego invariablemente. Esta porción de la glándula es, por lo tanto, indispensable para la vida. La extirpación parcial da lugar a una disminución del metabolismo, pudiendo el animal sobrevivir por espacio de meses. En estos casos se afecta particularmente el metabolismo de los hidratos de carbono. Hay poliuria por la eliminación de grandes cantidades de agua por el riñón, retardo del crecimiento y escaso desarrollo de los órganos sexuales. Simultáneamente se van atrofiando el tiroides, útero, testículos, ovarios, etc. La extirpación de la parte anterior en los anfibios no conduce a la muerte como en los mamíferos, pero ocasiona análogos efectos sobre el crecimiento. Los cambios de la metamorfosis no se realizan o se retrasan; el desarrollo del animal es lento.

II. Los efectos producidos por el hiperfuncionamiento de la parte anterior de la hipófisis varían según la edad del animal objeto de estudio o experimentación. Los resultados obtenidos pueden comprenderse mejor si se comparan con los síntomas observados en el hombre en los casos no muy frecuentes en que existe una hiper-

función espontánea de la parte que estamos estudiando de la glándula pituitaria. Si esta alteración ocurre en un niño, los huesos largos se desarrollan mucho en longitud, llegando en ocasiones a crecer tanto que el enfermo alcanza 2 metros de estatura. Esta deformidad se conoce con el nombre de *gigantismo*. Los músculos no se desarrollan proporcionalmente a los huesos, resultando de esto que el enorme desarrollo del esqueleto se acompaña de escasas fuerzas musculares y a veces de deformidades. Simultáneamente, el desarrollo mental y el sexual aparecen retardados.

Puede ocurrir que la hiperfunción se inicie cuando las epífisis de los huesos largos se han osificado totalmente. En estas circunstancias, las deformidades óseas no pueden resultar de un crecimiento exagerado según la longitud del hueso, sino de un aumento del espesor del mismo, siendo éste más marcado en las piernas, en los dedos de las manos y de los pies, en los cuerpos de las vértebras y en los extremos de los huesos largos. Esto origina deformidades muy grandes en los miembros y el tronco: las facciones se desfiguran; las manos y los pies crecen enormemente, y las incurvaciones de la columna vertebral se acentúan. Por otra parte, el crecimiento exagerado de la base del cráneo ocasiona un ensanchamiento de la cara. La hipertrofia de la parte anterior de la hipófisis produce una compresión del quiasma óptico, con lo que a los síntomas ya mencionados vienen a sumarse amaurosis y cefalalgia. Este síndrome, que puede conducir a la muerte, se designa con el nombre de *acromegalia*. La extirpación parcial de la parte hipertrofiada detiene la evolución de la enfermedad y en ocasiones determina la desaparición de las deformidades.

La hipofunción de la parte anterior de la hipófisis se encuentra raramente en los mamíferos. El síndrome engendrado se conoce con el nombre de *enanismo*. Los huesos de los afectos de esta enfermedad no llegan a alcanzar las dimensiones normales. La enfermedad recuerda, en algunos de sus aspectos, la que se presenta en los casos de extirpación parcial de la parte anterior, excepción hecha de lo que se refiere a las variaciones del metabolismo que frecuentemente faltan. Todo lo que antecede parece demostrar que hay, en efecto, una hormona segregada por la parte anterior de la hipófisis, que regula el crecimiento de los huesos y el metabolismo general. Pero las experiencias hechas valiéndonos de la administración de extractos hipofisarios junto con la comida, o de la inyección de estos mismos extractos, no han dado, sin embargo, resultados dignos de tenerse en cuenta.

III. Las alteraciones de la metamorfosis ocasionadas por las disfunciones o por la extirpación de la parte anterior de la hipófisis pueden estudiarse en las larvas de anuros, en las cuales, aunque la hipófisis sea muy pequeña, es muy accesible, pues está situada sobre la bóveda bucal. Con una aguja podemos practicar una picadura en la glándula de un embrión y destruirla totalmente; en estas circunstancias la metamorfosis resulta imposible. Pero este efecto puede contrarrestarse administrando al embrión extracto tiroideo o injertándole la parte

anterior de una glándula hipofisaria. Teniendo en cuenta lo que venimos diciendo, podría concluirse que: *a*) la destrucción de la glándula pituitaria afecta el desarrollo del tiroides; *b*) es posible facilitar las metamorfosis inyectando extractos de la parte anterior de la glándula pituitaria. Pero estas conclusiones no pueden admitirse como absolutamente ciertas porque, en primer lugar, las larvas a las cuales se les ha extirpado parcialmente la hipófisis presentan un tiroides bien desarrollado, por lo menos aparentemente, y en segundo lugar, la inyección de un extracto de la parte anterior o la implantación de fragmentos de esta misma parte en larvas tiroidectomizadas, no hace que continúe la metamorfosis. Parece que la explicación más satisfactoria de estos hechos sea que la hormona de la parte anterior es absolutamente necesaria para que el tiroides segregue y excrete su hormona, la cual motiva la metamorfosis, y que cuando falta alguna de estas hormonas el desarrollo queda detenido.

No deben, sin embargo, hacerse extensivas estas conclusiones a todos los anfibios. Por lo que respecta a los Urodelos, la metamorfosis es determinada por factores todavía desconocidos, y en los Necturus, Proteus, Sirénidos y Typhlomolgus no se encuentran modificaciones de importancia consecutivamente a la inyección de la hormona tiroidea.

Porción intermedia de la glándula pituitaria. La parte intermedia de la hipófisis se desarrolla, como el lóbulo anterior de la misma glándula, de una invaginación del epitelio bucal. En un estadio más avanzado del desarrollo se forma la parte nerviosa, que viene a situarse inmediatamente por detrás de la porción intermedia. Estas dos porciones, fusionadas, constituyen el lóbulo posterior de la hipófisis. En el animal completamente desarrollado, la parte intermedia aparece como una zona de tejido de aspecto distinto al que forma el resto del lóbulo posterior.

Las células de la parte intermedia son más pequeñas que las de la parte anterior y contienen en el protoplasma unas granulaciones finas que se tiñen por los colorantes básicos. Dentro de las masas celulares se ven muchas vesículas redondeadas, llenas de una substancia que ha sido designada con el nombre de *coloide pituitario*, que también puede encontrarse fuera de las vesículas. Hay motivos para pensar que este coloide contiene la hormona u hormonas segregadas por las células, las cuales, según autorizadas opiniones, pasarían a través de la porción nerviosa a formar parte del líquido cerebroespinal contenido en el tercer ventrículo. Esto induce a suponer que la parte nerviosa no segregaría hormona alguna y que la actividad fisiológica de los extractos de esta parte sería debida al coloide procedente de las vesículas de la parte intermedia.

Todavía no se ha aclarado si las células de la porción intermedia segregan una, dos o más hormonas; nosotros estudiaremos, sin embargo, la acción de tres "principios" que se han obtenido de los extractos de esta porción de la hipófisis: *hipertensor, oxitócico* y *melanófilo*.

a) El principio hipertensor fué descrito por primera vez en 1895 por Oliver y Schafer, quienes observaron que la inyección intravenosa del extracto del lóbulo posterior de hipófisis causa una elevación de la presión sanguínea. Estas experiencias fueron hechas en mamíferos. La hipertensión es debida a una contracción de las fibras musculares lisas de las arteriolas, que disminuye la luz vascular. Las arterias renales, en cambio, se dilatan, con lo cual, y por aumento de la cantidad de sangre que atraviesa el riñón, se establece una poliuria.

Lo mismo ocurre cuando los extractos inyectados proceden de anfibios y cuando a éstos se les inyectan extractos similares procedentes de mamíferos. Los resultados son análogos cuando se opera con extractos hipofisarios de peces teleosteos y, aunque con algunas reservas, puede esto hacerse extensivo a los elasmobranquios. De esto podría deducirse que el lóbulo posterior de hipófisis de los mamíferos, anfibios, peces teleosteos, y quizá también de los elasmobranquios, segrega la misma hormona en todos ellos, aunque en distintas proporciones. La actividad fisiológica del extracto hipofisario obtenido de los teleosteos es muchísimo menos intensa que la de los extractos de hipófisis procedentes de mamíferos. Es curioso observar que la inyección a reptiles y pájaros de los mismos extractos que provocan una hipertensión sanguínea en los mamíferos, anfibios y peces da lugar a un descenso de la presión. En este caso, el extracto no ejerce, probablemente, su acción sobre la musculatura de los vasos, sino sobre las terminaciones nerviosas parasimpáticas, como lo prueba el que la inyección de atropina inhiba este efecto. De todos modos, queda como un hecho evidente que la acción de la hormona del lóbulo posterior de la hipófisis es distinta en los pájaros a la de los mamíferos y anfibios.

La naturaleza del principio hipertensor es desconocida. En los trabajos experimentales se tropieza con la dificultad de que la *histamina* va frecuentemente asociada a la presunta hormona. Esta substancia procede de la destrucción de las células de la glándula *post mortem*. La acción hipotensora de la histamina explica las dificultades surgidas cuando se estudian experimentalmente las variaciones de la presión sanguínea provocadas por los extractos de lóbulo posterior. Sin embargo, estos inconvenientes pueden obviarse hirviendo el extracto mezclado con alcohol, con cuya operación separamos la histamina que puede hallarse impurificando el extracto y obtenemos el principio hipertensor inalterado.

No está claro el mecanismo según el cual actúa el principio hipertensor en el animal normal. Este principio no ha podido ser aislado, y aunque se suponę excretado por la glándula, no parece, sin embargo, muy seguro que el tono de los vasos sea mantenido porque el supuesto principio circule con la sangre. Por lo menos, su presencia en el organismo no parece esencial para la vida, puesto que la destrucción del lóbulo posterior de la hipófisis no es necesariamente fatal.

b) El principio oxitócico afecta principalmente los músculos de fibra lisa. Habitualmente se suele experimentar en cobayas que no hayan parido; la musculatura uterina de estos animales se contrae violentamente por la acción de este principio. Éste es soluble en agua, en ácido fórmico, en alcohol etílico y, aunque no completamente, en el éster del ácido butanoico. Este último disolvente tiene la ventaja de que no disuelve el principio tensor. Al igual que muchos autacoides, es muy termoestable. La acción sobre el útero es muy marcada porque este órgano está formado casi en su totalidad por fibras musculares lisas.

c) De los principios que venimos estudiando, el melanófilo sea tal vez el más interesante desde el punto de vista fisiológico. Desde luego, es el que mejor se conoce.

La luz hace que varíe el color de la piel de los anfibios, influyendo sobre los melanóforos. Si una rana se mantiene en un medio oscuro, los melanóforos se dilatan, con lo que la piel aparece de un tono más oscuro; en cambio, cuando cambiamos de medio al animal sometiéndolo a la acción de la luz, los melanóforos se contraen y la piel se aclara. Además de la luz hemos de tener en cuenta otros factores, como la temperatura, la humedad, el oxígeno atmosférico, etc.

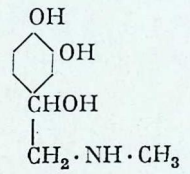
Las hormonas segregadas por el lóbulo posterior de la hipófisis regulan la actividad de los melanóforos. Si se inyecta a un anfibio un extracto de lóbulo posterior, los melanóforos se dilatan, y si se extirpa este lóbulo se produce una contracción máxima. No es preciso que el extracto inyectado proceda de un anfibio, aunque estemos experimentando en ranas; análogos efectos a los citados se obtienen en estos anfibios cuando los extractos proceden de mamíferos, pájaros, reptiles y peces. La inyección de extractos de otros tejidos cualesquiera, o de cierto medicamento conocido por ejercer una acción semejante a la de la hormona pituitaria, no determina alteraciones en los melanóforos, lo cual evidencia que en el lóbulo posterior existe una verdadera hormona que es la substancia activa que actúa sobre aquéllos. Esta hormona ejerce su acción con independencia del sistema nervioso, o sea directamente sobre las células cargadas de pigmento. El mecanismo normal es el siguiente: la glándula pituitaria es estimulada por impulsos llegados a ella desde los receptores especiales situados en el tegumento externo y engendrados por cambios en la temperatura, humedad, etc., al paso que las impresiones luminosas recogidas por la retina inhiben la actividad de la glándula. Según esto, una iluminación intensa da lugar a que la secreción no se vierta en la sangre y, por lo tanto, a un aclaramiento del tegumento, mientras que una luz débil determina el efecto contrario por un mecanismo inverso. Esto constituye, en último término, un caso de "mimetismo". Como es de suponer, y en confirmación del mecanismo que hemos indicado, la sección de los nervios ópticos ocasionará un oscurecimiento permanente de la piel del animal.

La composición química del principio melanófilo es desconocida totalmente. Puede obtenerse, sin embargo, aislado de los otros dos

principios, merced a la poca difusibilidad de aquél a través de las membranas de colodión. No se obtiene una separación completa, pero estamos autorizados para creer que estos principios son distintos entre sí.

Se ha convenido en reunir bajo un solo nombre los tres principios del lóbulo posterior. La *pituitrina* es, pues, una substancia extraída de la parte intermedia del lóbulo posterior, que contiene los tres principios estudiados. Esta substancia puede obtenerse, en el laboratorio, a partir de glándula hipofisaria de bueyes o de peces. Para esto se separa el lóbulo posterior, se tritura, se deseca y luego se obtiene una determinada cantidad de polvo seco. Si es necesario obtenerla sin que esté mezclada con histamina, se hierve durante algunas horas el polvo seco con alcohol. El extracto así obtenido contiene los tres principios: hipertensor, oxitócico y melanófilo.

Porción medular de las cápsulas suprarrenales. La porción medular de las suprarrenales tiene un origen común con las células que forman los ganglios simpáticos. Histológicamente considerada, consta de columnas irregulares de células poligonales, separadas por espacios por los que circula la sangre. Las células "cromafinas" se tiñen en pardo por el bicromato potásico. La hormona segregada por esta porción de las suprarrenales se conoce con el nombre de *adrenalina*. Se conoce su estructura química, y su fórmula es



Puede obtenerse sintéticamente a partir de la tirosina. Existe una forma levógira y otra dextrógira. La adrenalina producida por las cápsulas suprarrenales corresponde a la forma levógira y posee las propiedades generales de las hormonas. La forma dextrógira es casi inactiva. La presencia de la adrenalina puede ser revelada por el reactivo de Folin (tungstato sódico y ácido fosfórico), que produce una coloración azul en presencia de diluciones de adrenalina de 1 : 3 000 000.

La adrenalina excita las terminaciones nerviosas del sistema simpático. Éste es el mecanismo de su acción, que no tiene más excepción que la de los anfibios, en los cuales puede actuar directamente sobre los melanóforos. La inyección intravenosa de adrenalina produce: *a*) una elevación muy acentuada y transitoria de la presión sanguínea. Este efecto se debe al estímulo ejercido por la adrenalina sobre las terminaciones nerviosas simpáticas contenidas en las paredes arteriales; *b*) una inhibición de la musculatura intestinal; *c*) dilatación

pupilar, y *d*) en algunos animales, una contracción de los músculos pilomotores que ocasiona la erección de los pelos.

Las glándulas inervadas por el sistema simpático entran en actividad por la adrenalina. Tal sucede con las glándulas sudoríparas,

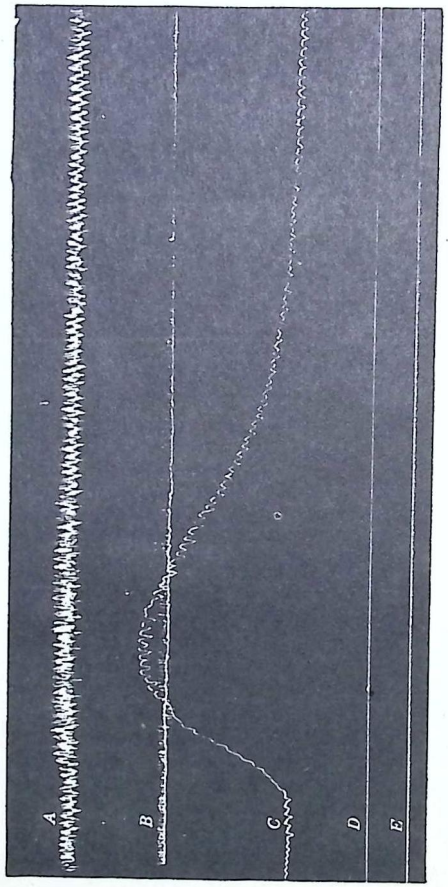


FIG. 100
Efectos del extracto suprarrenal inyectado por vía endovenosa sobre la frecuencia cardíaca y la presión arterial
A, trazado ventricular; *B*, t. auricular; *C*, presión arterial; *D*, señal; *E*, tiempo en segundos. (Según SCHAFER en su obra: *Las glándulas de secreción interna*)

lagrimales y salivales. En cambio, las glándulas que vierten su secreción en el tramo digestivo y las mamarias no son estimuladas por esta hormona, porque la inervación simpática de dichas glándulas ejerce una influencia secundaria.

La extirpación de la substancia medular de las suprarrenales no va seguida necesariamente de la muerte del animal; esto es debido

a que el tejido cromafín accesorio que se encuentra en la mayoría de los mamíferos a los lados de la aorta abdominal proporciona suficiente cantidad de adrenalina para que no ocurran trastornos en el organismo. En el hombre, sin embargo, la tuberculosis y algunos otros procesos destructivos de la substancia medular suprarrenal dan lugar a un síndrome conocido como *enfermedad de Addison*, caracterizada por hipotensión arterial, disminución del tono muscular y del metabolismo en general. La administración de adrenalina influye poco en la marcha de la enfermedad, porque esta hormona actúa de una manera muy fugaz.

En los peces elasmobranquios, la substancia medular de las suprarrenales de los mamíferos se corresponde con los *cuerpos en pareja* que están situados a los lados de la aorta, y la corteza al *cuerpo*

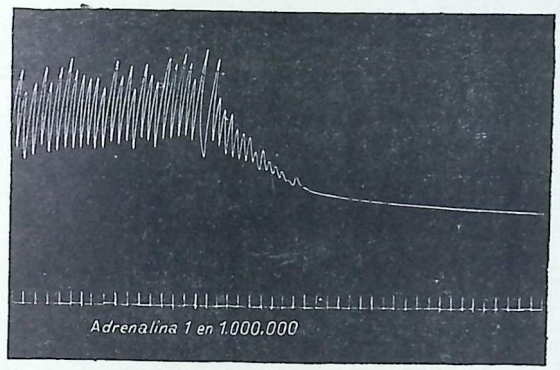


FIG. 101. Influencia de la adrenalina sobre la contracción del íleon en el gato. (Según SCHAFER en su obra: *Las glándulas de secreción interna*)

interrenal, que no tiene relación morfológica ni evolutiva con los cuerpos en pareja. Éstos segregan una hormona similar a la adrenalina; en realidad, estamos autorizados para creer que la substancia medular suprarrenal de todos los vertebrados segrega esta misma hormona. En relación con esto se ha hallado tejido cromafín en las células del mantum del gasterópodo *Purpura lapillus*, y en los anélidos se han considerado de esta índole algunas de las células de los ganglios segmentados. Pero no está claro todavía si estas células son capaces de segregar una hormona similar a la adrenalina.

La única hormona cuya presencia en la sangre ha podido demostrarse sin dejar lugar a dudas es la adrenalina. Esta demostración es fácil, sobre todo en animales que hayan sido asustados o irritados, porque en estas circunstancias las suprarrenales vierten en la sangre una cantidad de adrenalina superior a la habitual. De todos modos, la cantidad encontrada en cada determinación es pequeñísima, correspondiendo a diluciones en el plasma de 1 : *n* millones. Una dilución

tan extrema hace concebir dudas acerca de que el tono arterial sea mantenido normalmente por esta hormona, porque se ha visto que cantidades muy pequeñas de adrenalina actúan disminuyendo la presión sanguínea por disminuir el tono arterial. Algunos observadores afirman que en ninguna ocasión las suprarrenales vierten en la sangre suficiente cantidad de adrenalina para obtener efectos comparables a los que se obtienen con la inyección intravenosa de esta substancia, pero la opinión sustentada más generalmente es que las cantidades de hormona liberada por las glándulas en casos tales, impresión de miedo o de furor, bastan para dar lugar a la vasoconstricción periférica, la erección del pelo, la elevación de la presión sanguínea y la dilatación pupilar, que son los síntomas que acompañan a estos estados.

En ciertos reptiles la adrenalina ejerce sobre los cromatóforos una acción parecida a la de la pituitrina en los anfibios. La estimulación de las suprarrenales o la inyección de adrenalina da lugar a una contracción de los melanóforos que se traduce en un aclaramiento de la piel, siendo interesante anotar que este efecto aparece frecuentemente cuando el reptil es objeto de una fuerte excitación, siendo debido a una descarga de adrenalina análoga a la que se produce en el hombre bajo los efectos de una emoción intensa. Debemos recordar que la adrenalina también afecta los melanóforos de los anfibios.

Las paratiroides. Estas pequeñas glándulas, en número de dos o cuatro, aparecen incluídas en la cápsula del tiroides o situadas a los lados de ella. Se desarrollan a partir de la tercera y cuarta bolsas branquiales y están constituídas por vesículas de células epiteliales separadas por lagunas sanguíneas. Entre las masas de células se encuentran pequeñas cantidades de un material coloide que recuerda el que hemos descrito en el tiroides.

La hormona segregada por las paratiroides ha sido recientemente aislada y designada con el nombre de *paratiroxina*. Esta hormona regula el contenido de calcio en la sangre. Las inyecciones de extractos de paratiroides aumentan el contenido de calcio en la sangre, mientras que la paratiroidectomía hace descender la cantidad de este ion a un nivel muy bajo. En este caso aparece también una irritabilidad marcadísima del sistema nervioso característica del estado conocido con el nombre de *tetania*, que se traduce en su forma más benigna por crispamiento de las extremidades, y en su forma más intensa por convulsiones generalizadas. Durante mucho tiempo se ha venido diciendo que esto era debido a la acumulación en la sangre de uno de los productos resultantes del metabolismo, la metilguanidina, pero las recientes investigaciones han demostrado que esta concepción era errónea.

El tejido intersticial de las glándulas sexuales. En el testículo, este tejido está integrado por células epitelioides llamadas *células de Leydig*, cuya presencia es fácilmente demostrable en los mamíferos,

y, por el contrario, de difícil demostración en los demás vertebrados. Células similares pueden encontrarse en el ovario envueltas por el tejido vascular del órgano. Pueden citarse cuatro series de experiencias para demostrar que dependen más bien de estas células epitelioides, y no de las propias células germinales, los caracteres sexuales secundarios (desarrollo y repartición de los pelos, reparto de la grasa y, en consecuencia, forma somática especial, timbre de voz, etc. Esto, en la especie humana. En las aves, los caracteres sexuales secundarios son la cresta, las plumas de la cola, etc.).

a) Las primeras experiencias demuestran que la extirpación de los testículos o de los ovarios hace que se atenúen los caracteres sexuales secundarios; si el animal castrado es macho toma apariencia de hembra, y si es hembra tiende a perder sus características exteriores de hembra y se masculiniza. En suma, la castración tanto de las hembras como de los machos conduce a un tipo neutro, intermedio, o asexual.

b) Si se liga el conducto deferente de los testículos, las células espermáticas degeneran, pero el tejido intersticial no sufre cambio alguno. En este caso, los caracteres sexuales secundarios se mantienen íntegramente.

c) La irradiación de los testículos con rayos Röntgen provoca una degeneración de las células germinales, quedando el animal estéril. Como en el caso anterior, el tejido intersticial y los caracteres sexuales secundarios permanecen sin alterarse.

d) Por último, si los testículos o los ovarios son extirpados e injertados luego en el tejido celular subcutáneo o en alguna otra parte del organismo, las células germinales contenidas en estas glándulas degeneran completamente. Si el injerto prende (cosa más fácil en el ovario que en el testículo) las células del tejido intersticial continúan viviendo sin experimentar cambios degenerativos, y los caracteres sexuales secundarios no se pierden. Si el injerto degenera y muere, estos caracteres desaparecen y el animal toma el aspecto asexual o de tipo neutro.

De estas experiencias puede deducirse que el tejido intersticial segrega dos hormonas, o mejor dicho, una hormona que determina la aparición de los caracteres sexuales secundarios y una chalona que inhibe las características del sexo contrario, que de esta suerte permanecen latentes. A este respecto deben citarse los efectos producidos en un animal por el injerto de las glándulas sexuales del sexo contrario. En los casos en que el injerto prende, se manifiestan los caracteres sexuales secundarios correspondientes al macho si el animal injertado es una hembra y el injerto fué de testículo, y los caracteres de la hembra si le fueron injertados ovarios a un macho. Los casos más interesantes son aquellos en los que el injerto se hace sin que simultáneamente se castre al animal injertado. Entonces, en el mismo animal se encuentran las glándulas correspondientes a ambos sexos. Si a un cobaya macho le injertamos los ovarios de un cobaya hembra, junto con las

características sexuales secundarias masculinas aparecen otras que son propias del sexo contrario, tales como crecimiento de las mamas y secreción de leche. El animal es ahora mitad macho y mitad hembra. Si se le extirpa un testículo, los caracteres de la hembra se hacen más ostensibles, y si luego se extirpa el otro testículo, estos caracteres resultan dominando completamente el cuadro. Esto prueba que los testículos segregan por las células del tejido intersticial una substancia que impide la aparición de los caracteres sexuales secundarios femeninos.

Aparte de estas hormonas reguladoras de los caracteres sexuales, ninguna de las cuales, por cierto, ha sido aislada ni obtenida siquiera en extractos de una relativa pureza, el ovario produce una hormona que controla el ciclo menstrual. Esta hormona es conocida con el nombre de *estrina*. La inyección de esta hormona a una hembra fuera del celo provoca la aparición inmediata de éste. Se ha supuesto que el celo se manifestaría cuando la cantidad de hormona acumulada en el ovario (o tal vez en la sangre) alcanzara un cierto nivel. Así se explica la periodicidad del celo. La naturaleza química de la estrina es desconocida.

Los islotes de Langerhans. Incluídas en el páncreas se encuentran gran número de agrupaciones celulares integradas por elementos de escaso tamaño. Al contrario de lo que ocurre con los acini, secretores pancreáticos, estas agrupaciones celulares no comunican con conducto alguno. Tales agrupaciones son denominadas islotes de LANGERHANS. El tejido insular equivale a una glándula de secreción interna, siendo completamente independiente del tejido acinoso que constituye la glándula de secreción externa. Las células de los islotes se tiñen difícilmente con los colorantes corrientes, pero según sus afinidades colorantes pueden clasificarse en dos grupos, uno que comprende las células que se tiñen con la eosina, o grupo acidófilo, y otro al cual corresponden las células que contienen gránulos basófilos. En los teleosteos, el tejido insular no está incluído en el espesor del páncreas, sino que forma una glándula aparte.

La extirpación completa del páncreas ocasiona un síndrome morboso conocido con el nombre de *diabetes*, caracterizado esencialmente por una incapacidad de los tejidos para utilizar los hidratos de carbono.

Este trastorno se halla combinado con la movilización de las reservas de glucógeno del hígado y de los músculos que ocasiona una elevación constante de la cantidad de glucosa de la sangre. Esta elevación de la glucosa sanguínea por encima del nivel normal constituye la *hiperglucemia*, que se acompaña de una eliminación de glucosa por el riñón, o *glucosuria*. De este modo la glucosa se elimina sin haber sido aprovechada por los tejidos, los cuales quedan faltos del alimento hidrocarbonado. Consecuencia de esto último es la debilidad muscular (la energía para la contracción muscular dimana principalmente de los hidratos de carbono), adelgazamiento, puesto que la eliminación de todos

los hidratos de carbono que hubieran podido utilizarse va seguida de una conversión de las proteínas en hidrocarbonados, y de aquí la polifagía, la polidipsia y el descenso de la temperatura del organismo.

Esta alteración metabólica acarrea una deficiente oxidación de las grasas, originando esto la formación de *ácidos diacético, β-hidroxibutírico* y *acetona*, que al acumularse en el organismo pueden dar lugar al llamado *coma diabético*, que conduce a la muerte si no es combatido de un modo adecuado. La extirpación parcial del páncreas ocasiona alteraciones del metabolismo hidrocarbonado no tan graves como las descritas. La gravedad depende de la cantidad de tejido insular que haya sido respetada, pudiendo sobrevivir un animal al cual hayamos extirpado siete octavas partes del tejido insular.

La hormona segregada por las células de los islotes se halla contenida en la *insulina*, que puede ser extraída del páncreas de los animales vacunos o de los peces por maceración de la glándula en alcohol acidificado al 95 %. Por este procedimiento se separan los productos de la secreción externa, tripsina, amilasa y lipasa, y se aísla la insulina del líquido que la contiene, siendo precipitada con alcohol absoluto, en el cual es insoluble; separado el precipitado se le disuelve en solución de RINGER. Libre de impurezas la insulina es un polvo blanco en cuya composición entran el azufre y el nitrógeno, pero que no contiene fósforo; soluble en los ácidos y en los álcalis, aunque insoluble en medios de *p*H 5-6. Éste parece ser su punto isoeléctrico, lo cual, unido a algunos otros caracteres que posee propios de las proteínas, la apartan un tanto de las hormonas típicas. Su peso molecular es, en efecto, algo más elevado, y por lo tanto, dializa con dificultad. Si la insulina es, en realidad, una proteína, o si, como ocurre con muchas enzimas, se encuentra meramente asociada a moléculas proteínicas, es un punto que no ha sido dilucidado todavía.

Si a un animal pancreotomizado le inyectamos una dosis adecuada de insulina, la cantidad de glucosa de la sangre desciende notablemente. Al mismo tiempo desaparece la glucosuria, y si se halla en estado comatoso, el animal mejora. Sin embargo, de no repetir las inyecciones de insulina vuelve a instaurarse el cuadro morboso con toda su intensidad. En estos casos, la acción de la insulina no es difícil de comprender, puesto que está claro que su presencia en la sangre devuelve a los tejidos su capacidad para utilizar los hidratos de carbono. Al mismo tiempo, el hígado y los músculos vuelven a ser aptos para convertir la glucosa en glucógeno y almacenar así reservas de glucógeno. Si la insulina se administra por vía parenteral a un animal sano, la glucemia desciende por debajo de los valores normales, aproximadamente 0,1 gramo por ciento, hasta cifras de 0,03 gramos por ciento. Esta hipoglucemia se acompaña de algunos síntomas subjetivos, como hambre, sed, fatiga, debilidad y malestar acentuado, y en casos más graves, si desciende más la glucemia, convulsiones, coma y muerte. Pero este cuadro tan grave remite inmediatamente si administramos una cierta cantidad de glucosa por vía digestiva o

intravenosa. Estos efectos son también atribuíbles a la insulina, por aumentar el metabolismo hidrocarbonado en los tejidos, lo cual hace que la glucosa desaparezca rápidamente de la sangre. Las dificultades surgen, no obstante, al estudiar el destino de este azúcar tan rápidamente desaparecido en la sangre para ser utilizado por los tejidos; recientemente se ha demostrado que es quemado en los músculos durante el período de contracciones convulsivas.

Porción cortical de las suprarrenales. En los elasmobranquios, este tejido forma el cuerpo interrenal. En cuanto a su evolución, aparece desligado por completo de la porción medular de las suprarrenales. Estas dos porciones son, pues, absolutamente distintas, tanto morfológica como embriogénicamente. Su estudio histológico revela que este tejido se halla formado por células de forma poligonal más o menos regular dispuestas en tres capas, denominadas zona glomerular, zona fasciculada y zona reticular. Entre los grupos celulares se ven espacios sanguíneos.

Poco se sabe de las funciones de la porción cortical de las cápsulas suprarrenales, pero, desde luego, es un hecho comprobado que la extirpación del tejido cortical de ambas suprarrenales va seguida casi siempre de muerte. De todos modos, podemos citar, aunque sea brevemente, tres de las más importantes teorías para explicar la función de ellas.

a) La abundancia de lecitina y colesterol existente en sus células ha hecho pensar que la corteza de las glándulas suprarrenales ejerza una marcada influencia en la producción del colesterol, o tal vez que su función consista en controlar el metabolismo de este lipoide. En efecto, la extirpación de fragmentos de corteza suprarrenal ocasiona una disminución de la cantidad de colesterol en la sangre, mientras que la hipertrofia de esta porción da lugar a un aumento de colesterol sanguíneo.

b) Otros opinan que la corteza tal vez elabore un cuerpo precursor de la adrenalina. Esto es inadmisible dada la independencia absoluta entre ambas porciones de las suprarrenales.

c) Se ha querido ver una relación entre la corteza suprarrenal y las funciones sexuales. En apoyo de esta pretensión se ha citado el mayor tamaño de la corteza durante la preñez, y las anomalías sexuales (principalmente precocidad) en casos de tumoraciones de la corteza suprarrenal. Además, se invoca también el origen común de la corteza suprarrenal y de las glándulas sexuales, a partir del mesotelio de la cavidad celómica. De las tres teorías citadas ésta es la más admisible, a pesar de que la supuesta relación entre la corteza y las glándulas sexuales está muy lejos de haber sido probada.

De la corteza suprarrenal no ha sido aislada hormona alguna.

Glándula pineal. Se la encuentra en todos los vertebrados, y en algunos reptiles aparece como un ojo parietal que consta de lente, córnea, retina y nervio óptico. En muchos otros animales existe como una especie de estructura rudimentaria.

No se sabe gran cosa de sus funciones, e incluso se ha llegado a dudar de que sea una auténtica glándula de secreción interna. Los tumores que se desarrollan en ella se asocian a veces con un desarrollo precoz de los órganos sexuales. Lo mismo se observa tras la extirpación de la glándula. Los hallazgos de los invertebrados son, sin embargo, muy contradictorios. Si a los renacuajos se les administra extracto de glándula pineal, los melanóforos se contraen. Estas experiencias, hechas en larvas de otros animales, dan resultados negativos.

Cuerpo lúteo. Resulta de la transformación del folículo de GRAAF una vez expulsado el óvulo. Su función se considera antagónica de la que el ovario lleva a cabo por medio de la estrina.

Si a una hembra preñada le extirpamos el cuerpo lúteo, le provocamos la reaparición del celo y el aborto. Los mismos resultados se obtienen cuando en lugar de extirpar el cuerpo lúteo inyectamos grandes cantidades de estrina.

Timo. Esta glándula se desarrolla a partir de las hendiduras branquiales y está situada, en el niño, en la parte anterior del mediastino. Se cree que segrega una chalona que inhibe el desarrollo de los órganos sexuales. Antes de la pubertad el timo se atrofia, y entonces, como consecuencia de la desaparición de la chalona, los órganos sexuales crecen.

Regulación de la secreción en las glándulas endocrinas. Respecto a las secreciones internas en general, o sea a las funciones incretorias propiamente dichas, no se tienen más datos que en lo que se refiere a las funciones secretoras de las glándulas de secreción externa. En el caso de las glándulas endocrinas, se deduce de la misma naturaleza de su secreción que las hormonas son elaboradas en el interior de las células glandulares, pero se desconoce el mecanismo íntimo de esta elaboración, y no se conocerá hasta tanto que la composición química de todas las hormonas sea conocida. Así, en el caso de la adrenalina, cuya fórmula se ha logrado averiguar, se afirma que deriva de la tirosina.

Exctamente como en el caso de las glándulas exocrinas, la secreción de las endocrinas es controlada por elementos nerviosos o por substancias llevadas por la corriente sanguínea, que a veces pueden ser consideradas como hormonas. Esto se comprenderá mejor citando algunos ejemplos.

El tiroides tiene una inervación muy rica, procedente de los sistemas simpático y parasimpático. Como ocurre frecuentemente con la inervación de las glándulas, es muy difícil separar, en las experiencias, los efectos producidos por los nervios de los cuales dependen directamente las células secretoras, de aquellos otros efectos que

son atribuíbles a la inervación de los vasos que riegan la glándula. Se ha comprobado, no obstante, que la estimulación del sistema simpático da lugar a que el tiroides vierta su secreción en el torrente circulatorio; los estímulos van seguidos de variaciones eléctricas en el tejido glandular. Probablemente, igual que ocurre con las glándulas salivales, estos cambios eléctricos se hallan íntimamente asociados con el proceso secretor mismo. Consecuencia de esta influencia del sistema simpático sobre el tiroides es que la adrenalina, por ser simpatotropa, provoca los mismos efectos que la estimulación del simpático. La inyección de adrenalina o la estimulación del nervio esplácnico que causa una descarga de adrenalina en la sangre va, según hemos dicho, seguida de los mismos cambios eléctricos en el tiroides que la estimulación directa del simpático. En cambio, la excitación del parasimpático no se acompaña de cambios eléctricos en el tiroides, lo cual hace suponer que este sistema no interviene directamente en la secreción.

En la hipófisis no se han hallado todavía nervios que regulen su secreción. Ésta puede ser que en cierto modo dependa del tiroides, puesto que la extirpación de la glándula tiroidea ocasiona, según algunos, una hipertrofia de la hipófisis. Pero tampoco en este caso existe un completo acuerdo entre los fisiólogos.

La inervación de la porción medular de las cápsulas suprarrenales es muy profusa y depende del esplácnico mayor, nervio que forma parte del sistema simpático. Las terminaciones nerviosas están en relación con las células integrantes de la porción medular, las cuales, como ha sido ya explicado, son, en realidad, células ganglionares simpáticas modificadas. La estimulación del nervio esplácnico ocasiona una descarga de adrenalina. La nicotina, el alcanfor y la estrofantina provocan la descarga de adrenalina en la sangre, actuando a través del nervio esplácnico, al cual excitan; en efecto, la secreción de este nervio impide la acción de estas substancias. La secreción de adrenalina parece hallarse controlada por un centro situado en el suelo del cuarto ventrículo. El nervio esplácnico conduciría las excitaciones desde este centro hasta las células de la médula suprarrenal. Probablemente, las descargas de adrenalina que tienen lugar bajo la influencia de emociones intensas, de miedo o furor, serán debidas a la excitación de ese centro en dichos estados emocionales. Aunque la adrenalina influye en la actividad de varias glándulas endocrinas, no parece que exista reciprocidad, o sea que las hormonas segregadas por estas u otras glándulas no influyen en la secreción de adrenalina.

Las células de los *islotes de Langerhans* tienen una inervación abundante, encontrándose plexos nerviosos sobre la superficie de cada islote. Los nervios, aquí, proceden del parasimpático (vago) y del simpático. La excitación del vago produce un descenso en el contenido de azúcar sanguíneo, que puede ser achacado a una liberación de insulina; en cambio, la excitación del simpático no parece producir efecto alguno.

El gobierno nervioso de las glándulas de secreción interna restantes es desconocido todavía. Algunas de ellas, las paratiroides y la corteza de las suprarrenales, están profusamente inervadas, pero la estimulación de los nervios no produce efecto apreciable. En la glándula pineal y en las glándulas sexuales no se encuentra una inervación clara y definida.

En la mayoría de los casos hay una interrelación compleja entre los diversos tejidos incretores. Sólo en algunos de ellos la relación recíproca es clara y manifiesta, por ejemplo, la porción medular de las suprarrenales y la glándula tiroides. Pero la mayoría de estas correlaciones están todavía bastante lejos de ser conocidas y los síndromes que ellas ocasionan están aún sujetos a discusión. Se sabe, por ejemplo, que la adrenalina y la insulina son mutuamente antagonistas, y que la actividad de la corteza suprarrenal está relacionada con la de las glándulas sexuales. La discusión de estas interacciones está fuera del alcance de este libro.

Capítulo XI

Tropismos

Tropismos. En muchos animales inferiores, y a veces en otros más diferenciados, observamos ciertas funciones que, al primer golpe de vista, parecen estar bajo el control de una inteligencia y de una voluntad, pero que, en realidad, dependen de actos puramente resultantes de estímulos periféricos. En la nomenclatura usual estos grupos de respuestas constituyen los *tropismos,* que se diferencian en los distintos casos por medio de prefijos que expresan la clase de estímulo externo a que obedecen. Así, el movimiento de atracción que ejerce la luz sobre algunos organismos se denomina *heliotropismo positivo,* y aquel por el cual el organismo huye de la luz, *heliotropismo negativo;* la atracción determinada por algunas substancias químicas constituye un *quimiotropismo;* no es necesario explicar el significado de la palabra *termotropismo.* Se llama *galvanotropismo* el movimiento determinado por el paso de una corriente eléctrica; *geotropismo,* a la tendencia de mantener una posición vertical con respecto al suelo mediante un conjunto de actos reflejos; *estereotropismo,* a la tendencia a mantener un contacto constante con una superficie, etc. Cada uno de estos tropismos puede ser *positivo* o *negativo,* según que la respuesta sea en la misma dirección del estímulo o en dirección contraria.

El hecho característico de todos estos tropismos es que la respuesta depende por completo, aunque a menudo no sea de un modo directo, de la naturaleza del estímulo externo. Un ejemplo aclarará lo que venimos diciendo. Cuando hacemos actuar un estrecho haz luminoso sobre distintas zonas del cuerpo de la *Ciona,* el animal contrae sus sifones y el extremo anterior del cuerpo. Que esta respuesta depende enteramente de la naturaleza del estímulo lo prueba el hecho de que repetida la experiencia procediendo del mismo modo se obtiene siempre el mismo resultado, y que si variamos el estímulo varía la respuesta obtenida, siendo menos intensa cuando el excitante es más débil. Por otra parte, el reflejo no se desarrolla porque la luz actúe directamente sobre las células, sino por cambios químicos verificados por la luz al actuar sobre una substancia contenida en los

fotorreceptores del organismo, siendo estos cambios químicos los que excitan al rudimentario sistema nervioso del animal, provocando un reflejo que se manifiesta por una contracción de las cintillas musculares que determina un acercamiento de los sifones. Este mecanismo indirecto presenta una estrecha analogía con ciertos mecanismos físicos en lo que a resultados cuantitativos se refiere, ya que la correspondencia entre la intensidad del estímulo y la respuesta puede ignorarse, aunque ésta tenga lugar como debida directamente al estímulo. Algo muy semejante a lo que ocurre, por ejemplo, con la combinación del cloro con el hidrógeno cuando actúa la luz sobre una mezcla de estos gases.

La palabra *tropismo* no es más que una acertada denominación dada a ciertos grupos de fenómenos, pero que no supone la definición del concepto que con ella se quiere expresar. Esta clase de respuestas deben ser cuidadosamente estudiadas antes de incluirlas en el grupo de los tropismos, criterio seguido rigurosamente con algunos de los fenómenos reconocidos como verdaderos tropismos. Importa mucho al estudiante no caer en el error de pensar que puede darse la misma explicación a todos los tropismos pertenecientes a un mismo tipo general; puede haber, por ejemplo, varios mecanismos para el mismo tropismo, como ocurre en el caso del geotropismo, y puede ocurrir que el mismo tropismo obedezca en los distintos animales a mecanismos también distintos, como sucede, por ejemplo, con determinadas variantes de quimiotropismo.

Los tropismos son interesantes por dos razones, una de las cuales es considerada frecuentemente como de mayor importancia que la otra. En primer lugar, el hecho de reconocer una respuesta como dependiente de un estímulo permite apreciar y medir la relación de intensidad entre el estímulo y la respuesta, y en algunos casos incluso reducirla a simples leyes físicas. En efecto, es mucho más satisfactorio, desde un punto de vista científico, saber que el movimiento de un camarón hacia el ánodo, en un circuito eléctrico, es debido a que la corriente hace que se contraiga precisamente un grupo determinado de músculos y no otros, que no atribuir estos hechos a una "preferencia por el ánodo" o a dejarlos sin explicación. En segundo término, se ha dicho que muchos de los movimientos considerados en el hombre y en los animales superiores como conscientes, son, en realidad, tropismos verdaderos, y que la mayoría de nuestros actos, si no todos, pueden ser considerados en último término como respuesta a estímulos que obran desde el exterior, bien en el mismo momento o por experiencias anteriores. Ciertos autores juzgan preferible esta opinión a aquella que considera nuestros actos "completamente determinados por nuestra propia voluntad". Jacques Loeb, a quien se deben la mayoría de nuestros conocimientos sobre los tropismos, fué un decidido mantenedor de este punto de vista, y en los últimos renglones de la monografía en que trata de estas cuestiones dice: "Nuestra concepción del "libre albedrío" descansa sobre el hecho de que no somos capaces, frecuente-

mente, de explicar nuestros propios actos por medio de la fuerza que conocemos, especialmente cuando ejecutamos actos premeditados o cuando llevamos a cabo actos que son en perjuicio de nosotros mismos, debiéndose este conocimiento incompleto al infinito número de combinaciones posibles, sinérgicas o antagonistas entre sí, de los efectos de las imágenes almacenadas en nuestra memoria" (siendo cada "imagen mental" el resultado de un estímulo externo). En síntesis, hay poquísima diferencia entre esta teoría y la del conductismo, que supone que somos meros autómatas a merced de las fuerzas externas.

La concepción de los tropismos no es enteramente nueva. La palabra tropismo fué primeramente usada por DE CANDOLLE, en 1835, para designar el hecho de que una planta se orientara hacia la luz. Los términos geotropismo, quimiotropismo, termotropismo, etc., fueron introducidos en años posteriores, entre 1870 y 1902. Pero la idea que encierra la palabra tropismo es muchísimo más antigua que la palabra empleada para designarla, pues hace ya mucho tiempo que se pensó que ciertos movimientos de las plantas y de los animales podían ser tan sólo la consecuencia de estímulos apropiados que actúan sobre la periferia; así, en fecha remota como la del año 1693, RAY decía que la tendencia de inclinarse hacia una ventana que presentan las plantas mantenidas en una habitación, era debida a la diferencia de temperatura existente entre la parte del tronco orientada hacia el exterior y la parte que corresponde al interior de la habitación.

Heliotropismo. El ejemplo más conocido de heliotropismo es el que se observa en las plantas que tienden a crecer hacia la luz. La palabra heliotropismo fué precisamente usada por primera vez para designar esta particularidad. Algunas plantas son especialmente sensibles a pequeñas diferencias de iluminación; la *Vicia sativa,* por ejemplo, lo es tanto que se incurva hacia un lado o hacia otro por el influjo de diferencias tan pequeñas que son casi inapreciables e inconmensurables por los procedimientos fotométricos. Otras plantas son mucho menos sensibles, y sólo cuando crecen en medios muy pobremente iluminados muestran su heliotropismo.

Los movimientos por los cuales las plantas cambian de orientación son muy complejos y varían en las distintas especies. Muchas hojas se disponen de tal manera que forman un ángulo recto con los rayos lumínicos más intensos que inciden sobre ellas, para absorber así la mayor cantidad posible de radiaciones luminosas; y si estas hojas lo son de vegetales que crecen al aire libre, trazan un ángulo de 180° en el curso de un día siguiendo a los rayos solares; por la mañana, el haz de las hojas está orientado hacia el Este, a mediodía hacia el Sur, y durante la tarde hacia el Oeste. En ocasiones encontramos que el haz de las hojas se orienta hacia el Este o hacia el Oeste, independientemente de la posición de las plantas. Esta orientación hacia la luz o huyendo de ella no se limita a las plantas clorofílicas, sino que se da también en algunos musgos y hongos.

El mecanismo en virtud del cual la planta se incurva del lado que puede considerarse más iluminado es interesantísimo. Este fenómeno ha sido atribuído a un crecimiento más intenso de las células de la mitad del tallo más alejada de la luz. Pero, a nuestro juicio, la explicación más satisfactoria es la que damos a continuación. La luz aumenta la permeabilidad de las células de las hojas y del tallo; consecuencia de este aumento de permeabilidad de las membranas celulares en las partes expuestas a la luz es la cesión de electrólitos por parte de las células a los líquidos circulantes, y por lo tanto, tiene lugar una disminución de la turgencia de estas células; esta disminución de la turgencia en una mitad (en sección longitudinal, se entiende) del tallo, ocasiona un desequilibrio con las fuerzas desarrolladas por las células de la otra mitad, que conservan su permeabilidad normal y, consecuentemente, una incurvación del tallo hacia el lado más iluminado.

El estudio de estos procesos en los vegetales más diferenciados es demasiado complejo, siendo preferible, para formarnos una idea adecuada de ellos, estudiarlos en los organismos más sencillos, en los que el análisis de tales mecanismos resulta más fácil. La *Euglena* — Talofita de la clase de los flagelados — se presta admirablemente a estas observaciones. Éste es un organismo unicelular que avanza reptando con una velocidad aproximada de 0.3 mm. por minuto y combinando el movimiento de traslación con otro de rotación de todo el cuerpo verificado de modo que el extremo anterior del organismo describe una espiral. Posee una "mancha oceliforme" situada en la superficie dorsal, que se mantiene siempre en la dirección del eje de la espiral. Normalmente, este organismo muestra heliotropismo positivo, o sea que se mueve hacia la luz. Si la intensidad lumínica decrece, inmediatamente el extremo anterior del organismo se incurva hacia atrás, de modo que forma con el extremo posterior un ángulo recto, y el movimiento del organismo se suspende. Lo mismo sucede cuando la luz cae directamente sobre la mancha oceliforme. La respuesta puede ser determinada, ya por una variación en la intensidad de la luz, ya por un cambio en la dirección. Después de una pausa, el organismo comienza a orientarse buscando la dirección de la luz, para lo cual gira lentamente el extremo anterior; cuando se halla orientado hacia el foco luminoso reanuda en seguida sus movimientos, pero si no ocurre así, la región de la mancha oceliforme se ilumina desigualmente mientras el organismo está girando y nuevamente vuelve a orientarse incurvándose en ángulo recto. Después de una pausa, intenta situarse otra vez de un modo conveniente, y estas tentativas continúan hasta que, por último, se sitúa de tal forma que la mancha oceliforme queda resguardada y no sufre cambios en la intensidad luminosa cuando el organismo se mueve. Un desplazamiento del foco luminoso causa los mismos fenómenos que hemos descrito.

Cuando el organismo se halla situado entre dos focos luminosos, se mueve hacia un punto comprendido entre ambos focos, pero des-

pués de haber realizado los movimientos previos de orientación. Si un foco es más potente que el otro, el movimiento se realiza en la dirección del punto situado más cerca del foco más potente que del que lo es menos. En realidad, lo que hace el organismo en este caso es seguir el camino trazado por los puntos desde los cuales están equilibradas las atracciones respectivas de ambos focos sobre él. Estamos seguros de que en el cuerpo de la *Euglena* existe un fotorreceptor situado precisamente en las proximidades de la mancha oceliforme (o tal vez en toda la extensión de la mancha), cuya estimulación ocasiona la peculiar forma del movimiento que constituye la respuesta, y ésta da lugar a que el pequeño organismo quede orientado hacia la luz. La *Euglena* constituye probablemente uno de los ejemplos más sencillos de esta clase de fenómenos.

Es importante advertir que la *Euglena* no es tan sensible a la intensidad luminosa propiamente dicha como a las variaciones de esta intensidad. Aquí puede aplicarse la "ley de WEBER": la respuesta depende más de las diferencias en la intensidad del estímulo que de los valores absolutos.

Podremos suponer una fracción constante que indique las variaciones sufridas por el estímulo. Esta fracción constante, sumada o restada al estímulo, determinará siempre respuestas análogas. Quiérese decir con esto que si a una excitación de intensidad 10, por ejemplo (pueden ser 10 gramos, 10 voltios, etc.), hemos de sumarle o restarle uno, para que en la respuesta a ese estímulo haya una diferencia que podamos apreciar, la fracción constante, que habremos de añadir o restar al estímulo en todos los casos, será de $\frac{1}{10}$ si queremos obtener una modificación en la respuesta. Y así, en la *Euglena* obtendremos una respuesta si la intensidad del manantial luminoso es aumentada o disminuída según una fracción constante, entendiendo, sin embargo, que el cambio en la intensidad del excitante ha de hacerse bruscamete, porque si se verifica con lentitud no habrá respuesta, por depender ésta tanto de la magnitud del cambio como de la rapidez con que se ha verificado.

En cierto modo, el proceso del heliotropismo es más sencillo cuanto más diferenciado sea el organismo objeto de estudio, debiéndose esto principalmente a que los seres más complejos obedecen a leyes de simetría en su constitución. Supongamos el caso de las larvas de *Porthesia*. Estos animales presentan heliotropismo positivo inmediatamente después del período de invernación. Si se colocan en un tubo de ensayo y éste se dispone de modo que forme un ángulo recto con una ventana, las orugas se mueven hacia la luz y permanecen reunidas en el extremo del tubo más próximo a la ventana, hasta que variamos la posición del tubo haciéndole describir un ángulo de 180°; entonces vuelven a moverse hasta llegar al otro extremo del tubo, que es ahora el más próximo a la ventana. Este movimiento es completamente forzado y debido al estímulo lumínico. Las larvas de moscarda presentan, en cambio, heliotropismo negativo. De todos modos, el animal orienta en cada caso su plano de simetría en la dirección del foco luminoso, precisamente como sucede en la Euglena cuando verifica sus movimientos de reptación y rotación.

Las investigaciones de LOEB, de HOLMES y de GARREY han demostrado claramente que la orientación particular tomada por el animal heliotrópico es debida a que en la posición adoptada los músculos de ambos lados del organismo están sometidos a la misma tensión. La demostración de estos hechos ha resultado del estudio de los *movimientos forzados* que se desarrollan cuando se impide que la luz llegue a uno de ambos ojos del animal; estos estudios se han hecho principalmente en el insecto *Proctacanthus*. Si impedimos que la luz impresione uno de los ojos del animal, y el foco luminoso se coloca

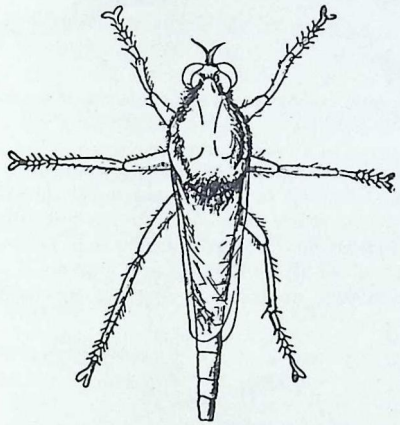


FIG. 102. Posición normal del *Proctacanthus*, visto por su región dorsal. (De LOEB, según GARREY)

frente a él, los miembros de la mitad del animal correspondiente al ojo falto de luz se estiran y los músculos se relajan; en cambio, los miembros y los músculos de la otra mitad experimentan fenómenos inversos. Cuando esto sucede, el animal situado sobre la mesa adopta una posición oblicua a ella, porque los miembros de un lado están contraídos y los del lado contrario relajados, con lo cual el cuerpo del animal bascula, porque es más solicitado hacia un lado que hacia otro. Si la luz llega de nuevo a ambos ojos del animal, éste recupera inmediatamente su posición normal. Si pintamos de negro las dos mitades inferiores de ambos ojos, los miembros anteriores y los posteriores se contraen y, en consecuencia, la parte anterior del cuerpo del animal se levanta sobre el plano de la mesa, quedando en una posición oblicua merced a una acción simétrica de los grupos musculares perte-

necientes a los miembros anteriores y posteriores. Por otra parte, el ennegrecimiento de las mitades superiores de los ojos da lugar a que la mitad anterior del cuerpo quede como abatida; los miembros posteriores se extienden, los anteriores se flexionan y la cabeza cae inclinada sobre la mesa. Como antes, si los ojos recobran su normalidad el animal vuelve a tomar su posición habitual.

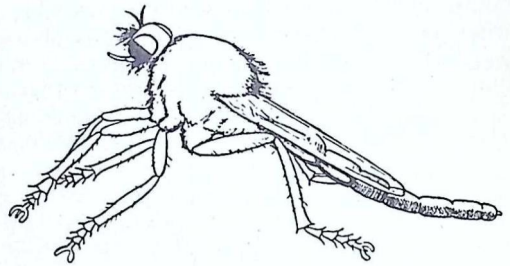


FIG. 103. Posición del *Proctacanthus* con la mitad inferior de los ojos ennegrecida. (De LOEB, según GARREY)

Estas experiencias demuestran, sin dejar lugar a duda, que los ojos ejercen un control sobre la tensión muscular de diferentes miembros, y particularmente sobre la tensión de los músculos de las mitades opuestas del organismo. Los resultados son análogos cuando la sensación luminosa en un ojo es más intensa que en el otro, por llegar a cada ojo luz procedente de focos de distinta intensidad, porque en

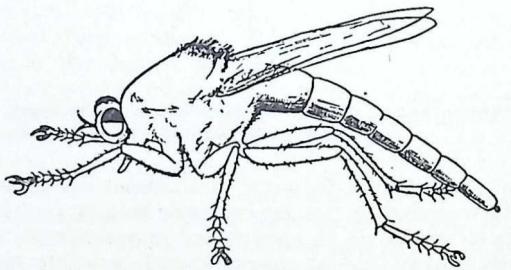


FIG. 104. Posición del *Proctacanthus* con la mitad superior de los ojos ennegrecida. (De LOEB, según GARREY)

este caso el ojo menos iluminado corresponde al ojo ennegrecido de los experimentos anteriores. El animal sometido a estas condiciones experimentales, si se mueve, está claro que lo hará de manera que el ojo menos iluminado pueda percibir más luz, y que, consecuentemente, el más iluminado perciba menos. Esto, en resumen, equivale a una orientación del animal por sí mismo, buscando que ambos ojos estén

igualmente iluminados. Los organismos con heliotropismo negativo experimentan fenómenos completamente inversos. Si disminuímos la luz que llega a uno de los ojos, los miembros de la mitad correspondiente a este ojo se contraen; si la luz llega a un solo ojo, los miembros situados del lado de este ojo se distienden. En estos casos, el animal procura orientarse de modo que ambos ojos reciban la misma cantidad de luz. Las reacciones heliotrópicas pueden estudiarse desde un punto de vista cuantitativo. A este respecto mencionaremos la ley de BUNSEN-ROSCOE, que dice: "dentro de ciertos límites el efecto producido por la luz aumenta como el producto de dos factores: intensidad y duración". Esto puede expresarse por una fórmula en la que intensidad por tiempo es igual a una constante

$$I \cdot t = \text{constante.}$$

Esta ley se cumple en la mayoría de las reacciones fotoquímicas, por ejemplo, en la combinación del cloro y del hidrógeno bajo la influencia de la luz, o (con una ligera modificación) en la reducción de las sales de plata en una placa fotográfica. Como ejemplo biológico podemos citar el de las semillas de la *Avena sativa* cuando son expuestas a la luz; los cuadros siguientes muestran la relación existente entre el tiempo necesario de exposición a la luz y la intensidad de la luz misma, en un 50 % de las semillas.

I, en bujías	t	$I \cdot t$	I, en bujías	t	$I \cdot t$
0,00017	43 horas	26,3	18,94	1 seg.	18,9
0,00177	3 horas	19,1	308,70	$^2/_{25}$ seg.	24,7
0,01640	20 min.	19,7	1255,00	$^1/_{55}$ seg.	22,8
0,6156	40 seg.	24,8	7905,00	$^1/_{400}$ seg.	19,8
3,0280	8 seg.	24,2	13094,00	$^1/_{800}$ seg.	16,4
			26520,00	$^1/_{1000}$ seg.	26,5

Estos cuadros enseñan el modo de aplicar la ley muy claramente, porque aunque el tiempo de exposición varía desde 43 horas a una milésima de segunda, el valor de $I \times t$ es casi una constante. Esto demuestra la sensibilidad exquisita de estas semillas a la luz, porque obrando ésta en un tiempo tan pequeño como es una milésima de segundo, produce, sin embargo, una curvatura heliotrópica.

Los diferentes colores del espectro difieren grandemente en lo que respecta a sus efectos sobre el heliotropismo. En la mayoría de las plantas, la luz amarilla no determina efecto alguno; para el resto de los colores, la intensidad de su efecto es directamente proporcional a su distancia, en el espectro, a la banda *D*. Así, la luz roja y la violeta ejercen un efecto muy marcado, mientras que la azul y verde son en este sentido intermedias entre la amarilla y la violeta. En algunos hongos, la luz roja y la violeta tienen el mismo efecto. En la *Ameba*, *Euglena* y *Paramoecium* el color que determina mayor efecto es el

azul; en la *Daphnia* el verde, y en el *B. photometricum* el color rojo y aun las radiaciones infrarrojas. La *Oscillatoria* es igualmente sensible a todos los colores. Para las larvas recientes de *Arenícola*, la porción del espectro más eficiente es la azul-verde, siendo en cambio la zona amarillo-verde más eficaz para las larvas del *Balanus eburneus*. Estos ejemplos demuestran que no hay una regla general que especifique qué región del espectro es la que determina mayor efecto heliotrópico, y que lo que es verdad en el caso de un animal resulta falso aplicado a otro.

En ciertas condiciones, la respuesta heliotrópica de un animal puede ser modificada bien por el sistema nervioso central o de algún otro modo. Los crustáceos *Daphnia* y *Gammarus*, que normalmente no tienen sensibilidad heliotrópica, pueden transformarse en animales muy sensibles por la adición al agua en que ellos viven de pequeñas cantidades de un ácido, especialmente CO_2. Los ésteres y alcoholes actúan del mismo modo. En el cuadro siguiente vienen expresadas las cantidades mínimas que se necesitan de varias substancias para determinar este efecto:

Ácido fórmico	0,006 N.	Alcohol etílico	0,19 N.
Ácido acético	0,006 N.	Alcohol propílico ...	0,05 N.
Ácido propiónico ...	0,005 N.	Alcohol butílico	0,02 N.
Ácido butírico	0,004 N.	Alcohol isobutílico ...	0,04 N.
Ácido valeriánico ...	0,004 N.	Alcohol amílico	0,01 N.
Ácido caprónico ...	0,002 N.		

En general, la influencia del ácido o del alcohol es más intensa a medida que aumenta su tamaño molecular. Es interesante observar que estos efectos son más marcados en un medio cuya temperatura sea más bien baja que alta.

En el caso de los pequeños crustáceos *Diaptomus*, que como los del género *Daphnia* y *Gammarus* en condiciones normales son insensibles a la luz, la adición en el medio que viven de pequeñas cantidades de cafeína es suficiente para despertar un intenso heliotropismo negativo, que dura aproximadamente media hora.

En ciertos casos es posible convertir un heliotropismo negativo en positivo, como ocurre con las larvas *Polygordius*, un gusano marino. Este cambio de reacción positiva en negativa es determinado, en el ejemplo presente, por medio de temperatura, puesto que si la hacemos descender, las larvas con heliotropismo negativo se convierten en heliotrópicas positivas, y éstas pueden a su vez convertirse en negativas cuando aumentamos la temperatura. Estos heliotropismos son también influenciados por cambios en la presión osmótica del medio en que el animal vive. En ocasiones, los tropismos ocurren como resultado de funciones normales del organismo, que frecuentemente nos dan la explicación de la conducta del animal. El ejemplo más notable es el de las orugas de *Porthesia*, las cuales presentan un intenso heliotropismo positivo antes de haberse alimentado. Si las colocamos en el fondo de una vasija que contenga ramitas de una planta que les sirva de alimento, ascienden hasta llegar a alcanzar las partes más iluminadas de estas ramitas, donde precisamente están las hojas más tiernas y verdes. Estas hojas les sirven de alimento, y cuando ya las han digerido el heliotropismo positivo se convierte en negativo. Las orugas inician entonces un descenso buscando las partes menos iluminadas de las ramitas, donde encuentran más material alimenticio. Este proceso, considerado superficialmente, parece que se halle regido por una inteligencia, aunque en realidad sea un fenómeno supeditado a un estímulo externo, la luz. El animal primeramente llega a las partes donde el alimento es más abundante y procura estar rodeado de alimentos frescos, y estos procesos en busca de alimento son la consecuencia del heliotropismo. La demostración de esto se logra disponiendo las hierbecitas en un área del recipiente completamente ensombrecida; en estas circunstancias las orugas se moverán, sin embargo, hacia la luz y permanecerán en el área iluminada, llegando hasta perecer de hambre, siendo así que tienen alimento de sobra a poquísima distancia de ellas.

En los seres mucho más diferenciados la causa de los tropismos debe ser referida al sistema nervioso central, pero cuando interviene este sistema quedan muchas veces sin explicación posible, dado lo reducido de nuestros conocimientos actuales. Puédense estudiar estos fenómenos en animales cuyo sistema nervioso de coordinación sea muy rudimentario. El estudio de estas formas arroja alguna luz sobre estos mecanismos. Citaremos la reacción a la luz presentada por el *Ciona intestinalis*, organismo que habita en el mar, estudiada con métodos muy ingeniosos por HECHT.

Este organismo consta de tres partes: la anterior proyecta varios largos sifones; la parte media contiene una masa neural, y la posterior, el aparato digestivo y los órganos de la reproducción. Las partes extremas son prácticamente insensibles a la luz; la región media presenta, en cambio, sensibilidad lumínica. Cuando proyectamos la luz sobre esta porción media, el organismo responde con una retracción de los sifones. Ésta es la que pudiéramos decir reacción general; aparte de ella, se produce una reacción local que consiste en una contracción muscular que determina el acercamiento del animal hacia la luz. La retracción de los sifones no se verifica inmediatamente de actuar la luz sobre la porción media o neural, sino después de un *período de latencia* durante el cual no ocurre reacción alguna. Generalmente, este período de latencia dura de tres a cuatro segundos.

Sin embargo, si el tiempo de exposición a la luz es más corto que el período de latencia, por ejemplo, de 1,5-2,0 segundos, el *Ciona* reacciona, después de un tiempo de 3 a 4 segundos, igual que antes. Parte del período de latencia no requiere, pues, la presencia de la luz. Este período se llama *período de sensibilización* y su duración depende de la intensidad de la luz empleada en la experiencia. La relación

entre la intensidad de la luz y la duración del período de sensibilización está explicada por la ley ya citada de BUNSEN-ROSCOE, y que ahora puede expresarse así:

$$\text{Efecto} = k \cdot I \cdot t,$$

y si el efecto es constante, como en el caso de la retracción de los sifones en la Ciona, podremos escribir la fórmula como sigue:

$$\frac{1}{t} = k \cdot I$$

en la cual t indica la duración del período de sensibilización, e I, como anteriormente, la intensidad de la luz. Demostrada la existencia de esta ley, debemos ahora interpretarla. A poco que nos fijemos veremos que de esta ley parece desprenderse que durante el período de sensibilización se forma en los "fotorreceptores" una cantidad constante de una substancia que es la que produce el efecto, y que antes de producirse esta cantidad determinada no hay respuesta alguna. El cuerpo derivado de las substancias "fotosensibles" obra, pues, como "estímulo" para la contracción de los sifones.

Podemos hacer que disminuya la duración del período de sensibilización. Para esto haremos que el *Ciona* permanezca por espacio de algunas horas en un medio oscuro para que tenga lugar una "adaptación del organismo a la oscuridad", y dicho período quedará reducido a un quinto del que presenta en un organismo no sometido a esta adaptación a la oscuridad. El aumento de la sensibilidad se manifiesta, por otra parte, de un modo constante, rápidamente al principio y muy lentamente después de pasada una hora. Esto puede demostrar la acumulación de substancias fotosensibles en los receptores del animal, creyendo HECHT que esta acumulación resulta de la formación de otras substancias precursoras insensibles a la luz. Una vez que la substancia fotosensible se ha formado en cantidad suficiente, el *Ciona* puede reaccionar a la luz; el primer cambio que tiene lugar es que la substancia sensible a la luz se convierte en el cuerpo precursor, y el segundo, que esta última substancia, al acumularse, proporciona el estímulo para la retracción de los sifones.

Si los estímulos luminosos se suceden con alguna frecuencia, llega un momento en que el organismo deja de reaccionar a la luz. Esta falta de respuesta se obtiene a menudo cuando un excitante ha obrado repetidas veces sobre un organismo y es habitualmente interpretada como una "adaptación" al estímulo. Pero en el caso del *Ciona* no es admisible esta explicación, porque lo que sucede aquí es que tras la exposición prolongada o repetida del organismo a la luz, la respuesta deja de producirse al cabo de cierto tiempo por haberse transformado toda la substancia fotosensible en el cuerpo precursor, cuya acumulación actúa como estímulo. Por lo tanto, aquí no puede hablarse de "adaptación" o de "mecanismo muy diferenciado", porque

lo que ocurre, en realidad, es un sencillo fenómeno químico en los fotorreceptores del animal.

Los resultados obtenidos en el *Ciona* hacen pensar si las reacciones de otros organismos obedecen también a cambios verificados en substancias fotosensibles. En la *Euglena* y en otros organismos igualmente fotosensibles es posible que la luz dé lugar a reacciones similares a la que hemos estudiado; estas consideracione pueden, seguramente, hacerse extensivas a otros seres más diferenciados provistos de un sistema nervioso central en un grado avanzado de evolu-

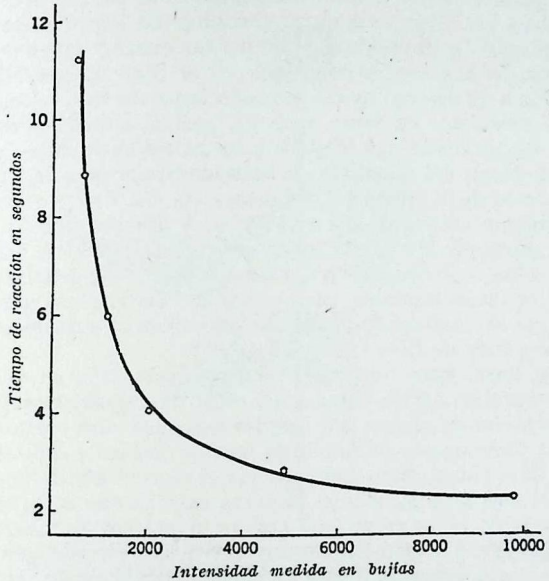


FIG. 105. Tiempo de reacción del *Ciona*, en función a la intensidad de luz. (Según HECHT)

ción. En el *Ciona*, la conversión de la substancia fotosensible en el precursor resulta probablemente de la excitación de la masa neural contenida en la porción media del cuerpo, desde la cual se transmitiría a los sifones y a la musculatura local. Del mismo modo puede suponerse que la luz produzca cambios químicos en ciertas substancias contenidas en los ojos de algunos insectos, lo cual origine impulsos que, transmitidos por el sistema nervioso central, vendrían a terminar en los efectores musculares del organismo. Desde cierto punto de vista no encontramos nada nuevo en esta forma de considerar las cosas, pero examinada la cuestión bajo otros aspectos vemos que, admitiendo los cambios químicos en las substancias contenidas en los fotoceptores,

estamos en posesión de una base para verificar investigaciones experimentales, mientras que si achacamos todos los efectos a la complejísima acción del sistema nervioso, quedamos imposibilitados para realizar esas experiencias.

Geotropismo. También en esta forma de tropismo encontramos los ejemplos cuya observación nos es más familiar en el reino vegetal. Es un hecho perfectamente conocido que las ramas crecen hacia arriba y las raíces hacia abajo; se sabe también que si el tallo de una planta en germinación se dispone horizontalmente, las ramas crecerán hacia arriba y las raíces hacia abajo, formando un ángulo recto con el eje de la planta. La dirección seguida por las ramas y raíces depende de la fuerza de la gravedad; en efecto, si se fijan unas semillas en germinación a un disco al que se le pueda imprimir una velocidad de rotación considerable en torno a un eje central situado horizontalmente, la fuerza centrífuga impulsa a las raíces hacia fuera y a los tallos hacia el eje del disco. Con la velocidad impresa a la rueda se anula la acción de la gravedad y se desarrolla una fuerza centrífuga. Para distinguir entre una dirección y otra decimos que los tallos presentan geotropismo negativo, o sea que crecen alejándose del suelo, y que las raíces lo tienen positivo, o sea que crecen dirigiéndose hacia el suelo. Las ramas laterales, que quedan en posición horizontal, son denominadas *apogeotrópicas;* no muestran tendencia a dirigirse hacia el suelo ni a huir de él.

Según Loeb, estos procesos tienen su explicación en un crecimiento desigual en ambas mitades del tallo. Si suspendemos un tallo de *Bryophyllum calycinum* por sus dos extremos, una parte de este tallo toma prontamente la forma de una U; haciendo señales en el tallo con tinta china comprobaremos que el crecimiento de la corteza del tallo es más pronunciado en la curva externa que en la interna. La presencia de hojas en el tallo acelera el proceso de incurvación, obteniéndose en el mismo tiempo una curva más cerrada que en los tallos sin hojas. Loeb da a esto la siguiente explicación. Dice que cuando el tallo está provisto de hojas, el material nutritivo que la planta necesita para crecer se forma proporcionalmente a la cantidad de tejidos vivos, y que este material nutritivo, por ser líquido, fluye (o tal vez difunde) más fácilmente hacia las partes más bajas, concentrándose, por lo tanto, en estas partes, con lo cual el crecimiento se verifica más rápidamente en la mitad del tallo que mira el suelo, y la curvadura geotrópica tiene lugar. Si el tallo carece de hojas, las substancias que proporcionan la energía necesaria para el crecimiento se elaboran lentamente, y, en consecuencia, la curvadura geotrópica es menos marcada. Por lo que respecta a los vegetales, esta explicación es admisible.

El geotropismo presenta en los animales un aspecto completamente distinto al de los vegetales. Es evidente que las explicaciones tan simples que hemos dado para el geotropismo de las plantas no

pueden aplicarse aquí. Es un hecho de observación corriente que la mayoría de los animales tienden a permanecer erectos, realizando esfuerzos tenaces para recobrar su posición normal cuando son invertidos. Una descripción detallada de los complicados procesos que contribuyen al mantenimiento de la posición vertical nos llevaría demasiado lejos; pero podemos formarnos una idea, aunque ligera, refiriendo unos cuantos casos particulares.

Todo el mundo sabe que un gato arrojado desde cierta altura cae sobre sus patas, cualquiera que sea la posición en que se le arroje.

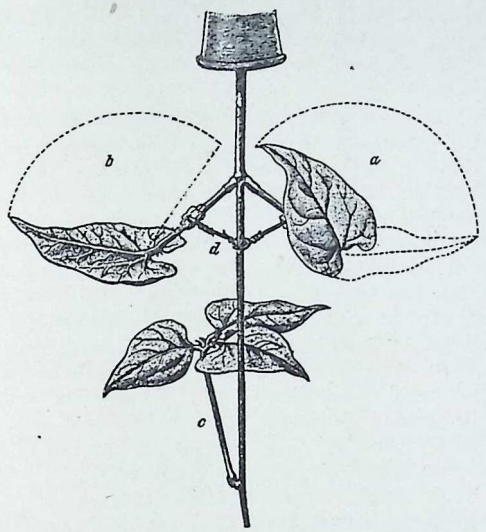


Fig. 106. Geotropismo en una planta invertida. Las hojas adoptan su posición normal con respecto al suelo, el peciolo pasa de la posición invertida *b*, siguiendo el trayecto indicado en *a*, a la posición definitiva *c*. (Según Palladin, *Fisiología Vegetal*, Blakiston)

Este fenómeno no depende de un acto voluntario, puesto que la extirpación de los hemisferios cerebrales no impide que el gato recobre su posición normal. Sin embargo, si extirpamos al gato los conductos semicirculares y el vestíbulo del caracol en ambos lados, o si seccionamos ambos nervios vestibulares, el animal ya no cae indefectiblemente con los pies hacia abajo. Los órganos periféricos encargados de llevar a cabo el proceso mediante el cual el gato mantiene su posición están, por lo tanto, alojados en ambos laberintos, compuestos, como es sabido, por los conductos semicirculares, vestíbulo, utrículo y sáculo, siendo los conductos semicirculares los más importantes. Si estos órganos son extirpados, el animal pierde completamente la facultad de mantener el equilibrio en posición vertical.

Pero los efectos conseguidos por esta extirpación no son permanentes, sino que a los pocos días se recobra la facultad de caer de pies aun cuando los conductos semicirculares no hayan recuperado sus funciones por haber sido destruídos o por haberse seccionado el nervio vestibular. De esto se deduce que un nuevo mecanismo ha reemplazado al que ha sido destruído o anulado en sus funciones. Este segundo mecanismo depende de la función visual, puesto que si a un gato operado, como decíamos anteriormente, le vendamos los ojos, no puede ya recobrar el equilibrio en la estación vertical, ni cae sobre sus patas cuando se le arroja al aire. Si le quitamos la venda, vuelve a recuperar esta facultad. En los peces de esqueleto cartilaginoso, la destrucción del laberinto es muy sencilla. Los resultados son semejantes a los obtenidos en los experimentos citados. Los peces operados pierden el sentido de posición por algún tiempo, pasado el cual los ojos suplen en su función a los conductos semicirculares. Si producimos la ceguera en el animal de experiencia queda definitivamente incapacitado para orientar su posición en el agua. Pero aun en estos casos conserva la capacidad de nadar perfectamente si queda con el abdomen muy cerca de la pared del estanque. Esto indica que en esta posición el animal se vale de sensaciones originadas en la piel para mantener una posición de equilibrio y verificar movimientos de nado relativamente normales. Los estímulos originados en la piel son debidos a diferencias de presión en distintos puntos de ella. Análogas observaciones pueden realizarse en ciertos crustáceos en los que el aparato vestibular es sólo un pequeño saco situado en la raíz de las antenas. Si se destruye este aparato — estatocito — el animal queda completamente a merced de los reflejos lumínicos; así, si la luz viene desde arriba, el animal nadará en esta dirección; cuando la luz está situada en el fondo, la dirección seguida entonces será hacia abajo, y cuando la luz está situada lateralmente, el animal se dirigirá hacia la luz. Si le destruimos los ojos pierde completamente el sentido de equilibrio, que es tan sólo recuperado cuando el animal se acerca a la pared del acuario, verificando entonces movimientos natatorios más o menos regulares, guiado por el roce de sus apéndices con las paredes del mismo.

El mantenimiento del equilibrio y de la posición normal sobre el plano de sustentación, en los animales superiores, se debe, por lo menos, a tres grupos de estímulos, que proceden: *a*) del laberinto, *b*) de los ojos, y *c*) de la piel. En la mayoría de los animales los estímulos que parten de estos puntos están íntimamente relacionados entre sí, existiendo mutuas compensaciones que permiten al animal mantener su posición normal aun en las circunstancias más adversas.

En los organismos inferiores, en los cuales no hay ninguna diferenciación que represente el laberinto de los animales superiores, y que además carecen de aparato visual, los movimientos geotrópicos han de ser explicados por algún otro mecanismo. Ciertos Holoturios (como los de la especie *Cucumaria cucumis*, y los de especies cercanas a ésta) muestran una tendencia a deslizarse sobre planos inclinados

por los que ascienden hasta alcanzar el punto más alto; tienen, pues, geotropismo negativo. La luz no presenta ninguna influencia sobre este movimiento, que ellos realizan lo mismo en un medio perfectamente iluminado que en la más completa oscuridad. Como otras muchas formas de movimientos que se dan entre los organismos más sencillos, éste no obedece a una necesidad de oxígeno, pareciendo, en cambio, comparable al tipo de geotropismo encontrado en los vegetales; a pesar de todo, resulta en verdad difícil encontrar la explicación de ese tropismo de los holoturios. Los organismos del género *Paramecio* se mueven siempre buscando las partes más altas del tubo puesto verticalmente que los contiene; en esta posición mueven sus cilios mucho más activamente. Este movimiento parece, sin embargo, desencadenado por la necesidad de oxígeno, resultando, por lo tanto, más fácil de explicar.

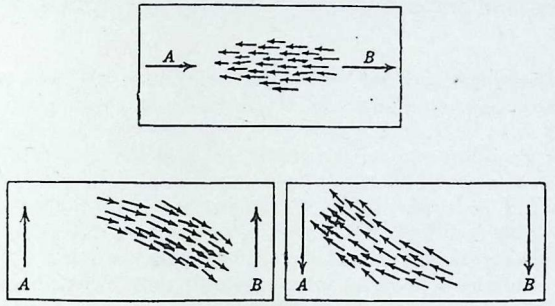


FIG. 107. Reotropismo de los espinos situados en un acuario. El movimiento de la mano del observador se realiza en la dirección indicada en las flechas, por delante de una de las paredes del acuario. El desplazamiento de los peces se realiza siempre en dirección opuesta. (Según LOEB y GARREY)

Reotropismo. Ésta es una forma complicada de tropismo que se origina como respuesta a percepciones ópticas. El movimiento de los objetos ante los ojos da lugar a estas percepciones. Podemos citar algunos ejemplos que ayuden a aclarar esto.

Se ha observado que los peces nadan más frecuentemente en contra de la corriente que a favor de ella; este fenómeno es atribuído a la acción de la corriente del agua. Sin embargo, el animal sigue la misma conducta si se introduce en un frasco cerrado y es llevado éste a través del agua, siendo así que ahora está descartado el factor mecánico al cual se atribuía su avance en contra de la corriente. Lo mismo sucede si el frasco que contiene el pez se mueve en el aire. La posición del pez se debe enteramente, ahora, al movimiento de la botella, puesto que si ésta se deja quieta el animal nada moviéndose en todos sentidos. La conducta seguida por el animal se cree que es debida al hecho de que las imágenes formadas en su retina parecen moverse cuando él se mueve.

Si el animal se coloca en la misma dirección de la corriente y ésta le arrastra, los objetos de la orilla parecerán moverse huyendo de él, o sea que si retrocede, parecerán avanzar. Entonces, para mantener fijas las imágenes en su retina, pugnará por avanzar hacia ellos, lo cual se traducirá en un movimiento de nado en contra de la corriente. Esta influencia de los objetos en la dirección seguida por el animal puede demostrarse muy claramente mediante un papel marcado con gruesas rayas negras; al deslizarlo por la pared del acuario, se observará entonces que se mueve en la misma dirección que hacemos seguir al papel, con lo cual conseguirá que las imágenes de las rayas permanezcan lo más fijamente posible en la retina. En esta experiencia debe imprimirse al papel un movimiento bastante lento.

Se ha pensado que el *anemotropismo,* palabra con la cual se designa la tendencia de ciertos insectos a mantener el eje de su cuerpo en la dirección del viento, es un fenómeno semejante al reotropismo.

Estereotropismo. Así como el geotropismo se refiere a la orientación de un animal o planta con respecto al suelo, el estereotropismo indica la orientación con respecto a una superficie. Las estrellas de mar, por ejemplo, cuando se colocan en posición invertida, verifican violentos movimientos para enderezarse y situarse en su posición normal. Esta tendencia no está relacionada con la ley de la gravedad, puesto que se manifiesta aun en aquellos casos en que la superficie sobre la cual se encuentren situadas la hayamos invertido. El animal se mueve muy agitadamente hasta conseguir que los extremos de los pies estén en contacto con la superficie, y sólo cuando se ha establecido un contacto efectivo queda en reposo. Esta que podríamos llamar necesidad de tener contacto con superficies sólidas explica la tendencia de los gusanos y algunas larvas a barrenar el suelo, y puede también ser la explicación de que las raíces de las plantas se encuentren frecuentemente adheridas a las piedras, rodeándolas. Un ejemplo muy demostrativo es el de las hormigas hembras en la fase de madurez sexual, porque en ésta el animal muestra una marcada tendencia a insinuarse por las grietas del suelo y a horadarlo. Esta tendencia no es la manifestación de un heliotropismo negativo. Los hormigueros son las consecuencia de esta forma de tropismo. La tendencia normal de los gusanos a labrar surcos en las paredes de las cajas en que se hallan contenidos obedece, asimismo, a esta forma de tropismo.

También algunos organismos unicelulares presentan esta modalidad de tropismo. Los espermatozoos de la cucaracha, por ejemplo, se disponen en torno a una partícula de vidrio situada bajo un cubreobjetos sin que abandonen el contacto con ella. Se ha pensado que este fenómeno tiene su importancia en la fertilización de los óvulos de la cucaracha, que así pueden mantener en torno suyo una mayor cantidad de esperma. El mecanismo íntimo de esta forma de tropismo es desconocido.

Galvanotropismo. Con esta palabra se designa el fenómeno en virtud del cual un ser vivo toma una posición determinada cuando es sometido a la influencia de una corriente eléctrica que atraviesa el medio en el que se encuentre sumergido. El estudio de esta forma de tropismo nos proporciona más datos sobre la esencia de estos fenómenos que las otras formas hasta aquí estudiadas.

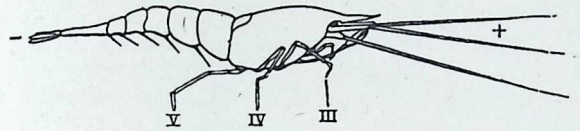


FIG. 108. Posición del camarón cuando se halla sujeto al paso de una corriente eléctrica en la dirección de su extremidad cefálica a la cola. (Según LOEB, *Movimientos forzados,* J. B. Lippincott Co.)

Las respuestas debidas al galvanotropismo son, en realidad, movimientos originados por la contracción de unos grupos musculares y la relajación de otros. Puede observarse este tropismo en los camarones. Estos animales pueden nadar hacia arriba o hacia abajo según sea el músculo de la cola que actúe más enérgicamente, el flexor o el extensor. Cuando pasa una corriente eléctrica a través del medio en que el animal se halla, la cola se pone estirada rígidamente si la cabeza está

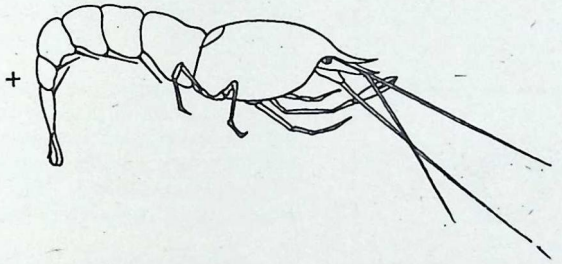


FIG. 109. Posición del camarón cuando pasa la corriente galvánica en dirección de la cola a la extremidad cefálica. (Según LOEB, *Movimientos forzados.* J. B. Lippincott Co.)

hacia el ánodo; en este caso, el músculo tensor se estimula con más intensidad y el animal puede, por lo tanto, nadar hacia delante pero no hacia atrás, o sea que avanza hacia el ánodo. Si antes de que pase la corriente, se le sitúa con la cabeza vuelta hacia el cátodo, al pasar aquélla los músculos flexores de la cola se contraen ahora más enérgicamente que los extensores y el animal se mueve hacia el ánodo, pero nadando hacia atrás. Los cambios de tensión en los músculos de la cola se acompañan de fenómenos análogos en los de los miembros.

En los seres unicelulares también se encuentran ejemplos de galvanotropismo. Podemos citar observaciones verificadas en el género *Paramecio*, cuyas especies se mueven mediante cilios. Éstos están dirigidos hacia atrás, y cuando se mueven batiendo el agua de delante atrás impulsan al organismo hacia delante. Sin embargo, si el protozoario se coloca en el paso de una corriente eléctrica, los cilios de la parte próxima al cátodo se sitúan al revés de como estaban, quedando dirigidos hacia delante. Entonces los movimientos combinados de los cilios dirigidos en sentido opuesto orientan el organismo hacia el cátodo. En el momento en que queda entre los dos polos, los cilios del extremo anterior (correspondiente al cátodo) se encuentran vueltos hacia delante, mientras que los del extremos posterior (dirigido hacia el ánodo) están en su posición normal, o sea vueltos hacia atrás. Encontrándose los cilios más fuertes y numerosos en el extremo posterior, el movimiento se orientará hacia el cátodo verificándose lentamente. En las especies del género *Volvox* se observan al paso de una corriente efectos análogos; los cilios de la porción correspondiente al ánodo quedan inmóviles, moviéndose, en cambio, los de la porción orientada hacia el cátodo. Esto hace que el organismo se vuelva hacia el ánodo.

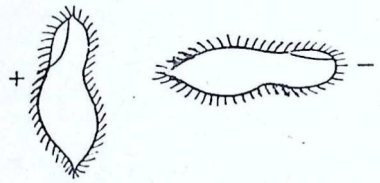


FIG. 110. Reversibilidad del movimiento de los cilios del *Paramecio*, bajo la influencia de la corriente galvánica. (Según LOEB)

El mecanismo de estas reacciones no se ha dilucidado todavía, pero es de presumir que sean determinadas por cambios verificados en la permeabilidad, etc., de las células por el paso de la corriente.

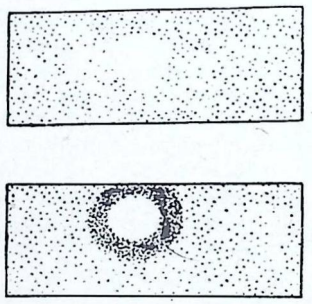


FIG. 111. Reacción de *Chilomonas* ante una gota de ClH al 1,02 %. *A*, inmediatamente después de la adición del ácido; *B*, diez minutos después. (Según JENNINGS)

Quimiotropismo. De todas las formas de tropismo, la que se encuentra más frecuentemente en los seres unicelulares es la que denominamos quimiotropismo, que se refiere a la atracción o repulsión que ciertas substancias químicas ejercen sobre los organismos. Se comprenderá mejor mediante unos ejemplos.

El *B. termo* y el *Spirillum undulla* presentan quimiotropismo (o *quimiotaxis*) en soluciones cuya concentración es de 1 miligramo de peptona por 100 c. c. de solución; en estas soluciones los organismos citados se reúnen en donde la concentración es mayor. El caldo de patata atrae fuertemente al vibrión colérico; los hongos

muestran un quimiotactismo positivo para las soluciones de azúcar de caña. La velocidad del movimiento de atracción engendrado por las substancias químicas parece ser regulada por la relación de su concentración en la solución considerada en su totalidad y la concentración existente en el sitio en que el organismo se mueve. Para ciertos organismos esta relación puede ser muy elevada, alcanzando incluso proporciones de 400 : 1; para la sacarosa, por ejemplo, se encuentra que el organismo se moverá desde una solución al centésimo a otra al 4 %, pero, en cambio, no lo hará cuando una solución esté al 4 y la otra al 3 %. Con frecuencia ocurre que de toda la solución, sólo un ion influya en el tropismo. Los elementos sexuales del licopodio, por ejemplo, muestran quimiotropismo positivo para el ion citrato, pero permanecen indiferentes ante los cationes de oxalato, malato y ante los azúcares y proteínas. En general, los iones $H^{\cdot}$ ejercen una acción muy marcada sobre el tropismo, ya impidiéndolo completamente o provocándolo. Hay que hacer observar, sin embargo, que el quimiotropismo, en estos seres tan sencillos, aparece menos evidente porque puede confundirse con facilidad con la aglutinación que ocasionan varias sales cuando se añaden al medio que las contiene.

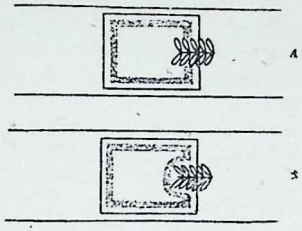


FIG. 112. Diagrama que muestra la tendencia de los flagelados *Bodo* de reunirse en las regiones de concentración elevada de oxígeno. En *A*, una pequeña porción de musgo se pone en contacto con un cultivo de flagelados, dispuesto bajo un cubreobjetos y mantenido en la oscuridad. Los flagelados se reúnen en la región cuya concentración de oxígeno es más elevada, es decir, en los bordes de la preparación. *B* representa la misma preparación bajo la acción de la luz. El oxígeno que se desprende del fragmento de musgo condiciona la disposición de los flagelados, que se hallan ahora rodeando el fragmento de musgo. (Según FOX, en el *Journal of General Physiology*)

En los insectos, las reacciones quimiotrópicas son mucho más marcadas. Es sabido que en las moscas el macho presiente y busca a la hembra desde distancias superiores a un kilómetro, orientado probablemente tan sólo por el sentido del olfato. En las *Drosophilas* pueden observarse hechos dignos de mención. Los alcoholes etílico y amílico ejercen un quimiotropismo positivo sobre estas moscas; lo mismo ocurre en ellas respecto a los ácidos acético y láctico y otros; los ésteres ejercen asimismo un efecto quimiotrópico muy marcado. Otras substancias que, a nuestro juicio, poseen también olor muy fuerte, carecen, en cambio, de efectos quimiotrópicos. El alcanfor, por ejemplo, no atrae a los insectos, pero el éster del ácido acético ejercerá un quimiotropismo positivo aun cuando en la atmósfera haya grandes cantidades de alcanfor que oculten el olor del éster para nuestro propio olfato.

El mecanismo por el cual se produce los quimiotropismos es mal conocido. Se ha supuesto que pueda ser debido a la formación de centros de difusión, los cuales ejercerían una influencia sobre el organismo, gracias al desplazamiento de las moléculas disueltas a un lado

y a otro del mismo, alcanzándose la posición orientada cuando el reparto de las moléculas difusibles fuera equivalente en ambos lados del eje de simetría. A pesar de la atractiva sencillez de esta explicación, no ha podido ser confirmada.

Termotropismo. Esta modalidad de tropismo puede ser evidenciada al comprobar cómo el *Paramecio* tiende a moverse de un lado a otro de un depósito que, aun siendo iluminado de un modo homogéneo, se calienta desigualmente. Si la temperatura de una de las zonas del recipiente es de 10° y la otra de 25°, los protozoos se reúnen en la zona más caliente; sin embargo, cuando una de ellas se halla a 25° y la otra a 35°, se reúnen en la zona de más baja temperatura. Los movimientos determinados por la temperatura parece puedan ser atribuídos a la influencia de ésta sobre los cilios del *Paramecio,* ya que las variaciones térmicas pueden determinar sobre el movimiento ciliar efectos que no difieren mucho de los producidos por la corriente eléctrica.

Capítulo XII

Digestión

I. Digestión y metabolismo en los animales

La digestión constituye esencialmente un proceso por el cual los alimentos ingeridos son reducidos a fragmentos más pequeños en virtud de acciones mecánicas, y las grandes moléculas que integran los alimentos pasan por acciones químicas a moléculas más sencillas. El resultado de esta reducción es facilitar al organismo alimentos en forma que puedan difundir a través de las membranas celulares que limitan el tubo digestivo y pasar así a la sangre, siendo evidente que mientras los alimentos persistan en el estado de moléculas muy complejas, tal difusión es imposible.

Con la fragmentación puramente mecánica se consigue que los alimentos presenten más superficie al ataque de las enzimas del tramo digestivo.

Para su estudio, el proceso puede considerarse bajo tres aspectos: mecanismo para la obtención de alimentos; mecanismo para reducir el tamaño de las masas alimenticias, y acciones mediante las cuales las grandes moléculas o complejos moleculares de los alimentos son disgregados en moléculas más sencillas.

Los mecanismos citados difieren mucho en las distintas especies, y sólo en sus grandes líneas generales es cómo pueden agruparse para su estudio.

Digestión en el hombre. Con respecto a la composición química de los alimentos pueden clasificarse en cuatro grupos: hidratos de carbono, proteínas, grasas (1) y sales disueltas en agua. Cada grupo es sometido a un especial proceso digestivo.

---

(1) Al traducir hemos respetado casi siempre la nomenclatura química seguida por el autor; pero habiéndose extendido en nuestro país la nomenclatura adoptada por los Congresos Internacionales de Química pura y aplicada de estos últimos años, para los compuestos de interés fisiológico, creemos útil advertir las principales diferencias entre ambas.

Los hidratos de carbono se denominan *glúcidos,* y éstos se dividen, a su vez, en *osas* y *osidos,* desinencia que añadida a la raíz del nombre de cada azúcar nos permite distinguir las *osas* como glúcidos reductores no hidroliza-

Los hidratos de carbono son ingeridos bajo la forma de almidón (en el pan, patatas, etc.), de dextrina (pan tostado y muchos vegetales, y como glucógeno en la carne), de simples azúcares tales como glucosa, fructosa (en los frutos) y lactosa (en la leche). En la boca los alimentos son fragmentados por la masticación, y el almidón y la dextrina son atacados por la *ptialina,* fermento segregado por las glándulas submaxilares y parótidas. Esta enzima es capaz de reducir dichas substancias a maltosa — azúcar disacárido —, pero el alimento es deglutido antes de que se haya producido totalmente hidrólisis hasta la fase de maltosa.

La enzima, sin embargo, se mezcla con el bolo alimenticio durante el proceso de la masticación y con él pasa al estómago, donde su acción sobre el almidón y la dextrina continúa hasta que el ácido clorhídrico del jugo gástrico lo impide. Lo más probable es que mientras los hidratos de carbono permanecen en el estómago no sufran ninguna otra alteración, a no ser que tenga lugar una ligera hidrólisis por el ClH del jugo gástrico.

Después de un tiempo que oscila entre dos y tres horas, los hidratos de carbono pasan al duodeno, parte en forma de almidón y dextrina y parte en forma de maltosa. En este primer tramo intestinal se ponen en contacto con la amilasa del jugo pancreático, la cual convierte a los hidratos de carbono en glucosa. Esta acción se continúa en el intestino delgado, donde las amilasas del jugo pancreático son reforzadas en su acción por las que segregan las células de la pared de este otro segmento de intestino. Una vez formada la glucosa, ésta pasa fácilmente a través de las células de la mucosa intestinal y entra en el torrente sanguíneo.

Es un hecho generalmente admitido que los hidratos de carbono no son aprovechados si no es bajo la forma de glucosa, o sea que su utilización por el organismo depende de que sean convertidos en este monosacárido. Cuando se ingieren grandes cantidades de fructosa en una comida abundante en fruta, la mayor parte del azúcar ingerido aparece en la orina. Los casos más importantes son, sin embargo, los que se refieren al azúcar de caña y a la lactosa. El primero puede ser atacado por las amilasas digestivas originando glucosa, la cual es absorbida y utilizada, y levulosa, que es absorbida y puede ser excretada; respecto a la lactosa, bajo la acción de la lactasa se desdobla en glucosa y galactosa. Es casi seguro que la levulosa y la galactosa — las monosas que junto con la glucosa proceden del desdoblamiento de la sacarosa y la lactosa — bien en las células intestinales o en el hígado sean transformadas ulteriormente en glucosa. Después de estos procesos, la glucosa resultante es utilizada por los tejidos. Las proteínas de la dieta normal están contenidas en las carnes de todas clases, en la leche y en el queso (principalmente como caseinógeno), y en muchos vegetales, especialmente lentejas, judías, etc.

bles de los *osidos,* glúcidos que por hidrólisis pueden dar lugar a una o más *osas,* acompañadas o no de otras substancias.

Las frasas y los éteres sales, con propiedades análogas, se denominan *lípidos.*

Las proteínas se conocen con el nombre genérico de *prótidos.* A este grupo pertenecen los *proteidos,* que son aquellos prótidos que por hidrólisis completa dan aminoácidos acompañados o no de otras substancias. Los proteidos se dividen a su vez en *holoproteidos* y *heteroproteidos,* los cuales se subdividen también de acuerdo con los distintos grupos bioquímicos aceptados ya en la nomenclatura químicofisiológica por los autores ingleses y americanos. — *N. del T.*

Las proteínas no experimentan cambios en la boca, excepto la división mecánica del alimento que las contenga y su mezcla con la mucina de la saliva. En el estómago, el ácido del jugo gástrico las transforma en *metaproteínas ácidas* y la pepsina de este jugo las convierte sucesivamente en *proteosas* y *peptonas.* No puede afirmarse si en el estómago va más allá la digestión de las proteínas. Algunos afirman que el jugo gástrico contiene también una enzima — la *renina* — que coagularía la leche; otros piensan, en cambio, que esta enzima no sería más que una forma de actividad de la pepsina. En el duodeno, las proteínas ya parcialmente digeridas encuentran la enzima pancreática *tripsina,* la cual continúa el proceso de ataque, dando lugar primeramente a *polipéptidos* y finalmente a *aminoácidos.* La enzima del jugo intestinal, *erepsina* (1), desempeña un papel en estos desdoblamientos finales. Los aminoácidos son fácilmente absorbidos por las células del epitelio intestinal y pasan al torrente sanguíneo. La glicina, alanina, leucina, valina, prolina, ácido aspártico, ácido glutamínico, arginina e histidina han sido halladas en la sangre por métodos apropiados. Algunos de estos aminoácidos, sin embargo, son absorbidos más fácilmente que otros.

Las *grasas* de la dieta se hallan principalmente contenidas en la manteca y en la leche, en la carne y en ciertos vegetales. Tampoco las grasas sufren cambio químico alguno en la boca; sólo son disgregadas mecánicamente, y fluidificadas merced a la temperatura bucal. Está demostrado que una grasa no puede disgregarse si no se fluidifica a una temperatura de 37°. Llegadas al estómago permanecen todavía sin ser atacadas, pero tan pronto como entran en el duodeno se ponen en contacto con la *lipasa* pancreática, bajo cuya acción se desdoblan en glicerina y ácidos grasos. Esta digestión es facilitada por un proceso simultáneo por el cual las grasas se emulsionan, proceso que resulta de la acción de las sales biliares que al disminuir la tensión de superficie en cada gota de grasa originan, con la ayuda de los movimientos intestinales, una fina emulsión. Tal proceso conduce a que la enzima encuentre una superficie muchísimo mayor sobre la cual actúa, con lo que la formación de glicerina y ácidos grasos se acelera notablemente. La glicerina y los ácidos grasos que resultan de esta digestión son absorbidos por las células de la mucosa intestinal. Luego, en el interior de las células, tiene lugar

(1) La erepsina es una peptidasa cuya influencia digestiva se aplica a romper los enlaces peptídicos que unen entre sí los aminoácidos; su acción enzimática consiste, pues, en completar el desdoblamiento de la molécula proteica hasta la fase de aminoácidos. — *N. del T.*

una reconstitución de las moléculas de grasa. Esto puede comprobarse en una rana a la cual hayamos dado una comida rica en grasas, sacrificándola y observando las células del intestino unas horas después de haber realizado esta comida. El ácido ósmico demuestra la existencia de gotas de grasa en el protoplasma celular de aquéllas. Las gotas de mayor tamaño se ven en el interior de las células más próximas a los vasos sanguíneos. De estas gotas de grasa, unas son fagocitadas por los leucocitos y transportadas así a los quilíferos próximos, mientras que otras pasan a ellos directamente. Los quilíferos afluyen al conducto torácico y desde aquí la grasa ingresa ya en la corriente sanguínea. Después de una comida rica en grasa, el plasma sanguíneo puede contener tal cantidad de ella, que llegue a solidificarse si la temperatura exterior desciende. Surgen algunas dificultades al estudiar la cuestión del paso de los ácidos grasos a las células de la mucosa intestinal, porque ellos no son solubles ni difusibles; pero esta dificultad es superada convirtiéndose en jabones al combinarse con los álcalis del jugo intestinal, y así pueden ya pasar a través de las membranas de las células del intestino. Estos jabones difunden más fácilmente. Se ha visto, sin embargo, que la absorción no tiene lugar en ausencia de sales biliares, aun cuando la grasa haya sido antes suficientemente emulsionada para facilitar el desdoblamiento de la molécula bajo la acción de la lipasa. Esta observación ha sugerido que tal vez los ácidos grasos pasen al protoplasma de las células intestinales combinándose con las sales biliares mismas, pero dehaciéndose esta combinación inmediatamente depués de haber atravesado la membrana. Sea o no cierto lo que precede, lo que sí puede afirmarse es que las sales biliares son absorbidas por las células al mismo tiempo que los ácidos grasos.

Mientras se realiza el proceso digestivo, el alimento se halla sometido a la influencia de los movimientos del tramo intestinal. Estos movimientos se originan autonómicamente en la misma musculatura del intestino, lo que puede demostrarse en un segmento de intestino separado del organismo durante un período de tiempo suficiente para que tenga lugar la degeneración de los elementos nerviosos. En el animal intacto, están bajo el control de los nervios simpático y parasimpático (vago), que inervan el músculo intestinal.

El nervio parasimpático, cuando es estimulado, origina la contracción de la musculatura intestinal, mientras que la estimulación del simpático da lugar a un efecto inhibitorio de los movimientos intestinales. Estas acciones pueden ser demostradas excitando dichos nervios en el animal vivo o mediante experimentos en fragmentos de intestino mantenidos en solución de Ringer. La adrenalina, por ejemplo, que es un estimulante del simpático, causa una relajación en el asa sometida a la experiencia, del mismo modo que relaja la musculatura intestinal en el animal vivo. Muchas otras substancias, sin embargo, aun careciendo de efecto específico sobre estas formaciones nerviosas, dan lugar a cambios en la tonicidad y en la contractibilidad de

fragmentos de intestino aislado. La muscarina provoca violentas contracciones, al paso que las sales biliares disueltas disminuyen el tono muscular y pueden detener las contracciones. La histamina actúa de un modo análogo a la muscarina, y resulta muy probable que muchos de los supuestos efectos de diferentes extractos de órganos sobre la musculatura intestinal puedan ser imputados a la histamina contenida en ellos.

Los movimientos de la musculatura intestinal en el animal intacto están sometidos a la *ley del intestino* de Bayliss y Starling. Estos observadores advierten que al estimular un punto de la musculatura intestinal, el segmento inmediatamente situado por debajo sufre una disminución del tono y una detención de su actividad contráctil, al mismo tiempo que se origina una onda de contracción por encima de este punto y también a corta distancia de él, observando también que la contracción progresa en sentido distal. El efecto de esta contracción es asegurar la progresión del contenido intestinal, lo cual es facilitado por la relajación simultánea del segmento situado por debajo. Este *reflejo peristáltico* puede ser obtenido en el intestino aislado y es, por tanto, independiente de la inervación extrínseca de la musculatura intestinal, etc. De este reflejo se han dado varias explicaciones, la mejor de las cuales es la que se basa en la hipótesis de que las fibras del plexo de Auerbach — una delicada red de fibras nerviosas pertenecientes al sistema parasimpático, situada entre las túnicas musculares — tendrían dos ramas, de las cuales una se hallaría dirigida hacia arriba y otra hacia abajo. De estas fibras, la descendente se supone llevaría al músculo impulsos inhibidores y al ascendente impulsos excitadores de la contracción.

No es esto todo lo que puede decirse referente a la motilidad del intestino. Durante la digestión ocurren otros movimientos. Los más importantes de éstos son los movimientos *antiperistálticos*, de dirección contraria a los anteriores, o sea de abajo hacia arriba, y de un efecto contrario a la progresión del contenido intestinal; hay que añadir la existencia de movimientos pendulares, por los cuales los alimentos son mezclados con los jugos digestivos. Los movimientos antiperistálticos y los pendulares se encuentran bajo la dependencia del sistema nervioso central. Desaparecen, en efecto, cuando el intestino es seccionado o cuando se aísla de dicho sistema por sección de los nervios. En consecuencia pueden ser estudiados solamente en el animal vivo. El procedimiento más sencillo para su estudio es administrar al animal una substancia insoluble e inerte, opaca a los rayos X, tal como el subnitrato de bismuto. En estas condiciones obsérvase la región abdominal en la pantalla radioscópica, viéndose en negro el estómago, intestinos, etc. La observación de estas partes ensombrecidas muestra los movimientos peristálticos, antiperistálticos y pendulares y los de abertura y cierre de los esfínteres. Contrariamente a lo que hemos visto sucede con la musculatura del intestino, la de los esfínteres se contrae por la estimulación del simpático y se relaja

cuando se estimula el parasimpático. Esta inversión de efectos da como resultado que en el momento en que se contrae un segmento del tramo intestinal situado por encima de un esfínter, éste se abre para que el contenido pueda franquearlo. En el caso del esfínter pilórico, la contracción y relajación están bajo el control de un reflejo local; en relación con esto, se ha visto que tan pronto como el contenido del duodeno se hace ácido el esfínter se cierra, y que cuando aquél vuelve a ser alcalino se abre. El contenido del estómago es, pues, expelido a intervalos, alcalinizándose al llegar al duodeno, y como se comprende, sólo una pequeña porción de ese contenido atraviesa el esfínter pilórico mientras éste se encuentra en la fase de relajación.

Debe mencionarse, aunque sea someramente, la absorción del agua y de las sales francamente difusibles, las cuales pueden ser absorbidas en cualquier estadio de la digestión. Muchas de las sales ingeridas se convierten en cloruros al llegar al estómago y reaccionar con el ácido clorhídrico del jugo gástrico; pero la mayoría son ingeridas como cloruros y por lo tanto no experimentan cambio alguno durante la digestión. El hecho de que el intestino también absorba una solución salina isotónica respecto a la sangre demuestra que la absorción no depende únicamente de un proceso osmótico, sino que las células de la mucosa trabajan durante este proceso segregando sales, agua, glucosa y aminoácidos desde el intestino a la sangre. Siendo esto así, habrá necesariamente un gasto de oxígeno y un desprendimiento de anhídrido carbónico, producción de calor y todos los otros fenómenos que resultan de la actividad celular.

Digestión de la celulosa y de las pentosanas. Estas dos formas de hidratos de carbono se encuentran en proporción considerable en la dieta de los animales herbívoros.

En el tubo digestivo de los mamíferos no existen enzimas capaces de digerir la celulosa, y la conversión de ésta en material alimenticio aprovechable resulta de la acción de bacterias contenidas en el intestino. Estas bacterias digieren la celulosa, resultando de esto la formación de CO_2, metano, ácidos grasos y varios monosacáridos, siendo únicamente estos dos últimos grupos de substancias los que se absorben y utilizan. En el hígado del caracol hay un fermento de acción intensa sobre la celulosa; en el gorgojo del trigo hay otro fermento semejante a aquél. Por la acción de estos fermentos se originan hexosas y pentosas. El mecanismo por el cual son digeridas las pentosanas (almidones compuestos de pentosas en lugar de hexosas) es aún desconocido. Es cierto, no obstante, que estas substancias son digeridas y que algunas de ellas son utilizadas por los tejidos. En el hombre se observa que la pentosa *rhamnosa* es asimilada en ciertos casos y que después de su absorción aparece glucosa en la orina.

Consideramos oportuno decir ahora que la saliva de los mamíferos herbívoros no contiene ptialina y que la lactasa, enzima que desdobla la lactosa en glucosa y galactosa, es más abundante en el jugo intestinal de estos animales que en el del hombre.

Las vitaminas. A las proteínas, hidratos de carbono, grasas, sales y agua débense añadir ciertas substancias accesorias llamadas *vitaminas*, que es imprescindible entren a formar parte de cualquier dieta adecuada. Las vitaminas se distribuyen en cinco grupos, cada uno de los cuales se designa por una letra del alfabeto, desde A hasta E. La naturaleza química de estas substancias es desconocida, pero hay motivos para creer que son substancias de composición químicas relativamente sencilla, puesto que son termoestables, difusibles y fácilmente solubles en el agua y en disolventes orgánicos tales como alcoholes y aceites. Se encuentran en pequeña cantidad en los alimentos más comunes.

La falta de *vitamina A*, en la dieta, provoca un retardo del crecimiento. Este efecto es tanto más marcado cuanto más joven es el animal. Al mismo tiempo, los cabellos se hacen ralos, formándose mechones de un cabello afelpado y sin brillo. Esto es consecuencia de una sequedad general del tegumento y de una alteración en el funcionamiento de las glándulas sebáceas; en ocasiones, la sequedad de la piel puede ir acompañada de una falta de secreción en las glándulas de los párpados, formándose úlceras de la córnea y llegando a veces, a producirse la ceguera. La administración de pequeñas dosis de aceite de hígado de bacalao o de algunas otras substancias ricas en esta vitamina detiene la progresión de estos trastornos y el animal sigue creciendo normalmente si se prolonga su administración.

La vitamina A se encuentra en los aceites, especialmente en el de hígado de bacalao, en la mantequilla, en la yema de los huevos y en la carne grasa, aunque en pequeña cantidad. Los aceites vegetales no la contienen, estando, por lo tanto, ausente de muchas margarinas. Se encuentra abundantemente en ciertos vegetales, por ejemplo, en las zanahorias. Es soluble en el aceite, alcohol y en éter, y sólo ligeramente en el agua. A pesar de esto, no es de la misma naturaleza que las grasas, y no contiene nitrógeno ni fósforo.

La falta de *vitamina B* origina un grave síndrome conocido con el nombre de *polineuritis*, caracterizado por irritación e inflamación de los nervios, parálisis de los miembros, edema de la piel, diarrea y degeneración de las glándulas genitales. Al mismo tiempo hay retardo del crecimiento, y finalmente, puede su falta ocasionar la muerte. En el hombre, este síndrome de polineuritis, que sobreviene cuando en la dieta no existe la vitamina B, se denomina *beri-beri*. La enfermedad es rápidamente curada si se administra la vitamina correspondiente.

Esta vitamina es soluble en el agua; se encuentra en las partes verdes de las plantas, en la mayoría de los vegetales, en las nueces, frutos y semillas en germinación, en los huevos, leche y carne. Es también soluble en alcohol y puede ser extraída de los órganos vegetales y animales por medio de este disolvente, con el cual se pueden obtener extractos muy concentrados. Su constitución química es desconocida, pero contrariamente a lo que hemos visto con la vitamina del grupo A, la que estamos estudiando contiene nitrógeno.

La *vitamina C* se encuentra en los frutos frescos, especialmente en los limones y en las naranjas, y en muchos otros vegetales. Si la dieta carece de esta vitamina aparece una enfermedad denominada *escorbuto,* que se caracteriza por sufusiones hemorrágicas bajo la piel y en los órganos internos, dolor en las articulaciones provocado por una hinchazón de las epífisis de los huesos largos, diarrea e hipersensibilidad en las encías y dientes. Este síndrome se encuentra ahora rara vez, pero hace algún tiempo era frecuente entre los marinos, que en sus largos viajes se veían imposibilitados para comer vegetales frescos. Esta vitamina es capaz de oxidarse, especialmente en caliente, y resiste sólo por poco tiempo una temperatura de 100°. De su constitución química no puede decirse nada cierto.

Recientemente, del grupo de la vitamina A se ha aislado un nuevo grupo que se ha designado como *vitamina D,* cuya ausencia de la dieta ocasiona la enfermedad de los huesos llamada raquitismo. Como la vitamina A, es soluble en el aceite y se encuentra abundantemente en el aceite de hígado de bacalao.

Hay que añadir a las ya citadas la *vitamina E.* Es soluble en éter y se encuentra en gran cantidad en las semillas en germinación. Si falta en la dieta, se alteran gravemente las funciones de reproducción, abortando en seguida las hembras preñadas.

Como puede suponerse, los animales tienen una capacidad distinta para resistir las deficiencias de vitaminas en la dieta. El cobaya, por ejemplo, es particularmente susceptible a la falta de la vitamina C, y la rata lo es, en cambio, para la vitamina E.

Debido a la escasa cantidad de vitaminas que contienen los alimentos, éstas no pueden constituir por sí mismas un manantial apreciable de energía, y aunque indispensables para la salud y la vida, el modo como actúan es todavía desconocido.

La digestión en los animales inferiores. En los animales sesiles y en los sedentarios, que no pueden ir a la busca del sustento, el único alimento disponible es el que arrastran las corrientes de agua. Estas corrientes son habitualmente provocadas por el movimiento de pestañas o cilios situados en los bordes de la faringe, hacia la cual se dirige el agua agitada por ellos; los animalículos y partículas orgánicas que contiene el agua quedan adheridos sobre películas de moco, que luego son impulsadas hacia el intestino. Esta disposición existe en los ciclóstomos, en los que las partículas alimenticias son almacenadas por el moco de las estrías hipobranquiales, evitando así que salgan de nuevo con el agua que escapa por las hendiduras branquiales. En los Tunicados existe un mecanismo semejante. En los moluscos bivalvos, las pequeñas partículas que el agua lleva en suspensión son captadas por una substancia mucilaginosa; este mucílago, juntamente con las partículas a él adheridas, es entonces impulsado hacia la hendidura alimenticia y de aquí a la boca. Disposiciones ciliadas muy diversas para la prehensión del alimento se encuentran en los moluscos, branquiópodos y políquetos.

En la mayoría de los animales invertebrados y en los vertebrados inferiores han sido halladas enzimas proteolíticas en las glándulas digestivas, pero se ignora si son o no proteasas de la misma naturaleza que las de los mamíferos. De los filamentos mesentéricos de los peces *Stromolophus* han sido extraídas dos enzimas, una que actúa en un medio de *p*H 3,0 y otra que requiere un *p*H 7,3, siendo, pues, semejante a la pepsina y a la tripsina de los mamíferos. En la langosta se ha aislado una enzima que actúa en medio alcalino y que convierte las proteínas en aminoácidos.

Muchos crustáceos tienen enzimas que actúan sobre la sacarosa y la lactosa desdoblándolas. En la langosta se han encontrado aquéllas además de las amilasas usuales. En los lamelibranquios y en algunos gasterópodos se encuentra, en un repliegue del intestino, un aparato muy interesante, compuesto de proteína, denominado "crystalline style", cuya extremidad anterior presenta una superficie rugosa llamada "molino gástrico".

Al actuar este órgano quedan mezcladas, envueltas por una cantidad de moco, partículas orgánicas, diatomeas y otros pequeños organismos. Del mismo puede extraerse una poderosa amilasa capaz de formar glucosa a partir del glucógeno y del almidón, aunque carece, sin embargo, de acción sobre la celulosa, grasas, proteínas y azúcar de caña. Los mismos celenterios poseen las proteasas mencionadas antes, habiéndose encontrado amilasa y maltasa, pero no lactasa, Estas enzimas no son muy poderosas, pero sí lo suficiente para digerir las cantidades de hidratos de carbono que estos animales necesitan.

En todos los vertebrados y en la mayoría de los invertebrados que han sido examinados se encuentran comúnmente enzimas lipolíticas. Son especialmente poderosas las lipasas encontradas en los insectos, segregadas por las glándulas de la boca. Como las lipasas de los mamíferos, estas enzimas desdoblan las grasas en glicerina y ácidos grasos, siendo absorbidos, reconstruyéndose después dentro de las mismas células de la boca. La actividad de estas enzimas parece ser muy grande precisamente antes del período de crisálida y de metamorfosis.

En todos los vertebrados, en los moluscos, artrópodos, equinodermos y en los anélidos, el alimento pasa al intestino, exactamente como en los mamíferos, por ondas de contracción que progresan desde el extremo oral hacia el extremo aboral, acompañadas de una relajación simultánea de la musculatura intestinal que permite el paso de los alimentos. Las ondas de contracción pueden ser determinadas siempre por una ligera estimulación del intestino y en algunas especies se suceden muy rápidamente, hasta 250 por minuto en los Sílidos. En muchos Lamelibranquios, sin embargo, el movimiento de la masa intestinal se realiza solamente mediante los cilios; éstos tapizan el intestino de un extremo a otro y desarrollan una fuerza que hace avanzar las partículas alimenticias. Al mismo tiempo, la pared del intestino (la cual contiene una capa muscular no muy considerable) late con pulsaciones sincrónicas con las del corazón, lo cual sucede pro-

bablemente por ciertas modificaciones de la presión arterial. Las pulsaciones pueden ayudar a la progresión de los alimentos en el intestino.

La absorción en los invertebrados se verifica en toda la extensión del conducto digestivo, cosa que no ocurre en los mamíferos, en los que la absorción tiene lugar principalmente en el intestino.

Fagocitosis y digestión intracelular. La fagocitosis, función mediante la cual las células pueden capturar partículas sólidas, es el mecanismo que normalmente usan la mayoría de seres unicelulares para alimentarse. Este proceso se completa con una simple difusión que lleva asimismo a la célula material alimenticio disuelto en el medio líquido que la rodea. Llegadas las partículas alimenticias al interior de la célula, son digeridas por enzimas intracelulares y convertidas en moléculas simples y utilizables, siendo capaces estas enzimas, por lo menos en los géneros *Ameba* y *Paramedio,* de atacar las proteínas y los hidratos de carbono. Los últimos se convierten en glucosa y las primeras en aminoácidos. El proceso de digestión va acompañado por un ciclo de cambios en el *p*H de la vacuola alimenticia; al principio es ácido, luego se neutraliza, y, finalmente, se torna alcalino, teniendo lugar la fase digestiva principalmente durante el último período del ciclo. Cuando los productos de la digestión han sido utilizados por la célula, la vacuola alimenticia vuelve a ser ácida otra vez. Una ingestión similar de partículas, aunque ahora no asociada con la digestión, puede observarse en los leucocitos de la sangre de los invertebrados y vertebrados. Estas células ingieren las partículas extrañas contenidas en el plasma, tales como bacterias, partículas de tinta china o pequeños glóbulos de grasa, y si estas partículas son capaces de sufrir una digestión por las enzimas intracelulares, acaban por ser completamente digeridas.

La captura de pequeñas partículas no es función exclusiva de las células vivientes dotadas de movimientos espontáneos y que circulan libremente por el organismo, sino que las células que recubren el conducto digestivo de muchos invertebrados realizan también estos actos. En las anémonas, por ejemplo, el celoma o cavidad gástrica está revestido por un número muy grande de delgadas capas formadas por células de notable actividad fagocitaria. Estas mismas envuelven el material alimenticio y van ingiriendo sus partículas a medida que éstas van haciéndose suficientemente pequeñas. Si las partículas son demasiado grandes, las células segregan poderosas enzimas que actúan principalmente sobre los hidratos de carbono y las proteínas. Probablemente, a estas mismas enzimas se debe la digestión intracelular de las partículas ingeridas. Procesos similares pueden observarse en los Espongiarios y hasta en las células del estómago de animales tan diferenciados como son los Gasterópodos y Lamelibranquios. Frecuentemente se encuentran diatomeas enteras en el momento de ser fagocitadas por las células y sufriendo la digestión por las enzimas.

Los fenómenos de fagocitosis han sido objeto de una particular atención desde un punto de vista puramente teórico, porque parecen,

al primer golpe de vista, uno de los actos más sencillos que pueden realizar las células. Pero al estudiar las fuerzas físicas que los condicionan, se nos aparecen como extremadamente complejos. En primer lugar, las células y las partículas deben quedar bastante próximas entre sí antes de que la ingestión sea posible. La influencia de la atracción recíproca entre células y partículas sobre el proceso fagocítico ha sido demostrada por FENN, valiéndose de ingeniosísimos dispositivos; así ha visto que la fagocitosis que tiene lugar, por ejemplo, en una suspensión de leucocitos y bacterias, es controlada fundamentalmente por la atracción entre las células y los pequeños organismos que ellas han de ingerir. Si la atracción o tropismo

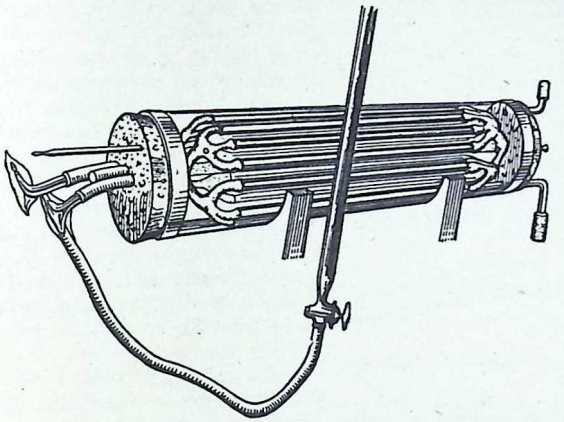


FIG. 113. Aparato de vividifusión de ABEL. (Según MATHEWS, *Physiological Chemistry,* William Wood y Co.)

es grande, el número de partículas ingeridas será grande, y viceversa. Además, como ya hemos explicado (pág. 14), la relación de la tensión superficial entre célula y célula, partícula y partícula y célula y partícula determina si el contacto accidental irá seguido de ingestión o no. Aparte de estos factores hemos de considerar la viscosidad de las células fagocitarias, puesto que una célula muy viscosa se apoderará evidentemente con más dificultad de las partículas que otra célula de citoplasma más flúido. Esto encuentra confirmación en el hecho de que al aumentar la temperatura, disminuyendo la viscosidad del citoplasma, aumenta el poder fagocitario de las células, y también porque las células más activas en este sentido (algunos de los glóbulos blancos que circulan en los líquidos del organismo de los invertebrados) son tan flúidas, que se rompen aun bajo la acción de débiles fuerzas. Aun cuando todos estos factores han sido considerados y

admitidos, no podemos concluir todavía de un modo definitivo que la fagocitosis sea un proceso exclusivamente físico, como lo es la ingestión de una partícula de vidrio por una gota de agua, o la de una varilla de resina por una gota de cloroformo; las dificultades aumentan si recordamos que la fagocitosis se acompaña las más de las veces de una emisión de seudópodos, cosa esta última que no puede explicarse de acuerdo con principios puramente físicos.

Metabolismo de las proteínas. Ya se ha dicho que los aminoácidos que resultan de la digestión de las proteínas son absorbidos y pasan al torrente sanguíneo, habiendo pasado antes a través de las células que forman la pared intestinal. En la sangre puede demostrarse su presencia por el ingenioso método de *vividifusión*, en el cual la sangre de los capilares intestinales pasa por series de tubos largos de colodión, reintegrándose finalmente a los vasos del animal Los tubos de colodión están sumergidos en solución de RINGER, hacia la cual difunden los aminoácidos y demás substancias difusibles contenidas en el plasma sanguíneo. Después de transcurrido algún tiempo, en el que la difusión se ha ido verificando, la solución de RINGER es analizada, pudiendo demostrar en ella la presencia de aminoácidos procedentes de la sangre.

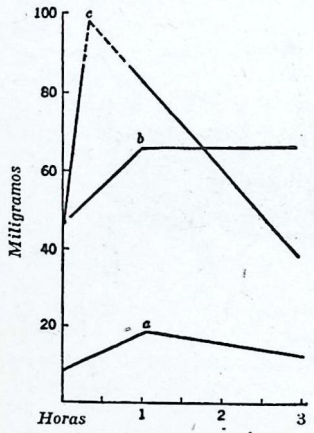


FIG. 114. Gráfica que indica la cantidad de aminoácidos de la sangre *a*, en los músculos *b*, y en el hígado *c*, en distintos períodos después de la comida. (Según PARSONS)

El destino de estos aminoácidos se estudia mejor inyectándolos en la sangre disueltos a una concentración determinada y comprobando de vez en cuando la cantidad existente en la sangre (*a*) y la existente en los tejidos (*b*) (fig. 114). Estas determinaciones se hacen por el método de VAN SLYKE, fundado en el hecho de que las mezclas de aminoácidos reaccionan con el ácido nitroso liberando nitrógeno. La sangre o los extractos tisulares son primeramente desprotenizados, luego tratados con ácido nitroso, midiéndose entonces el nitrógeno desprendido. Tal determinación muestra que poco tiempo después de la inyección aparecen grandes cantidades de aminoácidos en los tejidos, y particularmente en el hígado, pero que pasadas dos o tres horas la cantidad de aminoácidos del hígado desciende por debajo del nivel presentado antes de la inyección. Al mismo tiempo que tiene lugar este descenso en la cantidad de aminoácidos contenidos en el hígado, hay un aumento de la cantidad de urea en la orina.

Aunque sea brevemente, diremos que todos los aminoácidos no parecen sufrir el mismo destino en los tejidos. Algunos de ellos son

tomados y utilizados, mientras que otros son rechazados y llevados por la sangre al hígado. Los primeros son utilizados para resintetizar las proteínas tisulares que reemplazan a las proteínas que se destruyen de un modo normal y continuado en el organismo. Los aminoácidos llegados al hígado son más pronto o más tarde quemados en los tejidos, sufriendo primeramente el proceso de *desaminación*. Esta desaminación tiene lugar principalmente en el hígado, pero también, aunque de un modo poco intenso, en los mismos tejidos. Esencialmente consiste en una separación del nitrógeno de los aminoácidos y formación de amoníaco, y al mismo tiempo en una oxidación parcial que convierte los restos desaminados en ácidos cetónicos, en los que el grupo amínico del aminoácido es reemplazado por un grupo cetónico, como en el ejemplo siguiente:

$$\underset{\text{Alanina (aminoácido)}}{CH_3 \cdot CHNH_2 \cdot COOH} + O \rightarrow \underset{\text{Ácido pirúvico (ácido quetónico)}}{CH_3 \cdot CO \cdot COOH} + \underset{\text{Amoníaco}}{NH_3}$$

Que estos cambios tienen lugar en el hígado puede demostrarse directamente perfundiendo el órgano con una solución que contenga aminoácidos. Se hallará luego que la solución contiene, a más de aminoácidos, ácidos quetónicos y amoníaco.

El amoníaco formado se une con el ácido carbónico que los tejidos contienen y forman *urea*. Puede esquematizarse este proceso de la siguiente manera:

$$\underset{\text{Ác. carbónico}}{O=C(OH)(OH)} + 2\,NH_3 \rightarrow \underset{\text{Carbonato amónico}}{O=C(ONH_4)(ONH_4)}$$

$$\underset{\text{Carbonato amónico}}{O=C(ONH_4)(ONH_4)} \rightarrow \underset{\text{Carbonato amónico (menos una molécula de agua)}}{O=C(ONH_4)(NH_2)} \rightarrow \underset{\text{Urea (nueva deshidratación)}}{O=C(NH_2)(NH_2)}$$

Conviene señalar, sin embargo, que las transformaciones sugeridas por WERNER son, de un modo indiscutible, las verdaderas: esta unión del ácido carbónico y del amoníaco para formar urea a través de un proceso intermediario cual es la formación de ácido ciánico, cuerpo que podría ser considerado como precursor de la urea en el organismo. De ser correcto tal modo de ver, la fórmula estructural de la urea sería:

$$HN=C(NH_3)(O)$$

en lugar de la que hemos dado anteriormente. Como quiera que sea, ello no tiene de momento un interés fisiológico extraordinario.

Una vez se ha formado la urea es excretada por el emuntorio renal, siendo ésta la forma de eliminación de la mayor parte del nitrógeno ingerido. El papel que desempeña el hígado en la formación de urea puede ponerse de relieve mediante la llamada *fístula de Eck*, que consiste en la anastomosis de la vena porta con la vena cava inferior. Este artificio conduce al paso de la sangre procedente del intestino a la circulación general, quedando el hígado excluído de su circulación porta, de lo que resulta la supresión casi completa de la urea de la orina, aumentando en su lugar la eliminación de amoníaco. Si en estas condiciones experimentales aumentamos la ingestión de proteínas, puede darse el caso de que el incremento de la amoniemia sea tal, que llegue a producir una alteración tan considerable del *p*H sanguíneo para determinar convulsiones y la muerte del animal.

Los ácidos quetónicos que resultan del proceso de desaminación presentan particular importancia a causa de su posible paso por polimerizaciones sucesivas en los tejidos, primero a glucosa y luego a glucógeno, siendo éste el mecanismo de producción de hidratos de carbono a expensas de las proteínas. Los hidratos de carbono pueden ser después utilizados, suministrando a los tejidos su potencial energético. Otras veces los ácidos quetónicos, aunque en proporción más limitada, pueden ser oxidados directamente llegando a la fase catabólica de CO_2 y agua. El punto esencial de las transformaciones que estamos estudiando consiste en que en ambas eventualidades los aminoácidos de los alimentos son utilizados en la producción de energía, sin que en ningún caso se produzca la combustión de nitrógeno, siendo éste separado del aminoácido al formarse el ácido quetónico. Así, en el trabajo muscular una cierta cantidad del aporte energético se debe a la combustión de hidratos de carbono, cuyo origen proteínico es evidente, y quizá la combustión de los mismos ácidos quetónicos influya de un modo apreciable en el metabolismo nitrogenado del organismo. Efectivamente, la eliminación de nitrógeno es la misma durante el reposo absoluto que en períodos de violento ejercicio, siendo de modo muy aproximado igual al contenido de nitrógeno de las substancias alimenticias.

De la breve descripción precedente podría parecer deducirse que las proteínas no son necesarias de un modo absoluto para la nutrición de nuestro organismo, ya que los aminoácidos que se producen durante los procesos digestivos son eliminados en forma de urea después de la desaminación y convertidos en hidratos de carbono en los tejidos; pero hay que tener en cuenta que una pequeña fracción no sigue esta suerte, sino que es utilizada para reparar las pérdidas de proteínas que se producen a consecuencia del desgaste que tiene lugar en los tejidos. Los aminoácidos que rebasan la pequeña cantidad que es necesaria son desaminados, siendo excretado el nitrógeno resultante; pero en el caso de que los aminoácidos absorbidos no lleguen a esta pequeña cantidad, se deduce fácilmente que el desgaste nitrogenado de los tejidos no podrá ser repuesto. Tendremos que suministrar, para mantener al organismo en balance nitrogenado (calculado en nitrógeno), la cantidad de aminoácidos precisa para conservar su peso, que es la necesaria para reconstruir las proteínas tisulares.

La cantidad de nitrógeno necesaria para conseguir el equilibrio nitrogenado es muy pequeña, ya que basta para conseguirlo la ingestión de alimentos que tengan unos 5 gramos por día. Si la dieta nitrogenada no alcanza a cubrir estas necesidades se establece el desequilibrio nitrogenado a expensas de las proteínas propias, pero si las proteínas ingeridas rebasan las demandas de N de los tejidos se elimina el exceso. La cantidad necesaria de nitrógeno es particularmente baja cuando la comparamos con la gran cantidad de proteínas que contiene la dieta media.

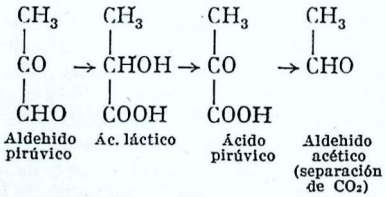
No todos los aminoácidos tienen la misma importancia para la nutrición, ya que en su mayor parte no pueden convertirse unos en otros en los tejidos. Sabemos que la *tirosina* y el *triptofano* son absolutamente necesarios para la vida, ya que su omisión de la dieta va seguida de graves trastornos que producen finalmente la muerte. La *lisina* es necesaria para el crecimiento, como puede demostrarse alimentando ratas con una dieta desprovista de este aminoácido, las cuales, a pesar de conservarse en estado de aparente salud, no aumentan de peso ni de tamaño. La *cistina*, aminoácido que contiene azufre, es también necesaria. No todas las proteínas pueden proporcionarnos los aminoácidos necesarios, ya que en la gelatina y en la zeína faltan tirosina y triptofano.

Este efecto específico de los aminoácidos explica el hecho de que muchas dietas cuyo contenido en nitrógeno rebasa las necesidades del organismo sean insuficientes para el mantenimiento del equilibrio nutritivo. No conteniendo ninguna proteína de la dieta la cantidad de aminoácidos necesaria para la vida y el crecimiento en proporciones exactas a las necesidades del organismo, se puede deducir que muchos de estos aminoácidos sean catabolizados y excretados. No se conoce con certeza el motivo por el cual ciertos aminoácidos ejercen la acción específica que nos ocupa, suponiéndose pueda ser debida a que sean necesarios para la elaboración de algunas secreciones internas. Por ejemplo, la tiroxina, autacoide del tiroides, tiene una cierta semejanza química con el triptofano y la adrenalina con la tirosina, siendo muy verosímil pensar que sin el aporte de estos dos aminoácidos, el organismo sea incapaz de elaborar aquellas importantes hormonas, ya que sabemos de un modo cierto que los tejidos animales son incapaces de producir tirosina y triptofano.

Metabolismo de los hidratos de carbono. Poco necesitamos decir acerca del metabolismo de los hidratos de carbono, por haber dejado consignados los hechos esenciales en las páginas 171-2, 181-2, 290-2.

La glucosa absorbida en el intestino penetra en la corriente sanguínea, pudiendo desde aquí seguir las dos direcciones metabólicas siguientes: *a*) almacenamiento en el hígado o en los tejidos en forma de glucógeno, presto a proporcionar la energía necesaria para el proceso de contracción muscular u otras manifestaciones de la actividad de las células; *b*) su transformación en grasas. La sangre tiene siempre un nivel de glucosa constante (alrededor de 0,1 %) y representa la garantía de poder atender en cualquier momento las necesidades energéticas de los tejidos, siendo el vehículo obligado entre éstos y el reservorio hepático.

Ya hemos descrito en otro lugar el proceso de combustión en el músculo. Aquí la glucosa es almacenada en forma de glucógeno en el sarcoplasma de la fibra muscular, y cuando la fibra es estimulada se convierte en ácido láctico. La producción de ácido láctico va seguida de la contracción muscular. Durante los períodos de relajación y de recuperación consiguiente, una quinta parte del ácido láctico es oxidado formando CO_2 y agua, mientras que las cuatro quintas restantes vuelven a reconstruir glucógeno por la intervención de enzimas intramusculares. Las transformaciones químicas que integran el ciclo que acabamos de mencionar no se conocen en sus últimos detalles, constituyendo estas incógnitas uno de los más arduos problemas del metabolismo intermediario. Quizá por el hecho de que el músculo contiene un fermento capaz de convertir el *aldehido pirúvico* en ácido láctico se ha pensado que el aldehido pirúvico pueda ser una substancia intermediaria entre las transformaciones de glucosa a ácido láctico, de acuerdo con los siguientes estados de oxidación:



El aldehido acético resultante podría ser oxidado dando ácido acético, y éste, por oxidación consecutiva, daría CO_2 y agua. Las ecuaciones químicas precedentes son en gran parte hipotéticas; sin embargo, es muy interesante el hecho de la aparición del aldehido acético, que probablemente constituiría el puente del paso de los hidratos de carbono a grasas.

La transformación de hidratos de carbono en grasas se supone que va precedida del desdoblamiento del hidrato de carbono en ácido pirúvico o aldehido acético. A continuación se cree que aparecería de una substancia conocida por *aldol*,

$$\underset{\text{Aldehido acético}}{2\ CH_3 \cdot CHO} \rightarrow \underset{\text{Aldol}}{CH_3 \cdot CHOH \cdot CH_2 \cdot CHO}$$

El aldol se transformaría luego en *ácido butírico*,

$$CH_3 \cdot CHOH \cdot CH_2 \cdot CHO + \begin{matrix} H \\ \diagdown \\ O \\ \diagup \\ H \end{matrix} \rightarrow CH_3 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot COOH + H_2O$$

El ácido butírico es uno de los ácidos grasos de cadena más corta, del cual ya podrían derivarse grasas neutras.

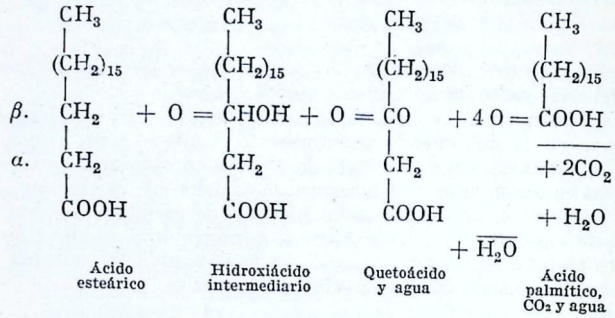
La intervención de la insulina en el metabolismo de los hidratos de carbono ya ha sido glosada anteriormente. Tanto el hígado como los tejidos son incapaces de convertir la glucosa en glucógeno, y éste en glucosa en ausencia de esta hormona, lo cual impide el almacenamiento u oxidación adecuados de los hidratos de carbono. A consecuencia de este trastorno metabólico se produce una combustión incompleta de las substancias grasas, siendo imposible la continuación de la vida cuando falta en absoluto la insulina.

Metabolismo de las grasas. Las grasas penetran en el torrente circulatorio después de haber sido resintetizadas al pasar los ácidos grasos y el glicerol procedentes de la digestión intestinal a través de las células de las vellosidades del intestino, pudiendo ser utilizadas por el organismo con arreglo al esquema siguiente. Una cierta porción de grasa entraría en combinación química con proteínas, siendo utilizadas en la formación de los propios tejidos. La grasa utilizada de este modo no aparecería formando gotitas grasosas discernibles por la observación microscópica y por los reactivos propios de las grasas, por lo que se la ha llamado "grasa oculta". Otra porción de las grasas absorbidas quedarían almacenadas formando parte del tejido celular subcutáneo, mientras que una tercera porción sería rápidamente catabolizada por oxidación hasta CO_2 y agua.

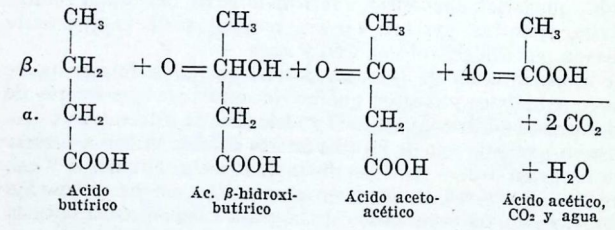
En la constitución de la grasa normal entran a formar parte estearatos, palmitatos y oleatos, que no son otra cosa que ésteres de los ácidos grasos esteárico, palmítico y oleico con el glicerol. Las proporciones en que cada uno de los tres ésteres citados entran a formar parte de la grasa difiere para las distintas especies animales; y así, por ejemplo, en el perro, el oleato entra en mucha mayor proporción que en el carnero. La composición de la grasa también es tributaria del tipo de grasas que contenga la alimentación, ya que si hacemos ingerir grasas del tipo de las que produce el ácido erúcico, después de un cierto tiempo existirán en una cierta proporción en los tejidos.

La oxidación de las grasas en nuestro organismo va precedida de un proceso premonitorio que tiene lugar en el hígado, consistente en la desaturación de las mismas, apareciendo dobles enlaces (que son siempre de una mayor labilidad). La oxidación consecutiva acarrea la separación de los dos últimos carbonos de la

molécula, donde se encuentra el grupo carboxílico COOH, produciéndose el desmoronamiento de los ácidos grasos por pares de átomos de carbono.



El átomo de carbono interesado por el proceso de oxidación es el β, llamándose por este motivo *β-oxidación*. Como resultado de esta modalidad de oxidación que produce el desmoronamiento de la molécula de dos en dos átomos de carbono, los ácidos grasos se irían transformando consecutivamente en el inmediato inferior y en CO_2 y agua. Y así del esteárico pasaríamos al palmítico, y de éste al miristico; luego láurico, cáprico, caprílico, caproico, y finalmente de éste pasaríamos al butírico, el cual daría al ser oxidado como productos finales CO_2 y agua.



En el metabolismo normal, las dos substancias intermediarias (β-hidroxi-butírico y aceto-acético) tendrían sólo una existencia muy fugaz, pero en los animales en los que se produce un mal aprovechamiento de los hidratos de carbono, tal como sucede cuando existe una falta total o parcial de insulina, se produciría un acúmulo en la sangre de ácido β-oxibutírico y de ácido aceto-acético, los cuales determinarían un estado de intoxicación, que cuando es intenso lleva al coma diabético, dando lugar a convulsiones y a la muerte. Esta contingencia puede ser combatida con éxito administrando glucosa e insulina,

las que facilitarían la combustión de estos compuestos resultantes de una catabolia incompleta de las substancias grasas.

La oxidación de las grasas suministra una gran cantidad de energía, unas 9,3 calorías por cada gramo de grasa oxidada, que supone un desprendimiento energético mucho mayor que el proporcionado por una cantidad equivalente de hidrato de carbono o proteína (4,3 calorías por gramo).

II. Metabolismo en los vegetales

Los materiales alimenticios de las plantas. Las substancias que utilizan los vegetales para su nutrición son muy distintas de las que hemos visto necesita el organismo animal, siendo también diferente la forma como penetran en el organismo vegetal y su fuente de origen, ya que son tomadas directamente de la atmósfera y del suelo.

Los gases, como el oxígeno y el anhídrido carbónico, son tomados directamente de la atmósfera, penetrando en los vegetales por un sencillo proceso de difusión a través de aquellas partes de la planta que tienen función respiratoria. Todas las otras substancias precisas para su desarrollo penetran por difusión a través de la membrana de las células de las raíces. El proceso mediante el cual la difusión puede producirse de un modo continuo ya fué objeto de nuestra atención (pág. 78), pero debemos recordar que el ingreso de una mayor o menor proporción de cada una de ellas depende de la diferente permeabilidad de las membranas celulares para con ellas. Además del agua, las substancias que penetran en el vegetal por esta vía pueden ser clasificadas como compuestos de los elementos siguientes: nitrógeno, fósforo, potasio, calcio, magnesio, hierro, azufre, sodio, cloro y silicio.

El *nitrógeno*, componente esencial de las proteínas, es imprescindible para el desarrollo de los vegetales. Este elemento es asimilado en forma de nitratos, que se convierten luego por un proceso desconocido en aminoácidos, que a su vez darán lugar a la formación de las proteínas vegetales, probablemente mediante la intervención de ciertas enzimas. Como es de esperar, el suministro abundante de nitrógeno dará lugar a una exuberante producción de follaje, ya que moviliza gran cantidad de materiales para la elaboración de las proteínas que forman parte de las células vegetales. Por el contrario, la pobreza de nitrógeno del medio en que se desarrolla la planta produce un precario crecimiento y desarrollo de las partes verdes.

El fósforo constituye otro componente esencial del citoplasma y del núcleo de las células vegetales, formando parte de las moléculas de sus fosfoproteínas. Las semillas contienen gran cantidad de fósforo, y la falta de éste en el medio que hayan de desarrollarse inhibe los procesos de mitosis de las células, por lo que se ha supuesto que la intervención de este elemento es más importante para la reproducción y crecimiento que para la vida.

El potasio es indispensable para el metabolismo de las plantas, ya que su falta paraliza el proceso de *fotosíntesis*, que describiremos a continuación. La presencia del *sodio* no parece sea esencial cuando existe abundante aporte de potasio; sin embargo, puede desempeñar un papel de importancia cuando este último se encuentra en poca cantidad. La supresión del sodio y del potasio acarrea alteraciones en la concentración de la savia, ya que los cloruros de ambos cationes influyen considerablemente en el equilibrio osmótico de aquélla, y, en consecuencia, sobre el metabolismo vegetal. La necesidad del aporte de *calcio*, lo mismo que de sodio y potasio, hace suponer que debemos considerar también aquí la importancia del antagonismo de estos iones en lo que se refiere a la permeabilidad de las células, ya que las variaciones de la relación potasio-calcio pueden tener gran influencia sobre el estado de permeabilidad de la membrana celular.

El magnesio y el hierro son indispensables para la formación del pigmento verde, *clorofila*, interviniendo el magnesio en la constitución de la molécula de clorofila. En cuanto a la importancia de la necesidad del hierro, no cabe dudar a pesar de que ignoremos el mecanismo de su intervención, ya que en ausencia de este ion la clorofila no puede ser elaborada. Es interesante que indiquemos que los vegetales sólo pueden utilizar los compuestos férricos, puesto que los ferrosos ejercen sober las plantas efectos altamente tóxicos.

Los compuestos de *azufre* y de *cloro* (además de los cloruros de sodio y de potasio) son necesarios en pequeñas proporciones para muchas plantas y es muy probable que el primero de ellos entre a formar parte de la molécula de ciertas proteínas vegetales de un modo análogo al fósforo. Finalmente, el *silicio* se encuentra formando parte de las membranas de las hojas y en los pelos estaminales, dándoles una cierta rigidez.

El conjunto de procesos que integran el metabolismo de los vegetales puede ser considerado en dos grandes grupos de transformaciones, *anabólicas* unas y *catabólicas* las otras. El proceso sintético o anabólico presenta dos modalidades, la primera de las cuales sería la dependiente de la función clorofílica, merced a la cual en presencia de la energía lumínica el agua y el anhídrido carbónico se combinarían para formar azúcares, y la segunda serie de transformaciones anabólicas comprende la unión de varias substancias nitrogenadas para formar en último término las proteínas vegetales. Respecto a este segundo tipo de transformaciones, se conoce muy poco todavía. La fase catabólica del metabolismo vegetal comprende el desdoblamiento de los hidratos de carbono con excreción de CO_2 y liberación de energía. Además de estos dos tipos principales de transformaciones, tienen lugar otros cambios metabólicos que aseguran el almacenamiento de substancias insolubles en distintos puntos del vegetal y su transformación en substancias solubles, cuando las necesidades nutritivas del vegetal lo hagan necesario.

Fotosíntesis. La síntesis de los hidratos de carbono bajo la influencia de la luz puede considerarse dependiente de cinco procesos que, aunque distintos, se hallan relacionados entre sí.

1.° El anhídrido carbónico del aire circundante penetra por difusión en los tejidos vegetales, y en solución en el agua se pone en contacto con las células que contienen clorofila.

2.° La clorofila tiene la propiedad de fijar una cierta cantidad de energía de la luz que actúa sobre las plantas.

3.° El anhídrido carbónico y el agua son descompuestos bajo la acción de esta energía luminosa captada merced a la clorofila, dando lugar a la producción de gases nacientes que, combinados, producen las transformaciones esquematizadas en la siguiente ecuación:

$$CO_2 + H_2O = CH_2O + O_2,$$

con formación de *formaldehido* (CH_2O).

4.° Químicamente considerado, el formaldehido es un azúcar sencillo, el cual, polimerizándose por un proceso no bien conocido todavía, se transforma en azúcares complejos y en almidones, siendo algunos de éstos almacenados en puntos distintos de la planta y otros son descompuestos para proporcionar una cierta cantidad de energía necesaria para el metabolismo del vegetal.

5.° El O_2 producido en el proceso de fotosíntesis se desprende del vegetal por un proceso de difusión.

De estos cinco procesos, el primero y el último son sencillamente fenómenos de difusión y no requieren ulterior comentario. Los tres restantes, en cambio, merecen una atención más sostenida, y por ello nos ocupamos de los mismos a continuación.

La absorción de luz por la clorofila. El espectro de absorción de la clorofila es muy complejo, ya que presenta seis bandas de absorción. Todas ellas no tienen la misma intensidad, pudiendo observarse diluyendo la solución de clorofila: la que se destaca con mayor evidencia es una banda correspondiente a la porción roja del espectro entre las líneas *B* y *C*, de una longitud de onda de 6400 U. A. En las soluciones concentradas, las seis bandas de adsorción se fusionan, pasando sólo las radiaciones de una longitud de onda comprendida entre las líneas *A* y *B* (entre 7200 y 6900 U. A.). Por esta razón los objetos aparecen de color rojo cuando son examinados a través de una solución concentrada de clorofila.

La clorofila interviene en la síntesis vegetal, transformando la energía luminosa en energía química, pudiendo determinarse la influencia de las radiaciones de distinta longitud de onda con arreglo a las dos técnicas siguientes. Una de ellas consiste en la medición del número de burbujas de oxígeno desprendidas por minuto por un fragmento vegetal sumergido en el agua; el desprendimiento será

proporcional a la intensidad de la fotosíntesis, de acuerdo con la ecuación

$$CO_2 + H_2O = CH_2O + O_2.$$

El segundo método se funda en la disminución del CO_2 de una solución en la cual hayamos sumergido una planta acuática. La cantidad de CO_2 fijada por el vegetal puede medirse fácilmente realizando determinaciones sistemáticas del *p*H de la solución que se desviará hacia la alcalinidad al compás de la desaparición del CO_2.

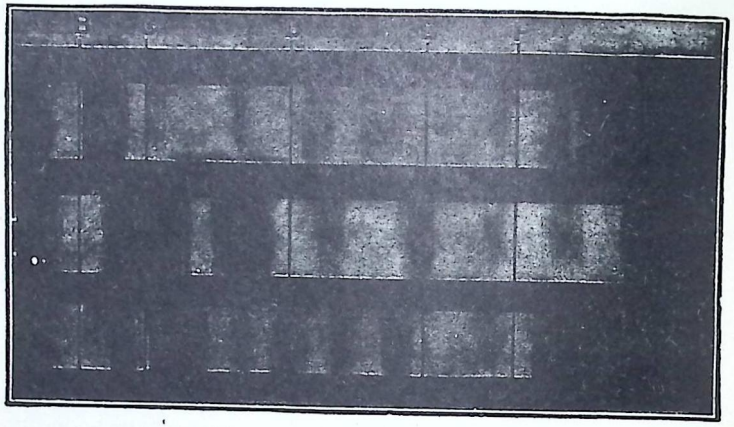


FIG. 115. Espectro de absorción de la clorofila

I. Espectro de la clorofila de las hojas de ortiga.
II. α-clorofila en éter.
III. β-clorofila en éter.

(Según MITCHELL, *Fisiología General.* McGraw-Hill)

Estas experiencias han puesto de relieve que la luz roja es la que ejerce una mayor actividad sintética, correspondiendo el máximo desprendimiento de O_2 o la mayor fijación de CO_2 a la región del espectro situada entre las líneas *B* y *C*, que es, según hemos dicho, la región para la cual la clorofila presenta la banda de absorción más intensa. En la región comprendida entre las líneas *A* y *B* no se ha podido apreciar actividad de fotosíntesis alguna, siendo muy pequeña la que desarrolla la región del amarillo, verde y azul, a pesar de que en esta última zona del azul, la clorofila presenta una banda de absorción muy manifiesta. La explicación de esta diferencia de efecto entre la luz roja y la azul es que la primera presenta una mayor actividad calorífica que la segunda, y aunque ambas son absorbidas, la luz roja contribuye a la síntesis clorofílica en una mayor proporción que la luz azul.

Para demostrar de un modo objetivo la influencia de las distintas longitudes de onda, puede ponerse en práctica uno de los dos métodos siguientes. El primero de ellos consiste en utilizar la propiedad que poseen ciertas bacterias de concentrarse en las regiones en que el contenido de O_2 es mayor. Si colocamos un filamento de planta verde sobre una placa que contenga un cultivo de tales bacterias y lo dejamos en la oscuridad, éstas permanecerán inmóviles por faltar

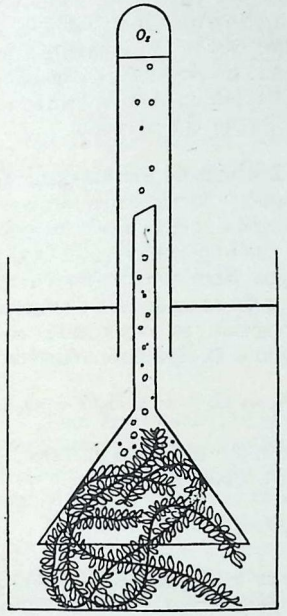


FIG. 116

Método para medir la intensidad de la fotosíntesis, observando la cantidad de oxígeno que desprende un vegetal sumergido en el agua. (Según PALLADIN)

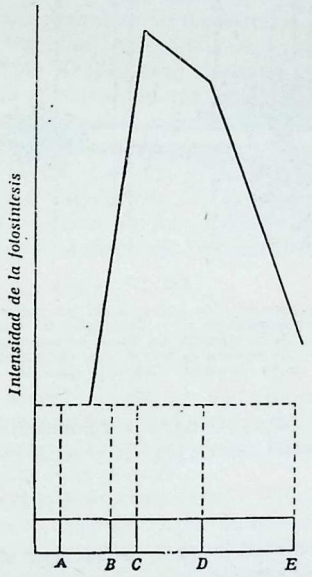


FIG. 117. Intensidad de la fotosíntesis, en relación con las longitudes de onda de la luz. *A*, *B*, *C*, *D* y *E* representan los colores fundamentales del espectro. El máximo de fotosíntesis entre *B* y *C*, zona roja de espectro. (Según PALLADIN, *Fisiología vegetal)*

desprendimiento de O_2. Si en tales circunstancias proyectamos sobre el filamento del espectro solar, se producirá desprendimiento de O_2 en las regiones correspondientes a las dos bandas de absorción, y después de un corto espacio de tiempo podremos observar el acúmulo de bacterias alrededor de dichas regiones. En la zona roja habrá un mayor número de bacterias que en la azul, porque la energía transformada por la absorción de la luz en la región del rojo es mayor que en la del azul. El segundo método depende de la localización del almidón en las hojas y de la propiedad que tiene esta substancia de teñirse de azul

con el yodo. Si dejamos unas hojas en la oscuridad hasta que el almidón haya desaparecido de ellas y proyectamos entonces el espectro solar sobre la superficie de la hoja, veremos cómo se produce inmediatamente una intensa actividad sintética en la zona del rojo y algo menor en la región correspondiente al azul, que se traduce al cabo de un cierto tiempo por la aparición de un intenso color azul en presencia de yodo en la región de luz roja y bastante menos pronunciado en la región del azul. Las porciones de hoja sujetas a la influencia de la luz verde y amarilla del espectro no presentan formación de almidón y, por lo tanto, no se colorean con el yodo.

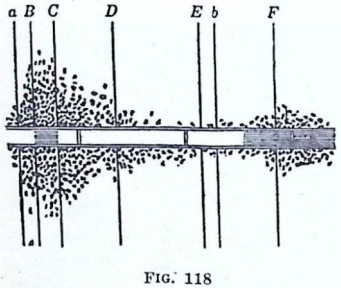


FIG. 118

Agrupamiento de bacterias en las regiones correspondientes a las dos bandas de absorción de la clorofila, en donde la concentración de oxígeno es mayor. (De ENGELMANN, según BAYLISS, *Fisiología General*)

Síntesis de los hidratos de carbono. Se han emitido diversas teorías para explicar los cambios que experimentan el CO_2 y el agua para convertirse en hidratos de carbono. De ordinario la reacción se representa con arreglo a la siguiente ecuación:

$$CO_2 + H_2O = CH_2O + O_2;$$

el CO_2 y el agua se combinarían para formar aldehido fórmico, o podría tener lugar de acuerdo con esta otra fórmula:

$$6\,CO_2 + 6\,H_2O = C_6H_{12}O_6 + 6\,O_2,$$

que vendría ser la misma cosa, sólo que para la formación del azúcar más complejo que es la glucosa se habrían polimerizado seis moléculas de aldehido fórmico. Estas ecuaciones no nos dan ninguna idea de cómo se realiza la reacción, ya que difícilmente podemos imaginar que el CO_2 y el agua reaccionen de un modo tan sencillo; las únicas nociones firmes que podemos aducir son la producción de O_2 y la utilización de CO_2, hechos que pueden ser comprobados experimentalmente en todo momento.

A VON BAEYER debemos la primera hipótesis que se ha emitido acerca de la síntesis de los hidratos de carbono; a su entender tendría lugar en tres fases. En la primera, el CO_2 sería descompuesto en óxido de carbono y oxígeno, y el agua se desdoblaría en oxígeno e hidrógeno. En el estadio siguiente del proceso el óxido de carbono se uniría al hidrógeno para formar aldehido fórmico, desprendiéndose oxígeno. La tercera fase entrañaría la polimerización del aldehido fórmico con formación consiguiente de glucosa. Representando en forma de ecuaciones químicas las transformaciones a que nos hemos referido, serían como siguen:

$$\begin{aligned}
&\text{(I)} && CO_2 = CO + O \\
&&& H_2O = H_2 + O \\
&\text{(II)} && H_2 + CO = CH_2O \\
&\text{(III)} && 6\,(CH_2O) = C_6H_{12}O_6
\end{aligned}$$

Esta hipótesis ha sido casi unánimemente abandonada, por no haberse podido comprobar nunca la existencia de óxido de carbono libre en las células vegetales y además porque se ha demostrado que este gas es anestésico para muchos vegetales verdes. Sólo un número muy reducido de vegetales (por ejemplo, *Tropacolum*) aparecen como capaces de sintetizar almidón cuando se colocan en una atmósfera de óxido de carbono; este hecho demuestra que la interpretación de VON BAEYER puede ser cierta en algunos casos especiales.

La segunda hipótesis de importancia es debida a ERLENMEYER, quien sugiere que el CO_2 formaría en el jugo celular CO_3H_2, y que el ácido carbónico sería reducido por la clorifila con formación de aldehido fórmico y oxígeno, de acuerdo con la siguiente representación:

$$\begin{aligned}
&\text{(I)} && CO_2 + H_2O = CO_3H_2 \\
&\text{(II)} && H_2CO_3 = CO_2H_2 + O \\
&\text{(III)} && H_2CO_2 = CH_2O + O.
\end{aligned}$$

Una vez producido el aldehido fórmico, la síntesis de la glucosa se produciría por polimerización de aquél, como en la teoría de VON BAEYER. Esta hipótesis ha sido también abandonada por razones que se deducen de un examen detenido de la cuestión.

La hipótesis de USHER y PRIESTLEY parece mucho más probable que las anteriores. Según estos autores, el primer jalón de transformaciones al reaccionar el CO_2 y el agua consiste en la formación de aldehido fórmico y peróxido de hidrógeno,

$$\text{(I)} \quad CO_2 + 3H_2O = CH_2O + 2H_2O_2.$$

El peróxido de hidrógeno sería luego descompuesto por una enzima en agua y oxígeno

$$\text{(II)} \quad 2H_2O_2 = 2H_2O + O_2;$$

el oxígeno se desprendería. La cantidad de oxígeno desprendido equivaldría a la cantidad de CO_2 utilizada, como requieren los datos deducidos de la experiencia. La polimerización del aldehido fórmico formaría los azúcares, como en las teorías precedentes; y en caso de que la polimerización no pudiera realizarse con suficiente rapidez, el aldehido fórmico destruiría la enzima reductora del peróxido de hidrógeno, paralizando la función sintética por la acción nociva del H_2O_2 sobre la clorofila.

USHER y PRIESTLEY han conseguido en el curso de sus experiencias sintetizar aldehido fórmico haciendo actuar la luz sobre una solución saturada de CO_2 en agua, yendo acompañada la formación del aldehido con la de H_2O_2, el cual tiene lugar más rápidamente en presencia de clorofila. No sólo es capaz de producir tales efectos la zona visible del espectro, sino que también pueden determinarlos la luz ultravioleta y la emanación de radio al actuar sobre solución saturada de CO_2. Teniendo en cuenta lo que acabamos de decir, no es sorprendente que la luz ultravioleta influya en la producción de hidratos de carbono en los vegetales vivientes.

Se conoce muy poco el mecanismo íntimo del proceso de polimerización del aldehido fórmico para formar glucosa y otras hexosas, y todavía menos acerca de la transformación de éstas en almidones. Ha sido posible polimerizar *in vitro* aldehido fórmico en *acrosa,* azúcar ópticamente inactivo, mediante el uso de la lechada de cal como catalizador; sin embargo, no es verosímil que podamos imaginar una síntesis semejante en la célula vegetal. Ha sido también realizada la transformación de este azúcar inactivo, acrosa, en azúcares ópticamente activos; pero los distintos estadios de este proceso parece no son superponibles a los que tienen lugar en la síntesis clorofiliana. Es muy probable que la síntesis se realice por la intervención de enzimas, de un modo análogo a la que se realiza en el organismo animal para las dextrinas. Por último, hemos de indicar aquí que la luz no es indispensable para que se realicen las transformaciones finales de la síntesis vegetal.

III. Crecimiento

Durante los primeros años de la vida animal, una elevada proporción de los alimentos ingeridos es utilizada para producir nuevos tejidos en el desarrollo del organismo. Este proceso no se realiza con un ritmo uniforme en el transcurso de la vida y ni siquiera durante el "período de crecimiento", sino más bien por accesos repetidos. Esta intermitencia del proceso entraña una efectiva dificultad para el análisis, pudiendo ser obviada en parte ateniéndose al estudio del crecimiento de formas vivientes elementales como el de un cultivo de bacterias en un medio nutritivo adecuado.

El desarrollo de las bacterias. En estos organismos unicelulares el crecimiento tiene lugar, principalmente, por la división de cada célula en otras células hijas; una bacteria se dividiría en dos, éstas, a su vez, en cuatro más, y así sucesivamente. Esta actividad proliferadora supone la utilización de una parte de los materiales nutritivos del medio de cultivo para esta función, y el crecimiento de la colonia en un intervalo de tiempo determinado, dt, dependerá de dos factores: *a*) del número de bacterias producidas; *b*) de la concentración de alimento aprovechable, lo que nos lleva al planteamiento de la ecuación diferencial

$$\frac{dx}{dt} = k \cdot x\,(a - x),$$

en la cual x representa el número de bacterias (por unidad de volumen), a la cantidad de material nutricio existente al comienzo de la observación y k una constante. La cantidad de materiales nutritivos existente en un momento dado será $(a - x)$ para cada bacilo, la suma de los cuales, x, habrá utilizado una cierta cantidad de material alimenticio. Integrando la ecuación precedente tendremos:

$$\log \frac{x}{x - a} = k \cdot a\,(t - t_1),$$

donde x, a y k tienen el mismo significado que antes, y donde t y t_1 representan los tiempos en los cuales el número de bacterias fué observado y aquel en que la concentración bacteriana alcanza casi su máximo. De una observación somera podremos deducir que a indica también la máxima densidad de bacterias que puede conseguirse en el cultivo, ya que ésta se corresponde muy de cerca con la utilización de todo el material alimenticio.

Esta expresión traduce de modo bastante exacto lo que acontece en la práctica. Primero, la velocidad de crecimiento es comparativamente baja, ya que sólo se reproduce un corto número de elementos bacterianos; a continuación se comprueba un progresivo crecimiento, que, sin embargo, es casi siempre proporcional al número de bacterias existentes, ya que cada una de ellas es capaz de reproducirse en presencia de abundantes substancias alimenticias, y, finalmente, su capacidad reproductiva va disminuyendo a medida que el material nutritivo escasea. Una vez que las substancias nutritivas se han agotado, el crecimiento de las bacterias se continúa todavía un cierto espacio de tiempo, que depende a su vez de la cantidad de alimento que existía en el medio de cultivo al iniciarse la observación. Al comprobar los resultados experimentales con los que se deducen del cálculo, es dable observar la más estrecha correspondencia. El crecimiento de las bacterias en un medio de cultivo se ajusta estrictamente a la fórmula antedicha, que sirve para expresar una *reacción autocatalítica,* nombre que también se ha dado a la fórmula matemática en cuestión.

Hasta aquí hemos supuesto que la masa de alimento aprovechable, a, es limitada; sin embargo, es muy interesante hacer notar que puede obtenerse un resultado muy semejante si procuramos que la cantidad de pábulo alimenticio sea ilimitada, ya que los productos resultantes del proceso de crecimiento pueden actuar inhibiendo el

mismo proceso. Como vimos en otro lugar, la velocidad de las reacciones enzimáticas se hallaba condicionada por el acúmulo de los productos resultantes de las mismas. Si tenemos en cuenta esta posibilidad y designamos por A la cantidad de material alimenticio utilizable y por x el número de bacterias existentes en el cultivo, la

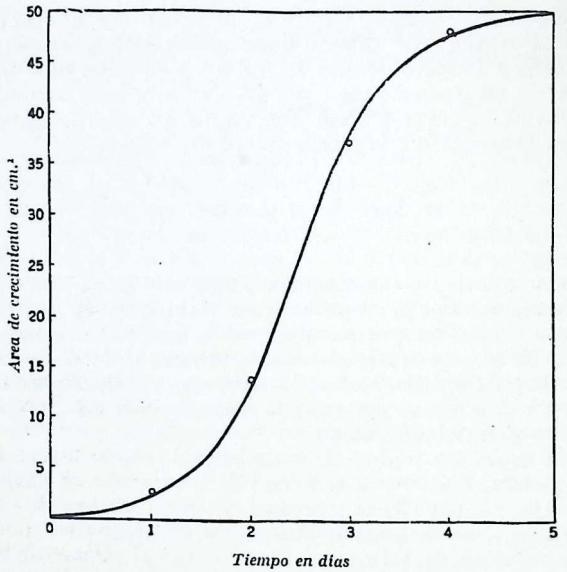


FIG. 119. Crecimiento de un cultivo bacteriano. La curva que representa el crecimiento es una curva autocatalítica. (Según LUDKE)

velocidad del crecimiento, excluído el efecto inhibidor que puedan producir las substancias resultantes de los cambios que acompañan al crecimiento, será entonces:

$$\frac{dx}{dt} = k_1 \cdot A \cdot x.$$

Ahora, los productos de la reacción serán proporcionales a x, o sea el número de bacterias presente, ya que hemos supuesto que la vida de cada célula dependía de su capacidad para desdoblar el medio nutritivo o substrato en los distintos productos resultantes de su metabolismo. Podemos imaginar también que las mismas enzimas encargadas de este proceso de simplificación son capaces de resintetizar la substancia originaria a partir de los productos del desdoblamiento, ya que un proceso semejante se deduce de un modo obligado de las leyes bajo las cuales se produce la acción enzimática

(página 131). Esta acción reversible puede expresarse por medio de la ecuación:

$$\frac{dx}{dt} = k_2 x^2;$$

x^2 resulta de multiplicar x, la cantidad de productos de desdoblamiento presentes (que dependen de x, o sea el número de bacterias existentes en el medio de cultivo), por x, la cantidad de enzimas (tam-

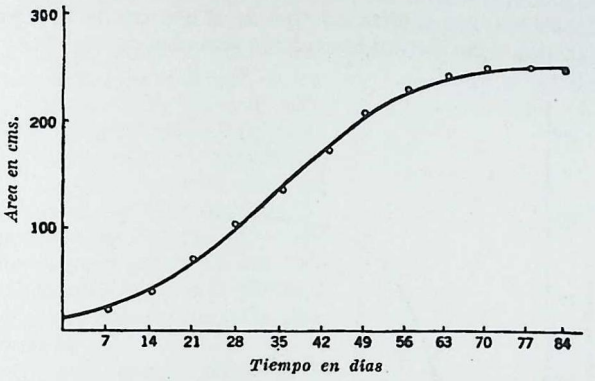


FIG. 120. Desarrollo de las semillas de girasol. (Según LUDKE)

bién dependiente de la riqueza en bacterias del cultivo). Combinando los dos términos de las fórmulas que anteceden, el conjunto del proceso de crecimiento puede expresarse en la ecuación

$$\frac{dx}{dt} = k_1 \cdot A \cdot x - k_2 \cdot x^2,$$

ó

$$\frac{dx}{dt} = k_3 x\,(A - x),$$

expresión idéntica a la de la ecuación diferencial que representa un proceso autocatalítico, excepto A, que tiene aquí un nuevo significado, pues no representa otra cosa que la masa inicial de materiales alimenticios multiplicada por k_1/k_2, o sea la relación existente entre las constantes de velocidad de los procesos de desdoblamiento y de resíntesis de las substancias nutritivas.

Crecimiento en los animales superiores. El crecimiento de los animales superiores tiene lugar en una serie de *períodos de creci-*

miento perfectamente distintos. En el desarrollo del hombre podemos considerar tres períodos: el primero, que abarca el período de vida intrauterina y el primer año; el segundo se produce hacia el segundo o tercer año, y el tercero, que tiene lugar después de la pubertad y alcanza hasta la consecución del completo desarrollo hacia los veinticinco años. En el cerdo hemos de considerar solamente dos períodos de crecimiento, a causa de que el que podríamos considerar como primero tiene lugar en el útero.

Estos períodos de crecimiento se estudian ordinariamente colocando los distintos valores del peso del cuerpo en relación con el tiempo, produciéndose una gráfica del tipo de la que ocupa la figura 122. En ella pueden verse distintamente tres períodos de crecimiento, que

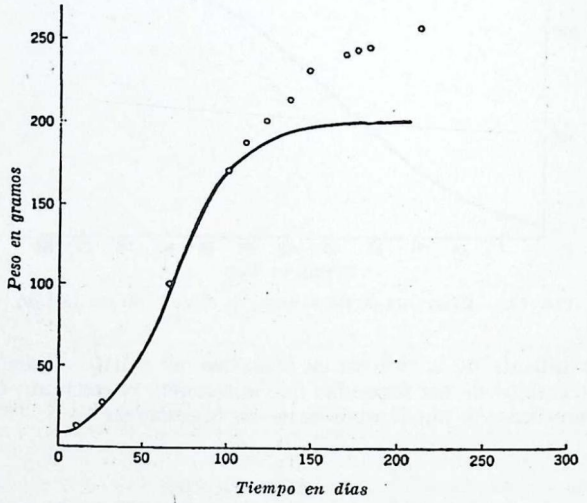


FIG. 121. Desarrollo de la rata. La evolución del crecimiento sigue una curva de tipo autocatalítico hasta el centésimo día. (Según DONALDSON)

se corresponden con tres accidentes en forma de *S*. La superposición de las curvas de crecimiento da lugar a una curva continua que representa las fases del proceso. Las características de la curva de crecimiento con su forma de *S* recuerdan la curva de los procesos autocatalíticos, cuya analogía de expresión con el crecimiento de las bacterias acabamos de ver. Consideremos, por ejemplo, las cifras del crecimiento observado en un niño con las que resultan del cálculo deducido de la siguiente expresión:

$$\log_{10} \frac{x}{341{,}5 - x} = 0{,}136\ (t - 1{,}66),$$

que es la la correspondiente a un proceso autocatalítico, incluídos los valores consecutivos de las constantes.

Edad en meses	Peso observado en onzas	Peso calculado en onzas	Edad en meses	Peso observado en onzas	Peso calculado en onzas
0	127	127	5	254	254
1	155	156	6	270	273
2	187	180	7	287	288
3	206	206	8	300	301
4	224	230	9	311	311

Onza, 437,5 gr.

Como puede verse, la correspondencia de ambos valores es muy notable, habiéndose establecido de un modo exactamente análogo para fijar el crecimiento de niñas y niños de diferentes razas. El crecimiento de otros organismos complejos sigue el mismo curso, teniendo en cuenta que las observaciones sólo pueden referirse a un sólo período de crecimiento. En las figuras 120 y 121 pueden verse representadas las curvas de crecimiento de la rata blanca y del girasol, presentando ambas la típica forma de S.

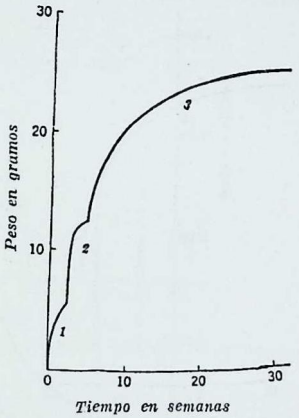


FIG. 122. Curva de desarrollo del ratón macho blanco. Pueden apreciarse tres períodos de crecimiento. (Según ROBERTSON)

La existencia de tales períodos de crecimiento en la curva de desarrollo del organismo indica que en distintos períodos de la vida animal los procesos químicos mediante los cuales los alimentos proporcionan lo que es menester para la constitución de los tejidos pasan por un período de mayor actividad, cuyo mecanismo íntimo no se halla todavía dilucidado. Cuando estas reacciones anabólicas se inician, vemos que se producen de acuerdo con lo que hemos visto sucedía con las reacciones autocatalíticas ordinarias. Primero son lentas, luego se aceleran a medida que el número de células del organismo va aumentando progresivamente, y en un tercer estadio vuelven otra vez a la lentitud del comienzo, probablemente a causa de que los productos resultantes de su propia actividad restringen la continuación del desarrollo. En el caso de los organismos superiores esta inhibición del crecimiento puede ser atribuída a una disminución del material alimenticio aprovechable, según hemos indicado como posible en el desarrollo de las colonias bacterianas, quedándonos tan sólo como explicación del hecho la de que la inhibición del crecimiento sea debida a factores resultantes de la actividad de las mismas células. Por otra parte, no

es de ningún modo necesario que los "factores" a que nos referimos deban ser de naturaleza química, ya que pueden influir "factores" físicos del crecimiento, tales como la presión producida cuando las células, multiplicándose en un espacio reducido, puedan actuar condicionando en un sentido restrictivo el proceso del desarrollo.

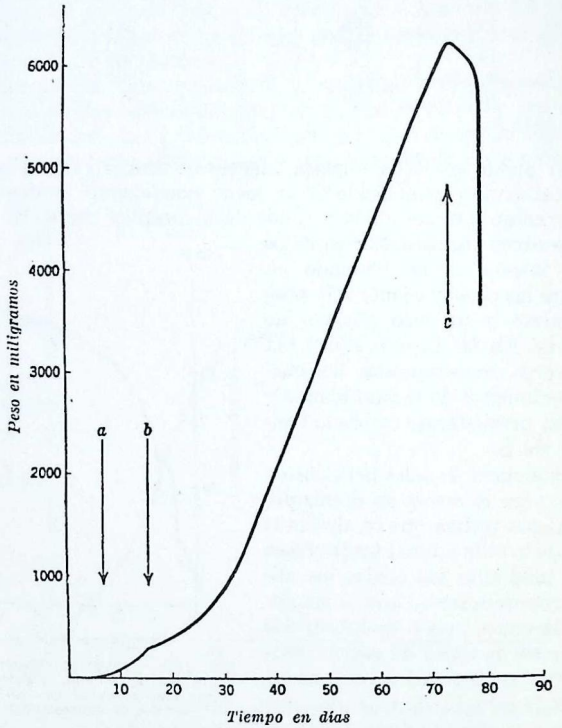


FIG. 123. Gráfica del aumento de peso del renacuajo. En *a*, el animal deja la fase de huevo; en *b*, desaparición de las branquias, y en *c*, metamorfosis completa. (Según THOMPSON, *Desarrollo y forma*)

Los agentes que determinan los períodos de crecimiento son todavía un poco indeterminados; sin embargo, es muy probable que cada peroído de crecimiento se corresponda con la liberación de alguna hormona u hormonas que ejerzan su influencia sobre el conjunto del organismo. Esta interpretación encuentra firme apoyo en lo que sucede durante el período de la pubertad, cuando se produce la atrofia del timo y las secreciones de las glándulas sexuales comienzan a influir el funcionamiento del organismo. Aun cuando la influencia de las hormonas no fuera la causa directa de los períodos de crecimiento, no

puede negarse que su concurso es de extraordinario interés, por lo menos, sobre la intensidad del desarrollo una vez se ha iniciado éste. Esta aseveración puede ser demostrada experimentalmente comparando las curvas del crecimiento de animales a los cuales se ha extirpado determinadas glándulas endocrinas, con las que presentan los animales intactos, o bien estudiando los efectos que sobre las curvas de desarrollo ejercen los extractos de hipófisis, tiroides, etc. También es notable la influencia que ejerce sobre el crecimiento la supresión en la dieta de determinados aminoácidos que podríamos considerar como esenciales (tirosina, triptofano, cistina).

Un caso especial de "períodos de crecimiento" nos lo ofrece la metamorfosis de ciertos animales, ya que aquí el desarrollo de la fase de larva puede individualizarse claramente de los estadios ulteriores.

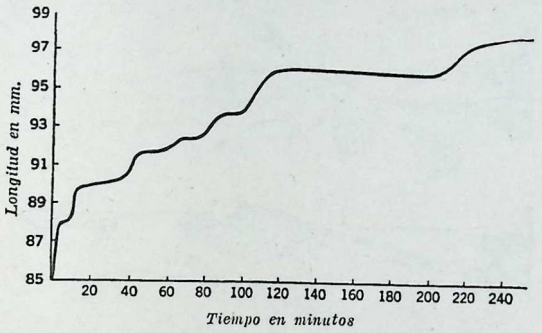


FIG. 124. Aumento de longitud de la Spirogyra. (Según THOMPSON, *Desarrollo y forma*)

Un buen ejemplo de este tipo es la curva de crecimiento del renacuajo que viene representada en la figura 123. En ella podemos apreciar tres accidentes: el primero, cuando el animal hace su eclosión del huevo; el segundo, cuando pierde la respiración branquial, y el tercero, en el momento de la metamorfosis completa. En el desarrollo de las plantas podemos observar que su curva concuerda con la que hemos visto era típica de los animales, ya que con frecuencia el crecimiento tiene lugar de un modo rítmico e intermitente. Esto puede observarse en el desarrollo de la *Sporogyra*, cuya curva de crecimiento podemos analizar en la figura 124, que encaja de un modo aproximado con las características de una curva autocatalítica.

Desarrollo de tejidos "in vitro". Se ha conseguido recientemente conservar el crecimiento de tejidos cultivados *in vitro*. Para ello es precisa la más rigurosa asepsia. La técnica más sencilla consiste en colocar pequeñas porciones de tejido en un medio nutritivo apropiado, ya sea suero, plasma u otros líquidos adecuados a la clase de células que deseamos cultivar, encerrados en una pequeña cámara cons-

truída sobre un portaobjetos y cerrada por un cubre cuidadosamente adherido. Colocándolos luego en condiciones óptimas de temperatura, las células proliferan y aun se diferencian. Extrayendo del cultivo original pequeños fragmentos en intervalos consecutivos, nos aseguramos de que el rápido crecimiento de los elementos cultivados no llegue a consumir el material nutritivo.

Con este método se ha logrado la supervivencia y crecimiento de los fibroblastos del corazón de pollo durante más de diez años, en los cuales las células pasan por lo menos por dos mil generaciones. En las mismas circunstancias se ha conseguido la supervivencia

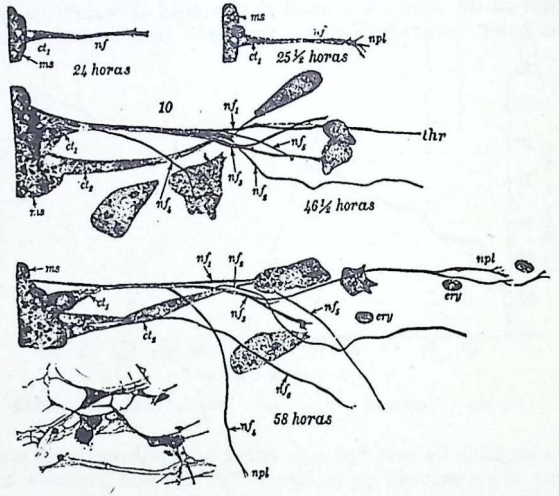


FIG. 125. Crecimiento de fibras nerviosas, en función del tiempo. (Según HARRISON, *Journal of Experimental Zoölogy*)

indefinida de la fibras del corazón de pollo, las cuales muestran su actividad contráctil rítmica. También se ha conseguido el cultivo y desarrollo de las células del testículo. Las células nerviosas crecen en estos medios con una velocidad sorprendente, pudiendo emitir un axón de más de 50 μ de longitud en una hora. La dirección del crecimiento es fácilmente controlada haciendo pasar una débil corriente a través de la preparación, de lo que resulta que los elementos en crecimiento se orientan siguiendo la dirección del flujo de la corriente.

Determinados tejidos no conservan en los cultivos *in vitro* su diferenciación, sin que esto dificulte su crecimiento. El tejido epitelial, por ejemplo, no conserva su diferenciación especial, sino que crece formando una fina capa continua que va aumentando su exten-

sión de acuerdo con la curva autocatalítica típica. Los leucocitos de la sangre también muestran una regresión hacia el tipo monocítico indiferenciado. Los nefrocitos presentan una particularidad muy interesante, pues sus cultivos crecen formando una superficie indiferenciada, la cual se organiza formando tubos renales tan pronto como añadimos elementos de tejido conectivo en el cultivo.

Con estas técnicas ha sido posible establecer que ciertas substancias ofrecen la propiedad de estimular la división de las células, siendo una de las que muestran una actividad mayor la que se halla contenida en los extractos de embrión. La acción de los extractos de embrión parece específica, ya que los extractos de tejido adulto normal no ejercen una acción semejante; sin embargo, ha podido ponerse de manifiesto que los tejidos procedentes de animales adultos, cuando son lesionados o autolizados, presentan una actividad tan grande a estos efectos como la que hemos dicho ejercen los tejidos embrionarios. Es muy probable que en los tejidos lesionados se produzca alguna substancia que contribuya a la reparación del tejido lesionado y que sea la misma que estimule el crecimiento en los cultivos de tejido *in vitro*. Las substancias promotoras del crecimiento han de ser, por otra parte, empleadas prontamente, lo que se explica por el hecho de que su utilización tiene lugar *in situ*.

Capítulo XIII

Respiración

Formas elementales de la respiración. En los organismos unicelulares, los cambios respiratorios se hallan reducidos a la captación de oxígeno y a la eliminación de anhídrido carbónico a través de la membrana que recubre la célula. La presencia de lipoides en la membrana celular se halla en estrecha relación con este proceso, ya que, hablando desde un punto de vista general, la difusión de gases, y especialmente de oxígeno, se realiza rápidamente a través de las membranas de lecitina. La tensión de oxígeno es siempre más elevada en el agua, en la cual se hallan sumergidas las células, que en el interior de las mismas, y de aquí que baste invocar un sencillo proceso de difusión para explicarnos el acarreo de gases a través de su superficie.

En los Celenterios y en los Espongiarios encontramos una disposición semejante: el agua que circula por sus cavidades orgánicas se pone en contacto con la superficie de las células de sus tejidos, llevando a ellas el oxígeno merced a un proceso de difusión. Esta forma de respiración puede ser suficiente cuando la superficie del animal es grande en relación a su volumen; pero así que se inicia la formación de tejidos mesodérmicos, cuando nos elevamos en la escala zoológica, se hace necesaria una diferenciación de la superficie respiratoria para que pueda cumplirse de un modo adecuado esta función orgánica. La primera diferenciación que se produce consiste en la aparición de una gran superficie humedecida y muy vascularizada, a través de la cual pueden ser realizados los cambios de gases. En las formas acuáticas esta superficie respiratoria es externa; sin embargo, en los animales que respiran directamente el aire se halla protegida contra la sequedad merced a un dispositivo de adaptación adecuado.

I. En los Arácnidos y en las larvas de insectos que viven en el agua y en ciertos Isópodos, etc., la superficie respiratoria se diferencia formando *apéndices respiratorios*, uno de cuyos tipos más frecuentes son las placas branquiales. Estas branquias son semejantes a las de los moluscos y presentan una rica red capilar que, poniéndose en contacto con el agua que sirve de vehículo al O_2, lo capta merced a un proceso de difusión incorporándolo a la corriente sanguínea. En los gusanos

pueden verse dispositivos análogos. Los filamentos branquiales de los moluscos son funcionalmente semejantes, el agua que contiene el oxígeno es propulsada sobre ellos gracias a la actividad del epitelio ciliado que los recubre, estableciéndose las condiciones necesarias para que pueda realizarse el cambio de gases por sus diferencias de presión. En el caracol de tierra, la respiración se efectúa por intermedio de una zona muy vascularizada situada en la cavidad del mántum, la cual se encuentra separada del aire por una capa de células. Todos los casos que hemos citado representan dispositivos más o menos diferenciados, los cuales aseguran la respiración a través de una superficie vascular.

II. En los insectos, isópodos y arácnidos se halla desarrollado un sistema de minúsculos tubos que luego se ramifican mucho hasta ponerse en contacto con las células de los tejidos. Estos tubos se denominan *traqueales* y se abren en la superficie de los insectos por unos poros llamados *estigmas*. Este sistema traqueal, que ya fué descrito en tiempos de Malpighio (1669), no se ha conocido de un modo preciso hasta hace poco tiempo en lo que afecta a su importancia funcional.

El aire contenido en las tráqueas muestra una variación considerable al pasar el insecto del estado de reposo al de actividad; en estas circunstancias, la cantidad de O_2 disminuye y la cantidad de CO_2 aumenta. En la fase de reposo, el tanto por ciento de O_2 del aire contenido en las tráqueas es de 15 %, mientras que cuando el insecto se halla fatigado alcanza sólo la proporción del 5 %. Durante la actividad el contenido de CO_2 aumenta más de dos veces con relación al que tiene en reposo. El segundo extremo interesante con respecto a la respiración traqueal es que la difusión gaseosa tiene lugar en este sistema de estrechos tubos con la velocidad más sorprendente; cada uno de los movimientos rítmicos del tórax y abdomen del insecto es capaz de renovar un quinto del aire contenido en el sistema.

III. En muchos animales la respiración se produce parcialmente o en su totalidad por los cambios gaseosos que asientan sobre la superficie del cuerpo. La salamandra mejicana, por ejemplo, presenta con respecto a los cambios respiratorios una particularidad interesante, ya que la cantidad de oxígeno utilizado es la misma cuando suprimimos los pulmones y las branquias que cuando el animal está intacto. La *respiración cutánea* de este tipo desempeña un papel muy importante en los anfibios de sangre fría, como se advierte por las cifras siguientes que se refieren a la rana:

Respiración cutánea, c. c.	Respiración pulmonar, c. c.
$CO_2 = 119$	$CO_2 = 19$
$O_2 = 62$	$O_2 = 59$

Aproximadamente la mitad del O_2 penetra por vía cutánea mientras que el CO_2 eliminado a través de ésta es seis veces mayor que el que se elimina a través de los pulmones.

Así que el tamaño y actividad del animal aumentan, estas formas de respiración tan sencillas resultan insuficientes para su objeto. La primera adaptación que se registra en las formas más inferiores de la escala zoológica consiste, como hemos dicho, en disponer de un área vascular a través de la cual se realizan los cambios gaseosos y que permite a la sangre acarrear el oxígeno a todos los territorios orgánicos. Esta adaptación representa un progreso con respecto a las formas simples de respiración superficial de los celenterios y de las esponjas; no obstante, su utilidad es muy limitada a causa de que la sangre no puede transportar grandes cantidades de O_2 por la pequeña proporción de este gas que se disuelve en ella (unos 0,005 c. c. de O_2 por cada centímetro cúbico de sangre). En este punto aparece una nueva adaptación, que consiste en la existencia de *pigmentos respiratorios* que se unen con el oxígeno. El primero de estos pigmentos en aparecer es la *hemocianina,* que se encuentra en los crustáceos, etc. Este pigmento posee la propiedad de unirse al O_2, y gracias a ella las cantidades de O_2 que puede acarrear la corriente sanguínea son mucho mayores que las que podían ser fijadas en solución por el plasma sanguíneo. Las ventajas que supone la existencia de la hemocianina, con ser notables, son pequeñas en relación con las que resultan de la presencia de otro pigmento respiratorio muy activo, la *hemoglobina,* el cual se encuentra en la sangre de todos los vertebrados y en la de algunos invertebrados.

Hemoglobina. Esta substancia es, con mucho, el más importante de los pigmentos respiratorios, y se encuentra formando parte de los glóbulos rojos de todos los vertebrados y de los invertebrados, *Glycera, Capitella, Phoronis* y *Solen legumen.* Aunque en forma exocelular, también se la encuentra en los anélidos quetópodos, en las sanguijuelas (exceptuando *Hirudo* y *Nephilis*), en la *Polia sanguirubra,* en la larva del insecto *Cheironomus,* en el molusco *Planorbis* y en los crustáceos *Daphnia* y *Cheirocephalus;* también se la puede encontrar localizada en otros tejidos aparte de la sangre, por ejemplo, en la faringe de *Aphrodita* y de los moluscos gasterópodos y en los ganglios nerviosos de la *Aphrodita aculeata.*

La hemoglobina pertenece al grupo de *proteínas conjugadas,* hallándose constituída por una *globina* unida con el pigmento *hematina.* Su constitución química probable es $C_{758}H_{1203}N_{195}S_3FeO_{218}$, con un peso molecular cercano a 17 000, si bien recientes investigaciones lo suponen cuatro veces la cifra precedente. Sus propiedades respiratorias se consideran vinculadas a su contenido en hierro, ya que la hematina sin hierro, o sea la *hematoporfirina,* no tiene la propiedad de captar O_2. Ha podido ser puesto en evidencia que cada átomo de hierro condiciona la captación de una molécula de oxígeno.

Por su elevado peso molecular la hemoglobina es un coloide de carga negativa, como muchos de los coloides que se encuentran en los organismos vivientes. Sin embargo, puede cristalizar consecutivamente

a la adición de oxalato amónico, agitando después con éter, separando las membranas de las células hemolizadas por centrifugación y evaporando, finalmente, la solución de hemoglobina resultante. Con esta técnica se obtienen cristales de hemoglobina de distinto aspecto para las diferentes especies animales, excepto en los casos que el género animal de donde proceden las hemoglobinas ensayadas sean muy cercanos. Apoyándose en estas diferencias de cristalización se ha querido demostrar que corresponden a diferencias dentro de la molécula de hemoglobina en las distintas especies animales, y así se decía que la hemoglobina de la ardilla, por ejemplo, difiere ligeramente en su composición con la de la rata. Este modo de ver ha sido completamente abandonado al ponerse de manifiesto que la forma de los cristales producidos depende más bien de la composición del medio en que se hayan formado. Cuando cristaliza la hemoglobina de rata, el proceso tiene lugar en el suero de rata y la cristalización de la hemoglobina de la ardilla se verifica en el suero de este animal; y no siendo los dos sueros químicamente idénticos, es más verosímil atribuir a este hecho la diferencia de cristalización que a la constitución química de las respectivas hemoglobinas. Lo justificado de este punto de vista se demuestra observando que los cristales de hemoglobina de rata, formados en su propio suero, difieren considerablemente de los que forma la misma hemoglobina de rata en suero de perro o en una mezcla de sueros de perro y rata. Por lo tanto, la utilización de la forma de los cristales de hemoglobina como medio de identificar manchas de sangre, etc., se encuentra totalmente abandonado.

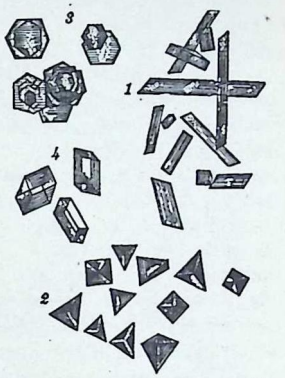


FIG. 126. Cristales de hemoglobina de varias especies animales. 1, de sangre humana; 2, del conejillo de Indias; 3, de la ardilla; 4, del cerdo. (De la *Anatomía* de QUAIN)

Una de las propiedades más características de la hemoglobina es la que resulta de su *espectro de absorción,* que es constante cualquiera que sea la procedencia de la muestra de hemoglobina ensayada. En el espectro hallamos una banda de absorción en el amarillo verde, entre λ-5970 y λ-5350, cuando examinamos una solución de hemoglobina al 0,37 %; sin embargo, los límites de esta banda de absorción varían considerablemente con la concentración. La banda de absorción de la hemoglobina es menos destacada en comparación con la que presentan otras substancias derivadas de ella. En la región infrarroja, la hemoglobina presenta una pequeña banda de absorción, y en la ultravioleta otra banda que también puede obtenerse con globina sola. Otra propiedad óptica de este pigmento respiratorio es la desviación del plano de la luz polarizada hacia la derecha.

La hemoglobina es una substancia de notable capacidad reactiva y forma varios compuestos. Cuando se pone en contacto con aire o con oxígeno se une con este gas formando *oxihemoglobina*, el pigmento de la sangre circulante. Esta substancia difiere de la hemoglobina en algunas particularidades, de las cuales la más evidente es el color: la oxihemoglobina presenta un color rojo vivo, mientras que la hemoglobina tiene un color más oscuro. Este derivado de la hemoglobina presenta un espectro de absorción característico, que consiste en la presencia de dos bandas en el amarillo verde, una entre λ-5890 y λ 5640, y la otra desde λ-5550 a λ-5170. En la región del infrarrojo, la banda de absorción de la oxihemoglobina es más amplia que la que presenta en la misma zona la hemoglobina, y la banda de la región ultravioleta desaparece del espectro. La combinación entre la hemoglobina y el oxígeno es muy laxa y fácilmente disociable cuando la presencia del oxígeno del medio disminuye.

Cuando la oxihemoglobina se trata con ferrocianuro potásico en medio débilmente alcalino todo el oxígeno se desprende, formándose *metahemoglobina*, que es un óxido de hemoglobina estable. Esta substancia presenta un color pardusco y tiene su espectro de absorción característico, con una banda de absorción bien manifiesta en el rojo, además de otras dos bandas muy semejantes a las de la oxihemoglobina. En solución ácida desaparecen estas dos bandas, persistiendo tan sólo la de la región del rojo. La cantidad de oxígeno que contiene esta substancia es exactamente la misma que la contenida por otro "óxido" de la hemoglobina, la oxihemoglobina, sólo que en el caso que nos ocupa se encuentra más fuertemente unido a la molécula, y sólo puede ser separado de ella por un agente reductor muy fuerte, el sulfuro amónico.

Calentando la hemoglobina o la oxihemoglobina en medio ácido o alcalino se desdobla su molécula en globina y hemoglobina, y ésta será ácida o alcalina según la reacción del medio en que hayamos hecho actuar el calor. Utilizando ácidos o álcalis fuertes, este desdoblamiento puede tener lugar en frío. Las hematinas son substancias de color oscuro que presentan espectros de absorción que les son propios, y que, sin embargo, no son suficientemente importantes para ser consideradas aquí. La hematina alcalina puede ser reducida por el sulfuro amónico para formar *hemocromógeno*, substancia rosada que muestra dos bandas de absorción muy intensas en el verde amarillo, cuyo reconocimiento constituye uno de los métodos más sensibles para el diagnóstico de las manchas de sangre.

Si calentamos hemoglobina en presencia de ácido sulfúrico concentrado obtendremos *hematoporfirina* desprovista de hierro, substancia además extremadamente insoluble y sin ninguna propiedad respiratoria. La hematoporfirina presenta la notable propiedad de que inyectada a un animal albino le ocasiona la muerte si luego lo exponemos a la luz. Se desconoce el mecanismo de este efecto; no obstante, se ha dicho que la hematoporfirina pueda ser una substancia sensible a la luz y una especie de compuesto intermediario entre el

pigmento respiratorio de los animales, la hemoglobina y el pigmento vegetal sensible a la luz, la clorofila.

El pigmento verde de las plantas se halla constituído por dos substancias, clorofila α y clorifila β, que contienen magnesio. Esta última es un producto de oxidación de la primera. Saponificando las clorofilas con álcalis se desdoblan en un alcohol, *fitol*, y dos ácidos denominados *fitoclorina* (derivado de la clorofila α) y *fitorodina* (de-

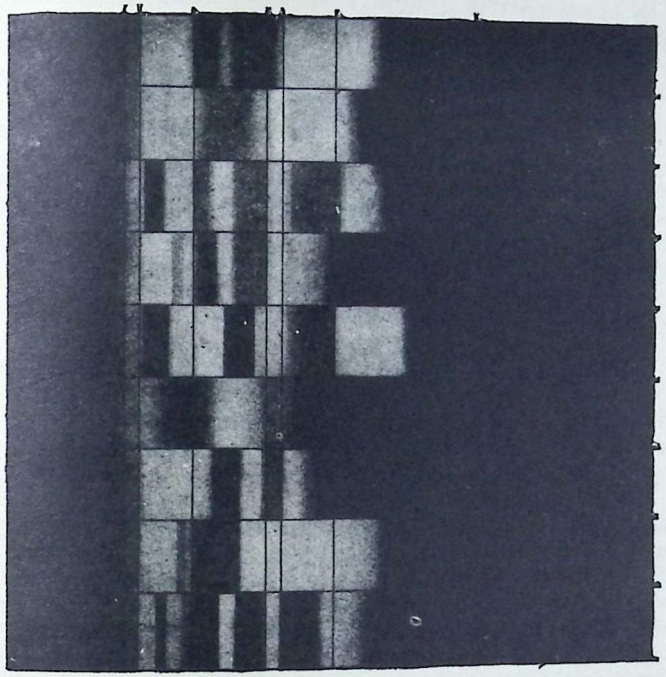


FIG. 127. Espectros de absorción de la hemoglobina y sus derivados. *a*, oxihemoglobina; *b*, hemoglobina; *c*, metahemoglobina; *d*, metahemoglobina alcalina; *e*, hematina ácida de éter; *f*, hematina ácida en alcohol; *g*, hemocromógeno; *h*, hematoporfirina ácida; *i*, hematoporfirina alcalina. (Según MACMUNN, *Spectrum Analysis*)

rivado de la clorofila β), hallándose el magnesio en combinación con el ácido. Continuando la acción de los álcalis se producen las *filinas*, que también contienen magnesio. La adición de ácidos a estas substancias así obtenidas provoca su desdoblamiento y se forman *porfirinas*, siendo estos derivados muy semejantes a la hematoporfirina, ya que si las tratamos con cal sodada y elevadas temperaturas se forma *etioporfirina*.

La clorofila y la hemoglobina son pigmentos que no pueden transformarse uno en otro, ya que en el caso de la hemoglobina la

porfirina se combina con el hierro y con una proteína, mientras que en la clorofila, la porfirina debe combinarse con un alcohol y magnesio. Es muy probable que, a pesar de las diferencias señaladas, ambos pigmentos puedan ser referidos a una substancia originariamente común y distribuída muy ampliamente en la naturaleza, y que sea luego ésta la que, diferenciándose, dé lugar a la formación de dos tipos distintos de pigmento.

La hematoporfirina puede unirse además con otros metales distintos del hierro, por ejemplo, cobre y cobalto.

La hemoglobina y la oxihemoglobina en presencia de CO forman una substancia de color rojo rutilante denominada *carboxihemoglobina*. Compuesto de gran estabilidad, si se forma en la sangre impide que ésta realice su función respiratoria. El espectro de absorción muestra dos bandas, situadas casi en la misma posición que las de la oxihemoglobina; sin embargo, se encuentran un poco desplazadas en relación a las de ésta hacia la parte violeta del espectro. La banda de absorción de la zona infrarroja es sólo una mitad de la que presenta en la misma zona la oxihemoglobina.

Más adelante nos referiremos a la posibilidad de que el CO_2 forme con la hemoglobina un compuesto.

Hemocianina. La hemocianina es el pigmento respiratorio de los moluscos y de mucho crustáceos. Puede obtenerse en estado cristalino precipitándola con sulfato amónico concentrado, y puede ser purificada por diálisis, método de purificación que también puede aplicarse a la hemoglobina.

El peso molecular de la hemocianina no ha sido determinado con certeza; sin embargo, sabemos que es muy elevado. Esta substancia se comporta como un electrólito anfótero, con un punto isoeléctrico cercano a *p*H 5,0. No tiene color propio y no presenta espectro de absorción; sin embargo, combinándose con el oxígeno forma un pigmento azul, la *oxihemocianina*. No se conoce todavía la constitución de la hemocianina, y sólo se sabe que en su composición entra el cobre en lugar del hierro.

La oxihemocianina presenta todas las propiedades de la misma hemocianina y además cristaliza en agujas azules. Su espectro de absorción difiere ligeramente según la procedencia, y así, la de los crustáceos da una banda en el amarillo λ-5630, y sin embargo, la obtenida de los moluscos es λ-5790. Existe otra banda de absorción constante en la zona del azul. La hemocianina y la oxihemocianina pueden combinarse con el óxido nitroso, pero no se conocen otros derivados de estas substancias. Las relaciones que puedan existir entre estos pigmentos y los otros mejor conocidos son del todo ignoradas.

Otros pigmentos respiratorios. Existen muchos otros pigmentos en los vegetales y en las plantas a los que se les atribuye propiedades respiratorias.

Se ha obtenido de ciertos poliquetos un pigmento denominado *clorocruorina*, considerándose como vehículo de oxígeno. Este pigmento tiene un color verde y presenta una banda de absorción entre λ-6250 y λ 5960; agitando con oxígeno se transforma en *oxiclorocruorina*. Esta última substancia conserva el mismo color verdoso, pero, sin embargo, su espectro de absorción es distinto, ya que presenta dos bandas de absorción, desde λ-6180 a λ-5930 y desde λ-5760 a λ-5540. La oxiclorocruorina puede ser reducida a clorocruorina por el sulfato amónico o disminuyendo la presión de oxígeno. La adición de ferrocianuro potásico a la oxiclorocruorina da lugar a la formación de un óxido estable semejante a la metahemoglobina. Por la acción de los álcalis y del calor pueden obtenerse, a partir de la clorocruorina, derivados semejantes a los obtenidos de la hemoglobina. También puede combinarse con el CO, pareciéndose en sus propiedades a la hemoglobina más que los otros pigmentos respiratorios. La cantidad de oxígeno que puede combinarse con la clorocruorina es sólo un tercio del que puede captar la hemoglobina a saturación.

En el hígado del cangrejo y en el intestino de los pulmonados (exceptuando el Planorbis) se ha encontrado un pigmento llamado *helicorubina*. Este pigmento es muy poco conocido, puede combinarse con pequeñas cantidades de oxígeno y es probable que se halle en relación con la hemoglobina. El Planorbis posee hemoglobina.

En los vegetales se encuentran una serie de substancias denominadas *cromógenos respiratorios*, los cuales pueden ser obtenidos con agua hirviendo. En general, estos cromógenos están almacenados en los vegetales como substancias de naturaleza glucosídica, que se desdoblan por la acción de ciertas enzimas en cromógenos. Los cromógenos se unen fácilmente al oxígeno libre produciendo agua y el pigmento respiratorio correspondiente; en estas condiciones, los pigmentos se unen al hidrógeno formado en el metabolismo de las plantas y son convertidos de nuevo en cromógenos. Con respecto a la cuantía que pueda adquirir el fenómeno sabemos relativamente poco.

Asociados a la clorofila se han encontrado dos pigmentos amarillos, que se combinan con el oxígeno con relativa facilidad. Sin embargo, no podemos considerarlos como elementos esenciales a la respiración de los vegetales a causa de que la forma oxidada aparece como muy estable.

En los equinodermos se ha podido aislar un pigmento rojo *equinocromo*, al cual no se atribuye función respiratoria alguna. Se ha dicho que ciertas substancias denominadas *acroglobulinas*, que se encuentran en algunos tunicados y moluscos, presentan propiedades respiratorias; sin embargo, nuestros conocimientos sobre esta cuestión no ofrecen gran interés.

La curva de disociación de la oxihemoglobina. La demostración de la importancia que para el cambio de gases tiene el pigmento

hemático se pone de manifiesto al considerar la *curva de disociación* de la oxihemoglobina.

Supongamos primero el caso de un líquido desprovisto de pigmento respiratorio, por ejemplo, una solución fisiológica. La cantidad de oxígeno o de cualquier otro gas contenido en esta solución puede depender, de acuerdo con la *ley de Henry*, de la presión parcial del oxígeno o del gas que se halle en presencia del líquido. El significado de la presión parcial ya fué expuesto cuando hablamos de la difusión (pág. 81); resumidamente la presión parcial de un gas es la presión que ejercería este gas cuando se encontrase solo. Así, si tene-

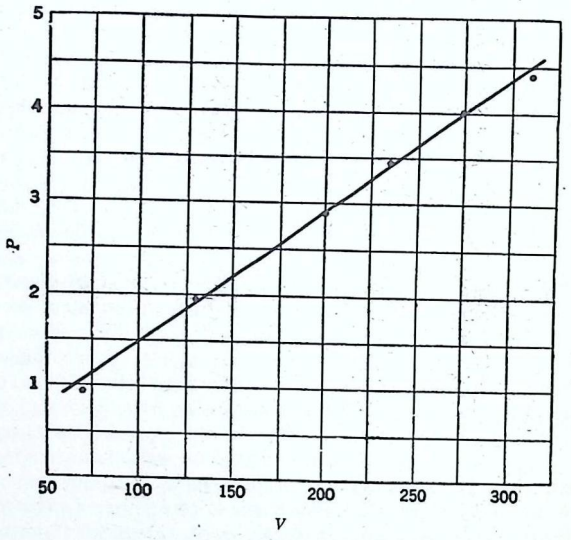


FIG. 128

mos una mezcla de O_2 al 50 %, y de N_2 al 50 %, ambos a la presión atmosférica (760 mm. Hg), la presión parcial de cada gas será de 380 mm. de Hg, y en el caso de que la mezcla estuviera a una presión de 3 atmósferas (2280 mm. Hg), la presión parcial de cada gas sería tres veces mayor, o sea 1140 mm. Hg. La presión parcial del gas sobre la superficie de un líquido determina, en condiciones de equilibrio, la cantidad de gas disuelto en el líquido, teniendo siempre en cuenta que no intervenga ningún otro proceso que el que supone una sencilla solución; si en estas condiciones representamos la cantidad de gas disuelto en función de la presión parcial del mismo sobre la superficie del líquido, obtendremos una línea recta.

Las cifras que siguen expresan la solubilidad del CO_2 en el agua, confirmando lo que venimos diciendo. Si la relación existente entre la

presión parcial P y la cantidad de gas disuelto V es una relación lineal, el valor de V/P será una constante (fig. 128).

P	V	P/V	P	V	P/V
69,8	0,944	0,0135	236,9	3,486	0,0147
128,9	1,865	0,0144	273,8	4,003	0,0146
200,2	2,908	0,0145	311,0	4,401	0,0145

El cumplimiento de esta relación lineal constituye un criterio excelente para despistar la existencia de alguna reacción química entre el gas y alguna substancia en solución en el líquido, ya que cuando esta contingencia tiene lugar la reacción lineal no se cumple.

Si en el ejemplo precedente disminuímos la presión parcial P del anhídrido carbónico sobre la superficie líquida de 311 mm. de Hg a 200,2 mm. Hg (el símbolo "Hg" se omite, generalmente, por sobrentenderse), la cantidad de CO_2 disuelto descenderá de 4,401 c. c. a 2,908 c. c., y la diferencia 1,493 c. c., se desprenderá del líquido en forma de burbujas gaseosas. La proporción en que se va produciendo la disociación entre el gas y el líquido puede ser presentada por la curva lineal de la figura 128, que está trazada de acuerdo con los distintos valores del gas disuelto en función de las variaciones de presión parcial. En realidad puede considerarse que la curva que indica la solubilidad del CO_2 en el agua es la misma curva que indica la disociación del CO_2 en el agua, aunque en la práctica no sea muy usada esta última acepción.

Consideremos ahora lo que acontece con una solución de hemoglobina en agua y las relaciones existentes entre la presión parcial del O_2 que pongamos en contacto con la misma y la cantidad de oxígeno retenida por esta solución, siguiendo el mismo método que hemos visto con el CO_2 y el agua. Para determinar la forma de la "curva" de disociación" del agua y CO_2 hemos medido P, o sea la presión parcial de CO_2 que actuaba sobre el agua, y V, o sea la cantidad de CO_2 disuelto en el agua cuando se alcanzaba el equilibrio; pues bien, de un modo absolutamente análogo podremos obtener los valores que nos habrá de dar la curva de disociación de la hemoglobina disuelta en agua.

Se preparan una serie de tonómetros de una capacidad de 50 a 100 c. c. Éstos son vasos de vidrio de forma cilíndrica que disminuyen de calibre gradualmente por sus dos extremos, uno de los cuales está provisto de una llave de doble paso y el otro extremo abierto puede ocluirse con un tapón. Se coloca una cierta cantidad de solución de hemoglobina (unos 10 c. c.) en cada tonómetro, y entonces se enchufan a una bomba de succión potente, separando mediante el vacío el aire contenido en el interior del tonómetro. Una vez realizada esta operación se coloca cada uno de los tonómetros en contacto con mezclas de aire y nitrógeno, o de oxígeno y nitrógeno, en proporciones adecuadas

para que en cada uno de ellos exista una atmósfera con distinto contenido de oxígeno. Estas atmósferas se preparan fácilmente introduciendo en los tonómetros, en los que se ha realizado previamente el vacío, cantidades contenidas de nitrógeno y aire, cuyo contenido de oxígeno se determina previamente. La manipulación puede considerarse completa cuando hemos preparado nuestra serie de tonómetros, de suerte que en el primero de ellos tengamos una presión parcial de oxígeno de unos 10 mm. y en el último de 150 mm., lo que se consigue en este caso llenándolo de aire atmosférico (el contenido de O_2 es de 20 %, cuya presión parcial a 760 es de 152 mm.).

Se agitan enérgicamente los tonómetros y se colocan después en un baño maría a la temperatura de 37°, con un dispositivo que asegura un movimiento de rotación. En estas condiciones la hemoglobina se repartirá en una fina película por las paredes del tonómetro, produciendo así fácilmente un cambio de gases entre la solución y la atmósfera en él contenida. Se continúan durante 15 minutos los

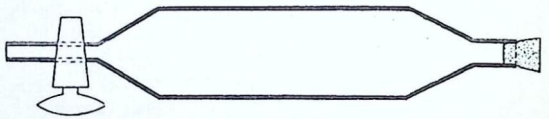


FIG. 129. Tonómetro de BARCROFT

movimientos de rotación, espacio de tiempo suficiente para que el cambio de gases pueda realizarse. El cambio de gases cesa cuando se alcanza el equilibrio.

En estas condiciones se procede al análisis del contenido gaseoso del tonómetro, siendo determinada la cantidad de oxígeno presente y de aquí podremos deducir la presión parcial que nos interesa. Se determina a continuación la cantidad de oxígeno de la solución de hemoglobina, operación que puede realizarse utilizando un dispositivo del tipo del *aparato de Barcroft para análisis de gases de la sangre*.

Este aparato consta de dos pequeños frascos o botellas de unos 10 c. c. de capacidad, cada uno de los cuales puede ponerse en comunicación de una parte con el aire y por otra con un tubo en U, que se halla en conexión con el otro frasco. El tubo en U tiene un calibre capilar y contiene una pequeña cantidad de aceite de clavos, el cual, cuando la presión es la misma en los dos frascos, alcanza idéntico nivel en las ramas del tubo. Adosada al tubo en U va una escala. Cada uno de los dos frascos está provisto de un pequeño recipiente, dentro del cual se coloca antes de realizar la determinación una cantidad conocida de ferrocianuro potásico. Todo el aparato va sumergido en un baño de agua, cuyo contenido será agitado por un dispositivo eléctrico adecuado.

Para medir la cantidad de oxígeno contenido en 1 c. c. de solución de hemoglobina se coloca esta cantidad de solución en uno de los frascos, colocando previamente en su interior una pequeña cantidad de amoníaco para evitar que la muestra de sangre se ponga en contacto con el aire y pueda fijar o perder oxígeno. Se coloca en el otro frasco un volumen igual de agua, para que el volumen sea exactamente el mismo en ambos. Los frascos así dispuestos se cierran, conectándolos entre sí por medio del tubo en U, en el cual observaremos cuidadosamente el nivel del aceite de clavos, dejando transcurrir un cierto tiempo para comprobar que estas manipulaciones preparatorias no han influído alterando el nivel en las dos ramas de esta especie de manómetro. Se inclina entonces el aparato en forma que la solución de ferrocianuro potásico contenido en el pequeño recipiente se vuelque, poniendo su contenido en contacto con la hemoglobina y se mezcle con ella. Al actuar el ferrocianuro sobre la oxihemoglobina de la solución, se desprenderá una cierta cantidad de oxígeno equivalente a la combinada con la hemoglobina para formar oxihemoglobina. El oxígeno desprendido en el frasco que contiene la solución ensayada aumenta la presión en la rama correspondiente del tubo en U, haciendo descender el nivel del aceite de clavos; se dejan transcurrir 15 minutos, después de los cuales se procede a la lectura del nivel que alcanza el aceite. Comparando el nivel que tenía al comenzar la determinación con el que resulte a consecuencia del desprendimiento de oxígeno, podremos determinar la cantidad de éste que se hallaba en combinación con la hemoglobina.

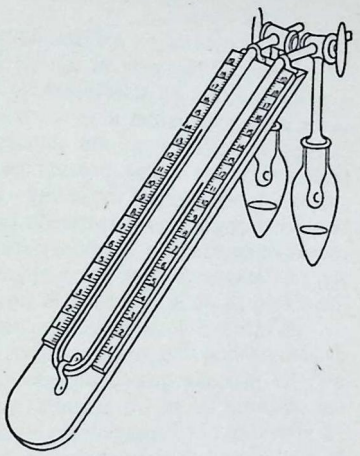


FIG. 130. Aparato de BARCROFT para el análisis de los gases de la sangre. (Según BARCROFT, *Funciones respiratorias de la sangre*, Cambridge, U. P.)

De esta manera podemos determinar la cantidad de oxígeno fijado por la hemoglobina a distintas presiones parciales de este gas. Como tiene algún inconveniente expresar las cantidades absolutas de aquel gas fijadas por 1 c. c., se acostumbra a referir los resultados obtenidos con cualquier presión parcial, en relación porcentual de la cantidad de oxígeno fijado por la hemoglobina en condiciones óptimas, es decir, *saturada*. Con esta notación los resultados son más fácilmente comparables e inteligibles.

Los valores que figuran a continuación se refieren a un experimento en el que se determinaron las distintas cantidades de O_2

fijadas por una solución de hemoglobina a distintas presiones parciales.

Presión parcial de O_2 en mm.	Valores % de saturación	Presión parcial de O_2 en mm.	Valores % de saturación
5	34	50	88
10	55	70	90
15	66	100	94
21	74	150	99
30	82		

La representación gráfica de estos resultados nos dará una curva de concavidad dirigida al eje de las *P*, curva que se conoce con el nombre de *curva de disociación de la oxihemoglobina*. La hemoglobina se halla muy próxima a la saturación cuando la presión parcial de oxígeno es de 100 mm.; sin embargo, se encuentra bastante saturada (más del 90 %) a una presión parcial de 50 mm. de O_2. A medida que la presión parcial disminuye la saturación de oxígeno va siendo también menor, muy lentamente hasta la saturación del 75 %, que se corresponde con una presión parcial de 22 mm. de O_2, y desde aquí con una mayor rapidez hasta alcanzar el cero, que corresponde a una atmósfera privada en absoluto de O_2.

El examen de la curva que representa la figura 131 nos informa de dos hechos. En primer lugar, la curva no es lineal, lo que nos permite afirmar que el proceso de la captación del oxígeno por la hemoglobina no es un sencillo proceso de difusión. Por otra parte, ya vimos que la hemoglobina en solución se combina con el oxígeno, formando una nueva substancia, la oxihemoglobina. En segundo término, la forma de la curva es la de una hipérbola rectangular, que es precisamente la que correspondería si el oxígeno y la hemoglobina, como es muy probable, se unen molécula a molécula, de acuerdo con la ley de las masas.

Sin embargo, el hecho más interesante que puede deducirse de la constatación de estos hechos es que la curva muestra el valor extraordinario que posee el pigmento respiratorio en el proceso de la respiración. Si comparamos, por ejemplo, la captación de oxígeno de una simple solución con el que fija el pigmento respiratorio a distintas presiones parciales de oxígeno, obtendremos la serie de valores que se hallan representados en la figura 131, cuya primera serie corresponde a la línea punteada y la otra a la hipérbola que representa la curva de disociación de la hemoglobina. Si la solución de hemoglobina es al 10 % (la concentración de hemoglobina de la sangre de los mamíferos equivale a una solución al 10 %), se satura completamente a 100 mm. cuando cada centímetro cúbico de la solución fija 0,134 c. c. de oxígeno. En cambio, cada centímetro cúbico de agua a la misma temperatura y bajo la misma presión parcial sólo es capaz de fijar 0,005 c. c. de oxígeno. La capacidad de fijar oxígeno de la sangre es unas 26 veces

mayor que la del agua. Esto representa una grandísima ventaja para los animales cuya sangre contenga hemoglobina, ya que, gracias a ella, el suministro de oxígeno para los tejidos de todo el organismo puede ser mantenido a un nivel muy elevado.

Otro aspecto que pone de relieve el valor del pigmento respiratorio es la forma de comportarse ante la reducción de la presión parcial de oxígeno. En el caso de una simple solución, si la presión parcial disminuye hasta la mitad, la cantidad de gas disuelto disminuye también en la misma proporción. No sucede lo mismo con la combi-

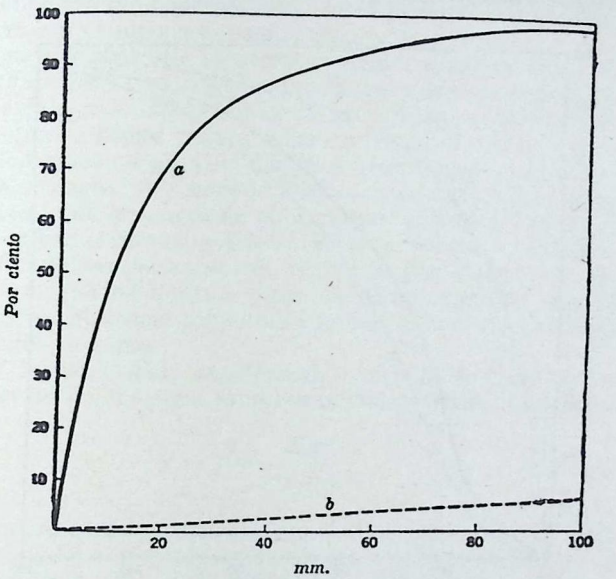


FIG. 131. *a*, Curva de disociación de la oxihemoglobina. *b*, Curva de la solubilidad del oxígeno en el agua

nación del oxígeno con el pigmento respiratorio, ya que la disminución de la presión parcial de O_2 desde 100 mm. a 50 mm., o sea a la mitad, solamente entraña un 10 % menos de oxígeno combinado, mientras que una disminución desde 100 mm. a 20 mm., es decir, una quinta parte de la presión óptima, supone una reducción del contenido de oxígeno de la hemoglobina de sólo 30 %. La presión parcial de oxígeno puede variar, por lo tanto, entre valores de 30 mm. a 100 mm., sin que se produzca ninguna variación de importancia en la cantidad de oxígeno combinado con la hemoglobina. Esto es de la mayor importancia para el organismo, ya que puede soportar variaciones de la presión de oxígeno muy considerables, como las que se producen, por ejemplo, a diferentes altitudes, sin que ello suponga otra cosa que muy pequeñas

variaciones de la cantidad de oxígeno combinado con la hemoglobina de la sangre.

La determinación de la curva de disociación con oxihemoglobina de diversos mamíferos ha puesto de manifiesto que no existen entre ellas diferencias apreciables, siendo la forma de las curvas obtenidas muy constante.

La curva de disociación de la sangre. Si representamos los valores obtenidos trazando la curva de disociación de la sangre de la

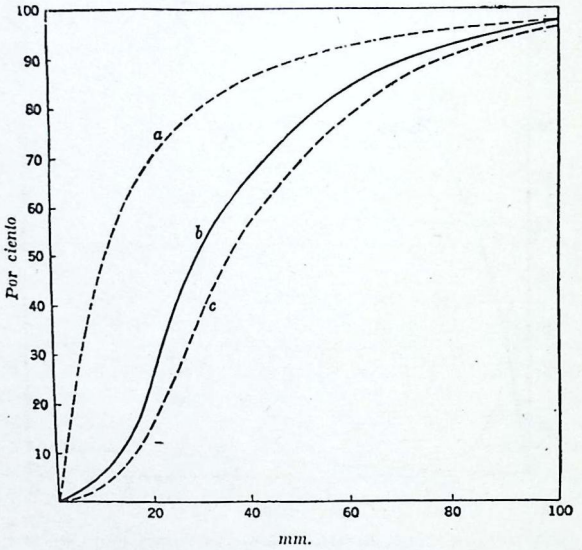


FIG. 132. Curvas de disociación. *a*, de la hemoglobina; *b*, de la sangre; *c*, de la sangre que contiene un exceso de ácido láctico

misma manera a como lo realizamos con la solución de oxihemoglobina en agua, podremos apreciar cómo ambos trazados difieren entre sí considerablemente. Mientras que la curva de disociación de la oxihemoglobina pura nos dará una hipérbola rectangular, la curva de la sangre presentará forma de S, pero sin embargo, finalmente, las dos curvas tendrán el mismo punto de saturación completa, siendo la curva de la sangre mucho menos escarpada en su primera parte que la de la hemoglobina pura. Esto indica que la hemoglobina en la sangre libera su oxígeno mucho más fácilmente que la hemoglobina en solución pura. Así, por ejemplo, la solución pura de hemoglobina, a una presión parcial de 20 mm. de O_2, fija un 72 %; sin embargo, a la

misma presión la hemoglobina disuelta en la sangre total presenta sólo una saturación de 47 %.

La explicación de estas diferencias entre ambas curvas es la siguiente: la sangre total contiene ciertas sales y ácidos, además de la hemoglobina, y son estas substancias las que condicionan la forma de la curva de disociación. Esta característica constituye una modificación muy favorable, ya que permite la cesión de oxígeno por parte de la sangre a presiones bajas, contingencia muy útil si tenemos presente la proporción de oxígeno que la sangre es capaz de fijar. El ácido láctico influye poderosamente sobre la capacidad de combinarse el oxígeno con el pigmento respiratorio, y su acumulación en la sangre, después de violentos esfuerzos musculares, ejerce una influencia sobre la disociación del oxígeno, que es el elemento indispensable para que la oxidación del ácido láctico de los tejidos pueda realizarse.

Aunque ya hemos visto que las curvas de disociación de la solución de hemoglobina pura de distintas procedencias presentan características análogas, no sucede lo mismo cuando comparamos la curva de disociación de la sangre de estos mismos animales. Las diferencias halladas se han atribuído a diferencias en el contenido de sales de las distintas muestras de sangre. Si añadimos, por ejemplo, a una solución de hemoglobina humana pura las sales contenidas en la sangre de perro, veremos cómo presenta la forma de la curva de disociación de la sangre de perro.

HILL ha establecido una fórmula que permite calcular la curva de disociación de la sangre total con notable exactitud. La fórmula es:

$$y = 100 \frac{Kx^n}{1 + Kx^n}$$

donde y representa la saturación porcentual con oxígeno y x la presión parcial. Esta fórmula se funda en el supuesto de que en las condiciones ordinarias en la sangre total, las moléculas de hemoglobina no reaccionan con las de oxígeno individualmente, sino formando grupos de n moléculas. Siendo probable que el sistema contenga agrupaciones moleculares de distinto número de moléculas, n habrá de ser un valor promedio. Han sido dadas distintas interpretaciones con respecto al criterio que debemos seguir para aplicar la fórmula de HILL. BAYLISS, por ejemplo, se inclina a considerar la curva como relacionada con la isoterma de adsorción, dudando de que n pueda significar el número de moléculas de un grupo.

Antes de dejar de ocuparnos de la curva de disociación de la sangre total, debemos hacer presente que aunque la curva se traza siempre teniendo en cuenta la tensión parcial de oxígeno y la saturación porcentual, puede también expresarse referida al número de centímetros cúbicos fijados por 100 c. c. de sangre, valiéndonos de la cifra que resulte de la *capacidad de oxígeno* de la sangre. Se entiende por capacidad de oxígeno el número de centímetros cúbicos que pue-

den ser fijados por 100 c. c. de sangre a saturación completa; este valor en el hombre es notablemente constante, siendo de unos 18,5 c. c. Cuando la saturación es completa (100 %), 1 c. c. de sangre se combina con 0,185 c. c. de O_2, y conteniendo 1 c. c. de sangre 0,138 gramos de hemoglobina, 1 gramo de hemoglobina podrá combinarse aún a menos saturación con 1,34 c. c. de oxígeno.

La curva de disociación en los peces. Las curvas de disociación de la oxihemoglobina de los peces difieren considerablemente de lo que hemos visto, ya que los requerimientos de oxígeno en los seres acuáticos son muy distintos de los que representan los animales terrestres.

Lo característico de la curva de disociación de la hemoglobina de los peces es la baja presión parcial a la que se produce la saturación de oxígeno. La sangre de los peces de agua dulce como la anguila, sollo y carpa, alcanza la saturación media a presiones extraordinariamente bajas de 2 a 3 mm. En los peces marinos esta saturación media no se alcanza tan fácilmente, ya que en ellos es preciso que la presión parcial de O_2 sea de 10 a 15 mm., y la saturación completa de 60 a 70 mm. La presencia de CO_2 o de ácido láctico modifica mucho la curva de disociación, cediendo en estas condiciones la hemoglobina su oxígeno con presiones parciales relativamente altas.

La curva de disociación en la Arenícola. La sangre de este animal presenta singular interés por ser una de las formas más primitivas que contienen hemoglobina. Está fuera de duda que el tipo de hemoglobina que se encuentra en este gusano no es de la misma naturaleza que la del hombre, ya que la oxihemoglobina muestra un espectro de absorción distinto. Una diferencia semejante puede ser observada con la metahemoglobina preparada a partir de la sangre de *Arenícola* y de los mamíferos respectivamente. Una vez comprobadas estas diferencias, no es aventurado suponer en la hemoglobina de la *Arenícola* una capacidad de fijación para el oxígeno muy distinta de la que es característica en el pigmento respiratorio de los mamíferos.

La curva de disociación representada en la figura 133 nos muestra que la hemoglobina de la *Arenícola* se satura de oxígeno a presiones parciales bajas en comparación con la hemoglobina humana, ya que a una presión de 2 mm. de O_2 se consigue la media saturación, llegando a saturación completa cuando la presión es de 10 mm. Como vemos, la curva de saturación se asemeja más bien a la que presenta la sangre de los peces, hallándose adaptada para realizar su función a presiones bajas de oxígeno, que son las que acostumbran a encontrar en el medio que viven.

La curva de disociación de la oxihemocianina. La capacidad de combinación del oxígeno con la hemocianina es mucho menor que la que presenta la hemoglobina, pues mientras que la capacidad de esta

última es de 18,5 c. c., la de la hemocianina es sólo de 1 a 4 c. c., explicándose la variabilidad de estas últimas cifras como debida a la distinta composición de la hemocianina en los diferentes invertebrados, habiéndose comprobado una diferencia bastante marcada, por ejemplo, en las muestras pertenecientes al *Limulus* con respecto a las del *Octopus*. Del mismo modo que la capacidad de fijación de oxígeno en la hemoglobina se halla vinculada al contenido en hierro en su molécula, también parece que en la hemocianina existe una relación

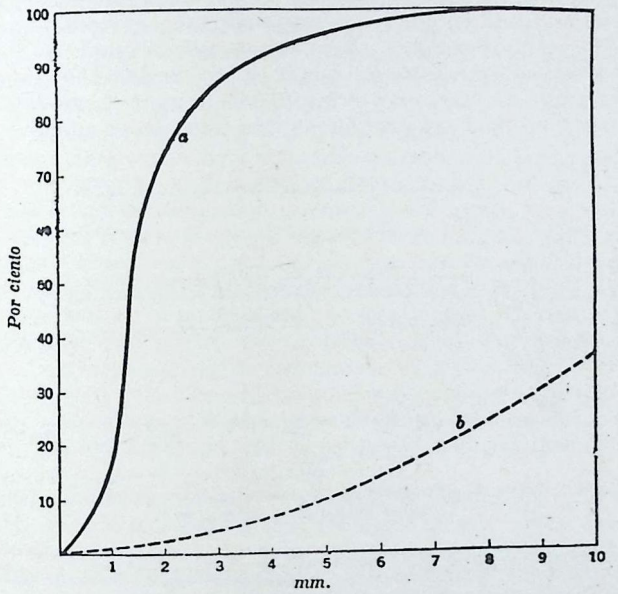


FIG. 133. Curva de disociación de la sangre de *Arenícola*. *b*, fragmento de la curva de disociación normal de la sangre humana. (BARCROFT)

entre su contenido en cobre y su capacidad fijadora de oxígeno. En el cuadro que siguen pueden apreciarse algunas de estas diferencias:

Animal	Centímetros cúbicos de O_2 por 100 c. c. de sangre	Miligramos de cobre por 100 c. c. de sangre
Octopus	4,05	25,6
Homarus	3,1	10,5
Astacus	2,4	8,0
Helix	1,8	9,0
Cancer	1,6	5,5

La curva de disociación de la sangre de estas especies presenta también la forma de S, característica de la sangre de los mamíferos;

sin embargo, la solución de hemocianina pura da lugar a una hipérbola rectangular. Como cabía esperar, los valores de la curva de la sangre del *Octopus* difieren de los de la sangre del Cancer; sin embargo, la forma matemática es aproximadamente la misma.

La curva es influída por la presencia de sales, como ya hemos visto con anterioridad, dependiendo la capacidad de combinación del oxígeno con el pigmento respiratorio del *p*H del sistema en el que realicemos la observación. Se ha demostrado que la sangre del *Homarus* presenta su máximo de afinidad por el O_2 en su punto isoeléctrico, y su mínimo en el punto en que la viscosidad de la solución de hemocianina o de la sangre total es mayor. Esto parece indicar que la afinidad por el O_2 depende en gran parte del estado de ionización de la hemocianina, ya que el grado de ionización es mínimo en el punto isoeléctrico y máximo cuando se alcanzan los valores más altos de viscosidad.

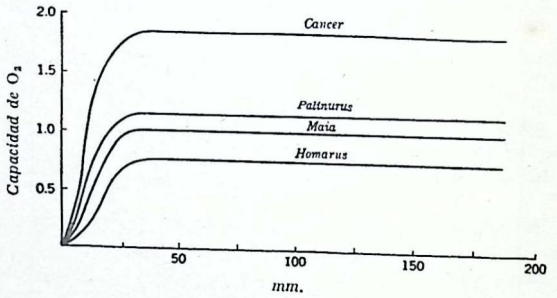


FIG. 134. Curva de disociación de la oxihemoglobina de varios crustáceos. (Según STEDMAN y STEDMAN)

La cesión de oxígeno. En los animales provistos de pulmones, la hemoglobina de la sangre capta oxígeno durante su paso a través de los capilares que irrigan los alvéolos del pulmón, en los cuales se encuentran separados del aire alveolar por una fina membrana epitelial. En los peces y en los crustáceos, en los que la ventilación se realiza por intermedio de branquias, la sangre pasa a través de estas formaciones, en donde el pigmento respiratorio se halla separado del agua que vehicula el oxígeno por una fina capa de células.

Ya se ha dicho que la presión parcial de oxígeno del aire contenido en los pulmones es superior a la que supone el contenido de este gas en la sangre venosa que a ellos llega. Para expresar este hecho se acostumbra a referirlo, no a la presión parcial de este gas, sino al contenido del mismo que acarrea la sangre, midiéndose estos valores con arreglo a las mismas unidades numéricas que la presión parcial de oxígeno, por ejemplo, en un líquido en el que la tensión de O_2 sea de 50 mm., significa que se halla en equilibrio con una presión parcial de este gas de 50 mm. La tensión de O_2 en el aire alveolar es

de unos 100 mm., y la tensión de oxígeno en la sangre venosa que llega al pulmón es de 55 mm.; por un simple proceso de difusión se producirá el paso del oxígeno de la zona en que se encuentra a mayor tensión a la zona en que se encuentra a tensión más baja, y de este modo la hemoglobina parcialmente reducida de la sangre se oxigena. Como la extensión a través de la cual se realizan estos cambios gaseosos es muy grande, el proceso se cumple en un espacio de tiempo muy corto. Como resultado de la oxigenación de la sangre en los pulmones, la hemoglobina, al abandonar éstos, se halla muy próxima a la saturación, es decir, con unos 100 mm. de O_2.

A pesar de que el proceso de difusión basta para explicarnos en condiciones normales el cambio de gases de la sangre en el pulmón, se han ideado algunas hipótesis que atribuyen al epitelio pulmonar una actividad secretora merced a la cual tendría lugar el proceso de oxigenación. Este modo de ver encuentra apoyo al considerar lo que sucede en lugares muy elevados, en donde la tensión de oxígeno del aire alveolar puede descender a cifras de 55 mm., y, en cambio, la sangre arterial podría tener un contenido de oxígeno superior a esta cifra, lo que difícilmente puede explicarse por un sencillo proceso de difusión. Estos hechos han sido muy discutidos y criticados, pero sin embargo todavía no se les ha dado una explicación satisfactoria. No es imposible, por otra parte, que el epitelio pulmonar pueda segregar oxígeno, ya que existen en la Naturaleza ejemplos de epitelios secretores de oxígeno, como, por ejemplo, el que constituye la vejiga natatoria de ciertos peces, si bien hemos de reconocer que el aspecto de estas células secretoras de gas es muy distinto del que caracteriza las que constituyen el epitelio pulmonar.

En el caso de los peces y crustáceos, la tensión de oxígeno en la sangre es siempre más baja que la del agua en que viven. La ventilación de la sangre puede ser conseguida en estas circunstancias por simple difusión de oxígeno desde el medio que lo contiene a una mayor concentración hacia la sangre. Aquellos peces en los que la saturación de oxígeno se realiza a tensiones bajas de este gas, pueden vivir en acuarios con agua sencillamente aireada; pero en aquellos otros que la saturación de la sangre tiene lugar a tensiones relativamente altas (como los peces de mar) sufren muy pronto con la escasez de oxígeno, teniendo que ser acondicionados en un acuario en el que la oxigenación se halle prevista con amplitud.

Función de los hematíes. Sólo en muy raros casos la hemoglobina aparece como un pigmento libre en la corriente sanguínea (en los anélidos, sanguijuelas, *Daphnia* y *Cheirocephalus*, y en algunos otros invertebrados); casi siempre el pigmento forma parte de ciertas células. Esta disposición sugiere la idea de investigar el porqué puede realizarse mejor dicha función en esta forma que en estado libre.

Las ventajas más importantes que se deducen de que el pigmento se halle contenido en las células hemáticas no son difíciles de apreciar.

En primer lugar, cada hematíe contiene una cantidad relativamente grande de pigmento, hasta un 33 % del contenido total, el cual se halla en solución en un medio salino, compuesto de agua y sales, a una concentración la más elevada que se conoce entre las soluciones de proteína. En el caso de que esta gran cantidad de proteína se encontrase libre en la corriente sanguínea, como sucede en los anélidos y sanguijuelas, la viscosidad de la sangre en los mamíferos sería mucho mayor, con las dificultades consiguientes para su transporte y aumento de trabajo para mantenerla a la misma presión; esta desventajosa contingencia no tiene lugar en los anélidos y sanguijuelas por ser relativamente reducida la cantidad de hemoglobina que contiene su sangre.

En segundo término, la presencia de los hematíes permite hacer la circulación capilar más *tumultuosa*, condición ésta que favorece el cambio de gases, ya que si la circulación capilar se realizase de un modo ordenado (semejante a la de una corriente suave de agua), el líquido en contacto con las paredes capilares se hallaría así en reposo,

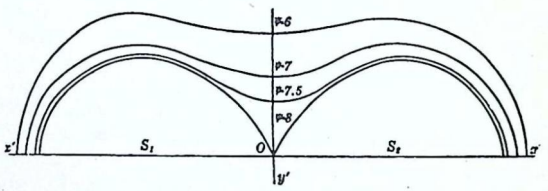


FIG. 135. Superficie de difusión equipotencial con respecto a los puntos S_1 y S_2. Hay que imaginar la figura en rotación alrededor del eje y'. La superficie $\psi = 7$ presenta una gran semejanza con la superficie de los hematíes. Compárese con la figura 26

y, en estas circunstancias, la transferencia de oxígeno desde la sangre a las células que constituyen las paredes de los vasos y a las situadas en el espesor de los tejidos sería insignificante. La presencia de los hematíes (actuando como obstáculos mecánicos que obstruyesen una corriente líquida) influiría haciendo que la corriente fuere algo más agitada, lo cual favorecería el cambio de oxígeno.

La tercera ventaja que puede ser atribuída al englobamiento del pigmento en los hematíes se deriva de la forma de estos corpúsculos, que es la más adecuada para el paso de gas desde la periferia a su interior. Si consideramos lo que sucede cuando tiene lugar un proceso de difusión entre dos puntos adyacentes, la substancia difusible alcanzará al mismo tiempo determinados puntos de una cierta curva denominada *curva equipotencial*, cuya forma se asemeja mucho a la que resulta de la sección de un hematíe. Aunque la superficie externa del hematíe no es una superficie equipotencial perfecta, es lo suficientemente parecida para que podamos afirmar que un gas situado dentro o fuera de la célula podrá difundir a través de ella en las condiciones más perfectas posibles. En efecto, por cálculo ha podido establecerse que si los hematíes fueran esféricos, para que la difusión de gas

tuviera lugar con la misma rapidez que en los hematíes normales, serían precisos, por lo menos, nueve veces más elementos celulares, cada uno de ellos de un tamaño equivalente a 1/9 del que corresponde a un hematíe normal de mamífero, presentando esta excesiva subdivisión celular un gran número de desventajas para la economía animal.

No podemos dejar de esclarecer que no creemos suficientemente justificado el argumento teleológico que resulta de explicar la forma de los hematíes por su utilidad para la respiración, pues aunque es cierto que los hematíes de los mamíferos (con la única excepción de los del camello) son los mejor dispuestos para la función respiratoria, no podemos decir otro tanto de los hematíes de las aves, reptiles, anfibios y peces, en los cuales la disposición morfológica de los glóbulos rojos es, evidentemente, menos ventajosa. Sabemos muy poco todavía acerca de las condiciones bajo las cuales se elabora el pigmento hemático, para poder encontrar una explicación satisfactoria del porqué se halla dentro de las células en la mayor parte de animales y disuelto en la corriente sanguínea en un pequeño número de ellos. Parece indudable que la elaboración del pigmento presenta una fase intracelular, y por ello no es aventurado decir que tal vez lo que necesite una explicación sea la existencia del pigmento en estado libre más bien que su presencia en el interior de las células hemáticas.

Respiración en los tejidos. Ya hemos visto repetidamente ejemplos acerca del consumo de oxígeno en diversos tejidos como glándulas, músculos y epitelio ciliar, en reposo y durante su actividad. Algunas cifras dispuestas en forma de cuadro pueden poner este hecho más de manifiesto.

Órgano	Consumo de O_2 en c. c. por gr.		Tipo de actividad
	Reposo	Actividad	
Gl. submaxilar	0,027	0,089	Secreción de saliva
Riñón	0,026	0,102	Secreción de orina
Hígado	0,005	0,024	Después de comer
Suprarrenal	0,045	0,135	Secreción adrenalina
Corazón	.....	0,060	Actividad normal
Pulmones	.....	0,015	Actividad normal

El consumo de oxígeno durante la fase de actividad es de dos a cinco veces el que se consume durante el reposo.

La tensión de oxígeno en los tejidos es virtualmente igual a cero, ya que todo el oxígeno allí existente se encuentra en estado de combinación; siendo, en cambio, la tensión de este gas en la sangre de unos 100 mm., el paso del oxígeno hacia las células de los tejidos se puede explicar por un sencillo proceso de difusión. Una vez llegado a la célula el oxígeno se combina, lo que da lugar a que se produzca un proceso que no difiere mucho del de "absorción continua", que citamos en la página 78.

La teoría según la cual el oxígeno se almacenaría en el interior de las células formando una combinación laxa, que podría liberarlo en cualquier momento, ha sido generalmente abandonada. Esta teoría asienta sobre el supuesto de la existencia de grandes moléculas (moléculas biógenas), las cuales fijarían el oxígeno sobre cadenas laterales, de donde sería desplazado para reaccionar con substancias que hubieran de quemarse y que a su vez se hallarían unidas a otras cadenas laterales, y de este modo el conjunto de "reacciones de la materia viva" se desarrollaría alrededor de aquellas moléculas gigantes. Pero la existencia de estas moléculas biógenas no parece haber sido puesta de manifiesto. Parece mucho más probable que las "reacciones de la materia viviente" tengan lugar en el interior de las células, acomodándose más bien con el tipo de las reacciones que se verifican en otros tipos de sistemas heterogéneos.

Curva de disociación para el CO_2. La función respiratoria supone, además de un amplio suministro de oxígeno a los tejidos, la expulsión del anhídrido carbónico resultante de la actividad metabólica de los mismos.

Podemos obtener la curva de disociación del CO_2 procediendo de un modo análogo a como vimos era obtenida la de la oxihemoglobina. Colocamos una cierta cantidad de sangre en contacto con atmósferas de CO_2 de presión parcial conocida hasta conseguir la fase de equilibrio, determinando luego el contenido de CO_2 de la sangre por medio del aparato de BARCROFT para análisis de gases. Para determinar la cantidad de CO_2 en la sangre con el aparato BARCROFT, se procede a las mismas manipulaciones que vimos eran precisas para determinar el contenido de oxígeno, excepto la sustitución en este caso del ferrocianuro potásico por el ácido tartárico, el cual, al mezclarse con la sangre, produce el desprendimiento de CO_2. También puede emplearse con objeto de medir el CO_2 y tal vez con ventaja el aparato de VAN SLYKE. La descripción de este aparato se encontrará en cualquier libro de prácticas, y en él la liberación del CO_2 se produce exponiendo la sangre al vacío.

Cuando trazamos la curva de disociación de la sangre para el CO_2 no se obtiene una línea recta, con lo cual puede concluirse que el proceso mediante el cual se fija el CO_2 en el plasma sanguíneo no es un sencillo proceso de difusión. Parece ser que en el plasma sanguíneo existe alguna substancia con la que el gas se une; algo análogo a lo que vimos entre el pigmento respiratorio y el oxígeno para formar oxihemoglobina. Esto explicaría el hecho de que la cantidad de CO_2 contenida en la sangre es mucho mayor de la que corresponde a una solución.

Dos son las substancias contenidas en la sangre que pueden entrar en reacción con el CO_2: el bicarbonato sódico contenido en el plasma y la hemoglobina de los glóbulos rojos. La combinación con el bicarbonato ha sido comprobada con certeza; sin embargo, la combinación directa con la hemoglobina parece algo dudosa. Ya hemos visto

que cuando se disuelve CO_2 en el agua se forma una cierta cantidad de CO_3H_2, que es un ácido débil que, al disociarse, da lugar a la formación de iones $H^{\cdot}$ y CO_3H'. Ahora bien; el CO_3HNa, al disociarse, deja en libertad iones de $Na^{\cdot}$ y CO_3H', siendo el último de éstos, según hemos visto, común a ambas substancias. Por lo tanto, si añadimos CO_2 a una solución que contenga CO_3HNa, una considerable cantidad de éste se disociará, de acuerdo con la siguiente relación:

$$\frac{CO_3H_2}{CO_3HNa}$$

que puede considerarse constante (pág. 109). Así, cuando añadimos CO_2 a la sangre y se forma CO_3H_2, el aumento de concentración de

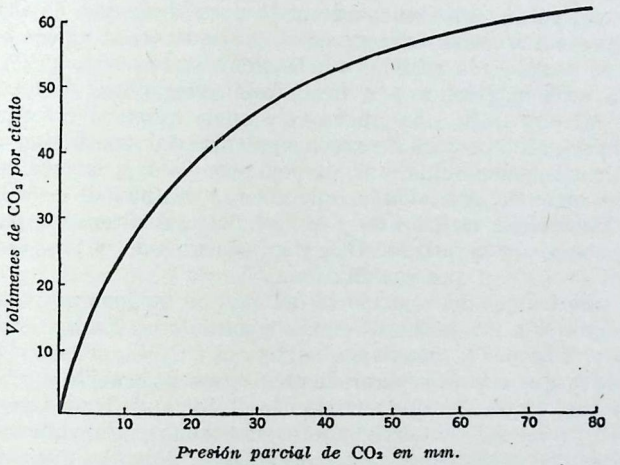


FIG. 136. Curva de disociación del CO_2

este ácido es compensado mediante la unión de algunos de sus iones CO_3H' con iones de $Na^{\cdot}$, produciéndose CO_3HNa.

Parece bien demostrado que los iones de $Na^{\cdot}$ necesarios para que la reacción mediante la cual se forma el bicarbonato se produzca son liberados por la disociación de la misma hemoglobina que se halla en los hematíes formando sales sódicas de la proteína. Es muy probable que la combinación del CO_3H' con la hemoglobina pueda realizarse en parte dentro del mismo hematíe y también en el plasma que los rodea. Cuando la sangre llega a los pulmones tiene lugar un proceso inverso: el CO_2 se desprende hacia el aire alveolar, en el que la tensión de CO_2 es más baja que la de la sangre, y el $Na^{\cdot}$ procedente de la disociación correspondiente vuelve a formar la sal sódica de hemoglobina.

Además del mecanismo que acabamos de mencionar para el acarreo de CO_2, se ha supuesto también que la hemoglobina misma pudiera ser un vehículo para su transporte. Para ello no existe ningún obstáculo formal, ya que el CO_2 representa un ácido potencial y la globina que entra en la constitución del pigmento hemático es alcalina. En apoyo de este modo de ver diremos que el poder de combinación con el CO_2 es menor en la sangre oxigenada que en la que la oxigenación es sólo parcial. La opinión más compartida es la que considera la unión de la hemoglobina con el CO_2 del mismo modo que lo hace con el O_2 y con el CO. Se acepta generalmente que la oxihemoglobina presenta un poder tampón más ácido que el de la misma hemoglobina y, por lo tanto, fija los iones de $Na^{\cdot}$ con mayor intensidad que ésta. En la sangre muy oxigenada se encuentran menos iones de $Na^{\cdot}$ libres para unirse con el CO_3H' que en la sangre reducida, siendo por este motivo aquélla menos adecuada para el acarreo de CO_2.

No puede afirmarse de modo categórico que exista un compuesto especial de "anhídrido carbónico-hemoglobina" en cierto modo análogo a la oxihemoglobina y a la carboxihemoglobina. Es práctica corriente, al hablar de una nueva substancia química, referirnos a ciertas características para su reconocimiento; tal sucede, por ejemplo, con la oxihemoglobina y la carboxihemoglobina, las cuales presentan espectros de absorción completamente distintos al de la hemoglobina. Pues bien: no ha sido posible hallar tal diferencia para la supuesta combinación entre el CO_2 y la hemoglobina, y tampoco ninguna otra propiedad que permita identificarla.

Las condiciones del transporte del CO_2 en los invertebrados son muy semejantes a las establecidas en los mamíferos. En los moluscos, anélidos, artrópodos y celenterios se fija el CO_2 en proporción más elevada de la que cabría esperar de un proceso de sencilla disolución, lo que induce a pensar que se trate también aquí de una reacción entre el CO_2 y las sales amortiguadoras de la sangre. Es lo que indudablemente ocurre en la sangre de estas especies animales que difieren en esto de los mamíferos, ya que su poder amortiguador es muy pequeño, o, lo que viene a ser lo mismo, presentan una reserva alcalina muy baja. A este propósito recordaremos las diferencias que acerca de esta propiedad se han notado entre los moluscos del género *Aplysia* o los tunicados *Phallusia*, de capacidad amortiguadora muy débil, y los crustáceos del género *Maia* o los cefalópodos *Octopus*, de poder amortiguador más elevado. En las especies animales de capacidad tampón débil, la curva de disociación para el CO_2 se acerca mucho a la línea recta, no conteniendo la sangre casi nunca más CO_2 que el contenido en el agua de mar. Por el contrario, las que tienen poder amortiguador considerable presentan una concentración de CO_2 elevada (de un quinto a un décimo a la normal de la sangre de los mamíferos), siendo la curva de disociación para este gas más semejante a la de los vertebrados. Estas características deben ser atribuídas a la presencia en la sangre de estos animales de proteínas y de hemocianina, la que probablemente tendría, como la hemoglobina, una forma de sal sódica capaz de liberar por desdoblamiento iones de $Na^{\cdot}$ que, uniéndose a los iones de CO_3H', darían lugar a la formación de bicarbonato.

Lo mismo podríamos decir de las proteínas del suero, cuya capacidad anfótera le asigna un papel en el transporte de CO_2, aunque hemos de reconocer que esta capacidad de transporte es muy pequeña.

Regulación de los mecanismos respiratorios. La respiración en los mamíferos tiene lugar por la actividad rítmica de una serie de músculos como el diafragma y los intercostales, que al contraerse y relajarse alternativamente hacen posible la ventilación de los pulmones. Estos movimientos se hallan condicionados por estímulos de naturaleza nerviosa y química.

La intervención del sistema nervioso puede esquematizarse como sigue: En los nervios vagos existe una serie de fibras aferentes, que llevan a los centros bulbares estímulos procedentes de las paredes de los alvéolos del pulmón. Cuando las paredes de los alvéolos se retraen al final de la espiración, dan lugar a la excitación de las terminaciones sensitivas de los nervios vagos, que llevada a los centros se traduce por una respuesta refleja que hará entrar en juego los efectores musculares necesarios para la inspiración. Cuando las paredes alveolares son distendidas por la inspiración, se engendra en ellas una excitación nerviosa cuya respuesta refleja será la espiración (1). La principal vía efectora en cualquiera de ambas eventualidades es el nervio frénico que termina en el diafragma.

La regulación nerviosa de la respiración supone un dispositivo más delicado que el del control químico ejercido por las variaciones de la concentración de iones $H^{\cdot}$ de la sangre. Para hacernos cargo de la forma como actúa este mecanismo recordemos que la sangre venosa acarrea desde los tejidos una cierta cantidad de CO_2 que aumenta considerablemente la tensión de este gas en la sangre, siendo ésta llevada a través del corazón derecho a los pulmones, en donde la tensión de CO_2 se reduce a un valor normal, pasando entonces desde aquí al corazón izquierdo y a la circulación arterial, a través de la cual irrigará el centro respiratorio del bulbo. Esta disposición supone necesariamente que todo cambio de la concentración de $H^{\cdot}$ iones o de la tensión del CO_2 se halla condicionado por el mayor o menor desprendimiento del CO_2 durante el paso a través de los capilares del pulmón, lo que a su vez depende de dos factores: *a*) tensión del CO_2 al entrar en el aire alveolar, y *b*) tensión del CO_2 en el aire alveolar.

Si la tensión del CO_2 en la sangre venosa aumenta, la tensión de CO_2 en el aire alveolar aumenta también ligeramente al difundir este

(1) Además de esta sensibilidad a los estímulos mecánicos que presentan las terminaciones alveolares del nervio vago, A. Pi Suñer y J. M. Bellido sostienen desde hace muchos años la existencia de una sensibilidad química que llevaría a los centros respiratorios impulsos nerviosos producidos por las variaciones del contenido de CO_2 en el aire alveolar. — *N. del T.*

gas a través de las paredes de los alvéolos. De esto resulta que la sangre que sale del pulmón contiene una tensión de CO_2 ligeramente más elevada que la normal, de lo que resulta una estimulación del centro respiratorio particularmente sensible a los H^+ iones. En estas circunstancias aumenta la frecuencia de los movimientos respiratorios y, por consiguiente, el exceso de CO_2 es eliminado al aumentar la ventilación. Los más pequeños cambios de la tensión alveolar de CO_2 llevan consigo una aceleración de los movimientos respiratorios, y así, por ejemplo, basta un aumento del 0,4 % del CO_2 alveolar para que la respiración aumente el 200 %. Esta pequeña variación del CO_2 alveolar supone un ligerísimo desplazamiento del valor del *p*H.

No parece esencial que el *p*H de la sangre haya de ser modificado por un exceso de CO_2 para que se produzca la estimulación del centro respiratorio. La perfusión de RINGER oxigenada, a la cual se

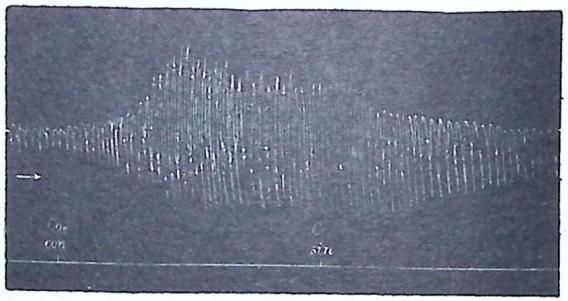


FIG. 137. Efectos que produce sobre la respiración el aumento de CO_2 en el aire alveolar. Aumento de frecuencia y de amplitud de los movimientos respiratorios. (Según BAINBRIDGE y MENZIES, *Elementos de Fisiología*)

añade ClH, también se muestra eficaz, si bien la concentración que se requiere de este ácido es mucho mayor que para el CO_2 (0,001 molar). El ácido láctico también puede producir efectos análogos, bien sea elaborado en los mismos tejidos como resultado de una intensa actividad muscular o inyectado experimentalmente. Pero de todas las posibles alteraciones de la concentración de H^+ de la sangre que podamos observar, la más eficaz es la debida a un exceso de CO_2, por ser las células del centro respiratorio específicamente sensibles a este estímulo.

La disminución de la tensión de oxígeno no parece actuar como estimulante del centro respiratorio, a menos que siendo muy importante diera lugar a un incremento secundario de la lactacidemia. La deficiencia de oxígeno da lugar a una serie de trastornos característicos del llamado *mal de montaña*, que consisten en cianosis, cefalalgia, vómitos, desfallecimiento e impotencia muscular. Los montaneros, para obviar este inconveniente, han utilizado depósitos de oxígeno. Otros exploradores de montañas hacen uso de depósitos de

CO_2, que inhalan como estimulante de la respiración, con objeto de subvenir a las necesidades de oxígeno de nuestro organismo, merced a un aumento de la frecuencia respiratoria, siendo este último un procedimiento perfectamente fisiológico.

Sabemos muy poco acerca de los efectos que acarrea el exceso de CO_2 o la falta de oxígeno sobre la respiración de los animales inferiores. Se han realizado solamente algunas observaciones sobre la influencia de un exceso de CO_2 sobre los insectos. En estas circunstancias se producen movimientos espasmódicos o rítmicos del abdomen, que quizá produzcan un aumento de ventilación en el sistema traqueal, al mismo tiempo que los orificios por medio de los cuales se abren las tráqueas en la superficie del cuerpo se abren y cierran alternativamente. La falta de oxígeno produce efectos análogos. Probablemente, estos movimientos se encuentran bajo el control del sistema nervioso, pero se desconoce la naturaleza de este mecanismo.

Vida anaerobia. Las células y los tejidos de todos los animales superiores necesitan para su actividad del aporte de oxígeno. No sucede lo mismo con ciertas formas elementales de organismos vivientes que son capaces de vivir sin oxígeno, utilizando como manantiales energéticos reacciones químicas en las cuales no interviene este elemento.

Los más conocidos a este respecto son los hongos y las bacterias. El *Mucor recemosus*, en medio azucarado, forma alcohol y CO_2 en ausencia de oxígeno, y en presencia de éste da lugar a CO_2 y agua. Las levaduras forman también, a partir del azúcar y en medio anaerobio, alcohol y CO_2. Muchas bacterias no sólo no necesitan del oxígeno para su vida, sino que, además, en presencia de este gas mueren.

No ha podido ponerse de manifiesto que ningún animal pluricelular pueda vivir sin el concurso del oxígeno. Contra esta afirmación se ha argüido que existen gusanos parásitos que pueden vivir en medio anaerobio, pero un examen detenido de la cuestión nos muestra que son indudablemente aerobios, bastándoles para el mantenimiento de sus funciones pequeñas cantidades de oxígeno. La división de los huevos de *Arbacia*, por ejemplo, es un proceso que no puede tener lugar en un medio desprovisto en absoluto de oxígeno; sin embargo, basta la presencia de 1 c. c. de O_2 en 10 litros de agua para que el proceso se produzca normalmente.

Capítulo XIV

Circulación

Exceptuando aquellas especies animales de estructura tan elemental en las que la oxigenación de las células se produce por difusión del oxígeno contenido en el agua que las rodea, existen, en todos los demás, mecanismos diferenciados para impulsar la sangre o los líquidos orgánicos y ponerlos en íntimo contacto con los tejidos, a los que llevan, además del oxígeno, las substancias nutritivas necesarias para su metabolismo y de los cuales acarrean hacia los emuntorios naturales los productos resultantes del catabolismo y entre ellos el anhídrido carbónico. En algunos insectos (por ejemplo, el dragón volador) ha sido dable observar una disociación en estas funciones, ya que el cambio de gases se realiza a través del sistema respiratorio en forma muy activa, a pesar de ser su aparato circulatorio uno de los más elementales.

En los Anélidos aparece el sistema circulatorio constituído por un vaso dorsal de cierta consistencia y formando un tubo muscular cuyas contracciones impelen la sangre hacia las branquias del animal, y de aquí a través del resto del organismo. Los Gusanos presentan el intestino rodeado por cinco pares de "corazones", que son otros tantos vasos contráctiles, cuya pulsación mantiene la circulación. Los cambios respiratorios de la sangre se realizan a través de la superficie del cuerpo. En muchos Insectos, el sistema circulatorio es muy sencillo, ya que el corazón está constituído por un engrosamiento del vaso dorsal y las necesidades respiratorias de los tejidos son atendidas por el complejo sistema de tráqueas ramificadas que se encuentran en estos animales. En los Crustáceos, el corazón consta de una sola cavidad, compuesta por una red de fibras musculares, y en los moluscos se encuentra el corazón formado por tres cavidades, dos de ellas auriculares, que se abren a otra mucho mayor de naturaleza muscular, el ventrículo, desde donde la sangre es impulsada a través del sistema arterial. Además de este tipo de corazón más altamente diferenciado, los Moluscos poseen un sistema circulatorio que representa un progreso ontogénico con respecto a los demás Invertebrados, ya que en estos últimos la sangre pasa simplemente del corazón a las branquias (en caso de que existan) y luego se reparte por el resto del organismo. En los Cefalópodos, la sangre decolorada que ha perdido su oxígeno pasa primero a través de las branquias, tránsito favorecido por la contracción de dos corazones branquiales que laten con la misma frecuencia que el sistema cardiovascular del animal, pero anticipándose ligeramente a la actividad de éste: la sangre azul, una vez oxigenada retorna de las branquias, penetra entonces en las aurículas, desde donde pasa al ventrículo, siendo desde aquí expelida por el sistema arterial hacia todos los territorios orgánicos. Esta disposición supone un progreso en el mecanismo de oxigenación de la sangre, cuando se compara con la de los otros invertebrados.

En los Vertebrados las relaciones anatómicas del corazón y de los vasos sanguíneo son muy variables, existiendo desde disposiciones relativamente sencillas, como las de los peces, a las más complejas, que se encuentran en los mamíferos y en las aves. El corazón de los peces tiene tres cavidades: una dilatación de la vena cava, el *seno venoso*, forma la primera; la *aurícula* constituye la segunda, y el *ventrículo* la tercera. La sangre llega por las venas al seno venoso, de aquí pasa a la aurícula, después al ventrículo, pasando luego a través de los capilares de las branquias hacia el resto del cuerpo. En algunas particularidades, esta disposición del sistema circulatorio recuerda la de los invertebrados. El corazón de los anfibios se parece al de los peces, aunque aquí se encuentran ya dos aurículas en vez de una; en esta modalidad de aparato circulatorio una parte de la sangre pasa primero a través de los capilares branquiales o de los pulmones y entonces se distribuye por los tejidos, mientras que la mayor parte se distribuye directamente por los tejidos. El corazón de los reptiles es muy semejante al de los anfibios, con la sola diferencia de que el corazón de aquéllos posee un séptum que divide de un modo incompleto el ventrículo en dos cavidades. En las aves y en los mamíferos el corazón se halla constituído por cuatro cavidades: dos aurículas y dos ventrículos. La sangre venosa empobrecida de oxígeno llega a la aurícula derecha, pasando luego al ventrículo derecho, y desde aquí es lanzada a través de los capilares del pulmón; recogida a continuación por la aurícula izquierda pasa, finalmente, al ventrículo izquierdo, desde donde la contracción de esta cavidad impulsará la sangre a través de todo el árbol circulatorio del organismo. En las aves y en los mamíferos, el sistema circulatorio debe considerarse dividido en dos sistematizaciones circulatorias distintas: la *pulmonar* y la *general* o aórtica.

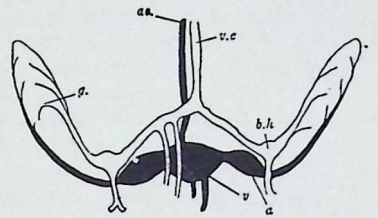


Fig. 138. Corazón de cefalópodo. *ao*, aorta; *v.c*, vena cava; *g*, branquia; *b.h*, corazón branquial; *a*, aurícula; *v*, ventrículo

Al contraerse el ventrículo para lanzar la sangre en las arterias aumenta el volumen sanguíneo hasta una presión considerable. Esta elevada presión condiciona el flujo de sangre a lo largo de los vasos, ya que los flúidos tienden siempre a moverse desde los puntos de presión más elevada a los de presión más baja. La presión va disminuyendo a medida que nos alejamos del corazón a lo largo del árbol arterial y consideramos la existente en las arteriolas capilares y venas. La presión depende principalmente de los tres factores siguientes: intensidad de la contracción cardíaca, resistencia periférica al curso de la sangre y elasticidad de las arterias. La influencia de estos tres factores puede ser fácilmente considerada por los experimentos siguientes, en los cuales el líquido es impulsado a través de un tubo. La presión en un tubo de calibre uniforme será, como es de suponer, elevada si la fuerza impulsora es grande, existiendo una proporcionalidad entre ambos valores. Si procuramos que la fuerza impulsora se mantenga constante, la presión en el interior del tubo aumentará al estrechar el orificio de salida. Finalmente, en los tubos rígidos (tubo de plomo) la presión en el interior del mismo variará a cada movimiento del émbolo impulsor y el flujo del líquido impelido presentará las mismas intermitencias que presente la actividad impulsora; estas variaciones dejarán de producirse en un tubo de cierta elasticidad, siendo el flujo continuo y presentando la presión oscilaciones pequeñas que dan una sensación pulsátil. Éste es el caso de las arterias de los animales en las que cada aumento de presión origina una onda pulsátil sincrónica con los latidos cardíacos.

La actividad cardíaca en los mamíferos. Durante la fase de *diástole*, período durante el cual las fibras del músculo cardíaco se encuentran relajadas, la sangre va afluyendo por las grandes venas a la cavidad auricular derecha. Cuando la presión auricular llega a un cierto límite se produce el comienzo de la contracción auricular, y las fibras musculares que rodean los grandes vasos venosos, al contraerse, transforman momentáneamente la aurícula en una cavidad cerrada. En estas condiciones aumenta la presión dentro de la aurícula hasta el punto de producir la apertura de la válvula auriculoventricular existente entre ambas cavidades, y la sangre penetra en el ventrículo derecho, que se contrae una fracción de segundo después. Cuando se contrae el ventrículo derecho, el aumento de presión ocasiona el cierre de la válvula auriculoventricular, lo que evita el reflujo de sangre hasta la cavidad de la aurícula, al mismo tiempo que se abren las válvulas de la arteria pulmonar para dar paso a la sangre. Una vez que se ha realizado la evacuación del ventrículo, éste entra en relajación, disminuyendo la presión de esta cavidad hasta un valor más bajo al de la aurícula, la cual ha vuelto a llenarse con la sangre aportada por las grandes venas durante la fase de contracción ventricular. Al llegar a este punto, la presión en la aurícula vuelve a elevarse y el ciclo sigue los mismos estadios que acabamos de describir.

Al mismo tiempo que se produce este ciclo de modificaciones en el corazón derecho, tiene lugar una serie de hechos análogos en el corazón izquierdo. Durante la diástole, las venas pulmonares acarrean la sangre desde los pulmones a la aurícula izquierda, continuando la repleción hasta que la presión en la aurícula es más elevada que la del ventrículo en estado de relajación. La aurícula entra entonces en actividad impeliendo la sangre a través de la válvula auriculoventricular izquierda en el ventrículo, que una vez lleno entra a su vez en contracción, cerrándose la válvula que comunica con la aurícula, como resultado de la presión ejercida desde la cavidad ventricular. Durante unos instantes el ventrículo no es otra cosa que una cavidad cerrada, para abrirse casi inmediatamente las valvas aórticas dejando paso a la sangre hacia el árbol arterial. Cuando el ventrículo se relaja en la fase diastólica, la presión de la sangre contenida en la aorta actúa sobre las valvas provocando su cierre, iniciándose de nuevo el ciclo que acabamos de referir.

El conjunto de modificaciones que comprende una contracción cardíaca se cumple en 0,8 de segundo, contrayéndose el corazón con una frecuencia de 72 sístoles por minuto. La contracción auricular tiene una duración de 0,1 de segundo, la actividad del ventrículo 0,3 y el período diastólico 0,4. La actividad de las distintas cavidades tiene lugar en los mismos períodos de tiempo y es sincrónica, coincidiendo las contracciones de ambas aurículas y las de los dos ventrículos.

La apertura y cierre de las válvulas son determinados casi por completo por la diferencia de presión a ambos lados de las mismas. Al mismo tiempo que se cierran las válvulas auriculoventriculares, entran en contracción los músculos papilares que se hallan unidos a ellas por medio de cuerdas tendinosas, los cuales aseguran la oclusión valvular durante la contracción de los ventrículos.

Presiones intracardíacas. Las variaciones que se producen dentro del corazón se ponen de manifiesto por el registro de los cambios que experimenta la presión en el interior de las mismas cavidades cardíacas. Esto puede conseguirse poniendo en conexión la cavidad cuya presión haya de explorarse con un manómetro especial que permite el registro óptico de las variaciones que aquélla experimente. El manómetro consta de una cánula de metal de unos 6 cm. de longitud, cuyo extremo superior presenta una pequeña cavidad *C*, en la cual existe un orificio cubierto con una fina membrana de goma, a la cual va adherido un espejo que refleja un haz de luz sobre una escala. Por el centro de la cánula pasa un trocar de metal; ésta se introduce en la aurícula o el ventrículo, según se desee, y una vez así dispuesta se coloca en la posición *I* indicada en la figura 139, que al mismo tiempo que evita el derrame de sangre por la cánula permite la entrada de sangre en la cámara *C*. Las variaciones que experimente la presión intraauricular o intraventricular producen desplazamientos de la membrana de goma, y por lo tanto, del rayo de luz reflejado en

el espejo de que se halla provista. Podemos obtener trazados simultáneos de aurícula y ventrículo disponiendo dos cánulas, una para cada cavidad, pudiéndose recoger al mismo tiempo un registro de la presión aórtica y de las grandes venas.

El registro de las variaciones de presión en la aurícula, ventrículo y aorta (o arteria pulmonar, si los registros se disponen en las cavidades derechas del corazón) puede verse en la figura 140. Si examinamos primero la gráfica auricular, veremos tres ondas principales: la primera es debida a la contracción de la aurícula o sístole auricular; la segunda onda, más pequeña, es producida por el cierre de las válvulas auriculoventriculares, y la tercera, que tiene una mayor duración y no es muy acentuada, se debe a la repleción diastólica de las aurículas. El registro ventricular tomado simultáneamente muestra una serie de accidentes gráficos; durante la sístole auricular, la presión en los ventrículos aumenta, aunque no en proporción muy elevada, y este aumento de presión continúa hasta el punto que indicamos por *a*, que coincide con el cierre de las válvulas auriculoventriculares; en este momento entra en contracción el ventrículo, prolongándose el ascenso de la gráfica hasta *b*, en que al abrirse las válvulas de la aorta se produce una caída momentánea de la presión. Ésta es sostenida mientras dura la sístole ventricular y la sangre penetra en la aorta. Cuando la mayor parte de la sangre ha sido expulsada, la presión desciende, cerrándose en *c* la válvula aórtica, por ser la presión en la aorta superior a la del ventrículo. Comienza entonces la relajación del ventrículo, cuya presión se iguala a la de la aurícula para ser poco después algo menor, lo que da motivo a la penetración de sangre en el ventrículo una vez más.

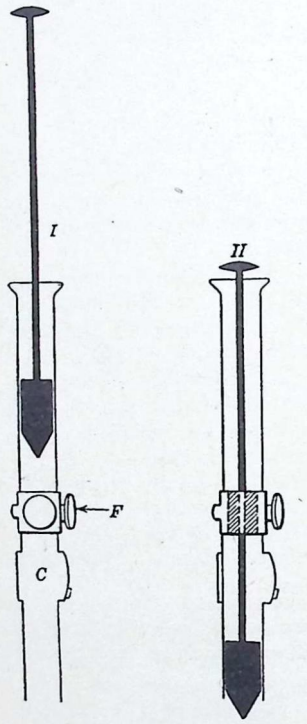


FIG. 139. Manómetro de PIPER. *I*, posición para el registro; *II*, posición para colocarlo. (Según BAINBRIDGE y MENZIES, *Elementos de Fisiología*)

Por último, la presión en la aorta presenta una onda principal, con dos pequeños accidentes al principio y al final de la misma. La onda principal corresponde al aumento de presión que tiene lugar en la aorta cuando el ventrículo expele la sangre en su interior, correspondiendo las dos pequeñas variaciones a la apertura y cierre de las válvulas aórticas.

Ruidos cardíacos. La actividad del corazón va acompañada de dos ruidos, que pueden ser percibidos auscultando la porción de tórax que corresponde a la región cardíaca. El primero de éstos tiene un tono bajo y sostenido, atribuyéndose a la contracción de las fibras musculares del corazón, pudiendo contribuir también a su producción el cierre de las válvulas auriculoventriculares. El segundo ruido es corto y agudo y se produce por el cierre de las válvulas aórticas y pulmonares. Los focos donde se perciben estos ruidos con mayor claridad son: el primer ruido, en la llamada región de la punta, y el segundo ruido, en la proyección costal del punto donde la aorta deja al ventrículo, a nivel del segundo espacio intercostal derecho, junto al esternón.

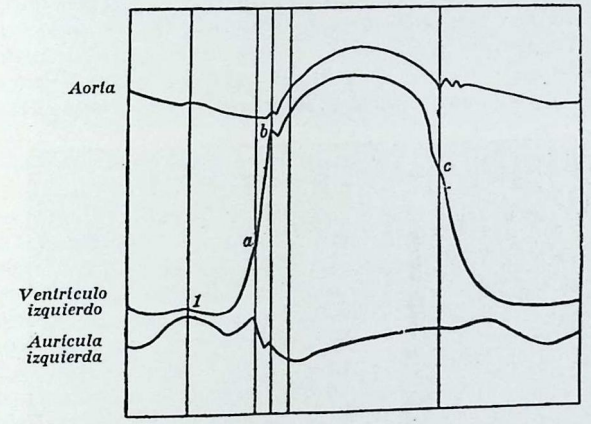


FIG. 140. Registro de las presiones intracardíacas durante la actividad del corazón. (Según BAINBRIDGE y MENZIES, *Elementos de Fisiología*)

El electrocardiograma. Lo mismo que sucede con las otras formas de contracción muscular, la contracción del músculo cardíaco va acompañada de cambios eléctricos. La gráfica obtenida con el registro de estas variaciones eléctricas se denomina *electrocardiograma* y difiere de la corriente de acción de otros tipos de músculo en que es más compleja, ya que el corazón es, como ya hemos dicho, un músculo complejo y sus cavidades se contraen en varios tiempos.

Si obtenemos el registro de estas variaciones eléctricas por intermedio del galvanómetro de cuerda, el electrocardiograma muestra cinco ondas, las cuales se designan convencionalmente con las iniciales *P*, *Q*, *R*, *S* y *T*. Para obtener esta gráfica no es menester que se coloquen los electrodos sobre el mismo músculo cardíaco, pues basta derivar las diferencias de potencial que la actividad del corazón produce, conectando una mano (generalmente la derecha) y la extre-

midad inferior opuesta con el galvanómetro. La onda P corresponde a la contracción de las aurículas; la onda R, que es la más elevada de las tres, corresponde a la contracción de los ventrículos, y la última, onda T, es sincrónica con el cierre de las válvulas aórticas. La significación de Q y S no se conoce con certeza. Cada una de las tres ondas principales P, R y T es una onda difásica muy semejante a las que se pueden observar durante la contracción de los músculos voluntarios, considerándose resultado de la suma algebraica de las variaciones eléctricas producidas por la actividad de los distintos puntos del miocardio.

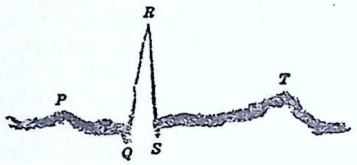


FIG. 141

Debemos indicar que cuando aplicamos los electrodos directamente sobre el músculo cardíaco en aquellas formas relativamente de corazón, tal como el corazón de rana, el registro eléctrico tiene una forma menos compleja, tomando la apariencia de una curva difásica

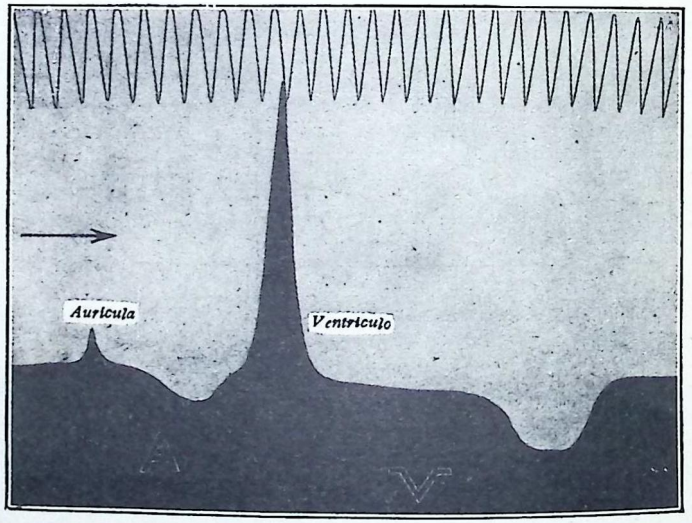


FIG. 142. Electrocardiograma obtenido mediante un electrómetro capilar. *A* indica el período de actividad ventricular; *V*, el período de actividad del ventrículo. (De *Heart*, vol 1, GOTCH)

sencilla, resultante de la transmisión del impulso contráctil desde la base del corazón hacia la punta .

Conducción del impulso contráctil en el corazón. La forma como se realiza la conducción en el músculo cardíaco puede ser seguida más

fácilmente observando lo que sucede en corazones de estructura poco complicada, tal como el corazón de los peces. Ya sabemos que el músculo cardíaco de estos animales consta de tres cavidades: el seno venoso, la aurícula y el ventrículo, las cuales se contraen en el mismo orden

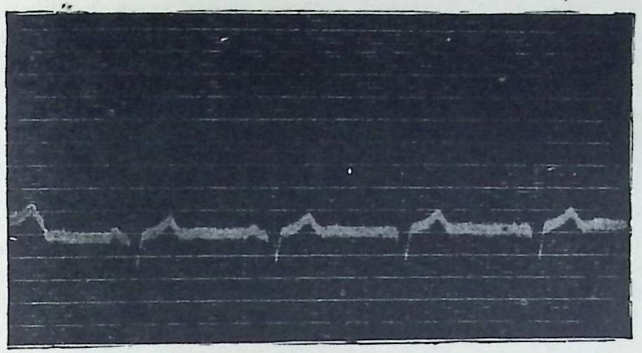


FIG. 143. Electrocardiograma obtenido mediante el galvanómetro de cuerda, (Según MITCHELL, *Fisiología General*, McGrand-Hill-Co.)

que las hemos enumerado. Al llegar al seno venoso la sangre que conducen las venas que en él desembocan, se produce la contracción del seno venoso mediante la cual la sangre es empujada a la aurícula; entonces ésta se contrae después de un corto intervalo, lanzando la sangre a la cavidad ventricular, que la empuja, a su vez, hacia la aorta. La contracción originada en el seno pasa de éste a la aurícula después de un corto intervalo en la región *sinoauricular*, pasando luego de la aurícula al ventrículo después de un segundo retardo en la zona *auriculoventricular*.

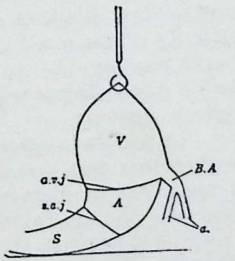


FIG. 144. Esquema del corazón de rana. *S*, seno; *A*, aurícula; *V*, ventrículo; *B.A.*, bulbo arterioso; *a*, *aorta*; *s.a.j.*, nódulo sinoauricular; *a.v.j.*, nódulo auriculoventricular

En el corazón de la rana puede observarse cómo se suceden los hechos de un modo semejante. Aquí encontramos cuatro cavidades, dos de ellas auriculares, contrayéndose estas últimas simultáneamente, por lo que pueden ser consideradas como una a los efectos de su funcionalismo. El impulso inicial de la contracción cardíaca se inicia en el seno venoso, lo mismo que en el corazón de los peces; de aquí pasa a las aurículas después de un ligero retardo en la región sinoauricular, y por último al ventrículo, sufriendo también otro retardo durante el paso de la aurícula al ventrículo.

La contracción del músculo cardíaco es *miogénica* y originada en las mismas fibras musculares. El seno, la aurícula y el ventrículo

continúan latiendo autonómicamente cuando los separamos unos de otros por secciones adecuadas, por contener cada una de aquellas cavidades los elementos para poder iniciar la contracción de un modo espontáneo. La experiencia puede realizarse con dos técnicas distintas, ya sea escindiendo las tres cavidades por completo para separarlas entre sí, o bien aplicando sobre la región sinoauricular o sobre la región auriculoventricular ligaduras que interrumpan la continuidad del tejido cardíaco. Estas ligaduras se conocen con la denominación de *ligaduras de Stannius*, y el bloqueo experimental de la transmisión de la onda contráctil, *experimento de Stannius*. Supongamos que experimentemos sobre un corazón de rana que late a una frecuencia de 30 contracciones por minuto y en el que realicemos la ligadura del seno. En tales condiciones experimentales sucederá lo siguiente: de momento el corazón queda paralizado, situación que dura muy poco tiempo, transcurrido el cual el corazón reanuda su actividad con una frecuencia menor, por ejemplo, a 25 por minuto. Examinemos ahora lo que sucede al realizar la ligadura auriculo-

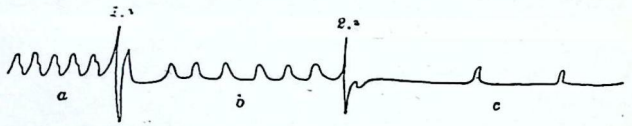


FIG. 145. Experimento de STANNIUS. *a*, cardiograma normal; *b*, bloqueo sinoauricular por ligadura del seno (1.ª); *c*, contracciones ventriculares en la ligadura auriculoventricular (2.ª)

ventricular; después de algunos minutos el ventrículo comienza a latir de nuevo, pero con una frecuencia todavía menor, 15 contracciones por minuto, prolongándose esta actividad indefinidamente y aun a pesar de que separemos de un modo completo el ventrículo del seno y aurícula.

El resultado obtenido en los experimentos de STANNIUS tiene una explicación muy sencilla. La musculatura de las cavidades cardíacas tiene la facultad de contraerse espontáneamente, y el ritmo de contracción de cada cavidad es independiente; el seno tiene un ritmo de contracción característico más frecuente que el de la aurícula y ésta superior al del ventrículo. Así, en el ejemplo precedente, la frecuencia de las contracciones del seno es de 30 por minuto, la de la aurícula 25 y la del ventrículo 15. Cuando las cavidades están unidas por tejido capaz de conducir las excitaciones de una cavidad a otra, las tres se contraerán al mismo tiempo con una frecuencia igual a la del seno, porque los impulsos para la contracción cardíaca se originan aquí y son transmitidos luego a las otras dos cavidades. Por esta razón, el seno es llamado el "regulador" del corazón, ya que cada parte de éste se contrae según el mismo ritmo del seno. Si se aplica una ligadura de modo que impida el paso de excitaciones desde el seno, el ventrículo se

contrae según el mismo ritmo de la aurícula porque los impulsos originados en ésta son transmitidos al ventrículo. En este caso, la aurícula sustituye en su función al seno, siendo ahora aquella cavidad la que actúa como regulador. Finalmente, si se coloca una segunda ligadura de modo que se interrumpa la continuidad entre la aurícula y el ventrículo, este último se contraerá por impulsos nacidos en él mismo y según su ritmo propio.

En el corazón de los mamíferos sólo se hallan vestigios del seno, estando representado por un nódulo situado cerca de la desembocadura de las grandes venas. Este nódulo incluído en la musculatura cardíaca ejerce, sin embargo, su función reguladora, y en él se engendran los impulsos para las contracciones cardíacas. Pero la transmisión de estos impulsos se hace de un modo distinto a como tiene lugar en el corazón de los peces o de los batracios; en efecto, en el corazón de los mamíferos se encuentra un sistema de fibras musculares ramificadas conocidas con el nombre de *fibras de Purkinje*, que se distribuyen totalmente por las paredes de las aurículas y ventrículos. Las fibras de PURKINJE son de mayor tamaño que las que integran el tejido muscular propio del corazón; además, son más pálidas que éstas y presentan estrías sólo en sus bordes. La onda de contracción se propaga a través de las fibras de PURKINJE con una velocidad diez veces mayor que a través de las fibras sincitiales del corazón.

En los mamíferos, los vestigios del seno venoso constituyen el llamado *nódulo sinoauricular*. Las ondas nacen en este nódulo y se transmiten hacia abajo, ocasionando la contracción simultánea de ambas aurículas. Coincidiendo con esto, la onda llega a un punto situado precisamente en la unión entre las dos aurículas y los dos ventrículos, quedando detenida aquí durante una pequeña fracción de segundo; desde este punto el impulso u onda de contracción progresa llevado por un grueso haz de fibras de PURKINJE (fascículo de HIS) incluído en el tabique interventricular, y luego se distribuye entre las innumerables ramas que nacen de este haz, repartiéndose por el espesor de las paredes ventriculares. La contracción de las aurículas se verifica, pues, antes que la de los ventrículos, aunque la fracción de tiempo que separa estas contracciones es muy pequeña; pero ambas aurículas se contraen simultáneamente y ambos ventrículos también. La sección del paquete de fibras situadas en el septo interventricular, fibras que constituyen el *fascículo de His*, da lugar al llamado *bloqueo cardíaco*. En éste las aurículas se contraen con una frecuencia mayor que los ventrículos, siendo la de éstos completamente independiente de la de aquéllas, tal como ocurre en el corazón de la rana cuando se dificulta la comunicación entre las aurículas y los ventrículos.

Aunque la contracción del corazón de los vertebrados es fundamentalmente miógena e iniciada en el propio nódulo sinoauricular, la actividad cardíaca se halla bajo el control de los nervios vago, simpático y depresor.

de sangre. El trabajo desarrollado en cada sístole es, aproximadamente, de 60 gramos × 1,63 metros = 97,8 grámetros.

En el hombre no puede, naturalmente, aplicarse el método cardiométrico; en los tratados extensos de fisiología vienen explicados métodos apropiados para determinar en él el gasto del corazón. Se ha comprobado en muchas observaciones que el gasto del corazón en cada latido oscila alrededor de una cantidad que puede considerarse constante. Esto tiene su explicación por el hecho de que la energía con que se contraen las fibras musculares cardíacas es directamente proporcional a la longitud que alcanzan al ser distendidas. El valor de la distensión dependerá, evidentemente, de la cantidad de sangre contenida en el ventrículo al principio de su contracción. En consecuencia, la cantidad de sangre expulsada por los ventrículos en la fase contráctil estará determinada por la cantidad de sangre que durante la diástole llegue a los ventrículos, y como ésta no puede variar mucho, aquélla oscilará también muy poco. Las fibras musculares se distenderán al dilatarse los ventrículos, y esta distensión dependerá, por lo tanto, de la cantidad de sangre que llegue a ellos. La presión arterial influye poco en el gasto del corazón, disminuyendo éste momentáneamente cuando aquélla aumenta. El aumento de la presión arterial al producir esa disminución del gasto da lugar a que durante la diástole se acumule más sangre en los ventrículos, con lo cual la distensión de las fibras es mayor, aumentando con ello la energía contráctil y el gasto en los latidos sucesivos. El trabajo del corazón en estas condiciones es mayor, puesto que el gasto se mantiene virtualmente constante, a pesar de tener que vencer mayor resistencia. Este incremento del trabajo del corazón tiene lugar después de ejercicios musculares, resultando aún más elevada al aumentar en estas circunstancias la frecuencia de las contracciones.

Presión arterial. Se llama *presión arterial* a la presión que ejerce la sangre sobre las paredes de las arterias. Depende de la energía contráctil de los ventrículos, de la resistencia ofrecida por las arteriolas y los capilares al paso de la sangre, y de la elasticidad de los vasos citados.

Puede medirse según uno de estos dos procedimientos. El primero requiere una previa intervención cruenta por la cual se pone al descubierto, incindiendo la piel, la arteria elegida para determinar la presión en su interior. Descubierta la arteria se hace comunicar con una cánula de vidrio, que por medio de un tubo lleno de una solución de sulfato o cloruro sódico comunica con un manómetro. Hay muchos modelos de manómetros, pero el más usado es sencillamente un tubo en U abierto por sus dos extremos, que contiene mercurio. En una de las ramas, sobre el mercurio hay un flotador en el cual va fijado un dispositivo que registra sobre una tira de papel ahumado los movimientos de la columna de mercurio. Las variaciones de la presión sanguínea se transmiten por el tubo lleno de solución

de sulfato o cloruro sódico que evitan la coagulación de la sangre al tubo manométrico, desplazando el mercurio rítmicamente.

El segundo método es el que utilizamos para determinar la presión sanguínea en el hombre. Suele elegirse para esto la arteria humeral. Se coloca en torno al brazo un brazal formado por dos bandas de goma, entre las cuales queda una cavidad que puede hincharse inyectando aire. Anexo lleva un manómetro que registra la presión del aire en el interior de la cavidad del brazal. De este modo puede comprimirse la arteria hasta que se ocluya la luz vascular. En el momento que sucede esto deja de percibirse el pulso en la arteria radial. Para determinar la *presión sistólica* o presión existente en el interior de la arteria durante la sístole cardíaca se deja escapar aire del brazal hasta que vuelve a percibirse el pulso en la arteria radial. La presión registrada entonces por el manómetro equivale a la presión sistólica. Para determinar la *presión diastólica* se aplica un estetoscopio sobre la arteria radial en la muñeca, y cuando soltando aire de la cavidad del brazal se auscultan perfectamente los latidos, la presión que señala el manómetro es equivalente a la presión diastólica. La *presión arterial media* se obtiene hallando la mitad de la suma de las presiones sistólica y diastólica. La *presión diferencial* se obtiene restando ambas presiones, y se llama también presión del pulso.

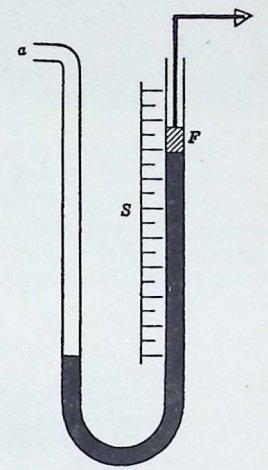


FIG. 146. Manómetro de mercurio para el registro de la presión sanguínea. El tubo *a* se encuentra conectado con la arteria. *F*, flotador, y *S*, escala

En los mamíferos, la presión arterial se mantiene a un nivel constante.

En el cuadro siguiente vienen consignadas algunas presiones arteriales:

	Presión en mm. Hg		Presión en mm. Hg
Hombre	110-130	Cabra	130
Caballo	180	Gato	110
Ternera	160	Conejo	100
Carnero	160	Cerdo	85
Perro	140	Ratón	80

En los vertebrados inferiores la presión arterial es mucho menor, oscilando alrededor de 20 mm. de Hg en la rana y de 5 mm. de Hg en los peces, porque en éstos la sangre pasa inmediatamente desde el

corazón a las branquias, donde encuentran gran resistencia a su paso, debida a la estrechez de los capilares de las branquias, por lo que se reduce casi a cero. En los invertebrados de sistema circulatorio más diferenciado, o sea en los Cefalópodos, la presión arterial puede llegar a 80 mm. de Hg; pero corrientemente se encuentra sólo la mitad de esta cifra. En la mayoría de los invertebrados es mucho más baja porque la fuerza contráctil del corazón es menor y la resistencia ofrecida por los vasos sanguíneos muy pequeña. En la mayoría de los casos se encuentran cifras de 10 a 20 mm. de agua, o sea alrededor de 1 a 2 mm. de Hg.

La regulación de la presión sanguínea. Puesto que la presión arterial depende de la energía del latido cardíaco y de las resistencias periféricas, las variaciones de estos factores determinarán cambios en aquélla. La resistencia presentada por las arteriolas y capilares es, de ambos factores, el más importante en la producción de esos cambios en la tensión arterial. Las *arteriolas* son ramas terminales de las arte-

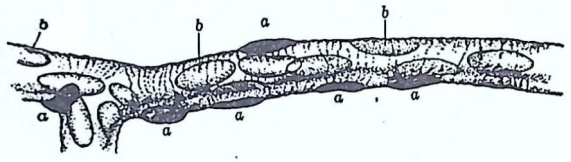


FIG. 147. Células de ROUGET, en un capilar.
(Según LOVATT EVANS y VINTROP)

rias; los *capilares* son las últimas ramificaciones de las arteriolas. La constitución histológica de estas dos clases de vasos es distinta. Las arteriolas son, naturalmente, de mayor calibre que los capilares; están provistas de una capa de fibras musculares lisas con cierta tonicidad. A las arteriolas llegan nervios vasoconstrictores y vasodilatadores que proceden del sistema nervioso autónomo. Los capilares están formados por una capa de células endoteliales en torno de las cuales se encuentran unas células especiales, las *células de Rouget*. Éstas son nucleadas y con ramificaciones que circundan el capilar, de modo que al contraerse constriñen la luz del vaso. Las células de ROUGET tienen una inervación análoga a la de las fibras musculares de las arteriolas, o sea que se hallan bajo el control de reflejos axónicos.

Las fibras vasoconstrictoras de las arteriolas pertenecen al sistema simpático y derivan de los segmentos espinales comprendidos entre el primer torácico y el tercero lumbar. Salen de la médula espinal por las raíces anteriores y llegan a los ganglios simpáticos de las cadenas abdominal y torácica, con cuyas neuronas forman sinapsis. De estas neuronas se originan las llamadas *fibras postganglionares*, que, formando parte de las raíces posteriores, se distribu-

yen por la piel, etc. Estas fibras inervan las células musculares de las arteriolas y las células de ROUGET de los capilares. La estimulación de estas fibras puede realizarse aplicando una fuerte excitación en las raíces posteriores, y origina una constricción de las arteriolas y los capilares de una región; produciendo con ello un aumento de las resistencias periféricas, eleva la presión sanguínea. La estimulación de los nervios vasoconstrictores se consigue también, y más fácilmente, mediante una inyección de adrenalina, substancia que, como es sabido, estimula las terminaciones nerviosas simpáticas. La vasoconstricción producida por la adrenalina es muy intensa y, por lo tanto, la presión sanguínea sufre una elevación extraordinaria.

El camino seguido por las fibras vasodilatadoras es, en parte, desconocido. Pertenecen al sistema parasimpático, pudiendo demostrarse su existencia en nervios sensitivos, tales como el ciático, excitándolos mediante corrientes eléctricas débiles o por medio del frío. Estos estímulos ocasionan una dilatación de las arteriolas de la región en la que se distribuye el nervio, produciendo una relajación del tono

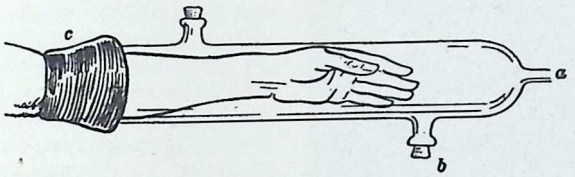


FIG. 148. Pletismógrafo para el brazo

de sus fibras musculares y, consecuentemente, un descenso de la presión sanguínea. Los nervios vasodilatadores son, sin embargo, de importancia secundaria. Respecto a los capilares, una cuestión muy importante es la que se refiere a la acción que ejercen sobre ellos ciertas substancias conocidas como *tóxicos de los capilares*, de las cuales la que mejor se conoce es la *histamina*. Hay que tener en cuenta que las variaciones observadas en la presión sanguínea no bastan para afirmar que haya habido una constricción o una dilatación de los capilares, porque los cambios de la presión sanguínea pueden ser debidos tanto a cambios en el tono de las arteriolas como en el de los capilares. Para disociar estos efectos pueden emplearse dos procedimientos. En el primero, los capilares son observados directamente en el mesenterio de la rana o en el de la rata, o en la membrana interdigital del anfibio citado. Un objetivo de poco aumento basta para esta observación, que en el hombre puede llevarse a cabo en la piel del dedo, iluminada convenientemente. El segundo método se basa en el hecho de que cuando los capilares de un órgano se dilatan, éste aumenta de tamaño mucho más que cuando se dilatan las arteriolas, puesto que la cantidad de sangre contenida en estas últimas es mucho menor que la de los capilares. Estas observaciones se llevan a

cabo en el riñón, bazo o en un asa intestinal, o bien en el brazo, etc. El órgano sometido a la experiencia se coloca en un aparato denominado *pletismógrafo*, que consta de una cámara en la cual se introduce el órgano, se cierra herméticamente mediante una banda elástica que se ciñe en torno a la abertura de la cámara y al pedículo que une el órgano introducido con el resto del organismo. La cámara comunica mediante una tubulatura con un aparato registrador. Las variaciones de volumen del órgano que sirve para la experiencia modifican la presión del aire contenido en la cámara en torno al órgano y son registradas por un aparato adecuado. El efecto de algunas substancias sobre los vasos puede estudiarse añadiéndolas a la solución de RINGER con que perfundimos el órgano objeto del experimento. Si el efecto producido es una vasoconstricción, disminuirá el volumen del órgano, porque entonces pasará menos sangre por las arteriolas y los capilares, mientras que si se dilatan estos vasos, el volumen del órgano aumentará.

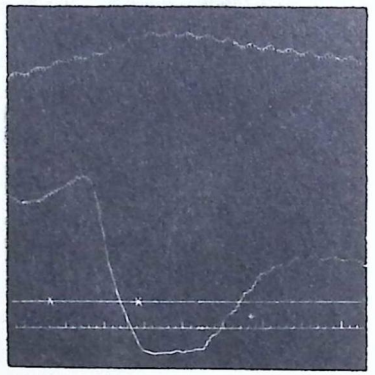


FIG. 149. Trazado de la presión arterial (superior) y volumen renal durante la excitación del décimo par torácico. El aumento de presión, así como el descenso de volumen renal, son producidos como resultado de la contracción de las arteriolas de la región inervada por este par raquídeo. (Según PEMBREY, *Prácticas de Fisiología*, E. Arnold y Co.)

La interpretación de los resultados se alcanzará más claramente citando algún caso concreto, el de la histamina, por ejemplo. La inyección de esta substancia produce un descenso muy acentuado de la presión sanguínea, influyendo muy poco sobre la actividad cardíaca. Por lo tanto, el descenso de la presión se atribuye a una disminución de las resistencias periféricas, bien por dilatación de las arteriolas o de los capilares, o de ambas clases de vasos. Las experiencias verificadas con el pletismógrafo muestran una gran dilatación del órgano después de la inyección de histamina, de lo cual se deduce que la vasodilatación afecta principalmente a los capilares; pero juntamente con esto hay una constricción de las arteriolas. Esto último queda demostrado por el hecho de que, al añadir histamina en el líquido de perfusión, la cantidad de líquido que atraviesa los vasos en un tiempo dado es más pequeña que cuando estaba libre de aquella substancia.

El equilibrio de la presión sanguínea se mantiene por un mecanismo nervioso bastante complejo. El ritmo del corazón, el tono de las fibras musculares de las arteriolas y de los capilares guardan una relación muy estrecha, regulándose ambos al mismo tiempo. El mecanismo íntimo de estas correlaciones no puede ser descrito aquí con

detalle. Sin embargo, haremos un rápido resumen de los cuatro factores principales que intervienen en el equilibrio de la presión sanguínea.

a) El tono de las arteriolas y capilares puede ser modificado mediante arcos reflejos locales, *reflejos axónicos* (pág. 236). Un estímulo aplicado sobre la piel no pasa únicamente a la médula espinal, sino que en parte llega a las arteriolas y los capilares del área del tegumento estimulado siguiendo el camino de las colaterales emanadas de las fibras nerviosas aferentes, produciendo efectos vasoconstrictores o vasodilatadores. La vasoconstricción observada cuando se aplica un objeto frío sobre la piel obedece a este mecanismo nervioso reflejo; igual explicación puede darse de la vasodilatación que se produce cuando un objeto caliente se pone en contacto con el tegumento externo. Estos reflejos locales se realizan independientemente de la médula espinal, puesto que ocurren aun cuando seccionemos las conexiones nerviosas entre la piel y la médula espinal.

b) Sin embargo, el aumento o disminución de la luz vascular puede depender, también, de un arco reflejo cuya neurona esté en la médula espinal, o sea de un *reflejo espinal*. La excitación es llevada por los nervios aferentes desde la piel a un segmento de la médula y luego sigue el camino de las fibras del sistema autónomo que salen de este segmento.

c) Se han realizado muchos experimentos que demuestran la existencia en el bulbo de un centro que influye en el tono de los elementos musculares de las arteriolas y capilares. Este centro es el *centro vasomotor*. Los impulsos pueden llegar al centro llevados por algunos de los varios nervios aferentes, por ejemplo, el vago, y luego las respuestas fluyen a través de las fibras del sistema simpático o por las del vago. Del centro vasomotor surgen, pues, fibras vasomotoras y vasoconstrictoras. La estimulación directa de este centro da lugar a una vasoconstricción generalizada, o bien a una vasodilatación, según la zona donde apliquemos la excitación.

d) Íntimamente relacionado con el centro vasomotor está el *centro cardíaco* del bulbo, que es, probablemente, el mismo núcleo bulbar del vago. La actividad de este centro determina modificaciones del latido cardíaco. El ritmo y la energía del corazón, en un momento dado, dependen, pues, del estado de contracción o dilatación de las arteriolas y capilares en ese mismo momento.

Aparte de los mecanismos nerviosos citados, que controlan la presión sanguínea, existen otros mecanismos que podemos llamar químicos. Tres de ellos tienen, a este respecto, una gran importancia.

El aumento de la concentración de iones $H^{\cdot}$ en la sangre, que se verifica en algunos estados, tales como la asfixia, aumenta la excitabilidad del centro vasomotor originando una elevación de la presión sanguínea. Es casi seguro que, normalmente, el *p*H sanguíneo influya en la actividad de este centro del mismo modo que influye sobre el

centro respiratorio. El segundo mecanismo químico se refiere a la adrenalina; bajo la influencia de ciertos estados emocionales tiene lugar una descarga de adrenalina y, por la acción de esta substancia sobre las terminaciones nerviosas simpáticas, una elevación de la presión sanguínea. Finalmente, es muy probable que en los tejidos se formen substancias semejantes a la histamina, que influyan en el tono vascular. Éste es el tercero de los mecanismos químicos.

Presión en los capilares. La presión en los capilares es mucho más baja que en las arterias, excediendo rara vez de 20-30 mm. de Hg. Puede medirse con un aparato muy sencillo. Éste consiste en una cajita de metal sin fondo con una tapa de vidrio para que se pueda ver a través. La cajita comunica con un manómetro y con una bomba para inyectar aire. Se coloca la cajita sobre la piel, en el dorso de la mano, por ejemplo, de modo que se forme una cámara, sin ningún intersticio por el que pueda escapar el aire. Entonces inyectamos aire hasta que desaparezca el color rosado de la piel. La palidez de éste se deberá a una oclusión de los capilares. La presión del interior de la cámara, registrada en este momento por el manómetro, será aproximadamente igual a la presión de la sangre en el interior de los capilares o presión capilar.

Presión venosa. La presión en las venas es más baja que en los capilares, y por lo tanto mucho más que en las arterias. En las venas pequeñas la presión es sólo de 3-6 mm. de Hg.; en las grandes venas es aún más baja, llegando incluso a ser negativa durante la inspiración pulmonar, lo cual determina así una afluencia de sangre a las venas torácicas. La presión venosa se evalúa del mismo modo que la presión capilar, colocando la cajita de metal sobre la vena y aumentando la presión del aire hasta que la vena se colapse.

Duración del círculo sanguíneo. El tiempo que tarda la sangre que sale del corazón en volver a éste habiendo llegado a las partes más distantes del organismo, se llama duración del círculo sanguíneo. Es, desde luego, muy variable, puesto que la sangre salida del corazón puede volver a éste por caminos de muy distinta longitud. El método más usado para determinar este tiempo consiste en inyectar en la vena yugular una cantidad pequeña de un colorante, por ejemplo, de azul de metileno, y ver el tiempo que tarda en aparecer en la vena yugular del otro lado. Puede también determinarse colocando un par de electrodos en una vena yugular inyectando en la otra yugular una solución poco concentrada de una sal. Tan pronto como la solución alcanza la vena en la cual están colocados los electrodos, aumenta la conductibilidad de la sangre entre los electrodos, y esto produce la desviación de un indicador galvanométrico al cual están unidos los electrodos.

Evaluada de este modo, la duración del círculo sanguíneo es, aproximadamente de 15 a 25 segundos; pero este tiempo representa el que tarda la sangre en volver al corazón por la ruta más corta. El tiempo que tarda la sangre cuando sigue la ruta más larga es tres o cinco veces mayor.

Velocidad de la sangre. La velocidad con que la sangre circula por los vasos depende principalmente de tres factores: la energía de la sístole cardíaca, el área de sección transversal del vaso y la viscosidad de la sangre. Estos factores son comparables a los que condicionan la velocidad de la corriente de un río. La diferencia de altura entre el nivel del mar y la fuente que da origen al río corresponde al primero de los factores que hemos enumerado. Si esta diferencia de altura es

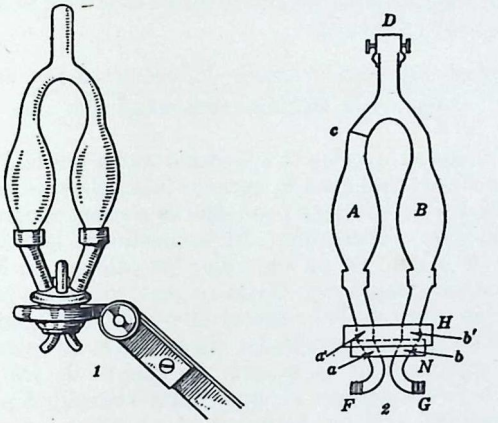


FIG. 150. Reómetro de LUDWIG.
(Según BAINBRIDGE y MENZIES, *Elementos de Fisiología*)

muy grande, el agua llevará una velocidad también muy grande, y viceversa; cuando el cauce es estrecho, el agua adquiere una velocidad mayor que cuando es ancho, y, finalmente, si el agua es muy densa por llevar muchas partículas en suspensión, la velocidad es menor que cuando está clara y limpia. La velocidad de la sangre puede medirse con un aparato denominado *reómetro de Ludwig*, representado esquemáticamente en la figura 150. Consta de dos tubos de vidrio, *A* y *B*, unidos por su parte superior; en la acodadura de uno de los tubos hay una señal *c*. Por su parte inferior los tubos están situados sobre un disco de metal *H*, que gira sobre un segundo disco *N*.

Cada disco lleva dos agujeros situados de modo que el agujero *a* del disco *H* se corresponde con el *a'* o el *b'* del disco *N*, y el agujero *b'* del disco *H* se corresponde con el *a'* o el *b* del disco *N*. El aparato se inserta en una arteria seccionada transversalmente enchufando el tubo *F* en un cabo de la arteria y el tubo *G* en el otro cabo. Los tubos

F y *A* están llenos de aceite, y *G* y *B* de sangre desfibrinada. Se deja que la sangre pase al vaso *A* por *F* (que se habrá enchufado al cabo proximal), y que, por lo tanto, sea rechazado el aceite hacia *B*. La sangre desfibrinada que llenaba este vaso pasa a la circulación del animal por *G* enchufado al cabo arterial distal. Cuando la sangre llega en *A* a la señal *c*, se gira el reómetro haciendo que el vaso *B* comunique ahora con el tubo *F*. La sangre llegada ahora a *B* desplaza el aceite, devolviéndolo al vaso *A* que lo contenía al principio. Logrado esto se hace girar nuevamente el reómetro, repitiéndose muchas veces esta operación. Como el volumen de *A* hasta la señal es conocido y podemos contar el número de veces que hemos hecho girar el aparato, podemos calcular fácilmente el volumen de la sangre que pasa por la arteria en un tiempo dado. La velocidad de la sangre se deduce, entonces, de la siguiente fórmula:

$$\frac{\text{Cantidad que pasa a través del reómetro por segundo}}{\text{Area de la sección transversal del vaso}}$$

En las grandes arterias la velocidad varía desde 300 a 500 mm. por segundo, siendo más grande durante la sístole cardíaca que durante la diástole. En las arterias pequeñas es menor, oscilando alrededor de 150 a 250 mm. por segundo. El promedio de la velocidad en los capilares es de 1 mm. en un segundo; los cálculos se hacen contado el tiempo que un glóbulo rojo tarda en recorrer cierta longitud de un capilar. En las venas vuelve a crecer la velocidad, llegando en las más grandes a 200 mm. por segundo. La viscosidad es un factor que influye poco en la velocidad de la sangre. La sangre de los mamíferos es cinco veces más viscosa que el agua. Esta viscosidad permite que la sangre alcance con relativa facilidad una presión sanguínea elevada.

Cantidad de sangre en el organismo. Un procedimiento para determinar la cantidad de sangre existente en el organismo consiste en inyectar una cantidad pequeña de un colorante atóxico, tal como el rojo neutro, en una vena. Llegado al corazón, el colorante se distribuirá por todo el árbol circulatorio. Se toma luego una muestra de sangre de alguna vena distante de aquella en que se hizo la inyección y se determina la concentración del colorante. Si, por ejemplo, se inyectó 0,1 gramo de rojo neutro y la concentración hallada en la muestra de sangre es de 1 : 80 000, el volumen de la sangre circulante es 8 litros. Un segundo procedimiento consiste en determinar la capacidad de oxígeno de la sangre del animal, y una vez averiguada hacerle inhalar una cantidad determinada de CO. Este gas forma carboxihemoglobina, por lo que deja a una parte de la hemoglobina incapacitada para formar oxihemoglobina. La capacidad de captar oxígeno de la sangre queda, pues, disminuída. En una muestra de sangre se determina la cantidad de CO unido con la hemoglobina, y como sabemos la cantidad de CO inhalado, deduciremos fácilmente el volumen

total de sangre en el organismo. Si, por ejemplo, 10 c. c. de sangre se han unido con $^1/_{300}$ del total de CO absorbido, la cantidad total de sangre será de 3000 c. c.

La cantidad de sangre varía mucho de un animal a otro. Puede decirse, como regla general, que la cantidad total de sangre oscila alrededor de $^1/_{13}$ a $^1/_{15}$ del peso del animal y que la cantidad de sangre circulante varía entre $^1/_{18}$ a $^1/_{20}$ del peso del cuerpo. Para un hombre de peso medio, el volumen de sangre circulante será, en consecuencia, de 5 litros aproximadamente, y la sangre total ocupará un volumen de 6,5 litros.

Capítulo XV

Fecundación

Fecundación normal. La fecundación del óvulo o célula germinal femenina se verifica, en unos casos, por su unión con la célula germinal masculina o espermatozoo, y en otros casos, sin necesidad de esta unión, fecundándose el óvulo por sí mismo, fenómeno éste que se conoce con el nombre de *partenogénesis*. La fecundación mediante dos células germinales de sexo contrario varía muchísimo de unos animales a otros; aquí limitaremos la descripción del proceso a la fecundación del óvulo del erizo de mar. Precisamente en este animal se han realizado también muchas experiencias para aclarar el proceso de la partenogénesis.

El óvulo del erizo de mar es de forma esférica, su citoplasma es viscoso y contiene numerosas granulaciones, la mayoría de las cuales tienen el aspecto de materiales de reserva alimenticia; el núcleo queda en un lado de la célula, desviado del centro. El óvulo es abandonado en el agua por la hembra. El macho abandona también en el agua los espermatozoos, que se mueven muy velozmente, gracias al flagelo que forma como una cola. Al encontrarse el óvulo y el espermatozoo se unen fuertemente. En el punto de contacto, en el óvulo se forma una especie de mamelón limitado por una membrana muy tenue, la *membrana de fertilización*. La "cabeza" del espermatozoo, o núcleo, atraviesa entonces la membrana y pasa al protoplasma. El núcleo del huevo se aproxima a la cabeza del espermatozoo. Ambos núcleos se fusionan y tras un corto espacio de tiempo la masa nuclear resultante empieza a dividirse. Simultáneamente el protoplasma ovular sufre los cambios en su viscosidad que describíamos en la página 150, los más importantes de los cuales son el reblandecimiento de la parte central y la propagación de esta área reblandecida para incluir la masa nuclear que empieza a dividirse. El reblandecimiento del protoplasma sigue progresando y la división del núcleo continúa. Entonces aparece en el óvulo un surco que va haciéndose cada vez más profundo hasta que, finalmente, lo divide en dos mitades. Así se han originado, pues, dos células. Éstas sufren, cada una, una división análoga, de manera que se originan cuatro células. Las divisiones

continúan, resultando de ellas la formación de una cavidad en torno a la cual se disponen las células formando el conjunto una esfera; ésta es la fase de *blástula*. En este estadio, en las células más superficiales aparecen unos cilios que les sirven de órganos de locomoción. Las células ciliadas se mueven en torno a la blástula. Un polo de ésta se invagina, y de ello resulta la formación de la *gástrula*, que representa un nuevo estadio. La gástrula consiste en un saco de paredes dobles; la pared interna formará el intestino del animal desarrollado. En los extremos de la cavidad de la gástrula se forma una boca y un ano respectivamente; el extremo anal aparece ya abierto. Al mismo tiempo, en la superficie externa de la gástrula se desarrolla un mamelón que da al conjunto la apariencia de un hongo. Éste es el estadio de *pluteus*, equivalente al de larva en los insectos. Al estadio de *pluteus* suceden otros, no del todo desemejantes a las formas por que pasan los insectos en su metamorfosis y que ya nadan libremente en el agua.

La descripción dada de la fecundación del óvulo del erizo de mar, en sus líneas generales coincide con la que podíamos dar de la fecundación de los óvulos de los animales empleados corrientemente para el estudio de estos procesos. Las observaciones experimentales se acostumbran a realizar también en las estrellas de mar y en algunos gusanos. En ciertos animales, el proceso normal seguido para su reproducción es del tipo que hemos llamado partenogénesis. Ya se ha dicho que en este caso el óvulo se fecunda por sí solo sin necesidad de espermatozoos. En las avispas, hormigas y abejas la reproducción por partenogénesis da lugar a machos zánganos. En las pulgas de agua los machos se encuentran muy raramente; el proceso normal de estos animales es la partenogénesis. En los vertebrados, este tipo de reproducción no tiene lugar más que en ciertas condiciones experimentales, que tanto en ellos como en los invertebrados ocasionan la llamada *partenogénesis artificial*. El estudio de ésta facilita la comprensión de los procesos de fecundación en general.

Partenogénesis artificial. Nuestros conocimientos acerca de cuestión tan interesante los debemos en gran parte a las investigaciones realizadas por Jacques Loeb, desde el comienzo de este siglo.

Si colocamos óvulos de *Arbacia* en un recipiente que contenga agua de mar, medio en el que normalmente viven estos seres, añadiendo cualquiera de las substancias que citamos a continuación, Cl_2Mg, ClNa, ClK, urea y azúcar de caña, veremos que los óvulos se dividen y alcanzan el estadio de *pluteus* aunque el agua no contenga ningún espermatozoo. Hay que pensar que la fecundación ha tenido lugar por partenogénesis y que las substancias mencionadas ejercen sobre los óvulos una influencia análoga a los espermatozoos. Mediciones exactas de las concentraciones a las cuales el "efecto fertilizante" es más marcado, demuestran que lo esencial es que la presión osmótica de estas soluciones sea mayor que la del agua del mar sola, que equivale a la de una solución de cloruro sódico cuya

concentración molecular sea de 0,625. En el siguiente cuadro va expresado el óptimo de concentración de algunas substancias junto con la presión osmótica correspondiente a estas concentraciones.

Substancia	Óptimo de concentración en moléc.	Presión osmótica en atmósferas
ClK	0,78	30,9
ClNa	0,79	30,3
ClLi	0,74	27,6
Cl Mg	0,49	26,5
Cl Ca	0,50	25,6
Glucosa	1,04	23,3
Sacarosa	0,96	21,5

Estas soluciones actúan seguramente determinando una pérdida de agua por parte del citoplasma y, en consecuencia, aumentando la viscosidad de éste (véase pág. 151). Sin embargo, la presión osmótica ejercida por cada una de estas substancias cuando están a concentración óptima no es igual en todas ellas, sino que varía desde 30 atmósferas a 20 en cifras aproximadas. De esto se desprende que la presión osmótica no explica completamente esta cuestión.

Los resultados no son tan brillantes cuando se experimenta con óvulos del equinodermo *Strongylocentrotus purpuratus*. Las distintas soluciones hipertónicas en la misma concentración óptima que citábamos determinan, también, la autofecundación de estos óvulos, o fecundación partenogenética. Pero el número de óvulos fecundados es mucho menor que cuando experimentamos en idénticas condiciones con óvulos de *Arbacia*, y una gran parte de los pluteus engendrados no nadan libremente. Además, la fecundación no se acompaña en la mayoría de los casos de la formación de la membrana de fertilización, que no falta nunca cuando el óvulo es fecundado por el espermatozoo.

Estos resultados contradictorios indujeron a Loeb a verificar ensayos variando el *p*H del agua de mar, añadiéndole, principalmente, ácidos orgánicos. La adición de pequeñas cantidades de ácido butírico al agua de mar (2,5 a 3 c. c. de una solución decinormal de ácido butírico en 50 c. c. de agua) da lugar a resultados del todo concordantes; si los óvulos permanecen unos dos minutos en la solución de ácido y luego son llegados al agua de mar, se forman las típicas membranas de fertilización y muchos de estos óvulos así formados originan pluteus que nadan libremente. Sin embargo, el desarrollo no resulta tan grande como cuando se emplean soluciones hipertónicas para provocar la partenogénesis.

La experiencia puede disponerse sumergiendo primeramente los óvulos en la solución con ácido butírico diluído hasta que está formada completamente la membrana de fertilización y llevándolos entonces a la solución hipertónica hecha en agua de mar. El cien por

cien de los óvulos sometidos a esta experiencia quedan fecundados, transformándose en pluteus completamente normales y típicos.

Para comprender estos resultados debemos fijarnos principalmente en el efecto que el ácido butírico ejerce sobre la membrana ovular. Estamos autorizados para creer que durante el proceso de fecundación la membrana ovular es más permeable que fuera de este estado; apoyándonos en esto podemos decir que el ácido butírico inicia la partenogénesis aumentando la permeabilidad de esta membrana. Se sabe, por ejemplo, que los óvulos fecundados se retraen, o sea que pierden agua, en soluciones isotónicas de sacarosa y que los óvulos no fecundados se mantienen sin alteración visible en estas mismas soluciones; también se ha visto que la conductibilidad eléctrica de los óvulos aumenta cuando han sido fecundados, todo lo cual indica que en estas condiciones la membrana ovular se ha hecho más permeable. Este aumento de la permeabilidad de la membrana ovular ocurre en todas las variedades de fecundación y, recíprocamente, muchas substancias que actúan aumentando la permeabilidad de la membrana ovular son capaces de provocar la partenogénesis artificial. El cianuro de potasio, los rayos Röntgen, las emanaciones del rádium, el éter, los ácidos próximos al butírico y varios otros que disuelven las grasas, las citolísinas como la saponina y las sales biliares, en fin, todas las substancias que modifican las propiedades de la membrana celular en mayor o menor extensión, producen la fecundación del huevo de modo análogo a como la produce el ácido butírico. Pueden obtenerse resultados idénticos irritando la membrana celular con una fina aguja de microdisección o calentando el agua que contiene los óvulos a 35°, temperatura superior a la del agua en que ellos viven normalmente. De lo dicho resulta que la partenogénesis artificial está estrechamente relacionada con los fenómenos de citólisis.

Es necesario advertir que los cambios en la permeabilidad de la membrana ovular deben acompañarse necesariamente de cambios en el citoplasma. A éstos ya hemos aludido cuando hablamos de la viscosidad en páginas anteriores, y respecto a los otros cambios, veremos que están particularmente relacionados con la nutrición del citoplasma.

Debemos advertir, sin embargo, que las modificaciones que se producen al ponerse en contacto la esperma con la membrana ovular se acomodan a un orden determinado y son, hasta cierto punto, diferentes de las que hemos visto para la fecundación partenogenética. El contacto de la esperma determina en la superficie de la membrana un proceso de licuefacción local que puede determinar a su vez la formación de una fina membrana (membrana de fertilización) o la excrecencia de un pequeño mamelón. La formación de esta membrana de fertilización no tiene lugar instantáneamente, sino que está condicionada por la transmisión a partir de este punto de una onda que se propagará alrededor del huevo, hasta el polo opuesto. El tiempo que tarda esta onda en recorrer la superficie ovular es, apro-

ximadamente, de 20 segundos; la permeabilidad de la membrana ovular aumenta precisamente mientras está pasando la onda, e inmediatamente después de transcurrido un minuto vuelve la permeabilidad a ser normal. En algunos aspectos, el proceso de fecundación recuerda los cambios de la permeabilidad que se observan en las células de los músculos y en los nervios propagándose a lo largo de ellos.

El cambio de permeabilidad en la membrana ovular debe acompañarse de cambios eléctricos, análogos a los que en la contracción de las fibras musculares van asociados con las modificaciones de la permeabilidad sufridas por las membranas de estas fibras. Estos cambios eléctricos se observan como una diferencia de potencial entre la porción del óvulo en la que se forma el surco de división y las regiones vecinas, originándose en aquella región un área de negatividad con respecto a éstas de acuerdo con la ley general que dice que la parte en actividad se hace negativa respecto a las regiones próximas en reposo. Aunque no ha sido demostrado todavía, se puede afirmar que mientras la onda que forma la membrana de fertilización recorre el óvulo, ocurren cambios eléctricos parecidos a los que hemos descrito.

Consumo de oxígeno durante la fecundación del óvulo. Uno de los fenómenos más notables que tienen lugar durante el proceso de fecundación es el aumento súbito del consumo de oxígeno que ocurre tan pronto como el óvulo y el espermatozoo se ponen en contacto. Los óvulos se colocan para estas observaciones en un aparato idéntico al que se usa para la determinación del consumo de oxígeno en glándulas, músculos, etc. Durante el primer minuto, después del contacto del óvulo y el espermatozoo, el aumento del consumo de oxígeno llega en algunos casos a alcanzar valores tan elevados como 8000 %. El CO_2 liberado guarda relación con la cantidad de oxígeno consumido. Estos hechos indican que el metabolismo del óvulo aumenta considerablemente por el mero contacto de la cabeza del espermatozoo, puesto que cuando éste atraviesa la membrana, el aumento del metabolismo ya ha tenido lugar. Aparte de esto, el metabolismo aumenta hasta un máximo en cada división sucesiva del óvulo, siendo mucho mayor durante estas divisiones que en los intervalos entre ellas.

Movimiento de los espermatozoos. Los espermatozoos del erizo de mar y de las especies próximas a él no manifiestan actividad cinética hasta que son abandonados en el agua. La progresión es determinada por el movimiento de la cola, que da lugar a movimientos en espiral. La motilidad no se acompaña de una mayor eliminación de CO_2 o de un consumo aumentado de O_2; el espermatozoo en reposo elimina la misma cantidad de CO_2 que cuando se mueve. En la fecundación del óvulo se pueden distinguir dos fases, siendo la primera la progresión del espermatozoo hacia el óvulo, y la segunda la perforación de la membrana ovular por la cabeza del espermatozoo una vez que el contacto entre ambos elementos ha tenido lugar.

En ocasiones, el contacto entre el espermatozoo y el óvulo tiene lugar casualmente; a pesar de esto, podemos afirmar también que el óvulo ejerce un quimiotactismo positivo sobre el espermatozoo. Se supone que el quimiotactismo positivo se ejerce por substancias segregadas por el mismo óvulo. A este respecto son interesantes las observaciones hechas añadiendo a la suspensión de espermatozoos agua separada de una suspensión de óvulos. Los efectos pueden observarse en espermatozoos que, como los de las estrellas de mar, carecen normalmente de movimiento, o en aquellos otros, como los de los erizos de mar, que, sin embargo, lo presentan. Los primeros adquieren la facultad de moverse y en los segundos hay un marcado aumento de su motilidad al añadir el agua procedente de la suspensión de óvulos. La naturaleza exacta del principio contenido en esta agua que da lugar a los efectos citados es desconocida todavía; se supone, sin embargo, que es una proteína que en cierto modo presenta las propiedades de los anticuerpos. Varios fisiólogos han apoyado esta tesis, añadiendo que dicha substancia es específica, o sea que el agua que ha contenido óvulos de un organismo determinado provoca o activa el movimiento de los espermatozoos de organismos de la misma especie o de especies próximas. De todos modos, no está demostrado que esto sea absolutamente cierto. Lo que casi puede afirmarse es que los óvulos ya fecundados pierden la propiedad de segregar dichas substancias.

La existencia de esa substancia no aclara, por otra parte, cómo el espermatozoo llega hasta el óvulo. Se ha pensado que la concentración de la substancia activante sería mayor en torno al óvulo no fecundado y que disminuiría conforme la distancia a él fuese mayor. El espermatozoo sería atraído por las zonas donde la concentración fuera mayor, y de este modo llegaría hasta la membrana del óvulo. Pero esta hipótesis sugiere algunas dudas, y se tiene como más probable que la substancia activante actúe únicamente aumentando la motilidad del espermatozoo, sin imprimir ninguna dirección determinada. Después de todo, esta cuestión carece de interés, puesto que si los espermatozoos y los óvulos están diseminados en el agua, habrán de encontrarse, forzosamente, en cualquier dirección que se muevan los primeros.

Aparte de la propiedad de aumentar la motilidad del espermatozoo y de dirigirlo probablemente hacia el óvulo, el agua que contiene óvulos en suspensión presenta también la propiedad de modificar la superficie de los espermatozoos. Cuando llevamos los espermatozoos a un agua que haya contenido óvulos, el primer efecto es un aumento de la motilidad; después, los espermatozoos se disponen en grupos y, finalmente, aglutinan formando grumos. La aglutinación persiste durante unos minutos, pasados los cuales los grumos se deshacen y los espermatozoos se dispersan. Por coniguiente, lo má probable es que la superficie de los espermatozoos se modifique durante el proceso de aglutinación y que tenga lugar algo análogo una vez que el contacto entre el óvulo y el espermatozoo se ha verificado. La modificación consistiría en cierta viscosidad de las superficies que

las haría adherentes. La formación de grumos, que persiste indefinidamente cuando los espermatozoos son llevados a una suspensión de óvulos procedentes de animales de especie distinta a la que suministró los espermatozoos, evitaría el contacto de éstos con los óvulos no fecundados.

Antes de dejar esta cuestión, hemos de mencionar el hecho de que en determinadas circunstancias los óvulos de una especie pueden ser fecundados por espermatozoos de otra especie distinta. Con una concentración de espermatozoos suficiente, y con un tiempo también suficientemente prolongado, los espermatozoos de las almejas pueden fecundar los óvulos de los erizos de mar, aunque esto no influye en las divisiones celulares subsiguientes ni en la unión de ambas cromatinas. Del mismo modo, los espermatozoos de las estrellas de mar fecundan los óvulos del erizo de mar cuando la reacción del medio es alcalina. Pero la unión del espermatozoo con el óvulo parece provocar estímulos puramente mecánicos, que dan lugar a la formación de la membrana de fertilización y a fecundación por partenogénesis. Los seres procedentes de estas uniones son enteramente iguales al erizo de mar, sin presentar nada que recuerde las almejas o las estrellas de mar.

Organización del individuo. Aunque los problemas inherentes a la Embriología experimental se hallan fuera del alcance de este libro, una obra de introducción a la Fisiología General no puede menos de citar algunos de los más notables experimentos referentes a las primeras divisiones del óvulo fecundado.

En circunstancias normales, el óvulo fecundado sufre una serie de divisiones hasta llegar a la forma de blástula, desde la cual, por sucesivas diferenciaciones, se origina el nuevo ser. La facultad de dar lugar al nuevo ser no está, sin embargo, limitada tan sólo al óvulo fecundado, sino que radica también en cualquiera de las blastómeras que resultan de las primeras divisiones. Esto puede demostrarse separando ambas blastómeras resultantes de la primera división por medio de una ligadura muy fina hecha con cerdas de caballo; esta experiencia da lugar a que cada blastómera engendre un individuo perfecto. Resultados análogos se pueden obtener incluso cuando del óvulo fecundado se han formado ya, por divisiones sucesivas, hasta 16 blastómeras; pero las experiencias realizadas en este estadio muestran que no todas las blastómeras originan nuevos seres. Las primeras blastómeras son denominadas, en atención a lo dicho, "*omnipotenciales*", ya que tienen la misma potencialidad reproductiva que el óvulo fecundado.

Una vez formada la gástrula, los elementos celulares pierden su omnipotencialidad; si se separa una porción de la parte dorsal de la cavidad de la gástrula y se trasplanta a otra región, las células separadas dan lugar a un tejido completamente análogo al que hubieran originado de haber permanecido en su sitio primitivo. Una parte del borde, por ejemplo, está destinada a formar el globo ocular del

nuevo ser, y aunque esa porción de tejido se trasplante a otra región de la gástrula, engendrará el globo ocular. Los tejidos muestran, pues, una *organización* particular aun cuando no presenten ninguna diferenciación apreciable. La observación microscópica o con otros medios a nuestro alcance no revela diferencias entre las células de los tejidos organizados y las de aquellos que limitan con éstos. Sin embargo, cada grupo de células prosigue su propio desarrollo aunque el medio no sea muy favorable. El ejemplo más sugestivo tal vez sea el que nos ofrecen las células que forman la zona óptica de los anfibios. Trasplantadas por el sencillo proceso de la gota en la cavidad de la gástrula, la diferenciación y desarrollo de la zona óptica tiene lugar a pesar de encontrarse en un medio inadecuado.

Aunque siempre que nos es posible intentemos explicar los procesos vitales por los mismos principios que rigen los fenómenos observados en la materia no organizada, nos encontramos a menudo con propiedades como la de la potencialidad que hemos citado últimamente, a las que todavía no podemos encontrar explicación satisfactoria. De todos modos, es probable que esta propiedad, como muchas otras, pueda ser explicada por la intervención de diversos mecanismos; en el momento presente la química coloidal y la física molecular no nos proporcionan datos suficientes para explicar estas propiedades. La concepción actual de la célula considerada como un sistema físicoquímico está, en efecto, muy lejos todavía de aclararnos estas cuestiones. Pero no es obvia la pregunta de si algún día determinadas propiedades como la de la "potencialidad" podrán ser explicadas de acuerdo con otras más elementales; sin embargo, ello mismo debe prevenirnos contra un entusiasmo exagerado que nos lleve a aceptar sin discusión rigurosa las ideas mecanicistas de estos últimos tiempos.

BIBLIOGRAFÍA

Capítulo I

Michaelis, "The Dynamics of Surfaces», Spon and Chamberlain, 1914.
Willows and Hatschek, "Surface Tension and Surface Energy", Blakiston, 1923.
Rideal, "Surface Chemistry", Cambridge University Press, 1926.

Capítulo II

Hatschek, "Physics and Chemistry of Colloids", Blakiston, 192
Taylor, "Chemistry of Colloids", Arnold, 1919.
Burton, "The Physical Properties of Colloidal Solutions", Longmans, 1921.
Svedberg, "Colloidal Chemistry", Chemical Catalogue Company, 1924.
Bogue, "Colloidal Behaviour", McGraw-Hill, 1924.
Michaelis, "The Effect of Ions in Colloidal Systems", Williams & Wilkins, 1925.
Loeb, "Proteins and the Theory of Colloidal Behaviour", McGraw-Hill, 1922.

Capítulo III

Findlay, "Osmotic Pressure", Longmans, 1919.
Lillie, "Protoplasmic Action and Nervous Action" (capítulos 1-9), University of Chicago Press, 1923.
Cowdry, "General Cytology" (capítulo 3, Permeability of the Cell to Diffusing Substances, Jacobs), University of Chicago Press, 1924.
Osterhout, "Injury, Recovery and Death in Relation to Conductivity and Permeability", Lippincott, 1922.
Leduc, "The Mechanism of Life", Redman, 1911.

Capítulo IV

Michaelis, "Hydrogen Ion Concentration", Williams & Wilkins, 1926.
Clark, "The Determination of Hydrogen Ions", Williams & Wilkins, 1923.

Capítulo V

Bayliss, "The Nature of Enzyme Action", Longmans, 1925.
Falk, "The Chemistry of Enzyme Action", American Chemical Society Monographs, 1921.
Waldschmidt-Leitz, "Die Enzyme", Wieweg and Sohn, 1926.

Capítulo VI

Heilbrunn, "Colloidal Chemistry of Protoplasm", Bonntraeger, 1928.
Cowdry, "General Cytology" (capítulo 5, The Physical Structure of Protoplasm as determined by Microdissection and Microinjection, Chambers), University of Chicago Press, 1924.
Cowdry, "General Cytology" (capítulo 6, Mitochondria, Golgi Apparatus, and Chromidial Substance, Cowdry), University of Chicago Press, 1924.
Wilson, "The Cell in Development and Heredity", Macmillan, 1928.
Coles, "Critical Microscopy", Churchill, 1921.

Capítulo VII

Hill, "Muscular Activity", Williams & Wilkins, 1925.
Meyerhoff, "Chemical Dynamics of Life Phenomena", Lippincott, 1924.
Evans, C. Lovatt, "Recent Advances in Physiology", Churchill, 1925.

Capítulo VIII

Schaefer, "Ameboid Movement", Princeton University Press, 1920.
Gray, "Ciliary Movement", Cambridge University Press, 1928.

Capítulo IX

Lucas, Keith, "The Conduction of the Nervous Impulse", Longmans, 1917.
Davis, "The Conduction of the Nervous Impulse", Physiological Reviews, volumen VI, 1926.
Lillie, "Protoplasmic Action and Nervous Action" (capítulos 11-15), University of Chicago Press, 1923.
Fulton, "Muscular Contraction and the Reflex Control of Movement", Wiliams & Wilkins, 1926.
Parker, "The Elementary Nervous System", Lippincott, 1919.

Capítulo X

Schafer, "Endocrine Organs", Longmans, 1925.
Hogben, "Comparative Physiology of Internal Secretions", Cambridge University Press, 1927.
Harvey, "The Nature of Animal Life", Lippincott, 1920.

Capítulo XI

Loeb, "Forced Movements and Animal Conduct", Lippincott, 1918.

Capítulo XII

Parsons, "Fundamentals of Biochemistry", Williams & Wilkins, 1926.
Underhill, "The Physiology of the A Mino-Acids", Yale University Press, 1925.
Dakin, "Oxidation and Reduction in the Animal Body", Longmans, 1922.
De Beer, "Growth", Arnold, 1924.
Robertson, "The Chemical Basis of Growth and Senescence", Lippincott, 1923.
Cowdry, "General Cytology" (capítulo 7, The Behaviour of Cells in Tissue Culture, Lewis and Lewis), The University of Chicago Press, 1924.

Capítulo XIII

Barcroft, "The Respiratory Function of the Blood", Cambridge University Press, 1913.
Haldane, "Respiration", Yale University Press, 1927.
Krogh, "Respiratory Exchange in Animals and Man", Longmans, 1920.
Kostychev, "Plant Respiration", Blakiston, 1927.

Capítulo XIV

Clarke, "The Comparative Physiology of the Heart", Macmillan, 1927.
Wiggers, "The Circulation of Health and Disease", Lea and Febiger, 1923.

Capítulo XV

Loeb, "Artificial Parthenogenesis", University of Chicago Press, 1913.
Cowdry, "General Cytology" (capítulo 8, Fertilization, Lillie and Just), University of Chicago Press, 1924.

ÍNDICE ALFABÉTICO

Acción enzimática, mecanismo de la, 141.
— — reversibilidad de la, 132.
— específica de los iones, 114.
— oligodinámica, 121.
Acidosis, 113.
Acroglobulinas, 359.
Acromegalia, 281.
Adrenalina, 285.
Adsorbente, 15.
Adsorción, 15.
— eléctrica, 16, 19.
— mecánica, 16.
Amboceptor, 68.
Amilasa, 124.
Anemotropismo, 312.
Anfolitos, 44.
Ángulo de equilibrio, 12.
Antienzimas, 136.
Antitripsina, 137.
Antitrombina, 146.
Aparato de Golgi, 159.
Arco reflejo, 235.
Área sensitiva, 249.
Autacoides, 275.

Barger, método de la presión del vapor de, 83.
Bayliss, ley del intestino de, 321.
Boveri, ley de, 161.
Brinkmann, solución de, 87.

Cadena simpática, 253.
Cantidad de sangre en el organismo, 400.
Cápsulas suprarrenales, 285, 292.
Carboxihemoglobina, 358.
Carga eléctrica, 9, 27.
Carioquinesis, 156.
Catalasas, 139.
Catálisis por adsorción, 18.
Células de Rougel, 394.
Centro auditivo, 250.
— cardiomoderador, 350.
— respiratorio, 250.
Centro vasomotor, 250.
Centros del gusto y del olfato, 250.
— de la memoria visual, 250.
— nerviosos, 248.
Cilindroeje, 213.
Circulación, 380.
Círculo sanguíneo, duración del, 398.
Cistina, 331.
Citolisinas, 66.
Citólisis, 66.
Citón, 213.
Citoplasma, estructura del, 148.
Clorofila, 336, 337.
Coagulación de la sangre, 142.
Coeficiente de temperatura, 133.
Coenzima, 135.
Coloides, 47.
— hidrófilos, 32.
— hidrófobos, 32,
— liofilos, 32.
— liofobos, 32.
— pituitarios, 282.
Complemento, 68.
Conducción, 218.
Conductibilidad eléctrica, 95.
— de los líquidos orgánicos, 98.
Contracción isométrica, 175.
— isotónica, 174.
— teorías de la, 195.
Corazón, gasto y trabajo del, 391.
Corpúsculos explosivos, 13, 145.
Crecimiento, 342, 345.
Crecimientos osmóticos, 91.
Cristaloides, 47.
Cromógenos respiratorios, 359.
Cuerpo lúteo, 293.
Curva equipotencial, 372.
— logarítmica, 128.

Chalonas, 276.

Dansyz, fenómeno de, 146.
Descarga sincrónica, 238.
Deshidrogenasa, 139.
Determinación del pH., 103.

Determinación del tamaño de un objeto microscópico, 165.
Difusión, 46.
Digestión en los animales inferiores, 324.
— en el hombre, 317.
— intracelular, 326.
Disociación, 94.
— del agua, 99.
— eléctrica, 95.
— electrolítica, 93.
Dobie, línea de, 168.
Doble capa electrolítica, 9.
— — de Helmholtz, 9.
Donnan, equilibrio de, 76.

Eck, fístula de, 330.
Electrocardiograma, 385.
Electrodo de calomelanos, 107.
— de hidrógeno, 105.
Electroendósmosis, 29.
Electroforesis, 29.
Enanismo, 281.
Energía superficial, 11.
Enzimas, 122.
— naturaleza y clasificación de las, 124.
Equilibrio de Donnan, 76.
Erepsina, 319.
Espectros de difracción, 166.
Espermatozoos, 406.
Estabilidad, condiciones de, 27.
Estado coloidal, 21.
Estereotropismo, 296, 312.
Estructuras iridiscentes, 91.
Excitación en el nervio, 215.
Experimento de Lillie, 229.
— de van der Mensbrugghe, 3.
— de Stannius, 388.
Exponente de hidrogeniones, 100.

Fagocitosis, 326.
Fase continua, 22.
— dispersa, 22.
— límite, 1.
Fatiga, 192.
Fecundación, 402.
Fenómeno de Dansyz, 146.
— de la escalera, 192.
— de Tyndall, 24.
Fibras musculares, 167.
Fibrina, 143.
Fibrinógeno, 143.
Fick, ley de, 47.
Fijación celular, 161.
Filinas, 357.
Fístula de Eck, 330.
Fitoclorina, 357.
Fitorodina, 357.
Fotofeleína, 273.
Fotogenina, 273.
Fotosíntesis, 337.

Galvanotropismo, 296, 313.
Gastrina, 264.
Gastrosecretina, 264.
Gelificación, 38.
Geotropismo, 296, 308.
Gigantismo, 281.
Glándula pineal, 292.
— pituitaria, 280, 282.
Glándulas endocrinas, 293.
— sexuales, 288.
Glucemia, 290.
Glucosuria, 290.
Glutation, 138.
Golgi, aparato de, 159.
Gránulos citoplasmáticos, 152.
— de glucógeno, 152.
— de proteínas, 153.
Grasas, metabolismo de las, 333.
Grumos de Nissl, 152.
Guayaco, reacción del, 137.

Hardy, regla de la valencia, 35.
Hedin, método del hematocrito de, 51, 53.
Helicorubina, 359.
Heliotropismo, 296, 298.
Helmholtz, doble capa de, 9.
Hematíes, función de los, 371.
Hematoporfirina, 354, 356.
Hemocianina, 354, 358.
Hemocromógeno, 356.
Hemoglobina, 354.
Hemolisinas, 66.
Hemólisis, 66.
Hensen, línea de, 168.
Hidratos de carbono, metabolismo de los, 331.
— — síntesis de los, 340.
Hipófisis, 280.
Hirudina, 144.
Histamina, 395.
Hofmeister, series de, 40.
Hormonas, 264, 275.
Husos musculares, 236.

Imbibición, 40.
Impulso nervioso, 218.
Indicadores, 103.
— universales, 104.
Índice del oro, 38.
Inervación recíproca, 240.
Inhibición, 230, 242.
Iones, acción específica de los, 114.
Islotes de Langerhans, 290, 294.
Isoterma, 16.

Krause, membrana de, 168.

Ley de Boveri, 161.
— de Fick, 47.
— del intestino de Bayliss y Starling, 321.
Ligaduras de Stannius, 388.
Lillie, experimento de, 229.
Límite de visibilidad, 162.
Línea de Dobie, 168.
— de Hensen, 168.
Lipasas, 124.
Lisina, 331.
Locke, solución de, 87.
Ludwig, reómetro de, 399

Mal de montaña, 378.
Melanóforos, 210.
Membrana celular, 59.
— de Krause, 168.
— morfológica, 76.
— natural, 48.
— de precipitación, 48.
— de secreción, 63.
— semipermeable, 47.
— sináptica, 215.
Mensbrugghe, experimento de van der, 3.
Metabolismo basal, 277.
— de las grasas, 333.
— de los hidratos de carbono, 331.
— de los vegetales, 335.
Metahemoglobina, 356.
Método crioscópico, 83.
— de difracción, 166.
— del electrodo de vidrio, 111.
— gravimétrico, 149.
— del hematocrito de Hedin, 51, 53.
— de la microdisección, 149.
— de la plasmólisis, de De Vries, 51.
— de la presión del vapor de Barger, 83.
— de vividifusión, 328.
Miosina, 170.
Miosinógeno, 170.
Mitocondrias, 157.
Movimiento amiboideo, 207.
— browniano, 30.
— ciliar, 204.
Movimientos de los melanóforos, 210.
Músculo cardíaco, 196.
— estructura del, 167.
Músculos voluntarios, 167.

Nernst-Hill, teoría de la excitación de, 227.
Nervios erectores, 252.
Neurilema, 213.
Neurona, 213.
Nissl, grumos de, 152.
Núcleo, 154.
Nudos de Ranvier, 213.

Órganos eléctricos, 273.
Osmómetro, 49.
Oxidasas, 124.
Oxigenasa, 137.
Oxihemoglobina, curva de disociación de la, 364.

Paramiosinógeno, 170.
Paratiroides, 288.
Partenogénesis, 402, 403.
Partículas, volumen de las, 26.
Película monomolecular, 160.
Pepsinógeno, 140.
Permeabilidad, substancias que modifican la, 70.
— teorías de, 56, 59.
Peroxidasas, 124, 137.
Pituitrina, 285.
Placa motriz, 170.
Plaquetas sanguíneas, 143.
Pletismógrafo, 396.
Porfirinas, 357.
Potencial crítico, 30.
Precipitación fraccionada, método de, 37.
Preparación neuromuscular, 170.
Presión arterial, 392.
— en los capilares, 398.
— de imbibición, 40.
— osmótica, 46, 48.
— — de los humores orgánicos, 82.
— sanguínea, regulación de la, 394.
— venosa, 398.
Presiones intracardíacas, 383.
Proteasas, 124.
Proteínas, 42.
— metabolismo de las, 328.
Protrombina, 141.
Ptialina, 318.
Punto isoeléctrico, 30, 44.

Quimiotropismo, 296, 314.

Ranvier, nudos de, 213.
Reacción del guayaco, 137.
Reacciones heliotrópicas, 303.
Reflejo axónico, 236.
— condicionado, 246.
— prepotente, 245.
— del rascado, 241.
Regla de la valencia de Hardy, 35.
Renina, 319.
Reómetro de Ludwig, 399.
Reotropismo, 311.
Reversión de las fases, 72.
Reserva alcalina de la sangre, 112.
Respiración, 353.
Rigidez descerebrada, 261.
Ringer, solución de, 86.
Rougel, células de, 394.
Ruidos cardíacos, 385.

Sales amortiguadoras, 108.
Sangre, curva de disociación de la, 366.
— velocidad de la, 399.
Sarcolema, 167.
Sarcómeras, 168.
Sarcoplasma, 167.
Secreción, 255.
— de ácido, 269.
— de gases, 271.
— renal, 265.
— de substancias fosforescentes, 272.
— de venenos, 271.
Secreciones internas, 275.
Secretina, 263.
Semipermeabilidad, teorías de, 54.
Sensaciones visuales, 249.
Series de Hofmeister, 40.
— liotropas, 40.
Seudoadsorción, 16.
Sinapsis, 215, 237.
Sistema difásico, 1.
— nervioso autónomo, 251.
— — sináptico, 233.
Soles, precipitación de, 33.
— protección de los, 37.

Solución de Brinkmann, 87.
— de Locke, 87.
— ópticamente vacía, 25.
— de Ringer, 86.
— de Tyrode, 87.
Soluciones coloidales, 21.
— fisiológicas, 86.
— isotónicas, 51.
Stannius, experimento de, 388.
— ligaduras de, 388.
Substratos, 124.
Suspensoide, 32.

Tejido muscular, 167.
— nervioso, 213.
Teoría de la excitación de Nernst-Hill, 227.
— de la interferencia, 242.
— miógena, 198.
— neurógena, 198.
— química de la inhibición, 245.
— de la solución en la membrana, 56.
— del tamiz, 54.
— de la tensión superficial, 59.
— de Traube, 54.
Teorías de la contracción, 195.
— de la permeabilidad, 56, 59.
— de la semipermeabilidad, 54.
Tensión superficial, 2.
— — medida de, 3.
Tensión superficial, teoría de, 59.
— — valores de la, 7.
Termotropismo, 296, 316.
Tétanos, 193.
Timo, 293.
Tiroides, 276.
Tirosina, 331.
Tiroxina, 277.
Tono, 199.
Traube, teoría de, 54.
Tripsina, 319.
Tripsinógenos, 140.
Triptofano, 331.
Trombina, 144.
Trombocinasa, 143.
Trombógeno, 144.
Tropismos, 296.
Tyndall, fenómeno de, 24.
Tyrode, solución de, 87.

Ultramicroscopio, 23.

Vegetales, metabolismo de los, 335.
Vía común final, 245.
Vida anaerobia, 379.
Visibilidad, límite de, 23, 162.
Vitaminas, 323.
De Vries, método de la plasmólisis, 51.

Zimógenos, 140.