

do satisfactorio. Me refirió que no había padecido de ninguna otra afección: que hace diez años se volvió á casar con Andrés Anaya, y que durante este matrimonio ha tenido una hija que se le crió sana, y á los tres años murió de pulmonía.

Adjunto á esta historia dos fotografías de la expresada García: una que fué sacada la víspera de la operación, y la otra el día de su salida del hospital (15 de Noviembre de 1878).

Doy fin á este imperfecto trabajo, suplicando á los respetables miembros de la Academia Nacional de Medicina, se sirvan disimular los defectos que encierre, y el que tengo la honra de remitir, conforme al reglamento en mi turno de lectura, como socio correspondiente.

Valle de Santiago, 23 de Abril de 1890.

ANDRÉS ORTEGA.

## FISIOLOGIA.

**Dosificación de la hemoglobina por el método espectroscópico del Dr. Henocque.**

SUS APLICACIONES Á LA CLÍNICA Y Á LA MEDICINA LEGAL.

(CONTINÚA.)

“El carbonato de potasa pulverizado, precipita la hemoglobina de sus soluciones acuosas, sin que se produzca desde luego descomposición, si la temperatura es baja; pero se puede decir que ninguna sustancia precipita la hemoglobina sin descomponerla. El acetato de plomo y el nitrato de plata no precipitan la hemoglobina de sus soluciones, pero la descomponen al cabo de algún tiempo.

“Los álcalis, y más pronto aún los ácidos, descomponen la hemoglobina sin precipitación previa. El ozono obra de la misma manera. La descomposición de la hemoglobina tiene lugar tanto más rápidamente cuanto que, 1º el álcali ó el ácido es más concentrado; 2º que él es agregado en mayor cantidad á la solución de materia colorante; 3º que la solución de hemoglobina es más concentrada; 4º que la temperatura es más alta.

“La descomposición será acompañada de un precipitado siempre que las soluciones empleadas no descompongan la albúmina; en el caso con-

“trario no se producirá precipitado; así el ácido sulfúrico y el ácido azótico agregados en cantidad suficiente, determinan la formación de un precipitado, mientras que con los ácidos acético y tártrico, la lejía de potasa, etc., el precipitado no se forma.

“Si se disuelve la hemoglobina en el ácido acético, en adición de una partícula de cloruro de sodio, se deposita un precipitado constituido exclusivamente por cristales microscópicos de clorhidrato de hematina. Con la ayuda del calor, estos cristales se forman inmediatamente; de otra manera no se forman sino al cabo de algunos días.

“El amoniaco cáustico no descompone sino muy lentamente la hemoglobina. Los carbonatos alcalinos no producen el mismo efecto sino por medio del calor. Agregados en pequeña cantidad á las soluciones de hemoglobina, los carbonatos alcalinos tienen aún por efecto detener la descomposición de la hemoglobina á la temperatura ordinaria. Por el contrario, los ácidos, aún los más débiles, descomponen rápidamente la hemoglobina. El ácido carbónico mismo no hace excepción; las soluciones del principio colorante de la sangre, saturadas de este ácido, se descomponen más rápidamente que las soluciones neutras.” (Hoppe-Seyler).

El sulfato de cobre, el sulfato de hierro, el percloruro de hierro, el ácido sulfúrico y el hidrógeno arseniado, descomponen la hemoglobina.

Los humores del organismo vivo ejercen una acción muy rápida sobre la hemoglobina; se descompone en sustancia abuminoide y en hematina por la bilis y la orina, pero la acción de ésta última se hace más lenta y parece formarse una sustancia intermediaria á la hemoglobina y á la hematina, á la cual Hoppe-Seyler le ha dado el nombre de *methemoglobina*.

*Descomposición de la oxihemoglobina.*—No podría considerarse la hemoglobina como sustancia albuminosa, propiamente dicha, pero un gran número de reactivos la descomponen en albúmina y en otra sustancia colorante: la *hematina*. Esta descomposición se verifica, principalmente, bajo la influencia del calor, de los ácidos, de los álcalis en solución concentrada, del alcohol absoluto, de las sales metálicas de las últimas secciones. (Fumouze).

*Circunstancias en las cuales la hemoglobina absorbe ó pierde oxígeno.*—Bajo el punto de vista fisiológico, la hemoglobina posee esta propiedad notable de fijar ó de perder el oxígeno con una facilidad extrema. Cuando se exponen en el vacío los cristales aún húmedos de oxihemoglobina, pierden el oxígeno. (Hoppe-Seyler). Las soluciones de oxihemoglobina lo pierden igualmente en estas condiciones. Según las experiencias del au-

tor antes citado, la proporción de gas así desprendido ha variado de 78, 93 á 168, 4<sup>cc.</sup> á 0° y bajo la presión de 0<sup>m.</sup> 76, por 100 gramos de oxihemoglobina. Ha sido por término medio un poco superior á 100<sup>cc.</sup> Dybkowsky, ha extraído de 100 gramos de oxihemoglobina 156<sup>cc.</sup> 6 de oxígeno. Hufner, ha obtenido igualmente 12<sup>cc.</sup> á 0° y á 1<sup>m.</sup> de presión. Esta última cifra es una media de diez experiencias.

De todas las experiencias emprendidas para determinar el poder absorbente de la hemoglobina para el oxígeno, se desprende el resultado siguiente: el estado bajo el cual se encuentra la hemoglobina experimentada, influye poco sobre la cantidad de oxígeno que absorbe. La sangre misma se considera frente á frente del oxígeno como la hemoglobina aislada de los glóbulos. Según Preyer, 1 gramo de hemoglobina disuelta en el agua absorbe 1,3<sup>cc.</sup> de oxígeno, á una temperatura variando entre 0° y 20° (presión de 1<sup>m.</sup>). Según Dybkowsky, esta cantidad no sería sino de 1,1<sup>cc.</sup> Naturalmente estas cifras se refieren á la hemoglobina privada de aire previamente por medio de procedimientos especiales.

Se han preguntado todos los fisiologistas á qué estado el oxígeno está contenido en la oxihemoglobina, y se ha admitido generalmente que el oxígeno forma con la hemoglobina una combinación débil. El estado de oxigenación constituye el estado habitual de la hemoglobina, y siempre que se prepara esta sustancia al aire libre absorbe y fija el oxígeno.

*Reacciones de la hemoglobina.*—Las soluciones de la hemoglobina, lo mismo que la sangre, dan con la tintura de guayacán una coloración azul. Según Feichmann, la formación de cristales por la acción del cloruro de sodio y del ácido acético, sería un carácter permanente para afirmar la presencia de sangre en una mancha. Mc. C. Husson, ha presentado la reacción del yodo sobre la sangre, como uno de los medios más ciertos de reconocer la hemoglobina. Por la absorción del yodo se descompone en globulina y en hematina. Se puede seguir directamente bajo el microscopio la formación de cristales de hemina yodada, de yodidrato y de hematina, tratando, primero, la sangre por el yodo, agregando después una gota de ácido acético y celentando el porta-objeto.

#### B.—Hemoglobina reducida.

La oxihemoglobina puede ser fácilmente privada de su oxígeno debidamente combinado, no solamente por la acción del vacío, sino aun por el paso al través de la solución de gases indiferentes, tales como el hidrógeno y el ázoe; por la acción de sustancias reductoras en solución neutra

ó debidamente alcalina, tales como la limadura de fierro ó de zinc, el tartrato estañoso, el tartrato ferroso-sódico, el amalgama de sodio y el hidrosulfito de sodio. Todos estos reactivos convierten la oxihemoglobina en *hemoglobina reducida*.

La hemoglobina reducida se encuentra en los glóbulos de la sangre venosa al lado de la oxihemoglobina<sup>1</sup>. No se le puede extraer directamente de la sangre, ni conservarla de otro modo que al abrigo del aire, porque la presencia del oxígeno la transforma muy rápidamente en oxihemoglobina. Es muy difícil obtener la hemoglobina enteramente reducida, porque una parte del oxígeno fijado por la hemoglobina es retenido con facilidad y difícilmente lo abandona. Esto es lo que sucede cuando se someten los cristales de oxihemoglobina á la acción del vacío.

Kühn, ha obtenido cristales de hemoglobina reducida, haciendo cristalizar soluciones de hemoglobina concentrada con una corriente de hidrógeno. Hoppe-Seyler confiesa con ingenuidad no haber podido obtener sino vestigios de cristales de hemoglobina reducida. Según Lambling, se obtendrían muy fácilmente de la hemoglobina reducida, abandonando la oxihemoglobina en un tubo sellado, en un pequeño volumen de aire.

*Propiedades físicas.*—Según Hoppe-Seyler, la hemoglobina reducida no puede cristalizar, y sus soluciones evaporadas en el vacío, no dejan sino residuos amorfos. Sin embargo, Hüfner, ha visto la sangre en putrefacción, contenida en vasos cerrados, ofrecer cristales de hemoglobina reducida. Se obtiene fácilmente de las soluciones de hemoglobina reducida; son dicroicos más oscuros que los de las soluciones de oxihemoglobina, y su aspecto es el de la sangre venosa. Más lejos describiré el espectro de la hemoglobina reducida.

*Propiedades químicas.*—La hemoglobina reducida absorbe muy fácilmente el oxígeno, y se transforma en oxihemoglobina cuando se le pone en contacto con este gas, ó cuando se le agita simplemente en el aire. Así pues, la acción de sus reactivos no puede ser estudiada sino al abrigo del aire y en dispositivos especiales. Una solución concentrada de hemoglobina de perro ó de cochino de la India, expuesta al aire y á una baja temperatura, deja depositar á poco una masa cristalizada, y que no es otra cosa que la oxihemoglobina.

Si se lleva á 100° al abrigo del aire, una solución acuosa de hemoglobina reducida, se obtiene un precipitado rojo, que se separa de un líqui-

<sup>1</sup> Según el Sr. Henocque, cuando se encuentra hemoglobina reducida en la economía, es un indicio de muerte próxima.

do igualmente colorado en rojo. Este precipitado está formado por materia albuminoide coagulada, que contiene, lo mismo que el licor antes dicho, un producto al cual Hoppe-Seyler le ha dado el nombre de *hemocromogenia*. Este producto de descomposición es tan vecino de la hematina, que el contacto del aire basta para que la solución alcalina púrpura pase al moreno, y presente las bandas de absorción características de la hematina.

El sublimado corrosivo forma con la solución de hemoglobina reducida, un precipitado gris rojizo; el alumbre, da primero, un licor rojo, después un débil precipitado gris rojizo también. Pero en presencia de los ácidos concentrados, la hemocromogenia se descompone; se forma la *hematoporfirina* y una sal ferrosa que queda en disolución (Hoppe-Seyler).

La hemoglobina reducida no obra sobre la tintura de guayacán.

El cuadro siguiente reúne las principales reacciones, y demuestra la diferencia capital que existe entre las dos materias colorantes de la sangre:

Oxihemoglobina: se descompone en	$\left\{ \begin{array}{l} 1^{\circ} \text{ materia albuminoide.} \\ 2^{\circ} \text{ hematina.} \end{array} \right.$
presencia de los ácidos, en:	
Hemoglobina reducida: se descompone al abrigo del aire en presencia de los álcalis, en:	$\left\{ \begin{array}{l} 1^{\circ} \text{ materia albuminoide.} \\ 2^{\circ} \text{ hemocromogenia que al contacto del aire se transforma rápidamente en hematina.} \end{array} \right.$

Se puede deducir de los hechos anteriores, que es el núcleo colorado, la hemocromogenia, la que fija el oxígeno débilmente combinado.

Aunque muy fácilmente alterable, la hemoglobina, no deja de presentar en ciertas ocasiones una estabilidad tal, que su resistencia á la putrefacción, es por decirlo así, ilimitada. Hoppe-Seyler, ha hecho sobre este particular las experiencias más concluyentes y de la más alta importancia, bajo el punto de vista de la conservación de las soluciones tituladas. Ha demostrado, que las soluciones de hemoglobina, resisten al fermento pancreático y á la putrefacción.

Para conservar intactas las soluciones de hemoglobina, el autor á que tantas veces me refiero, propone guardar soluciones de oxihemoglobina en tubos bien cerrados, con el menor aire posible. Por alterable que sea esta última, es rápidamente transformada en hemoglobina imputrecible. Una solución de oxihemoglobina del perro, cuyo título sería 3 gramos, 884, encerrada en tubos sellados, presentaría al cabo de un año 3,823.

*Identidad de las hemoglobinas.*—La identidad de los fenómenos espectroscópicos, es un argumento de gran valor en favor de la identificación de las diferentes hemoglobinas; y aunque algunos no están muy dispuestos á admitir esta identidad, á causa de la diferencia de solubilidad. Huf-

ner, apoyándose sobre numerosas medidas espectrofotométricas, ha emitido esta hipótesis: que si las hemoglobinas difieren las unas de las otras, es por el núcleo albuminoide solamente.

*Combinaciones de la hemoglobina con los gases.*—Además de su combinación con el oxígeno, la materia colorante de la sangre entra en combinación con: el óxido de carbono, bióxido de ázoe, el ácido cianhídrico y el cianógeno.

*Hemoglobina y óxido de carbono.*—Cl. Bernard, ha sido el primero en observar, que el óxido de carbono expulsa el oxígeno de la hemoglobina para combinarse en esta substancia, dándole un color rojo azulado. La combinación de hemoglobina y óxido de carbono, cristaliza bajo las mismas formas que la oxihemoglobina, pero estos cristales presentan una solubilidad menor.

La Co-hemoglobina resiste mucho más que la O-hemoglobina á la acción del vacío, y la putrefacción no tiene acción sobre ella. Esta combinación resiste á todos los gases, salvo el bióxido de ázoe, que desaloja el óxido de carbono para combinarse con la hemoglobina. Los agentes reductores, y en particular, el sulfuro de sodio, son importantes para transformar la hemoglobina oxicarbonada en hemoglobina reducida.

*Hemoglobina y bióxido de ázoe.*—Hermann, ha sido el primero que ha descrito la combinación de la hemoglobina con el bióxido de ázoe. Se obtiene esta combinación, haciendo pasar ese gas al través de una solución de hemoglobina oxicarbonada al abrigo del aire.

Los cristales de las diferentes combinaciones de la hemoglobina con los gases, son isomorfos de los de la oxihemoglobina.

#### C.—Materias colorantes derivadas de la hemoglobina.

La hemoglobina no es la única materia colorante que se puede extraer de la sangre. La *hematina* ó *hematosina* ha sido considerada hace mucho tiempo como la materia colorante de la sangre, debido á que los primeros experimentadores trataban la sangre por los agentes destructores de la hemoglobina.

La hematina, como queda dicho anteriormente, es un producto de descomposición de la oxihemoglobina; pero según Hoppe-Seyler, la presencia del oxígeno, es una condición necesaria para la formación de este producto. Es una sustancia amorfa, de un negro azulado, con reflejos metálicos, que frotada sobre la porcelana, deja una ligera mancha morena. No se descompone por el calor, se carboniza, sin embargo, arriba de 180°, desprendiendo ácido prúsico.

La hematina es insoluble en el agua, en el alcohol, en el éter, cloriformo y el agua acidulada; se disuelve por el contrario, fácilmente, en las soluciones acuosas, aún muy diluídas de amoniaco ó de álcalis, así como en los ácidos en solución alcohólica. Los ácidos concentrados destruyen la hematina. El ácido sulfúrico, la transforma en *hematoporfirina*, quitándole su hierro.

Entre la hemoglobina y la hematina hay que considerar la *methemoglobina*, descubierta por Hoppe-Seyler. Es una sustancia amorfa, soluble en el agua, insoluble en el alcohol, encerrando más oxígeno que la hemoglobina reducida, y menos que la oxihemoglobina, con este carácter particular, que no pierde este gas en el vacío. Se descompone fácilmente en materia albuminoide y en hematina, bajo la influencia de los ácidos y de los álcalis. Los agentes reductores la convierten en hemoglobina reducida. Según Hoppe-Seyler, la methemoglobina se encuentra en el líquido de ciertos quistes, en la sangre extravasada después de algún tiempo, y en la sangre de los que han inhalado vapores de nitrito de amila. En el momento de la muerte se puede encontrar la methemoglobina en la economía.

*Hemina*.—La *hemina* ó *clorhidrato de hematina* se obtiene, tratando la sangre desecada por el cloruro de sodio y ácido acético cristalizable. Este cuerpo se presenta bajo la forma de cristales que no se asemejan en nada á los cristales de hemoglobina, llamados también cristales de la sangre. Son laminitas romboidales de un moreno subido, insolubles en el agua y ácido acético frío, y apenas solubles en el alcohol y en el éter. Cazeneuve ha llegado á obtener cristales de hematina, poniendo simplemente en contacto la hematina y el ácido clorhídrico.

*Hematoidina*.—Este derivado de la hematina se produce espontáneamente en la economía, sobre todo, en los antiguos focos hemorrágicos (cerebro, ovario), y en general, en todos los derrames sanguíneos. Se les encuentra al estado de cristales microscópicos, teniendo la forma de pequeños prismas clinorrómbicos, de un rojo anaranjado vivo, con los ángulos de  $180^\circ$  y de  $62^\circ$  (Wurtz).

La hematina carece de hierro (Robín, Richet) y su fórmula es vecina de la bilirubina (Gautier).

### Propiedades espectrales de la hemoglobina y sus derivados. <sup>1</sup>

*Hemoglobina oxigenada*.—Las soluciones de hemoglobina oxigenada ó de sangre defibrinada, dan un espectro de absorción caracterizado por la presencia de las bandas oscuras entre los rayos D y E de Fraunhofer.

<sup>1</sup> Fumouze. Los espectros de absorción de la sangre. Tesis.—1870.—París.

La más estrecha y la más intensa, está situada cerca de D, y la segunda, más ancha, pero menos intensa, está muy aproximada de la raya E. Estas bandas son aún visibles sobre los espectros obtenidos en las soluciones, no conteniendo sino un diezmilésimo de su peso de hemoglobina (Hoppe-Seyler).

La parte roja del espectro aparece primero, los rayos violetas aparecen al último; en las soluciones muy diluídas la región violeta del espectro queda aún ligeramento obscurecida.

La sangre no defibrinada, la sangre defibrinada diluída ó no de agua, las soluciones de hemoglobina ó los cristales de esta sustancia, la sangre desecada en capa delgada, la sangre observada al través de las membranas transparentes de los animales vivos, dan el espectro de la oxihemoglobina.

*Hemoglobina reducida.*—Bajo la influencia de los agentes reductores, tales como las soluciones amoniacales, de ácido tártrico y de sulfato de protóxido de fierro, de ácido tártrico y de protocloruro de estaño, el sulfhidrato de amoniaco, etc., la oxihemoglobina pierde su oxígeno y pasa al estado de hemoglobina reducida, transformación que se acusa ya por un cambio de color. Las soluciones de hemoglobina reducida tienen en efecto una coloración de sangre venosa y son dieromáticas.

El espectro de absorción de esta sustancia, no presenta más que una sóla banda oscura cubriendo una parte del espacio D E, y desbordando un poco á la izquierda de la raya D de Fraunhofer. El espectro de la hemoglobina reducida, se distingue, además del de la hemoglobina oxigenada, por una absorción menor de rayos azules y violetas, y una absorción muy intensa de los rayos rojos. Por la agitación al contacto del aire la hemoglobina reducida absorbe de nuevo el oxígeno, y el espectro de la hemoglobina oxigenada reemplaza al de la hemoglobina reducida (Stokes).

La sangre venosa presenta un espectro intermediario á los dos anteriores. Se ven las dos bandas oscuras de la hemoglobina oxigenada separadas por un intervalo obscurecido, y la región correspondiente á las radiaciones rojas, igualmente obscurecida de B á C. Estas apariencias son debidas á la presencia en la sangre venosa de la hemoglobina imperfectamente reducida.

*Hemoglobina oxicarbonada.*—Es á Cl. Bernard á quien se debe el saber que, el espectro de la sangre oxicarbonada difiere del de la sangre oxigenada. Las dos bandas de absorción están situadas entre D y E, pero son menos distantes la una de la otra, y son más aproximadas de E que las

bandas de absorción de la oxihemoglobina. La acción de los agentes reductores es poco sensible sobre la sangre oxicarbonada y las soluciones de hemoglobina oxicarbonada, las dos bandas oscuras persisten.

*Hematina.*—El espectro dado por las soluciones de hematina difiere un poco, según que sean ácidas ó alcalinas. Así por ejemplo, la hematina ácida presenta una fuerte banda de absorción bien limitada entre C y D, más cerca de C, y una banda muy ancha un poco difusa entre D y E. La hematina alcalina, por el contrario, presenta una ancha banda entre C y D y que pasa un poco D.

Stokes ha sido el primero en observar que, bajo la influencia de los agentes reductores el espectro de la hematina era modificado: presenta, en efecto, dos bandas oscuras, una fuerte entre D y E, la otra más ligera entre E y B. Así, él llama *hematina reducida*, el cuerpo que presenta estas propiedades espectrales.

---

## SEGUNDA PARTE.

---

### CAPÍTULO I.

#### Métodos de dosificación de la hemoglobina.

La hemoglobina conteniendo todo el fierro de la sangre y desempeñando un papel fisiológico especial, es ella la que constituye exclusivamente la *riqueza de la sangre*. Por lo mismo, desde hace mucho tiempo no se ha cesado de buscar, perfeccionar y simplificar los procedimientos de dosificación de la hemoglobina. Muchos son en efecto los que se han usado y aún se usan, sobre todo en los laboratorios, de los cuales señalaré sólo algunos para abordar después el estudio de los procedimientos clínicos, y muy particularmente el método hematoespectroscópico del Dr. Henocque, objeto principal de este trabajo.

#### Procedimientos de Laboratorio.

##### MÉTODOS QUÍMICOS.

1º El procedimiento de dosificación por el fierro ha sido el primero que se empleó desde hace muchos años, y se debe á Hoppe-Seyler y á C. Schmidt.