CLINICA INTERNA.

**Memoria presentada á la Academia Nacional de Medicina por el Dr.
E. del Raso para optar á la plaza de Química Médica.**

MEDIOS DE INVESTIGACIÓN DE LA SANGRE EN LOS PRODUCTOS DEL ORGANISMO.

Los numerosos medios propuestos para la investigación de la sangre en los productos del organismo, como la orina, el pus, las materias vomitadas, las materias fecales, etc., etc., se basan en los distintos caracteres histológicos, físicos, químicos; á saber: el color, la presencia de los elementos figurados de la sangre, las propiedades espectroscópicas de la hemoglobina y sus derivados, las propiedades de cristalizar en formas especiales que tiene el pigmento sanguíneo y, por último, en la aplicación de ciertas reacciones especiales, en cierto modo empíricas, que la experiencia ha sancionado.

Pasar una revista de los procedimientos más recomendados para dicha investigación, y señalar las ventajas que en su favor tienen, y las deficiencias de que adolecen, es el objeto de la presente memoria.

COLOR DEL PRODUCTO.—El color puede ser signo valioso para *suponer* la existencia de la sangre. Puede variar del rojo escarlata al negro, y la intensidad del tinte será dependiente de la mayor ó menor abundancia del pigmento sanguíneo. Cuando la sangre existe en abundancia y no ha sido alterada por los líquidos del organismo, presenta el producto el color rojo vivo. Así se observa en las hematurias abundantes, en las hematemesis de la úlcera redonda, en las hemoptisis de la tuberculosis pulmonar, en las heces de la disentería ó de la tifoidea, etc., etc. En casos semejantes suele ser bastante el aspecto y el color de esos productos para afirmar la existencia de la sangre; y á mayor abundamiento, los glóbulos rojos se conservan generalmente intactos y pueden identificarse con gran facilidad.

Quando la sangre ha permanecido en contacto con líquidos del organismo capaces de alterarla, el color propio de ella cambia debido á la transformación de la hemoglobina en otros pigmentos derivados de ella: la methemoglobina y la hematina. En estos casos, además, los glóbulos rojos se encuentran muchas veces destruidos; casi siempre alterados de tal modo, que su identificación es muy difícil, cuando no imposible. El color del producto varía desde el amarillo, como en los esputos herrumbrosos de la neumonía, hasta el negro, como en la sangre digerida del cáncer del estómago.

Otras veces sucede que aun existiendo la sangre en un producto, ésta no manifiesta su presencia por su color propio; ya sea porque esté en muy pequeña cantidad, ó porque esté "oclusa" (véase adelante); de todo lo cual se deduce que el signo del color sólo tiene interés en los casos de presencia de sangre en cierta abundancia é intacta.

Por otra parte, el color rojo ó negro en un producto no indica siempre á la sangre. Orinas hay, por ejemplo, bien rojas por la existencia de fuertes cantidades de urobilina, ó por la presencia de ciertos cuerpos eliminados posteriormente á la ingestión de ciertas sustancias medicinales; y es común encontrar en las materias fecales sulfuro de bismuto negro á consecuencia de la administración del sub-nitrato de esa base.

GARACTERES HISTOLOGIGOS.—La presencia de los glóbulos rojos en un producto es, por definición, prueba inequívoca de la existencia de la sangre. Los caracteres propios de estos cuerpos son bien conocidos para que entre en su descripción detallada; mas como es posible, por un examen superficial, confundirlos con los leucocitos, sobre todo si se tiene en cuenta que á menudo los primeros están alterados y han cambiado de color, de forma y de dimensiones, no está por demás anotar las principales diferencias que presentan entre sí, las cuales aparecen en el cuadro que sigue.

Ya se comprende que en muchos casos los glóbulos rojos, si han conservado su aspecto normal, á primera vista podrán ser identificados; pero en muchos otros, será necesario estudio más completo para conseguirlo.

Caracteres principales que ordinariamente presentan los glóbulos rojos y los blancos, y que los diferencian.

ROJOS.

Dimensiones variables según el poder isotónico de los productos que los contienen, pero generalmente menos voluminosos que los leucocitos.

Formas de discos bi-cóncavos. A veces globulosos por alteración.

Color amarillento. Con frecuencia desteñidos por *extravasación* de la hemoglobina. (Orinas).

Contenido homogéneo. No granuloso.

Sin núcleo. Excepcionalmente lo tienen. (Procesos patológicos de la sangre).

Eosinófilos.

El ácido acético muy diluído los hace desaparecer.

El examen debe practicarse siempre sobre preparaciones frescas, tomando una pequeña porción del producto y colocándola en un porta-objetos. No siempre es conveniente usar cubre-objetos, pues cuando el producto es líquido y los glóbulos rojos escasos, éstos al ser comprimidos por la laminilla, escapan del campo del microscopio.

Ordinariamente el examen de la preparación fresca basta. En caso de duda, se procederá á hacer una preparación seca colorida, empleando la técnica siguiente de Laverán. (1) Se hace un frotis sobre una laminilla; se fija con alcohol absoluto por veinte minutos y se tiñe con la solución siguiente,

BLANCOS.

Ordinariamente más voluminosos que los glóbulos rojos.

Formas globulosas. Frecuentemente irregulares por movimientos amiboides.

Color blanco.

Contenido granuloso.

Mono ó polimorfo-nucleados.

Generalmente neutrófilos. A veces eosinófilos.

Resisten á la acción del ácido acético muy diluído.

(1) Esta técnica fué propuesta por su autor para la investigación de los hematozoarios.

hecha extemporáneamente: Agua, 10 cent. cúb. Solución acuosa al milésimo de eosina, 1 cent. cúb. Solución acuosa al milésimo de azur², 1 cent. cúb.

Se deja por media hora, se lava rápidamente, se trata por una solución acuosa de tanino; se lava de nuevo, se seca y se monta en bálsamo de Canadá, examinando en seguida la preparación al microscopio con un aumento de tres á cuatrocientos diámetros, (1) que es bastante para observar los glóbulos rojos intensamente teñidos en rosa ó rojo, destacándose perfectamente de los leucocitos que se coloran, según las afinidades de sus respectivas granulaciones, en azul ó violeta, y sus núcleos muy aparentes. Es de recomendarse poner la laminilla hacia abajo, de manera que la película del producto sea bañada, pero sólo tocando á la superficie del líquido colorante. De este modo se evitan los precipitados de color sobre las preparaciones y se obtienen éstas muy limpias.

Enteramente demostrativa la presencia de los glóbulos rojos, no es decisiva su ausencia, ya porque pueden haber sido destruidos por proceso biológico (hemoglobinuria), ó sea porque la destrucción de dichos elementos haya ocurrido por virtud de líquidos no isotónicos, los cuales pueden existir normalmente (ácido clorhídrico del contenido estomacal), ó anormalmente (amoníaco por la fermentación de la urea en la vejiga ó fuera de ella) en la orina.

CARACTERES ESPECTROSCOPICOS.—La sangre, por virtud de los pigmentos que contiene, está dotada de la propiedad de absorber ciertos rayos del espectro. Estos pigmentos son dos: la oxihemoglobina y la hemoglobina, y cada uno de éstos tiene un espectro especial, pudiendo pasarse del uno al otro de ellos por reducción ú oxidación, y en consecuencia producir á voluntad ambos espectros. Así, pues, si se observa el de la oxihemoglobina, puede obtenerse el de la hemoglobina, sometiendo la sangre á la acción del vacío ó tratándola por el sulfuro de amonio. Recíprocamente, agitando una solución de hemoglobina al contacto del aire ó en una atmósfera de oxígeno, se obtendrá el espectro de la oxihemoglobina.

(1) Generalmente basta ese aumento. Puede usarse uno mayor y el objetivo de inmersión.

Para poder afirmar la presencia de la sangre, es necesario ver el espectro de la oxihemoglobina (dos bandas de absorción entre D. y E.) y convertir en seguida este espectro en el de la hemoglobina reducida (desaparición de estas bandas y aparición de la banda de Stockes).

No es común que puedan ser verificados estos espectros en los productos del organismo, salvo el caso de integridad de la sangre, y que ésta se encuentre en cierta abundancia. Aun en orinas conteniendo sangre en cantidad relativamente fuerte, el pigmento hemático fundamental, generalmente ha sido transformado en methemoglobina, que no es tan perfectamente identificable por sus caracteres espectroscópicos como la hemoglobina.

Aun en el caso de que la hemoglobina se haya conservado, hay que tener presente que dicho pigmento se encuentra *englobado* en las hematies, lo cual no favorece la ostentación de su espectro.

La sangre, además, puede estar oclusa (oclus), y en este estado el pigmento sanguíneo oculta su espectro. La prueba es fácil de obtener según Barral. "Se llena una vasija de 300 cent. cúb. con orina, y se agrega sangre laqueada (disuelta) hasta la aparición de un intenso espectro de oxihemoglobina, comprobándose que el color de la orina ha permanecido normal sin que pueda sospecharse la presencia de la sangre. Después de un tiempo variable, á menudo una hora, las bandas de la oxihemoglobina desaparecen; la sangre está oclusa (oclus). Agregando de nuevo sangre laqueada hasta producir el espectro característico, se observa después de algún tiempo el mismo fenómeno de oclusión."

Esta experiencia demuestra principalmente dos puntos: Primero, la poca sensibilidad del color como signo de la presencia de la sangre en un producto. Segundo, que un producto que indudablemente contiene sangre, puede no dar el espectro de la hemoglobina.

Más difícil es todavía el caso cuando el pigmento sanguíneo se encuentra en el estado de hematina (como ocurre generalmente en los vómitos y en las materias fecales), pues ésta es insoluble, y su espectro, además de que no es tan característico

como el del pigmento que lo ha originado, sólo es susceptible de ser obtenido después de manipulaciones delicadas.

Hay alguna otra dificultad que no permite tener absoluta confianza en el procedimiento. El espectro de la oxihemoglobina varía según el grado de concentración de la sangre, y siendo el característico el producido por una solución al dos por mil en un espesor de un centímetro, numerosas ocasiones habrá que diluir el producto más ó menos; es decir, proceder por tanteos que no siempre darán el resultado apetecido. En efecto, cuando se examina una solución concentrada de oxihemoglobina, ó en un gran espesor, se observa que, con excepción de algunos rayos rojos y naranjados, todo el espectro está oscuro. En solución un poco menos concentrada, ó en menor espesor, se ven además de los rayos rojos y naranjados los azules, y una ancha banda oscura que ocupa el resto del espectro. Diluyendo aún más, hasta obtener la concentración conveniente, se obtendrá el espectro característico; es decir, las dos bandas de absorción correspondientes á las D. y E. de Fraunhofer.

FORMAS CRISTALINAS DE LOS PIGMENTOS SANGUINEOS.—La hemoglobina y la mayor parte de sus derivados tienen la propiedad de cristalizar en determinadas condiciones, afectando formas especiales, en cierto modo características, que pueden servir para identificar dichos cuerpos. Mas como no siempre es factible el obtener las formas cristalinas de algunos de ellos, ya por la dificultad de cristalizar de unos, como la oxihemoglobina, ya debido á la pronta y fácil alteración de ellos, se prefiere como signo diagnóstico de la sangre, la investigación de los cristales de clorhidrato de hematina ó hemina, también denominados cristales de Teichman; primero, por la seguridad que hay de poder obtenerlos con cualquier producto que contenga sangre, aun alterada; segundo, por la gran sensibilidad del procedimiento; tercero, porque es bastante para obtenerlos una pequeñísima parte de substancia; cuarto, debido á la sencillez de la manipulación; y por último, en atención á lo característico de los referidos cristales.

Para obtener los cristales de hemina se pondrá una gota del producto, si es líquido, ó una pequeña porción, si es sólido, en el centro de un cristal porta-objetos; se calienta con precaución para desecar en la flama de una lámpara de alcohol; se agrega

una gota de solución muy diluída de cloruro de sodio (al uno por ciento), calentando en seguida de nuevo con precaución; se cubre en el lugar que ocupa el producto, con una laminilla cubre-objetos, y se pone sobre el borde de ésta una gota de ácido acético cristalizante, que por capilaridad penetra al espacio comprendido entre los dos cristales. Se calienta sobre la lámpara, teniendo cuidado de evitar la ebullición del ácido, y de renovar éste á medida que se evapora. Después de haber volatilizado de este modo 3 ó 4 gotas del ácido, se deja enfriar y se examina la preparación al microscopio con un fuerte aumento, insistiendo especialmente en los bordes de la laminilla, que es el lugar en donde ordinariamente se acumulan los cristales, que son morenos y monoclinicos, cortos y gruesos, ó largos y delgados, fusiformes ó en forma de agujas, y que se agrupan formando cruces ó rosetas. Estos cristales por su forma, por su color y por su agrupamiento, son tan característicos que no pueden ser confundidos con ningunos otros. Mejor que atenerse á su descripción es el observarlos, pues una vez vistos se reconocerán siempre.

Para el buen éxito de la operación se recomienda no calentar demasiado (mas de 45 grados) para evitar la coagulación de las albúminas; no agregar un exceso de cloruro de sodio; no agregar el ácido acético sino hasta la total eliminación del agua.

Aun cuando la reacción es muy sensible, es conveniente cuando la sangre existe en muy pequeña cantidad y con más razón si está disuelta, precipitar el pigmento, que puede encontrarse en el estado de hemoglobina ó en el de methemoglobina, por uno de los numerosos medios aconsejados: coagulación por el calor en medio ácido; precipitación por el ácido picrocátrico; por el tanino ó por el aceto-tungstato de sodio.

DIVERSAS REACCIONES han sido aconsejadas para el objeto de investigar la presencia de la sangre, además de las ya estudiadas. Las principales son las siguientes:

Reacción de Van Deen.—Se agrega al producto por analizar algunas gotas de tintura de guayacán reciente y algunas gotas de esencia de trementina ozonizada, obteniéndose, cuando hay sangre, una coloración azul. Esta reacción, que se aplica especialmente cuando se trata de orinas, tiene varios inconvenientes, por los cuales no es de recomendarse. El primero es el de lo

limitado de los casos en que puede utilizarse. El segundo es el de su poca sensibilidad. El tercero, y es el de mayor importancia, depende de que no es característico de la sangre, pues otras no pocas substancias dan la misma reacción de la sangre; v. g. la leche, el pus, el sudor, la saliva, algunas orinas, los sulfocianatos, los oxidantes, los óxidos. Un último inconveniente es el de que en ciertas condiciones la sangre puede no dar la reacción.

Reacción de Schoerer.—Si á una solución de materia colorante de la sangre se agrega una solución concentrada de hidrato de cloral (al 70%) y después una solución débil y reciente de clorhidrato de aloina y en seguida agua oxigenada, se producirá una coloración violeta que pasa después al rojo. Esta reacción, además de que es poco sensible, falla algunas ocasiones. No es de recomendarse.

Reacción de la benzidina.—Una solución reciente de benzidina en presencia de una ó dos gotas de agua oxigenada, da con la hemoglobina una coloración verde ó azul. Tiene los inconvenientes siguientes: No es característica de la hemoglobina, pues la coloración azul puede ser producida también por los óxidos, por las sales ferrosas y el pus. (O. y R. Adler). En cambio tiene la ventaja de ser de gran sensibilidad, al decir de los mismos.

Como no puede practicarse sino en productos que contengan hemoglobina en solución, sus aplicaciones son limitadas.

Weinberger (de Rastadt) aprovecha esta reacción, y modificando el procedimiento, la recomienda para la busca de la sangre en las materias fecales.

Reacción de Weber modificada por Bécue.—No es sino una modificación del de Van Deen ya descrito, el procedimiento propuesto por estos autores para la investigación de la sangre en las materias fecales: "Un fragmento del espesor de una almendra es extraído del centro de la masa fecal y triturado con ácido acético glacial. Se agregan algunos centímetros cúbicos de éter sulfúrico que se mezcla bien con las materias. Después de un corto reposo, el éter que sobrenada es decantado, y este extracto es adicionado de tintura de resina de guayacán reciente, y por algunas gotas de agua oxigenada. La reacción positiva es indicada por la aparición, al cabo de algunos instantes, de un

color azulado que invade por agitación todo el líquido examinado.”

Reacción de Albarrán y Heitz-Boyer.—La transcribo textualmente por su importancia. “El reactivo se prepara de la manera siguiente: Se calienta hasta ebullición en un matraz una mezcla de 2.00 gramos de ftaleina del fenol y 20.00 gramos de potasa cáustica disueltos en 100.00 gramos de agua destilada, y se agregan 10.00 gramos de polvo de zinc impalpable. La mezcla, que al principio de la reacción es roja, se decolora progresivamente, y una vez que la decoloración es completa, se filtra el líquido hirviendo. La ebullición deberá ser breve (cuatro ó cinco minutos en general, durante los cuales se agitará siempre el contenido del matraz), y así que el líquido se decolora, se procederá inmediatamente á la filtración.

El reactivo de esta suerte preparado se conserva por espacio de muchos meses, á condición de que esto se haga en un frasco bien tapado.

El procedimiento de investigación es en extremo sencillo. Se vierte en un tubo de ensayo dos centímetros cúbicos en la orina (el procedimiento ha sido recomendado para este producto) que ha de experimentarse y un centímetro cúbico de reactivo y se agita para mezclar bien ambos líquidos. Después se añaden de tres á cuatro gotas de agua oxigenada ordinaria á doce volúmenes. Cuando la reacción se produce, el líquido adquiere una *coloración de rojo fuchina*, más ó menos intenso según la cantidad de sangre contenida en la orina.”

“Esta reacción, añaden los autores, es muy precisa, muy franca y muy sensible, y nuestras investigaciones nos permiten afirmar que se comprueba siempre que la sangre se encuentra en la orina en la proporción de uno por 100,000. No solamente hemos podido producir la reacción con orinas perfectamente amarillas y límpidas, de apariencia normal, sino que la hemos también comprobado aun en aquellos casos en que el microscopio no permitía reconocer en la orina centrifugada, sino algunos, muy pocos glóbulos rojos.”

“La reacción de que hablamos es *específica de la sangre* ó de la hemoglobina. Obsérvase lo mismo en las orinas ácidas (la sensibilidad disminuye con una acidez fuerte) que en las alcalinas, y aun en las orinas purulentas amoniacaes conservadas

por mucho tiempo sin ninguna precaución antiséptica. Demuéstrase, por otra parte, la especificidad de la reacción por el hecho de que ésta no se produce en la orina cuando únicamente contiene albúmina, pues, azúcar, pigmentos biliares ó sustancias agregadas á la orina, tales como el cloroformo ó el timol. Esa especificidad no resulta influenciada por el ácido úrico ó los uratos; ni tampoco se observa en las orinas que contienen acetona ó indican, ni cuando los enfermos han ingerido medicamentos usuales, tales como yoduros, bromuros, ácido salicílico, morfina, fenacetina, urotropina, etc.”

He tenido especial empeño en comprobar si las afirmaciones que hacen los autores que recomiendan esta reacción son conforme ellos lo aseguran, y con satisfacción declaro que en todos los casos en que la he puesto en práctica, los resultados han sido completamente satisfactorios.

Con la mira de cerciorarme del grado de sensibilidad de la reacción, hice diluciones de sangre pura en agua destilada, y observé que acusa cantidades pequeñísimas de aquella; al grado de que no hay ningún otro signo de la presencia de la sangre, puesto que el color de la mezcla no se diferencia del de la agua pura, y que el examen microscópico, como era de esperarse, no revela la existencia de glóbulos rojos.

En unas materias vomitadas que examiné (de reacción alcalina), ninguno de los procedimientos que puse en práctica para la investigación de la sangre dió resultado positivo, con excepción del de los cristales de hemina y el de Albarrán.

La reacción de que me estoy ocupando ha sido propuesta por sus autores sólo para los casos de investigación de sangre en las orinas, y hacen la salvedad de que cuando la reacción al tornasol de éstas es muy ácida, la sensibilidad de la reacción disminuye. Esto, que es muy cierto, puede evitarse neutralizando previamente la orina por medio del carbonato de sodio, y agregando en seguida algunas gotas de ácido acético diluído hasta producir una reacción al tornasol, ligeramente ácida, logrado lo cual, puede con toda confianza ejecutarse la reacción, sin ningún inconveniente.

Las aplicaciones del procedimiento, pueden ampliarse á la busca de la sangre en otros productos á más de las orinas, como lo demuestra el caso del producto vomitado que examiné. La

sola condición que se requiere es la de la integridad de la hemoglobina, lo cual, es preciso decirlo, restringe bastante el campo de acción de tan eficaz procedimiento.

Estoy en vías de lograr, mediante alguna pequeña modificación, que en los casos numerosos en que la sangre se encuentra alterada, y el pigmento en el estado de hematina, la reacción pueda ser ejecutada con éxito, lo que hará más útil aún el procedimiento.

Por lo expuesto se funda, que salvo los casos especiales para los que ha sido propuesta la reacción de Albarrán, y en los cuales presta importantísimos servicios por su sensibilidad, precisión y facilidad, el método general que debe seguirse para la investigación de la sangre en los diversos productos del organismo debe ser el siguiente:

Primero. Busca de los glóbulos rojos.

Segundo. Comprobar los espectros característicos de la oxihemoglobina y de la hemoglobina.

Tercero. Formación de los cristales de Teichmann.

Estos procedimientos, conocidos desde mucho tiempo ha, conservan, pues, toda su importancia, la cual no ha sido igualada hasta hoy por la de los numerosos modernos tan entusiastamente recomendados.

México, Noviembre de 1909.

E. DEL RASO.