

MONOGRAFIA

HEMOMETRÍA Y ESPECTROSCOPÍA

Ambos estudios prestan tanto a la clínica como a la medicina legal un gran contingente para el diagnóstico en la primera y una fuente valiosa para la solución de casos sospechosos.

HEMOMETRÍA

Se ha ideado cantidad de métodos destinados a resolver tan importante cuestión como es la del diagnóstico por medio de la sangre. Los procedimientos usados en la clínica, indican tan solo en la mayor parte de los casos, la cantidad relativa de hemoglobina; pero a pesar de ello estos valores tienen gran interés clínico toda vez que se conoce la cantidad en estado normal, o sea de 13 a 14 grm. por ciento, y sabiendo que la hemoglobina tiene un 0.5|00 aproximadamente de hierro, da también su cálculo el porcentaje de este contenido de la sangre en una forma directa. Antes se creía que la hemoglobina se encontraba en una proporción constante en los sujetos, pero hoy se ha demostrado su variabilidad dentro de un límite dado, dependiendo su porcentaje normal de la edad de los sujetos. Jeichtensteen encontró las siguientes cantidades de hemoglobina en cien centímetros de sangre en las diversas edades de la vida:

36 horas --	19.529 grms.	10 semanas	14.295	6 a 10 años	11.769 grs.
2 días --	21.160 »	12 »	13.828	11 a 15 »	11.769 »
3 »	20.451 »	14 »	14.588	16 a 20 »	11.701 »
4 »	19.488 »	20 »	12.928	21 a 25 »	15.054 »
8 »	17.869 »	1/2 año a 1	11.575	26 a 30 »	15.870 »
10 »	17.121 »	1 año	11.151	31 a 35 »	14.727 »
14 »	16.121 »	5 »	10.971	36 a 40 »	15.013 »
3 semanas	15.025 »	4 »	11.341	41 a 45 »	44.685 »
4 »	15.562 »	5 »	11.151	46 a 50 »	14.420 »
				51 a 55 »	12.696 »
				56 a 60 »	15.150 »
				más de 60 años	14.790 »

Cuando la disminución de la hemoglobina es sumamente grande, podemos darnos cuenta de ello o puede servirnos de orientación con solo hacer un examen de la sangre obtenida por un pinchazo del pulpejo de un dedo (la clorosis muy acentuada y en las anemias perniciosas se traducen por una coloración clara transparente de la sangre). Pero para la determinación de la cantidad de hemoglobina en casos que su porcentaje de disminución no sea tan grande—el examen macroscópicamente sería imposible—y para zanjar esas dificultades es que se han construido aparatos adecuados con los cuales, usando una sencilla técnica, se hace factible su medición. Tales como el Hemoglobinómetro de Sowers, el hemómetro de Fleisch perfeccionado por Miescher, el hemómetro de cuña de Grutzner, el hemotoscopio de Henocque, el hemómetro de Sahdi y los procedimientos que podríamos llamar ópticos, de Hayen, Malassej y Talquist y por último cítase la obtención de cristales de hemoglobina que sirve para diferenciar la sangre de distintos animales, pues ella lo hace en formas desiguales, lo que por sí dice de su importancia grande en casos dudosos, en medicina legal, donde con unas gotas de sangre se hace posible afirmar si se trata de sangre humana o no.

Hemoglobinómetro de Sowers — Este instrumento consta ante todo de dos tubos de cristal perfectamente calibrados de

unos 11 centímetros de largo y 0.8 de grosor o diámetro; uno de ellos contiene dos centímetros cúbicos de solución tipo, cuyo valor corresponde lo más exactamente posible al de una solución de sangre normal al 1 por 100. El otro tubo está cerrado únicamente por uno de sus extremos y se halla provisto de una graduación tal que a la altura a que corresponde 2 centímetros cúbicos de líquido se ha inscripto la cifra 100. Si los tubos están bien calibrados esta altura corresponde exactamente a la altura ocupada por la solución coloreada del otro tubo. El espacio situado debajo de la cifra 100 se ha dividido en 100 partes iguales de 10 en 10 cifras; cada división, pues, debe limitar 20 milímetros cúbicos. Estos dos tubos pueden mantenerse en posición vertical introduciéndolos en una plancha adecuada provista de varios agujeros. El instrumento consta además de una pipeta capilar de una capacidad de 20 milímetros cúbicos, la cual sirve para medir la sangre, llevando además para facilitar la entrada y salida de la sangre una pequeña púa de goma; su extremidad es algo más estrecha para que el líquido salga a gotas. Extraída la sangre del pulpejo de un dedo, previa desinfección, por medio de la pipeta se toma 20 milímetros que se vierte en uno de los tubos, donde se ha colocado una cantidad dada de agua. Soplando y aspirando se hace que la sangre se mezcle bien en el agua. Luego se compara el contenido de este tubo con el que tiene la solución coloreada y se le va agregando agua hasta que tenga la misma coloración que el tubo indicador, obtenido esta se verá en el tubo la graduación que corresponde y ella indicará la cantidad de hemoglobina. Este aparato a pesar del error de un 5 al 10 por 100 suponiendo que la solución tipo conocido exactamente con el de la sangre, era bastante usado en clínica, pero hoy ha sido reemplazado por el hemómetro de Sahli, con grandes ventajas, aparato que luego describiremos.

Hemómetro de Fleischel-Miescher—Este aparato consta de una platina semejante a la de los microscopios de disección; se coloca en el orificio central que la misma posee una cámara di-

vidida en dos mitades por un tabique vertical; el fondo de esta cámara está formado por un cristal de caras paralelas. Una de sus mitades se llena con una solución determinada de la sangre que se va a examinar y la otra mitad con agua. Debajo de la mitad llena de agua se hace deslizar por medio de una cremallera y en la misma dirección que el tabique de separación una cuña de cristal teñida con púrpura de oro. La cuña de cristal y la cámara reciben la iluminación por debajo, por medio de una placa blanca de yeso que refleja la luz de una lámpara de petróleo; las dos mitades de la cámara separadas por el tabique se examinan por transparencia y pueden compararse así sus colores. Cuando el color de la mitad de la cámara que tiene la solución de sangre coincide con la de la cuña que está teñida de mayor a menor intensidad, se lee en la tabla la intensidad que corresponde que dará la proporción de hemoglobina contenida en la sangre. La escala está graduada en una forma tal que la proporción de aquella sustancia contenida en la sangre normal está representada por la cifra 100. El aparato va acompañado de un cuadro por medio del cual puede calcularse el número de gramos de hemoglobina contenidos en 100 centímetros cúbicos de sangre.

La solución de sangre a examinarse se prepara en una dilución de 1 : 200 con una disolución de carbonato sódico puro agua 1000, carbonato sódico 1. Este aparato, como el de Sahli, los hemos usado en el laboratorio con excelentes resultados.

Hemómetro de cuña de Grutzner—Este aparato lo mismo que el anteriormente descrito se funda en el principio de las cuñas. La disolución de sangre se introduce en una vasija en forma de cuña colocada con el canto hacia abajo y la parte ancha o base hacia arriba y cuya pared posterior es de cristal blanco y la anterior de cristal transparente. Claro está que en cada altura distinta de la cuña la solución de sangre presenta un matiz diferente debido al espesor variable a la capa de solución, al lado de la cuña está colocada, paralelamente a ella y en la misma dirección longitudinal, una delgada placa de gelatina te-

ñida con una solución de picrocarmín. Por delante de la cuña y de esta placa se desliza de arriba hacia abajo, un diafragma con tres hendiduras de 1 milímetro de ancho situadas paralelamente o sea horizontalmente, al borde de la cuña y de la placa de gelatina. Se mueve este diafragma hasta que por transparencia se dé con un punto en que a través de la hendidura central, la coloración de la sangre de la cuña coincida con la de la placa de gelatina. Por medio de una tabla o escala fijada al mismo aparato se puede entonces leer la cantidad de hemoglobina por ciento.

Hemómetro de Sahli—Como anteriormente dije, este aparato es una modificación del hemoglobinómetro de Sowers. Consiste de una pequeña plancha que lleva dos tubos de cristal de los cuales uno contiene una disolución de hematina de proporción conocida. Se verifica una punción en el pulpejo de un dedo y se aspira 20 milímetros cúbicos de sangre por medio de una pipeta delgada que acompaña al aparato. Esta sangre se echa en otro pequeño tubo graduado (del cual más arriba hemos hecho referencia) el cual contiene algunas gotas de una solución decimonormal de ácido clorhídrico, para lo que basta soplar por el extremo opuesto de la pipeta.

La hemoglobina de la sangre se transforma en clorhidrato de hematina, sustancia de color oscuro bajo la acción del ácido clorhídrico. Hecho esto, se va echando con cuidado gota a gota agua destilada, después de esperar un minuto, pues muchas veces por no hacerlo, en seguida se cometen errores, hasta tanto que el color de la disolución de la sangre llegue a ser completamente igual al de la solución de hematina, contenida en el tubo indicador. Si la sangre tiene una proporción normal de hemoglobina, la igualdad de coloración se alcanza cuando la cantidad de agua añadida es tal, que la mezcla de ella y de la sangre llega al número 100 de la escala. Si la sangre es más pobre en hemoglobina, la igualdad de las dos coloraciones se obtiene ya en una cantidad más corta, y observando a que división de la escala llega el líquido, podía conocerse la cantidad de hemoglobina de la sangre exami-

nada, relativamente a la proporción normal, ya que ésta está representada en el número 100.

Hemotóscopo de Henocque—Es este uno de los aparatos más sencillos y puede hacerse la evaluación directamente con la sangre sin diluirla; se ha usado bastante en clínica.

Está constituido por un depósito de cristal, cuyas paredes opuestas forman un ángulo de pequeña abertura para apreciar por ligeras diferencias de espesor el punto en que aparece opaca la masa sanguínea entre ellos colocada. En casos de leucocitemia y en los que la sangre contenga muchas materias grasas, este instrumento dará indicaciones muy exactas. Como se ve este aparato se funda en que a una intensidad determinada de coloración de sangre o lo que es igual, a un espesor determinado de una capa delgada de sangre, los rayos de la oxihemoglobina se presentan de la misma anchura. Colocada la sangre en el aparato y llevada al espectroscopio se hace deslizar hasta que aparezcan las líneas de la oxihemoglobina o sea entre las rayas D. E. de Franhofer y entonces se lee en la escala que lleva adjunto el aparato, a que división corresponde y obtendremos el porcentaje de la hemoglobina.

Procedimiento de Hayen—En un vasito de cristal se coloca la sangre, objeto de examen, diluida en determinada proporción de agua y en otro de iguales dimensiones que se coloca contiguo a aquel, se introduce agua destilada. Haciendo pasar por debajo de éste papeles de color rojo sanguíneo de intensidad variable, se busca la igualdad de tono al de sangre diluida y correspondiendo los diferentes papeles a proporciones determinadas de hemoglobina, por comparación se calcula, la contenida en la sangre examinada.

Procedimiento de Malassez—Su base es un colorímetro construido por su autor, el cual denominó hemocromómetro, y cuyo órgano principal es un recipiente movable de vidrio, de caras no paralelas para poder observar diferentes espesores del líquido hemoglobínico en el colocado (sangre diluida al 1 por

100). Se busca el espesor que produzca igual matiz al de una disolución de picrocarmin amoniacal graduada respecto a otro de hemoglobina de concentración conocida; la escala del aparato da el espesor de disolución de hemoglobina observada, y mediante una tabla construida expofeso se convierte el espesor en la proporción de hemoglobina.

Procedimiento de Tolquist—Tolquist ha hecho litografiar una escala de colores que corresponde a los tonos de color de una gota de sangre recogida sobre una hoja de papel de filtro. Según la hemoglobina que contiene, los diversos tonos corresponden a cantidades de hemoglobina de 10 en 10 por 100, menores que la normal (considerando que la cifra normal es de 100). Junto con esta escala de colores se entregan tiras de papel de filtro. Claro está que este procedimiento solo se presta para descubrir diferencias muy considerables de la cantidad de hemoglobina. Se usa cuando no se encuentra a mano cualquiera de los aparatos anteriormente descriptos.

Cristales de Hemina—Quizás este sea uno de los puntos más importantes de la hemometría, pues como anteriormente dijera, por su intermedio se hace factible saber si una sangre es o no humana. En nuestro trabajo practicado en el laboratorio, los hemos observado preparándolos en la forma que más abajo detallaremos.

Estos cristales fueron dados a conocer y descriptos por Teichmam, por lo cual los denominan algunos con este nombre. Son de forma de tabletas romboidales aplanadas con dos de sus ángulos bastante agudos, de color pardo intenso, insolubles en la mayor parte de los reactivos y solubles en los álcalis caústicos. Generalmente se les da el nombre de hemina, pero por su fórmula química es clorhidrato de hematina, que tiene la fórmula: $C^{32}H^{32}FeO^4ClH$.

La técnica seguida en el laboratorio ha sido la siguiente: tomamos una pequeña cantidad de sangre seca y pulverizada (que en un análisis médico legal representaría un trapo, un trozo de

madera, etc.) que se colocó en un vidrio porta-objeto. Se le agrega unas gotas de ácido acético y se calienta hasta que desprendía unos vapores, se le agrega en este momento un cristal de cloruro de sodio, se lleva ligeramente a la flama y se cubre con un vidrio cubre-objeto. Fué calentado ligeramente hasta que por los bordes del vidrio cubre-objeto se desprendieron vapores y luego fueron observados en la forma indicada más arriba.

ESPECTROSCOPIA

La hemoglobina cuya avidez por el oxígeno conocemos y que lleva el nombre de oxihemoglobina en esta combinación, también lo hace con otros cuerpos formando otros compuestos. Cada uno de estos compuestos se comporta ante el espectro, de distinta forma, todo lo cual tiene gran interés para el fisiólogo lo mismo que para el médico. A continuación mencionaremos los que bajo este punto tengan mayor interés y a todos los cuales las hemos experimentado en el laboratorio.

El color de la sangre arterial en estado fisiológico es rojo vivo, lo cual procede de la abundancia de hemoglobina combinada con el oxígeno (oxihemoglobina) que existe en ella. La sangre venosa es más pobre en oxígeno y por lo mismo su color es más oscuro, o más bien rojo azulado. Si se mezcla una cantidad determinada de sangre en un volumen de agua varias veces mayor, y se somete la mezcla al examen pectroscópico, se observa las dos fajas de absorción de la oxihemoglobina en las zonas amarilla y verde del espectro, entre las rayas D y E de Franhofer. Si se añade a la mezcla gota a gota una instancia reductora, como por ejemplo, una solución diluida de sulfuro amónico, desaparecen las dos fajas mencionadas y en vez de ellas se observa una faja única que es debida a la hemoglobina privada de oxígeno o reducida.



En los enfermos intoxicados por el óxido de carbono, la sangre tiene un color cereza claro y examinada con el espectroscopio presenta dos fajas de absorción muy semejantes a las de la oxihemoglobina; pero están algo más aproximada una de otra que las producidas por esta última. Pero la oxicarbohemoglobina es fácil distinguirla, pues las fajas producidas por ella que es en el caso que hablamos no desaparecen aunque se añada, a la sangre la disolución de sulfuro de amonio. En las intoxicaciones producidas por el clorato potásico, por la anilina, por la acetilina y por alguna otras sustancias, la sangre adquiere un color achocolatado y al examinarla con el espectroscopio se ve además de la faja de la oxihemoglobina, otra faja situada en la parte roja del espectro y que es producida por la metahemoglobina. En muchos casos esta última faja no puede ser vista de un modo claro, más que diluyendo antes la sangre con agua en un tubo de ensayo hasta que las dos fajas de la oxihemoglobina estén a punto de desaparecer como dos fajas distintas. La reducción de la sangre producida por la adición de una solución de sulfuro amónico hace desaparecer la faja de la metahemoglobina la cual es sustituida por la de la hemoglobina reducida.

La disolución de metahemoglobina se preparó en el laboratorio agregando a la sangre normal diluida una gota de ferrocianuro de potasio.

Estos casos son los más importantes, pudiéndolos presentar también otros que se portarían en forma característica, tales como el de la hematina en solución ácida, hematina reducida hematoporfirina en solución ácida, hematoporfirina en solución alcalina y el de la urobilina, análisis espectrales, que como indico también se presentan al fisiólogo.

OBRAS CONSULTADAS

Gley—Fisiología.

Hedon—Fisiología.

Luciani—Fisiología.

Heichorst—Manual práctico de medicina.

Koniga—Análisis de orina.

Langlois Varigny—Fisiología.

Claude y Cames—Patología General.

H. E. GAILHAC—G. LEMA—C. VERGARA.
