

## Tesis de Posgrado

# Métodos de laboratorio para el diagnóstico precoz y diferencial del embarazo

Griot, Carlos

1932

Tesis presentada para obtener el grado de Doctor en Química de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en [digital.bl.fcen.uba.ar](http://digital.bl.fcen.uba.ar). Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in [digital.bl.fcen.uba.ar](http://digital.bl.fcen.uba.ar). It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

**Cita tipo APA:**

Griot, Carlos. (1932). Métodos de laboratorio para el diagnóstico precoz y diferencial del embarazo. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.  
[http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis\\_0176\\_Griot.pdf](http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0176_Griot.pdf)

**Cita tipo Chicago:**

Griot, Carlos. "Métodos de laboratorio para el diagnóstico precoz y diferencial del embarazo". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1932.  
[http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis\\_0176\\_Griot.pdf](http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0176_Griot.pdf)

**EXACTAS** UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



**UBA**

Universidad de Buenos Aires

CARLOS GRIOT

.....

MÉTODOS DE LABORATORIO PARA EL DIAGNÓSTICO PRECOZ Y DIFERENCIAL  
DEL EMBARAZO/

(Tesis Doctorado en Química)



176

Buenos Aires, 1932.

*634*



A MIS PADRES

Quienes me brindaron la oportunidad  
de adquirir un caudal intelectual, sin  
preocuparme:

Te será útil. ?

sino, simplemente:

Te agrada. ?

y no me arrepiento de la elección.

-----

Al hombre o le sobra materia o le sobra espíritu, o mejor dicho, o siente hambre de espíritu, esto es, de eternidad, o hambre de materia, resignación a anonadarse. Cuando le sobra espíritu y siente hambre de más de él, lo vierte y derrama fuera, y al derramarlo, se le acrecienta con lo de los demás; y, por el contrario, cuando, avaro de sí mismo, se recoge en sí pensando mejor conservarse, acaba por perderlo todo, y le ocurre lo que al que recibió un solo talento; lo enterró para no perderlo, y se quedó sin él.

Miguel de Unamuno

"El sentimiento trágico de la vida"

-----

Le savant n'étudie pas la nature parce que cela est utile; il l'étudie parce qu'il y prend plaisir et il y prend plaisir parce qu'elle belle.

Henri Poincaré

"Science et méthode"

Bendita ansia de saber!. Infancia permanente.

Inquietud del espíritu, provocada por la curiosidad, y que dá un sentido a la vida.

Como a un niño inquieto, hijo de la tierra y del sol, atraen con fuerza irresistible los misterios vislumbrados detrás de un cerco a través de una brecha, haciendolo sobreponerse a las dificultades y los peligros para complacer su curiosidad, nos hemos visto arrastrados por el deseo de explorar los secretos que encierra el origen del ser. No fué por casualidad que nos aproximamos al terreno reservado a otros con más méritos para escudriñarlo. La oportunidad tentadora nos fué presentada por un amigo, quién guió nuestra vista hacia el tema que hoy se concreta en ésta tesis. El enigma acicateó un espíritu, y le fijó un objetivo.... Y nos internamos con alegre inquietud, aprovechando las rutas ya trazadas, medestamente decididos a comprobar la veracidad de algunos hechos y aportar los nuevos que nuestra vista pudiera descubrir.

Ante la aparente rigidez del plan, podría suponerse, quizá, que nos fué fácil atenernos a los límites que la disciplina del trabajo nos hizo imponernos. Debemos confesar, que, a medida que fuimos profundizando el tema, encontramos mas de una senda tentadora que la imaginación exaltada nos la hacía ver poblada por atraentes misterios. Las hemos señalado en nuestra ruta con la secreta esperanza de volver para satisfacer nuestra curiosidad.

Algunas veces, en el camino, hemos formulado preguntas, que la experiencia posterior nos demostró ser ingenuas; en otras, nos hemos planteado problemas que luego descubrimos estar ya resueltos. No nos avergonzamos al confesarlo; fué la espontánea sinceridad de un alma que busca la verdad que nos impulsaba a hacerlo.

Hemos recogido todo lo que nuestro modesto arsenal nos permitió alcanzar. Algunos obstáculos fué necesario vencerlos a fuerza de perseverancia y con sacrificio del tiempo, por carecer de los elementos indispensables para sortearlos fácilmente. Por el material reunido a ese precio, nos permitimos reclamar, por lo menos, el mérito del fin mismo consumido.

Antes de entrar en materia, debo significar nuestro agradecimiento al profesor Dr. Josué A. Seruti, quien puso a nuestra disposición los elementos de la biblioteca "Aliseo Cantón", y especialmente al Dr. Ventura Orera, infatigable para allanar dificultades, como un verdadero héroe.



Parte I

Antecedentes.-

-----

A raíz de los trabajos fundamentales de Aschheim y Zondek, sobre la presencia de las hormonas características del embarazo en la sangre y en la orina, se trasladó el problema del diagnóstico de la gravidez desde un campo preferentemente clínico-obstétrico al dominio del laboratorio. No quiere esto decir que antes hubiera existido una independencia absoluta, sino que, a pesar de las esperanzas suscitadas por los importantísimos trabajos de Abderhalden, sobre los fermentos defensivos del organismo, la colaboración del laboratorio era de un valor práctico muy relativo, aunque siempre importante, principalmente del punto de vista teórico. En otros términos, diremos que los datos físico, químicos o biológicos de los elementos sometidos al examen podían servir como complementos al informe clínico, pero sin poseer un valor definitivo para establecer un diagnóstico de embarazo.

*Actualmente*  
~~Se~~ ~~en~~ ~~ella~~ se puede diagnosticar casi con ~~absoluta~~ certeza si existe o no dicho estado en la mujer, muy precozmente, con la ~~gran~~ ventaja de evitarle un examen siempre molesto.

Es una de las grandes adquisiciones de estos últimos tiempos, no solamente por su gran valor práctico, sino también por el interesante número de cuestiones a que se encuentra relacionada.

No son despreciables los esfuerzos realizados antes de Aschheim y Zondek en el sentido de aclarar el complicado mecanismo de la procreación. Como es fácil imaginar, las profundas alteraciones que produce en la mujer la presencia en su matriz del huevo fecundado, convertido luego en un nuevo ser que vá tomando forma, atrajo la atención

*del*  
*investigado*

ofreciendo amplias perspectivas al ~~investigador~~, que, con el aporte de nuevos elementos puestos al alcance por el adelanto de las ciencias, ha visto aumentadas constantemente sus posibilidades.

#### Métodos empleados en la antigüedad.-

En la tradición de algunos pueblos se encuentran ya indicios del deseo de caracterizar el estado de embarazo en la mujer, para diferenciarlo de otras alteraciones funcionales con sintomatología semejante.

Aechnein (1) cita un papiro egipcio de unos 3 o 4 mil años de antigüedad, donde, refiriéndose al embarazo, dice: "Cuando una mujer está o cree estar embarazada, debe tomar trigo y cebada con tierra en un recipiente y regarlo diariamente con su orina. Si las semillas sembradas se desarrollan, tendrá un hijo; si no crecen, significa que no está embarazada".

Algo semejante hemos recogido de las tradiciones de nuestro continente sudamericano. Existe entre los pobladores de ciertas provincias, especialmente del norte, de nuestro país, la costumbre de regar los alácigos y las plantas "domésticas" o de adorno con la orina de las mujeres grávidas, porque se obtiene una evolución más rápida, un desarrollo mayor y la floración anticipada y de mejor calidad. Esto, que si bien no se aplica con un criterio diagnóstico, como podríamos llamar al de los egipcios, confirma, por lo menos, el valor de la observación, que actualmente, a la luz de los nuevos conocimientos, adquiere un valor ~~may~~ apreciable y que haremos resaltar debidamente en el lugar correspondiente ~~que le hemos~~ asignado en nuestro trabajo.

Importancia del problema. -

El problema práctico que se ofrecía, hasta hace poco para ser resuelto en la clínica humana, tiene su origen en las mismas ideas que ya en los remotos tiempos preocupaban a los egipcios.

Las manifestaciones sintomáticas del embarazo en la mujer no son siempre de igual intensidad ni son las mismas en todos los casos, además pueden confundirse con las de afecciones relativamente frecuentes de diferente naturaleza, especialmente en las primeras manifestaciones. Los primeros elementos objetivos de juicio más constantes cuando se ha producido la fijación del huevo fecundado en el útero, son más o menos las siguientes: Supresión de la menstruación, sensación de mareos, allorrea, náuseas frecuentes, cefaleas, depresión, etc. De acuerdo con las observaciones de los ginecólogos, parece que la fijación del huevo en el útero de la mujer se realiza 7 a 9 días después de fecundado. Entonces comienza su ataque a la mucosa uterina para buscar elementos nutritivos en la circulación y se inicia una estrecha relación entre el gérmen, convertido en parásito, y la madre, relación que durará hasta el alumbramiento. Las modificaciones funcionales y hormonales provocadas en la madre se manifiestan por los síntomas anunciados. Pero ocurre que hay casos de amenorreas acompañadas por desórdenes generales, afecciones de los órganos genitales y anexos, tumores (fibromas, miomas, etc.), psicopatías, etc. que suelen plantear al médico situaciones difíciles de resolver por la incapacidad de los recursos clínicos para establecer la diferencia con un embarazo verdadero. Es entonces precisamente cuando más interesa establecer un diagnóstico prematuro, que no es posible por el método clínico, para asegurar el éxito de una intervención que con el tiempo podría ser ineficaz y peligrosa.

Por otra parte, también interesa algunas veces saber con exactitud si existe o no embarazo en pacientes con afecciones serias que impo-

nen la obligación moral de impedirlo por peligrar la vida. Tal puede ocurrir, por ejemplo, en mujeres afectadas por tuberculosis pulmonar activa, por perturbaciones cardíacas serias, mujeres muy anémicas, etc. que no podrían soportar la carga que su nuevo estado le impondría, dadas las malas condiciones de su organismo.

Como se vé, la necesidad de disponer de los medios para hacer el diagnóstico prematuro y diferencial es de fundamental importancia; puede evitar muchas dudas y sinsabores y contribuir, en cierto modo, a disminuir el dolor humano.

Pero la larga lista de pruebas propuestas para éste objeto hasta la publicación de los trabajos de Aschheim y Zondek, revela que ninguna ofrecía todas las garantías necesarias, aunque del punto de vista teórico algunas tienen un valor apreciable porque contribuyen al conocimiento de otros aspectos del tema. La aparición de los trabajos de Aschheim y Zondek abrió rumbos nuevos al diagnóstico de la gravidez, representando una solución práctica de positivo valor. Aparentemente el problema se halla así resuelto, pero en la aplicación rutinaria, que también interesa, ofrece puntos de posible modificación y simplificación como puede verse en trabajos posteriores.

Se imponía, por lo tanto, a nuestro entender, un examen crítico debidamente fundamentado del conjunto de métodos para establecer una orientación que permita a los laboratorios ofrecer un servicio cómodo y seguro. Es la tarea que nos hemos propuesto llevar a cabo con la convicción de hacer obra útil.

En veterinaria el diagnóstico de la preñez tiene una importancia mucho menor, pero no despreciable. En animales grandes (vacas, yeguas, etc.) se puede establecer por palpación rectal de los genitales si existe o no preñez, aunque no siempre con seguridad, a partir del 3º o 4º mes. Para el caso de animales pequeños como la oveja, perra, etc. hay que hacerlo por palpación abdominal o por signos objetivos.

Hasta hace poco tiempo no había manera de establecer con exactitud por otros métodos, pero parece que W.H. Cole y G.H. Hart (2), empleando suero y Kondak (3), con orina, han encontrado la forma de hacerlo en yemas, según veremos más adelante.

En en la vía obierta por Stockard, Zanicola, Long, Evans, Allen, Frank, Polay, Labucur, Aschheim y Kondak, etc. el tema adquiere otros aspectos igualmente interesantes relacionados con la embriología y con la terapéutica. La presencia de elementos especiales con funciones específicas caracterizados en la orina y en la sangre de la mujer grávida ha promovido un intenso movimiento en diversos sentidos, tendientes a aclarar los interrogantes ~~relacionados~~ <sup>relacionados</sup>.

Los principios activos del lóbulo anterior de la <sup>h</sup> hipófisis, con su acción sobre el ovario provoca de la maduración de los folículos, la formación de puntos hemorrágicos y cuerosos lúteos; lo mismo que la folliculina (también llamada "theelin", "menformon", "bestria", "progynon", etc.) que provoca el estro; lo mismo que un probable principio activo estimulante del crecimiento del tejido embrionario, y aún una "hormona" masculina, son objeto de estudio debido a la importancia de las funciones con que están relacionados. La relación o dependencia que puede existir entre estos elementos y la función generadora del ovario y el desarrollo del embrión, nos ha inducido a intentar también una breve incursión en el terreno de la biología general con el propósito de estudiar la influencia de ellos y de la orina de mujer embarazada sobre el desarrollo de semillas y el crecimiento de plantas; hemos resumido las observaciones con las reflexiones que nos ha sugerido en un capítulo final.

En cuanto a las derivaciones terapéuticas, podemos decir que dependen, en gran parte, de los estudios y de las observaciones combinadas de la embriología, de la química y de la clínica, en relación con la dependencia funcional del organismo respecto a los principios activos que se están estudiando.

Parte II

## Descripción y exámen crítico de las técnicas conocidas.-

-----

Como es sabido que el huevo fecundado, al implantarse en el útero materno, provoca en el organismo profundas alteraciones de diferente naturaleza, lógicamente fué que se buscara la forma de caracterizar los elementos nuevos o los cambios correspondientes al estado de gravidez.

Los elementos principales que llegan con mayor frecuencia al laboratorio, han sido objeto de especial atención: la sangre y la orina. La primera, como medio interno de conexión de las diferentes partes del organismo entre sí y de éste con el nuevo ser que se insinúa, debe llevar reflejada en alguna forma de modificación física o de composición química la nueva tarea impuesta, de llevar alimento al embrión y despojarlo de sus excreciones; sin contar su intervención en la relación entre la madre y el embrión., siendo evidente la mutua dependencia. Se ha tratado de sorprender en el medio circulante los elementos defensivos creados o movilizados ante el ataque, o la alteración del metabolismo debido a las necesidades creadas por la presencia del nuesped, etc., utilizando los elementos que el progreso de la ciencia ha ido <sup>de acuerdo</sup> ~~poniendo~~ al alcance de los investigadores.

Algunos métodos son puramente físicos y miden alteraciones físicas o químicas, otros se refieren a la constitución química de la sangre, un tercer grupo está compuesto por técnicas químicas para caracterizar elementos hormonales o químicos, etc.

La orina, formada por los materiales eliminados de la circulación interna, ya sea como término final del metabolismo fisiológico o porque la barrera renal ha sido sobrepasada o alterada, etc., viene a ser, en cierto modo, un elemento que refleja el estado del cuerpo y especialmente de la composición sanguínea.

En ella se ha buscado comprender algún elemento como reflejo específico del nuevo estado y se llegó por éste camino a la solución más correcta del problema, no sin haber pasado por reacciones sólo parcialmente útiles, como lo veremos al describir los métodos correspondientes.

En éste capítulo describiremos las técnicas, agrupándolas de acuerdo con un criterio personal, teniendo en cuenta el material objeto de examen. En el grupo de los métodos aplicados en suero, comenzamos por los puramente físicos y a continuación los que se refieren a reacciones químicas. En los demás rige un orden cronológico, simplemente.

La buena parte de las técnicas descritas tienen solamente un valor ilustrativo y no resisten una crítica aunque sólo sea superficial respecto a su valor diagnóstico, pero en cambio representan una contribución para el estudio y el conocimiento de las alteraciones por el estado especial del embarazo.

Métodos físicos y químicos aplicados en suero.

Reacción de Ascoli e Izar.-

Ascoli (4) encontró que si se agrega a un suero diluido el extracto alcohólico antigénico correspondiente, se produce un descenso de la tensión superficial con relación a una mezcla del mismo suero diluido y solución fisiológica. El hecho no se produce en el caso de sueros normales. La disminución de la tensión superficial se verifica con el estalagmómetro de Traube, por el aumento del número gotas correspondientes a un mismo volumen, de ahí el nombre de la reacción.

Este método ha sido estudiado en distintas afecciones, incluso el embarazo, por Ascoli e Izar (5). Requiere la preparación del antigemo correspondiente y la investigación de su dilución óptima. El suero es diluido veinte veces; luego se toma 9cc. de ésta dilución y se mezcla con 1 cc. de la dilución antigénica.

Esta reacción no es específica, la dan también otras afecciones muy comunes como la sífilis, la bacilosis, las neoplasias, etc. Además no es constante. Por estas simples razones carece de valor para el diagnóstico de la gestación.

Reacción de Farneus (eritrosedimentación).-

Se debe a Farneus (6) el estudio en conjunto del interesante fenómeno de la velocidad de sedimentación de los eritrocitos, que se puede estudiar fácilmente recogiendo la sangre en solución citratada anticoagulante (8 partes de sangre y 2 de solución al 2% de citrato de sodio) y colocándola en pipetas con graduación especial, midiendo de tiempo en tiempo, por ej. cada 15 minutos, la altura de la columna de plasma libre de hematíes que se vá constituyendo y aumentando gradualmente hasta la sedimentación completa.

Quando la velocidad de sedimentación está notablemente aumentada, por ej., si la sedimentación es completa al cabo de 1 hora o 1½ horas, se suele decir que la reacción de sedimentación es positiva. Es lo que se observa en la gravidez: desde el 7<sup>o</sup> mes hasta en los primeros días del puerperio, la velocidad de sedimentación es máxima, cerca de 50 minutos término medio, y próximo al parto, aún menos; antes del período indicado, los glóbulos tardan 2 o más horas para sedimentar completamente. En mujeres normales no embarazadas suele tardar hasta 10 horas, con ligera aceleración en el período menstrual. En el varón generalmente tarda más de dos horas, para ser completa la eritrosedimentación. *En muchos países los valores se expresan por la fórmula de Ratz, tomada de las alturas, al cabo de 1 y 2 horas,  $(X = \frac{t-hora + 2-hora}{2})$ .*

Esta reacción no es específica; según lo demuestran los trabajos de Linzenmeyer (7), Grävert (8), Gänssle (9), etc.; se encuentra aumentada la velocidad de la eritrosedimentación en los procesos inflamatorios, en las enfermedades infecciosas, en los casos de tumores malignos, etc., lo que le hace perder todo valor diagnóstico.

Existen varias teorías para explicar la reacción de Fahreus, que depende del plasma y no de los glóbulos; pues suspendiendo glóbulos de mujer grávida en plasma normal se comportan como los normales; en cambio, haciendo la suspensión de glóbulos de mujer no grávida en plasma de embarazada, se observa la aceleración característica en la velocidad de sedimentación. El factor causante de esta modificación no se ha podido establecer aún; pero parece ser más bien de orden físico que de naturaleza química, aún cuando es muy probable que exista una dependencia del primero respecto a la constitución química del plasma. No entraremos en detalles sobre este asunto porque nos llevaría fuera del marco asignado a nuestro trabajo, máxime teniendo en cuenta el escaso valor de la prueba en el diagnóstico precoz y diferencial de la gravidez.

Reacción de Zangemeister.-

Partiendo de la idea que la destrucción de la albúmina placentaria por el suero de mujer embarazada, en la reacción de Abderhalden, debía exteriorizarse por modificaciones en el estado coloidal, ~~xxx~~ Zangemeister (10) propuso efectuar el diagnóstico del embarazo por medio del exámen del enturbiamiento de los sueros con el fotómetro gradual de Zeiss. El autor considera que el efecto óptico no sería debido a productos de desintegración, por lo que la prueba no se identificaría con la de Abderhalden.

Los resultados obtenidos son malos, de acuerdo con los datos publicados por Schneiderer (11), quién obtiene apenas un 35 % de resultados positivos en embarazadas. Esto basta para desechar la prueba como reacción de diagnóstico.

Reacción de floculación de Vogel.-

Esta reacción tiene también un fundamento puramente empírico y no ha merecido mayormente atención porque carece de especificidad. Vogel (12) observó que el suero de mujeres embarazadas, al mezclarse con una solución de ninhydrina, se producía una suspensión fina, en cambio, el suero de mujeres no grávidas daba lugar a la aparición de grumos mayores. Los resultados que obtuvo parecían indicar la posibilidad de encontrar una buena reacción para la gravidez, pero trabajos posteriores de Cotinger (13) y Gregert (14), demostraron que los resultados obtenidos no eran satisfactorios, disipando las esperanzas de su descubridor. Tampoco representa una contribución al estudio de las alteraciones humorales de la gravidez, porque no <sup>se conoce</sup> ~~tiene~~ explicación que interprete la diferencia apuntada, entre suero normal y de embarazada.

Reacción del veneno de cobra.-

Calzette, Massol y Guézin (15) comprobaron que el poder hemolizante de una solución de veneno de cobra, no se ponía de manifiesto si los glóbulos rojos eran cuidadosamente privados de suero por medio de lavados con solución fisiológica; en cambio, en presencia de suero, los eritrocitos se hemolizaban fácilmente. El poder activante de la hemólisis parece estar relacionado con el contenido de lecitina, jabones y ácidos grasos y es proporcional a su cantidad. La reacción tiene por objeto la investigación y titulación de éstos elementos libres en los humores (suero, líquido cefalorraquídeo, etc.)

El suero de mujer grávida posee una marcada acción activante sobre la hemólisis de los glóbulos rojos por el veneno de cobra; esto significaría que durante la gestación se produce un apreciable aumento, especialmente, de lecitina circulante.

Para realizar ésta investigación se requiere:

1).-Una solución madre de veneno de cobra al centésimo, calentada durante 30 minutos a  $75^{\circ}$  y filtrada por papel (0,1 gr. de veneno seco en 10 cc. de solución fisiológica) preparada recientemente (de una fecha inferior a 10 días conservada en la nevera).

2).-Una dilución al 1/500 de veneno, hecha en el momento de usarse diluyendo 1 cc. de la solución madre que contiene 0,01 gr. de veneno seco, en 4 cc. de solución fisiológica (NaCl al 3½ por mil).

3).-Una solución de lecitina al 1/10.000, preparada disolviendo 1 gr. de lecitina pura en 10 gr. de alcohol metílico puro. Se toma 1 cc. de ésta solución, que se disuelve en 99 cc. de solución fisiológica.

4).-Una emulsión al 1/20 de hemáties de caballo lavado de suero por tres centrifugaciones ~~xxx~~ y sucesivos lavados con solución fisiológica.

En una serie de tubos de ensayo se coloca 1 cc. de la solución de

veneno de cobra al 1/500, o sea 2 mgr.; después 1 cc. de la emulsión al 1/20 de hematiás de caballo cuidadosamente lavados.

Cada tubo, excepto el primero, que se emplea como testigo, recibe, respectivamente, 0,01 cc., 0,05 cc., 0,1 cc., 0,5 cc. y 1 cc. del suero problema previamente inactivado, calentándolo durante 30 minutos a 39° en baño de María. <sup>el volumen contenido en</sup> Se completan los tubos a 3 cc. con solución fisiológica. Se dejan en estufa a 37° durante 30 minutos y luego se lee los resultados.

En una serie de tubos testigos, se <sup>coloca</sup> ~~pone~~ la misma cantidad de veneno de cobra (2 mgr.), la misma cantidad de hematiás de caballo lavados y, excepto en el primer tubo, que sirve de testigo, se agrega cantidades variables de la solución de lecitina al 1/10.000, por ej.: 0,03 cc., 0,05 cc., 0,08 cc., 0,1 cc., etc. <sup>el volumen en</sup> Se completan todos los tubos a 3 cc. y se llevan también a la estufa a 37° durante 30 minutos. Luego se leen los resultados.

Si en el tubo de la primera serie, que contiene 0,1 de suero, dá una hemólisis completa al mismo tiempo que el tubo de la segunda serie que contiene 0,05 cc. de la solución de lecitina al 1/10.000, se deduce que 1 cc. de este suero contiene 0,0005 de lecitina y de otros lípidos capaces de activar el veneno de cobra. La parte de lecitina en ésta activación puede separarse con solución de cloruro de calcio al 1/10.000, que impide la acción activadora de los ácidos grasos y jabones.

El suero de mujer encinta es más activo después del 4° mes de gestación, según se infiere de los trabajos de Sachs (15), Bauer y Lehendorff (16), Heynemann (17), Bar y Eccle (18).

El aumento de ciertos lípidos causantes de ésta activación del poder hemolizante ~~maxi~~ del veneno de cobra, se observa no solamente durante la gestación, sino también en estados infecciosos como la bacilosis, la sífilis, etc., lo mismo que por la presencia de neoplasias

y por otras enfermedades bastantes comunes. El método pierde mucho de su valor, por ser de manifestación tardía la capacidad activante del suero de embarazada; por no ser constante y por no ser específica, como hemos visto.

#### Reacción del ácido fosfotúngstico de Hertz.-

Es una prueba empírica de realización muy sencilla. Consiste en mezclar 1 cc. de suero problema con 1 cc. de solución de ácido fosfotúngstico, preparada disolviendo 2,8 gr. del ácido cristalizado en 1000 cc. de agua. Si se observa un enturbiamiento, significa que el suero pertenece a una mujer grávida; en el caso contrario, se trata de suero de no embarazada. La verificación conviene hacerla al cabo de media hora de realizada la mezcla. Se puede hacer más patente la diferenciación, si se añade 2 o 3 gotas de azul bromofenol; se observa, al cabo de media hora, si el líquido aparece azul transparente u opaco y de un color más debilitado (azul claro o verde azulado): en el primer caso, el resultado es negativo; en el segundo, la reacción indicaría que se trata de un suero de gestante. (19)

La explicación de esta diferencia residiría, según su autor, en las modificaciones de las proteínas y de los lípidos que se producen durante la gestación. La variación del color del colorante agregado, puede atribuirse a cambios en el pH del suero.

Como ésta reacción no tiene un fundamento racional que permita criticarse, debemos atenernos a los resultados para poder emitir una opinión respecto de ella. Según Wojecurt (20), la reacción es exacta en un 70,5 % de los casos, y de acuerdo con los resultados reunidos en un trabajo de conjunto por Bebtachuk (21), ésta proporción se eleva a 90,2 %, lo que le hace formular la conclusión favorable para su empleo en el diagnóstico del embarazo. La mayoría de los errores observados en ésta prueba, corresponde a mujeres cancerosas. \*

Esta inseguridad en el dudoso diagnóstico diferencial, precisamente, respecto de los tumores, le hace perder mucho de su valor. En cambio, la sencillez de su realización, alienta para su empleo, significando siempre un elemento de juicio cuando no se dispone de otro mejor.

#### Reacción de Mandilow.-

Otra reacción de carácter también completamente empírico, es la que descubrió Mandilow (22) y propuso para el diagnóstico de la gestación, en el año 1930.

La técnica de ésta reacción es sumamente sencilla, consiste en mezclar 1 cc. de solución al 2% de diuretina (salicilato doble de teobromina y sodio) con 5 gotas (0,3 cc.) de suero fresco, desprovisto de glóbulos rojos, sin hemoglobina y no calentado; se agita bien el tubo de ensayo y finalmente se le agrega 1 gota de solución alcohólica, filtrada, al 2 por mil de azul nilo (Clorhidrato o sulfato). Se mezcla y se lee los resultados al cabo de 15 horas. En los casos negativos, se observa una coloración azul hasta azul-rosada; cuando se trata de suero de embarazada, el color vira al amarillo o amarillo rosado.

El autor atribuye a ciertas sustancias "específicas", que aparecen al principio de la gestación, la propiedad de hacer variar en la forma indicada la coloración del azul nilo; pero no determina cuales pueden ser las tales sustancias "específicas", por lo que la interpretación de la reacción no ofrece ningún mérito. Como el color del azul nilo depende de la presencia y cantidad de sustancias definidas, tales como el ácido láctico, ciertos aminoácidos, etc., según hemos podido verificar, hace pensar con mucho escepticismo sobre el valor de la reacción, a pesar del entusiasmo de su autor, porque dichos elementos aparecen también en muchos otros estados fisiológicos y patológicos.

Según Mandilow su reacción es exacta en una proporción de 94 %.

valor que solamente ha sido aproximado por Moschcow, del mismo instituto de Leningrado a que pertenece el autor de la reacción (23). La mayoría de los demás investigadores han encontrado que la reacción da resultados mediocres o malos, especialmente en los primeros meses del embarazo y cuando se trata de mujeres carcinomatosas, Nerson (24), Brofkin (25), Gynnich (26), Owtshinikow y Gchischow (27), etc. Entre nosotros, merece citarse especialmente un trabajo en conjunto de J. Leon (28), quién llega a la conclusión que la reacción de Manoilow no permite el diagnóstico precoz ni diferencial de la gravedad.

Nosotros hemos realizado un corto número de reacciones, con el objeto de verificar el valor de ésta reacción, las que resumimos en cuadro siguiente:

<u>Suero de embarazadas</u>			<u>Suero de no embarazadas</u>		
<u>Positivas</u>	<u>Negativas</u>	<u>Dudosas</u>	<u>Positivas</u>	<u>Negativas</u>	<u>Dudosas</u>
21	11	9	4	11	1
51%	27%	22%	25%	69%	6%

Los resultados dudosos se deben a la dificultad de establecer a qué grupo debe referirse ciertos matices intermedios entre los resultados positivos y los negativos, dificultad que ha sido observada por los diversos investigadores y que constituye, también, otro punto discutible de la reacción.

Por estos datos que consignamos, nos permitimos adherirnos a los que afirman el escaso valor de la reacción de Manoilow, para el diagnóstico precoz y diferencial del embarazo.

Reacción de Rosenthal-Scholz o del poder antitriptico.-

La propiedad que posee la tripsina de disolver la albúmina en solución alcalina y el obstáculo que le opone el suero de mujer ~~gestante~~ <sup>gestante</sup>, fué utilizado por Scholz (30), habiendo sido precedido en ésto por Rosenthal (29), para el diagnóstico del embarazo.

Los reactivos empleados por el autor para realizar la investigación, son los siguientes:

1).-Se disuelve 0,1 gr. de tripsina en 10-20 cc. de solución fisiológica, se le agrega 0,1 cc. de solución normal de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  y se completa con solución fisiológica hasta 100 cc.

2).-Calentando ligeramente, se hace disolver 0,2 gr. de caseína en 20 cc. de  $\text{NaOH}$  N/10; se neutraliza después cuidadosamente con ácido clorhídrico N/10, en presencia de tornasol y, finalmente, se completa con solución fisiológica hasta 100 cc. Esta solución debe ser fresca.

3).-Se mezclan 5cc. de ácido acético con 45 cc. de alcohol y 50 cc. de agua destilada.

La solución de tripsina preparada el día anterior debe ser titulada. Para ello se toma una serie de tubos con 2 cc. de solución de caseína cada uno, se les agrega 0,1-1 cc. de la solución de tripsina y se completa el volúmen de todos, con solución fisiológica, hasta 3 cc. Se colocan en el termostato durante 30 minutos exactos y luego se les agrega a cada uno 2-3 gotas de la mezcla aceto-alcohólica. El primer tubo de la serie progresiva en que no se produce enturbiamiento, contiene la dosis límite de tripsina, que es su título.

Para efectuar la determinación del poder antitriptico de los sueros, se procede en forma semejante. Se coloca en una serie de tubos de ensayo 2 cc. de la solución de caseína en cada uno, se agrega 0,5 cc. de suero diluido (al 2% en solución fisiológica), y luego, a dosis crecientes, 0,1-1,2 cc. de solución de tripsina. Se llevan las mezclas a un mismo volúmen con solución fisiológica, se las agita cuidadosa-

amente y se los coloca en el termómetro durante 30 minutos exactos. Al final de éste tiempo cada tubo recibe 2-3 gotas de la mezcla aceto-alcohólica y se lee los resultados. Esta determinación conviene hacerla simultáneamente con sueros normales, para controlarla.

El suero de mujeres grávidas generalmente dificulta la acción de la tripsina y ésta propiedad es la que Scholz (50) creyó poder utilizar para establecer un diagnóstico de embarazo. Pero el poder anti-triptico del suero se halla también aumentado muy a menudo en otros estados fisiológicos y patológicos; como ser en el cáncer, tuberculosis, úlceras gástricas, bocio exoftálmico, supuraciones, etc.

La reacción no es específica, ni aparece siempre en el embarazo, por lo tanto es de un valor muy relativo; para el diagnóstico diferencial carece de valor.

#### Reacción de Romer.-

En la sangre de la restante existe, generalmente, aumento progresivo de los lípidos (colesterol y lecitina); a esto se debe el aspecto lechoso que se suele observar en los sueros de las mujeres grávidas, particularmente en las proximidades del término.

Partiendo de ésta base, Romer creyó que se podría aprovechar ésta particularidad para establecer un diagnóstico. Su método consiste simplemente en determinar el contenido en lípidos de los sueros de las pacientes. Pero según su autor, solamente a partir del tercer mes es posible aprovecharla. Por otra parte, es bien sabido que el aumento de los lípidos en la sangre es frecuente en otros estados comunes por razones fisiológicas o patológicas, por ej. después de comidas ricas en materias grasas, en el cáncer, en ciertas enfermedades infecciosas, colelitiasis, xantomas, etc.

Carece de valor para el diagnóstico precoz y para el diagnóstico diferencial del embarazo.

### Reacción de Abderhalden.-

Cuando se introduce en el organismo sustancias extrañas al plasma sanguíneo, éstas sustancias *leben* perder su carácter específico por una degradación "fermentativa" <sup>(Abderhalden)</sup> que se realiza con bastante rapidez y sin ocasionar trastornos serios.

La degradación de tales sustancias se hace gracias a los fermentos originados y que Abderhalden designa "fermentos defensivos" (A).

En ciertos estados patológicos circula en el plasma sustancias que normalmente le son extrañas, como, por ejemplo, sucede durante la gestación. La placenta ~~inicia~~ <sup>inicia</sup> en el torrente circulatorio albúminas extrañas, en forma de vellosidades coriales, porciones microscópicas placentarias. En la sangre materna aparecen fermentos destinados a desintegrar éstas sustancias. Después de expulsada la placenta, los fermentos desaparecen de la circulación. Aparecen ya a los 8 días después de la fecundación y no se pueden caracterizar a los 14-21 días después de eliminada la placenta. El suero del feto no ataca la albúmina placentaria, como tampoco el suero de mujer no grávida. Es posible efectuar el diagnóstico precoz del embarazo, investigando en el suero la presencia del fermento específico, con albúmina (o peptona) placentaria convenientemente preparada. El campo de aplicaciones de ésta reacción es mucho más vasto y su significado teórico de gran importancia.

Como la realización de ésta prueba, muy delicada y minuciosa, es de técnica difícil, su descripción nos ~~hacemos~~ <sup>hacemos</sup> ~~del~~ <sup>del</sup> cuadro de éste trabajo. Por otra parte, es preferible ~~consultar~~ <sup>consultar</sup> ~~directamente~~ a las publicaciones de su autor, especialmente al libro citado (A) ~~en~~ <sup>en</sup> ~~la~~ <sup>la</sup> ~~bibliografía~~ dado que él mismo exige ser seguido escrupulosamente al practicar la reacción.

Según Abderhalden la reacción es absolutamente específica, no sólo en el embarazo, sino también en el cáncer, etc.

Otros experimentadores no son tan optimistas sobre el mérito y el valor práctico de ella. <sup>[Van Dyke y colaboradores (96)]</sup> Aunque parecía haber resuelto brillantemente el problema del diagnóstico del embarazo, ofrece un serio inconveniente: la técnica. Todo laboratorista que la estudia sabe las dificultades de su realización y por tal razón no ha podido prestar los servicios que prometía. Su fundamento teórico parece perfecto e invulnerable, de acuerdo con los datos de su autor, pero la realización práctica la coloca fuera del alcance del que no esté especializado en ella. [Ver Cordelli (97)].

Se han intentado y propuesto diversas simplificaciones, modificaciones y ~~derivaciones~~, con el objeto de facilitar su empleo. Después de la técnica original, que preconiza la diálisis para separar los productos de desintegración, con el objeto de poder caracterizarlos, se han propuesto métodos ópticos (polarimétricos, refractométricos), o bien de precipitación como el de Lüttge-Mertz, de abajo descripto, etc.

#### Alkohol-Extrakt-Reaktion de Lüttge-Mertz.

Es una simplificación de la reacción de Abderhalden, cuyo principio es el siguiente (34): la mezcla de suero con extracto placentario, es liberada de sus proteínas precipitándolas con alcohol y se separan por filtración; en el líquido filtrado se <sup>investigan</sup> ~~carac-~~ ~~terizan~~ los productos de desintegración por medio de la ninhidrina.

Esta reacción ha merecido también la atención de algunos investigadores, como Bergert (35), Kamniker (36), Weigert (37), quienes han obtenido alrededor de 80-90 % de resultados positivos en el diagnóstico de la gestación.

Se ha propuesto, también, para caracterizar la acción de los fermentos de Abderhalden, utilizar placenta coloreada, la que por la acción

de aquellos, deja en libertad el colorante tñiendo el líquido.

La placenta se prepara colocandola durante 24-48 hs. en una solución concentrada de carmin amoniacal. Se priva del exceso de colorante lavandole repetidamente con agua y finalmente haciendola hervir con agua destilada hasta que no cede más color. Para la reacción, se coloca 0,25 gr. de tejido en 1-2 cc. de suero. Se deja en estufa y se observa 4-8 horas después. En caso positivo, el líquido se colorea.

#### Reacción de Kottmann.-

El suero de mujer <sup>grávida</sup> ~~gestante~~, puesto en presencia de una combinación hierro-albúmina placentaria, que no tiene el hierro en forma caracterizable por los reactivos corrientes directamente, puede poner en libertad el metal y su presencia se revela por el sulfocianuro de potasio. Basado en la observación de éste fenómeno, ~~es que~~ Kottmann (31) ideó <sup>este</sup> el método que propuso para efectuar el diagnóstico de la gravidez. Según el mismo autor, la reacción es de orden físico-químico y no tiene nada que ver con la reacción de Abderhalden, pues es posible reemplazar la albúmina placentaria por otros elemento adsorbentes tales como el talco, caolín, gelatina, etc. El suero normal puede también obrar así, pero en menor grado. Kottmann (32) dice haber obtenido en embarazos un 28 % de resultados positivos.

Segun Hoenen (33), la técnica es la siguiente: se coloca en un tubo 0,01 gr. del compuesto férrico con 1 cc. de suero. Al cabo de tres horas de permanencia a la temperatura ambiente, se filtra; al filtrado se le agrega 20 gotas de ácido clorhídrico al 18 %, más 20 gotas de solución al 50 % de sulfocianuro de potasio y después 2 cc. de éter. Cuando la reacción es positiva, el éter se colorea de rojo; en el caso negativo, aparece incoloro o débilmente rosado. Hay que tener cuidado que tanto los reactivos como el papel de filtro no tengan hierro.

La interpretación de la reacción, si no se asimila a la de Abder-

halden, como lo afirma Mattmann, no aparece clara. Pero por sus resultados, podría servir para el diagnóstico diferencial. Thoenen (33) dice haber obtenido, sobre 51 sueros gravídicos, 49 reacciones positivas (98 %), y sobre 53 sueros controles cancerosos, 100 % de resultados negativos.

#### Reacción de la antitrombina.-

Dienst propuso, a manera de diagnóstico, la verificación del aumento de la antitrombina en el suero de las embarazadas (38).

La prueba no es específica, según las conclusiones de varios autores, por cuanto existen en el suero otras sustancias que reaccionan con los reactivos indicados; Gégnelle (39), Inagent (40), Zawadzinski (41) Tyrocki (42), Palacios Costa y Deluca (43). Prácticamente carece de valor.

### Métodos químicos aplicados en orina.-

El grupo de reacciones que resumiremos bajo éste título, no son, en realidad, pruebas de laboratorio, en el sentido estricto del término. Se trata de pruebas funcionales realizadas en las pacientes, fundadas en la alteración del metabolismo de los hidratos de carbono que se observa en las mujeres grávidas; pero como la constatación del hecho se realiza en la orina, hemos creído que correspondía hacer mención también de ellas, haciendo resaltar brevemente sus puntos vulnerables.

Durante la gestación, parece existir un descenso del límite de tolerancia respecto al azúcar o bien una mayor facilidad para movilizar los hidratos de carbono. Esta <sup>disposición</sup> ~~disposición~~ <sup>glucosúrica</sup> ~~glucosúrica~~ es la que dá el fundamento a los métodos que describimos a continuación.

### Glucosuria alimenticia. Reacción de Frank y Nothmann.-

El procedimiento a seguir, según los autores (44), es el siguiente: Se determina la glucemia y se investiga si existe glucosa en la orina de la paciente. Después se le hace evacuar la vejiga y se hace beber 100 gr. de glucosa disuelta en 350-500 cc. de té; pasado media hora debe orinar cada 15 minutos, con el objeto de investigar si aparece glucosa. Después de examinar la primera orina que contenga glucosa se determina nuevamente la glucemia, para verificar <sup>si permanece inalterado</sup> ~~la inalterabilidad~~ el valor primitivo.

Para investigar la glucosa en la orina, recomiendan los autores emplear el reactivo de Nylander.

Esta reacción carece de valor en ciertos casos de glucosuria alimenticia, de enfermedades hepáticas, hipertiroidismo, diabetes, etc.

Hellmuth (47), en un trabajo comparativo, halló 15 reacciones positivas y 5 negativas en embarazadas; en mujeres no grávidas obtuvo mejores resultados, encontrando 115 respuestas negativas ~~contra~~ 5

resultados positivos.

Glucosuria adrenalínica. Reacción de Roubitschek.-

La prueba con la adrenalina, propuesta por Roubitschek (45), consiste en tomar en ayunas 200 cc. de té conteniendo 10 gr de glucosa disuelta; al cabo de 20 minutos se inyecta  $\frac{1}{2}$  cc. de adrenalina al 1 o/oo (suprarenina Höchst). Después, cada 15 minutos, se investiga en la orina la presencia de glucosa y tan pronto como aparece, se extrae sangre para determinar la ~~glucemia~~ <sup>de la</sup> glucemia. Esto se hace para probar el correcto funcionamiento renal; no debe producirse aumento apreciable en el valor <sup>de la</sup> glucemia.

En lo que se refiere a su fundamento, la prueba ofrece los mismos inconvenientes que la anterior por su falta de especificidad. Según Hellmuth (47), tiene menor valor diagnóstico que la Frank y Nothmann.

Glucosuria floridínica. Reacción de Kaminitzer y Joseph.-

Cuando se inyecta unos 5 mgr. de floridina en personas normales, generalmente <sup>N</sup> aparece glucosa en la orina; ésta es la dosis mínima corriente. En las embarazadas, el nivel glucosúrico ~~se~~ ~~está~~ ~~descendido~~, siendo suficiente la mitad de la dosis para que el fenómeno se manifieste. Partiendo de ésta observación, Kaminitzer y Joseph (46) indicaron la posibilidad establecer el diagnóstico precoz de la gravidez por dicho camino.

Se inyecta subcutáneamente 2-2 $\frac{1}{2}$  mgr. de floridina (1 cc. de "Maturin" Schering, que contiene también 1 mgr. de B-eucaina) por la mañana en ayunas. Previamente se hace eliminar la orina contenida en la vejiga y se dá a beber unos 200 cc. de líquido claro no azucarado (agua, té o café negro). Después de la inyección se hace orinar tres veces con intervalos de  $\frac{1}{2}$  hora; se examina la orina con el reactivo de Nylander (bismuto). Después de la primera  $\frac{1}{2}$  hora, la paciente debe beber

200 cc. de líquido no azucarado.

El embarazo se revela por la presencia de azúcar en las tres porciones de orina (coloración negra del reactivo de Nylander calentado con la orina); a veces hay que prolongar la ebullición bastante tiempo para que manifieste la reacción.

Después del tercer mes de embarazo, la reacción es insegura o no se produce.

Como la aspirina, el ácido salicílico, el hidrato de cloral, la sacarina, el alcanfor, el cloroformo, los extractos de hipófisis, glándulas suprarrenales, pueden dar positivo <sup>con</sup> al Nylander, hay que evitar su empleo antes de realizar la prueba.

La experiencia de Hellmuth (47) le lleva a la conclusión que ésta prueba es de resultados menos aprovechables que la de Frank y Rothmann, por la elevada proporción de resultados falsos que *da*.

#### Reacción de Dianst.-

El método propuesto por Dianst (48), consiste en hacer hervir 10 cc. de orina de la mañana, recógida por cateterismo, 0,2 mgr. de ninhydrina durante 25-30 segundos; cuando la reacción es positiva, se observa una coloración lila clara, que oscurece rápidamente.

Según Derankowa (49), en gestaciones de más de tres meses, obtuvo 93,7 % de resultados positivos; en embarazos de menos de tres meses, en cambio, sólo dió un 63 %; por otra parte, en el 50 % de las mujeres no grávidas, la prueba dió resultados erróneos.

Metodos "biológicos".-

El descubrimiento de la dependencia hormonal de la función sexual, que ha permitido llegar a la solución más elegante y específica, hasta hoy, del problema del diagnóstico precoz y diferencial de la grevidez, es debido a una serie de descubrimientos, comenzados en Norteamérica y terminados en Alemania, a los que se hallan unidos los nombres de Stockard, Papanicolaou, Long, Evans, Frank, Doisy, Allen, Laqueur y, sobre todo, Aschheim y Zondek.

Los primeros hechos interesantes que encaminaron mas tarde las investigaciones, fueron establecidos en el año 1917 por Stockard y Papanicolaou (50), quienes describieron las alteraciones morfológicas que se producen durante la menstruación en los conejos de la India. En 1922, Long y Evans (51), confirmaron éstos resultados, haciendo una descripción exacta del fenómeno en los ratones. Más tarde Frank (52), demostró la existencia de sustancias hormonales en el líquido folicular, cosa que fué confirmada por Doisy, Allen y Johnston (53) y Allen y Doisy (54), quienes aislaron una sustancia activa sobre el ciclo sexual femenino.

Los hechos establecidos por los autores norteamericanos hasta el año 1924, fueron comprobados y continuados paralelamente por los investigadores europeos: Hart, Jong, Laqueur y Mijsembeek (55), Zondek, Aschheim y Brahm (56).

Por los estudios realizados, se pudo establecer que ciertas funciones sexuales y muchos caracteres secundarios, dependen de la hormona folicular, pero quedaba por aclarar el mecanismo promotor de la secreción. La explicación del fenómeno se la debemos a Aschheim y Zondek, al establecer que la función ovárica no puede ser excitada por medios

no específicos, sino que depende solamente de sustancias originarias del lóbulo anterior de la hipófisis. Estas obran sobre el ovario, poniendo en actividad el aparato folicular y produciendo su maduración y la secreción de la hormona, la que, al penetrar en la circulación actúa específicamente sobre el útero y la vagina. De manera que inyectando las sustancias activas del lóbulo anterior de la hipófisis a ratones hembras, se puede observar, al cabo de 90-100 horas: 1).- Todos los elementos denunciadores del celo; 2).- Aumento del volumen y espesamiento de las paredes del útero y de la vagina; 3).- El ovario hipertrofiado, presentado uno o varios puntos hemorrágicos y cuerpos lúteos miliares (57)

Estos conocimientos, unidos a la comprobación hecha por los mismos investigadores, Aschheim y Zondek, de que los principios activos del lóbulo anterior de la hipófisis circulan en la sangre de las mujeres gestantes y son eliminada por la orina (58), <sup>servieron de</sup> ~~constituyeron el~~ fundamento de la reacción propuesta por los autores citados, para el diagnóstico del embarazo.

Las demás reacciones, que hemos reunido en éste grupo de métodos "biológicos", han sido establecidas sobre las mismas bases.

Reacción de Aschheim y Zondek. (59).-

Las determinaciones se efectúan en ratones hembras <sup>impúberes</sup>, de 3 a 4 semanas de edad, cuyo peso oscila entre 6 y 8 gramos. También se puede emplear ratas, de 4 a 5 semanas de edad, de un peso aproximado a 30 o 35 gramos; pero después veremos que es preferible usar los primeros en lugar de éstas.

Los ratones no deben pesar menos de 6 gramos porque suelen no soportar las inyecciones de orina y mueren a menudo. No deben pesar, tampoco, más de 8 gramos, para evitar confundir la maduración del ovario provocada por la orina, con la maduración espontánea; pues, si bien esto ocurre generalmente cuando llegan a los 12 gramos, puede producirse también antes.

Cada orina examinada requiere 5 animales. Se puede probar la acción de la orina en más de 5 ratones, dado que puede morir alguno durante las inyecciones y porque no todos reaccionan lo mismo. Puede ocurrir que animales inyectados con dosis menores reaccionen mejor que los inyectados con cantidades mayores.

Algunas veces, aunque raramente, en <sup>algún</sup> ~~un~~ animal se observe en uno de los ovarios las reacciones típicas (puntos hemorrágicos, cuerpos lúteos) y en el otro nó, o solo débilmente.

"La reacción de embarazo es positiva, cuando lo sea en un ovario de un animal y aunque en los demás resulte negativa".

Se emplea orina fresca y, en lo posible, la primera de la mañana, porque es la más concentrada. Si se utiliza la del día, puede ocurrir que sea tan diluida por la ingestión de líquidos, que no permita caracterizar las hormonas. Algunas veces se extrae por cateterismo, pero no es necesario; la laucha es muy resistente a la infección que podría acarrear la inyección de orina.

Se debe recoger la orina en un recipiente bien limpio. Si es nece-

sario dejar la orina, por no poder emplearla enseguida, puede agregarse 1 gota de tricresol puro por cada 25-30 cc., pero es preferible evitar ésto.

Si la reacción es alcalina o neutra, debe acidularse débilmente con ácido acético. Cuando no sea bien clara la orina, conviene filtrar antes de inyectarla.

La orina se debe inyectar en 6 porciones en 48 horas, según el siguiente esquema (conviene empezar el lunes la experiencia, ~~el~~ <sup>terminar</sup> para el viernes a la tarde):

1<sup>er</sup> día, una inyección a las 11 hs. y otra a las 17 hs.

2<sup>o</sup> día, una a las 10 hs., otra a las 15 hs. y otra a las 17 hs.

3<sup>o</sup> día, una sola inyección a las 10 hs.

Las cantidades que recibe cada animal <sup>(interstancionalmente)</sup> son las siguientes.

I).- Recibe 6 veces 0,20 cc.

II).- " 6 " 0,25 cc.

III).- " 6 " 0,30 cc.

IV).- " 6 " 0,30 cc.

V).- " 6 " 0,40 cc.

Son sacrificados el quinto día, por la mañana, empleando gas de alumbrado. Se examinan <sup>con</sup> cuidadosamente macroscópicamente los órganos sexuales. Lo principal es la observación de los ovarios. Generalmente basta la inspección macroscópica para conocer el resultado. En caso de duda, Zondek (50) recomienda tomar el ovario con unas pinzas, lavar rápidamente con agua común en la que se deja  $\frac{1}{2}$  de minuto, más o menos, y luego de colocarlo sobre un vidrio de reloj, agregar 5 gotas de glicerina. Al cabo de 5 a 10 minutos es posible observar con toda claridad el punto marrón en el ovario, correspondiente a una reacción positiva.

En caso de duda se puede apelar a los cortes histológicos de los mismos, fijados en el líquido de Zenker (la fijación al formol no es aconsejable), pero es preferible repetir el ensayo.

Cuando la reacción efectuada en ésta forma resulta positiva, se observa:

I).-Maduración de los folículos. Ovulación. Descarga de foliculina en las vías foliculares y, secundariamente, el celo.

II).-hemorragia en los folículos dilatados (puntos hemorrágicos).

III).-Luteinización (Formación de cuerpos lúteos).

Solamente las fases (II) y (III) se deben aceptar como características del embarazo; más adelante veremos porqué.

A raíz de estudios posteriores, sobre las hormonas circulantes del lóbulo anterior de la hipófisis (Prolanes), Zondek (51), llegó a la caracterización de dos principios activos sobre el ovario: uno que provoca la maduración de los folículos, "Prolán A," y otro que hace aparecer los cuerpos lúteos, "Prolán B". Es decir, el 1º da lugar a la faz (I) de la reacción (Maduración de los folículos y movilización de la foliculina generada en ellos) y el otro produce las reacciones (II) y (III) (puntos hemorrágicos y cuerpos lúteos).

El "Prolán A" aparece no solo en casos de embarazo, simultáneamente con el "Prolán B", sino también en ciertas formas de amenorrea, en el climacterio, castración y en casos de carcinomas genitales.

El "Prolán B", en cambio, parece ser característico del estado de gravidez, salvo raras excepciones. De aquí se deduce que las formas características del embarazo serían dadas por las fases (II) y (III).

Ahora bien, Zondek demostró que el ratón o laucha es menos sensible que la rata para el "Prolán A", a pesar de tener, término medio, la 5ª parte del peso; por ésta razón recomienda emplear ratoncitos para efectuar su reacción.

Con el objeto de abreviar el tiempo de la reacción, Zondek (52), estudió la manera de concentrar las hormonas de la orina, llegando a concretar una técnica por la que es posible conocer el resultado al

cabo de tres días en lugar de cinco, como resulta con la técnica original.

Se mezclan 66 cc. de orina fresca (acidulada débilmente con ácido acético y filtrada), con 240 cc. de alcohol al 96 %. Se agita durante 5 minutos ~~hasta~~ <sup>hasta</sup> que se forme un precipitado blanco-amarillento. Se deja reposar  $\frac{1}{2}$  hora y luego se centrifuga. El residuo, que contiene las sustancias activas, se lava con éter (30-50 cc.) agitando durante 3 minutos. Se separa el éter y el precipitado se toma con 11 cc. de solución fisiológica o agua destilada; luego se agita y después se centrifuga. El líquido sobrenadante contiene las hormonas; el residuo se elimina. La solución resulta ligeramente amarillenta y suele presentarse turbia, pero se emplea así. La preparación ~~hace~~ <sup>hace</sup>, más o menos, una hora.

En los 11 cc. está contenida la parte activa correspondiente a los 66 cc. de orina, o sea 6 veces más concentrada.

Cada una de las ratones (en éste caso bastan cuatro) recibe 2,4 cc. de la solución, correspondiente a 14,4 cc. de orina de embarazada.

Si la experiencia comienza el lunes, el animal recibe ese día cuatro veces 0,4 cc. de la solución; el martes por la mañana y por la tarde, 0,4 cc. cada vez. Los animales son sacrificados el miércoles a medio día, o mejor en la tarde, es decir, 51 a 57 horas después de iniciado el ensayo.

Ahora bien, empleando ésta técnica, el resultado es aceptable solamente cuando resulta positiva la reacción; no puede adoptarse como método general.

La inyección de orina suele producir la muerte los animales (6 a 7 %, según Zondek); para obviar ésta inconveniente, el autor propuso una preparación previa del material empleado (60). Los ratones no mueren por infección, sino debido a la toxicidad propia de la orina ~~por las~~ <sup>debido a ciertos</sup>

substancias que contiene y ~~estas~~<sup>que</sup> parecen ser solubles en éter. Teniendo en cuenta ésta propiedad, ~~se~~<sup>efectúa</sup> una extracción de la orina con éter y agrega, además, glucosa, la que parece actuar como desintoxicante en el organismo, además de acelerar la reacción.

En resumen, se procede ~~en~~<sup>en esta forma</sup> a 30 cc. de orina, lo más fresca posible, filtrada, se agita con 90-120 cc. de éter durante 3 a 5 minutos. Se separa después la orina y se la deja una hora al aire para eliminar el éter disuelto (no se debe inyectar hasta que ~~no~~<sup>el</sup> ~~haya~~<sup>haya desaparecido</sup> olor a éter). Se le agrega 0,9 gr. de glucosa pura, se agita para disolver y está lista para ser inyectada.

Cada orina se prueba en cinco ratones de 6,5 gr. a 8,5 gr. El primer día reciben a las 9, 12 y 17 horas, 0,5 cc. de orina. Lo mismo el día siguiente. Al cuarto día son sacrificados para observar los ovarios. La reacción es positiva ~~si aparece~~ si aparece aunque sólo sea un punto hemorrágico o cuerpo lúteo en un ovario de un solo animal.

El éter obra: 1º) Como desintoxicante. - 2º) Extrae la foliculina, que puede ser causa de error en la reacción. - 3º) Elimina substancias antihormonales que dificultan la formación de los puntos hemorrágicos en los ovarios.

La glucosa: 1º) Desintoxica. - 2º) Acelera la reacción, abreviando el tiempo de aparición de los cuerpos lúteos.

La reacción de Aschheim y Zondek, se halla fundamentada en hechos indiscutibles y los resultados obtenidos hasta la fecha, confirman la validez de aquellos. Aschheim (63), en una sesión de la sociedad médica de Leipzig, el 4 de Noviembre de 1930, informó que sobre 1400 casos examinados obtuvo 99 % de resultados exactos. De 650 orinas de embarazadas, resultaron 640 positivas, 7 dieron solamente la reacción (I) y, repetidas después dieron también las reacciones (II) y (III); 3 fueron negativas.

Sobre 750 orinas de mujeres no grávidas, obtuvo 746 resultados negativos y 4 positivas falsas. El promedio de resultados correctos alcanza a 98-99 %, considerando el total general.

Esta proporción de resultados exactos ha sido hallada también por Bruba, Hinglais y Simonnet (64), Zondek (en diversas comunicaciones) y otros investigadores, sobre varios miles de reacciones.

Suelen dar resultados positivos falsos, ciertos casos de tumor de vejiga, embarazos tubarios, carcinomas genitales, Basedow, miomas uterinos.- Aschheim (1), Klement (65).

Conviene tener presente la observación de Ehrhardt (66), quien comprobó que inyectando endovenosamente sangre de embarazada en mujer no grávida, la orina de ésta dá reacción positiva. También es necesario tener en cuenta, según el mismo autor (67), el hecho de emplearse actualmente preparados opoterápicos de hipófisis, con fines terapéuticos.

Aschheim cita un caso de orina de varón que dió resultado positivo, y recientemente, el Dr. Peralta Ramos A. presentó en una conferencia dictada en la Facultad de Medicina de Buenos Aires (68) un caso de ginecomastia, que dió la reacción de Aschheim-Zondek positiva.

A pesar de éstas observaciones, que fijan un cierto límite de especificidad a la reacción, no ha sido superada hasta el momento actual. Además permite un diagnóstico sumamente precoz del embarazo, porque está comprobado que la reacción es positiva casi enseguida que se produce la fijación del huevo fecundado en el útero (5-6 semanas después de la última menstruación), y es permanente durante toda la gestación; se hace negativa dentro de los ocho días después del alumbramiento, generalmente a los cuatro días, o aún antes.

### Reacción de Friedman.-

Estudiando M. H. Friedman (69) el mecanismo de la ovulación en las conejas, descubrió que sólo se produce a raíz de alteraciones humorales provocadas por el coito.

Más tarde (70), comunicó que no había conseguido provocar la ovulación implantando debajo de la piel lóbulo anterior de la hipófisis de rata, o inyectando en capilla intramuscularmente. En cambio, la inyección endovenosa de orina de mujer grávida, provoca la ovulación y la formación de puntos hemorrágicos y cuerpos lúteos en el ovario. La orina de mujer no embarazada o de varón no ejerce ninguna acción de éste tipo. Las comprobaciones antedichas le permitieron elaborar una técnica simple para la caracterización del estado de gravidez en la mujer.

Consiste en inyectar por la vena marginal de la oreja, en conejas no preñadas, 5 a 12 cc. de orina fresca, recogida lo más asépticamente posible por la mañana. No es necesario proceder por cateterismo.

Después 24 a 36 horas se examinan los ovarios. Si se observan puntos hemorrágicos o cuerpos lúteos, la reacción es positiva.

Para evitar la posibilidad de emplear conejas preñadas, es aconsejable mantenerlas tres o cuatro semanas completamente separadas de machos, antes de emplearlas.

Se puede inyectar mayor cantidad de orina haciéndolo en dos veces con intervalo de algunas horas; así es posible evitar la muerte del animal provocada por la toxicidad de la orina. Se inyecta 10 cc. y tres o cuatro horas más tarde, otros 5 o 10 cc.

Nosotros hemos observado, que inyectando lentamente es posible dar mayor cantidad sin inconvenientes.

Friedman emplea conejas adultas; pero según Zondek (60), fundado en observaciones personales y de Heape y de Hammond (71), puede haber excepciones en que aparecen puntos hemorrágicos en los ovarios de co-

nejas maduras, aunque no hayan cohabitado con machos. Debido a ésto y con el objeto de evitar posibles errores, Zondek recomendó emplear animales jóvenes, de 1200 a 1600 gr. de peso. Ehrhardt aconseja de 1500 a 1800 gr. Si pesan menos de 1000 gr., no dan la reacción característica del "Lrolán".

En resumen, podemos decir que conviene emplear conejas jóvenes (no infantiles), de 1200 a 1800 gr. de peso, o sea, de tres o cuatro meses de edad, mantenidas separadas de machos, y tener presente la observación de Clausberg (72): Cuanto más maduros son los folículos ya existentes en los ovarios, más fácil y segura es la reacción.

En principio, ésta reacción es asimilable a la de Aschheim y Zondek y su valor diagnóstico, tanto del punto de vista diferencial como de la precocidad, es también aproximadamente igual. Las verificaciones de Reinhart, Scott, Schneider, Magath (73), Borrás (74), etc. y las determinaciones realizadas por nosotros, permiten atestiguar su exactitud en 98-99 % de los casos.

Hay que tener en cuenta, en los trabajos de control de la prueba, el hecho de existir ~~algunos~~ casos donde resultando positiva falsa, no perjudica su valor diagnóstico, porque la afección ya está caracterizada y solamente se realiza el ensayo con el objeto de estudiar su propio mecanismo. Tal ocurre, por ejemplo, en el cáncer del cuello de útero. Borrás (74).

Con el propósito de corroborar el valor diagnóstico de ésta reacción, a la que hemos dado preferencia debido a razones que expondremos más adelante, efectuamos un cierto número de determinaciones, con el resultado siguiente:

30 casos positivos

12 casos negativos

Cuadro detallado de las determinaciones efectuadas.

<u>Nombre</u>	<u>Resultado</u>	<u>Diagnóstico</u>
I. S. de F.	Positivo	Embarazo de 6 semanas
Dr. G.	Positivo	" 5-6 "
Sra. de V.	Positivo	" 10 "
"	Positivo	" 4½ meses
Dr. D.	Positivo	" 4 "
F. B. de M.	Positivo	" 9 "
E. B. de M.	Positivo	" 9 "
I. C. de M.	Positivo	" 9 "
Sra. de C.	Positivo	" 5 semanas
Sra. de L.	Positivo	" 10 "
Sra. de J.	Positivo	" 8 "
Sra. de T.	Positivo	" 6 "
Dr. D.	Positivo	" 8 "
C. de C.	Positivo	" 10 "
Sra. de A.	Positivo	" 6 "
Sra. C. de C.	Dudoso	" 5-6 "
" repetida	Positivo	
A. de A.	Negativo	" 5-6 "
" 10 días después	Positivo	
B. C.	Negativo	" patológico 6 meses
" 15 días después	Positivo	
Sra de .	Positivo	" 5 semanas
R. G. de V.	Positivo	" (amenaza de aborto)
M. C.	Positivo	"
Dr. S.	Positivo	"
A. P.	Positivo	"
Sra. de D.	Positivo	"
Dr. D.	Positivo	"

D. O.	Positivo	Embarazo
R. L. de C.	Positivo	"
R. D.	Positivo	"
Sra. de J.	Positivo	"
K. B.	Negativo	Aborto de 3 meses.
N. I. de C.	Negativo	Embarazo extrauterino
N. S. de F.	Negativo	Anexitis
M. L. F. de E.	Negativo	Quiste de glánd. Bartholino Cervicitis
Sra. de R.	Negativo	Amenorrea
Dr. T.	Negativo	Metrorragia
L. de F.	Negativa	Amenorrea 3 meses después de un parto.
A. M.	Negativa	
Ginecomastico(Dr. R.)	Negativo	

En los casos donde el tiempo de embarazo no está especificado, significa que no se conoce la fecha de la última menstruación.

Los diagnósticos son los que figuran en las historias clínicas respectivas, obtenidos por la observación o por la evolución ulterior.

En dos casos de embarazo, la reacción dió resultado negativo pero repetida varios días después, resultó positiva. Uno era reciente y el otro patológico.

Los resultados consignados se refieren a la observación macroscópica de los ovarios de las conejas. Siempre hemos empleado animales de 1500 a 1800 gr. de peso.

La reacción se hace negativa 4 o 5 días después del parto.

Hemos tenido oportunidad de verificar la reacción en tres casos de abortos provocados por diversas razones, con los resultados consignados a continuación:

Sra. de G., con reacción **Positiva** inmediatamente después del raspaje.

4 días más tarde, **Negativa**

10 " " " , **Negativa**

Sra. de E., **Positiva** a los 8 días de provocado el aborto. No había eliminado totalmente la placenta.

**Negativa** a los 22 días.

Sra. de A., **Negativa** a los 15 días del aborto.

Para dictaminar sobre el resultado de la reacción, generalmente basta la observación macroscópica de los ovarios de las conejas. El aspecto que presentan, cuando se han formado los puntos hemorrágicos correspondientes a la reacción positiva, es bien típico. El tamaño de los ovarios es mayor que lo normal; los puntos hemorrágicos forman saliencias de color violado obscuro, casi negros. En la figura adjunta están representados comparativamente un ovario correspondiente a una reacción negativa y otro de una reacción positiva.

En caso de duda, si no se puede o no se desea repetir el ensayo, hay que proceder al exámen microscópico de cortes de los ovarios. Para ello se fijan con formol o con el líquido de Zenker, se incluyen en parafina y luego se hacen cortes con el microtomo, los que se colorean en forma apropiada (hematoxilina-eosina). Los folículos hemorrágicos presentan el aspecto que se puede ver en la fotomicrografía que acompañamos, conjuntamente con un dibujo en colores, tal cual se ven al microscopio

REACCION DE FRIEDMAN



DOBLE DEL TAMAÑO NATURAL

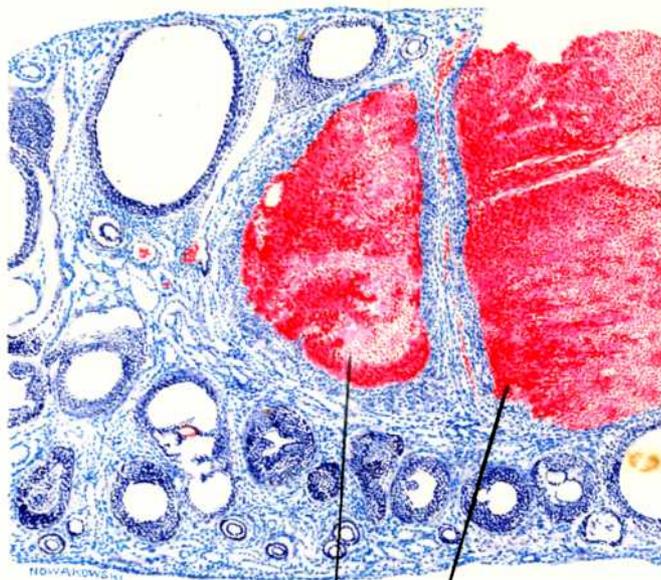
- 1 -

REACCION DE FRIEDMAN POSITIVA

Fotomicrografía de un corte de ovario de coneja,  
donde se pueden ver claramente dos folículos hemorrágicos.



REACCION DE FRIEDMAN POSITIVA



- 3 -

Corte de un ovario de coneja, mostrando  
dos folículos hemorrágicos.  
(Coloración hematoxilina-eosina)

-----

Reacción de Brouha, Hinglais y Simonnet.-

En 1929 Brouha y Simonnet (75) comunicaron haber observado que la orina de mujer embarazada ejerce una acción estimulante sobre los órganos genitales masculinos. Sobre ésta base, Brouha, Hinglais y Simonnet (76) dieron a conocer en el VIº Congreso de Obstétricos y Ginecólogos de habla francesa, celebrado en Bruselas en octubre de 1929, un método para el diagnóstico de la gravidez, empleando ratones machos en lugar de hembras impúveres, como se hace con la técnica de Aschheim y Zondek.

En ratones impúveres produce aumento del tamaño de los testículos y de las vesículas seminales. En animales adultos no se observa aumento del tamaño de los testículos, pero sí de las vesículas seminales.

La técnica, que es una modificación de la de Aschheim y Zondek, reemplaza los cinco ratones hembras impúveres por un solo animal macho.

Se emplea orina aséptica o filtrada, ácida. Se inyecta diariamente 0,3 cc. durante 10 días y se sacrifica el último día. Se abre la cavidad abdominal y reclinando la vejiga, se observan las vesículas seminales. Se cortan con tijeras finas para pesarlas al 1/10 de mgr. El peso de las vesículas de un animal impúver es de 2 a 5 mgr.; en el animal tratado dichas glándulas se hacen enormes, invaden la cavidad abdominal y decuplican su peso.

También es posible emplear un ratón púver, sin inconveniente. En el animal no tratado, de unos 14 gr., el peso de las vesículas es de 25 mgr.; llegando a 90 mgr. <sup>el animal</sup> en tratado.

El examen macroscópico siempre basta, según los autores, tanto por verse el desarrollo en volumen como por el aspecto característico blanquecino y turgesciente de las vesículas.

Reacción de Borst, Döderlein y Gostimirovié.-

Borst (77), en un trabajo referente a la influencia de las hormonas del lóbulo anterior de la hipófisis sobre los órganos genitales masculinos: testículos, vesículas seminales y anexos, en ratones de tres categorías de edad, (I) de menos de 26 días, (II) de 26 a 40 días y (III) de más de 40 días, estableció que los más sensibles son los pertenecientes al grupo (I), menores de 26 días.

Basados en éste trabajo previo y aplicando una técnica similar a la Aschheim y Zondek, Döderlein y Gostimirovié (78.) elaboraron un método aplicable a ratones machos menores de 26 días (calculados hasta el momento de nacerlos).

Se toman dos ratones de la misma ventregada; uno de control, al otro se le inyecta, subcutáneamente, el 1<sup>er</sup> día dos veces 0,3 cc. de orina, el 2<sup>o</sup> día tres veces 0,3 cc., el 3<sup>o</sup> una vez 0,3 cc., luego de una pausa de un día, se sacrifica el 5<sup>o</sup> día, o sea a las 100 horas.

Para la prueba se puede aplicar el método expuesto por Zondek (79) para concentrar las hormonas sexuales.

Examinando los testículos se observa: (I) Fuerte aumento de las mitosis de los espermatogonios como de los espermatocitos, con disolución estelar de las células seminógenas y formación de simplasmas. (II) Aumento del tamaño de las vesículas seminales y de los órganos anexos. División glandular y mayor mitosis en el epitelio vesicular, como también, amenudo, notable aumento de líquido segregado.

La caracterización del embarazo empleando animales machos, ofrece algunos puntos débiles en lo referente a su especificidad, según se deduce de los trabajos de *contrata* realizados por algunos investigadores.

Así, por ejemplo, Traus (80) comunicó haber tenido reacción positiva con el método de Prouha, Dinglais y Simonnet, en casos de carcinoma uterino, castración, etc. y llega a la conclusión que el método del animal macho, para el diagnóstico del embarazo, debe considerarse solamente como un complemento de la reacción de Aschheim y Zondek y no puede reemplazarla, porque es menos específica.

Esta manera de ver es compartida, también, por Kostimirovié (81). El animal macho es más sensible que la hembra para la hormona femenina; reacciona positivamente en casos en que la reacción de Aschheim y Zondek solo revela la 1ª fase (maduración de los folículos) y por lo tanto no existe embarazo; como sucede en el climacterio, en ciertas formas de amenorrea, castración y carcinomas genitales. Por ésta razón estima que la reacción positiva en el animal macho no ofrece garantía suficiente para diagnosticar gravidez.

De manera que el optimismo despertado por la comodidad de poder emplear animales machos y de cualquier edad, para caracterizar el estado de gravidez, se vé defraudado ~~para~~ la incertidumbre ante un resultado positivo. Parece ser que la elevada concentración del "Prolán" A sea la causa de los errores.

La ventaja de emplear animales machos, sobre la reacción original de Aschheim y Zondek, reside en el hecho de no ser necesario apelarse a la observación microscópica para establecer el diagnóstico, como suele ocurrir en aquella. Siempre basta la observación macroscópica de las vesículas seminales, para dictaminar sobre el resultado de la reacción

Reacción de la "hipercolesterolemia hormonal".-

Farece ser que la inyección de hormona del lóbulo anterior de la hipófisis, en conejos, perros, ratas y ratones, puede provocarles un aumento del colesterol sanguíneo (Reiss y Langendorf (82)). Pero los resultados no son muy categóricos.

Parhon y Cahane (83), encontraron también que inyectando cantidades variables de orina de mujeres embarazadas a conejas, les produce aumento del colesterol en el suero; en cambio la orina de varón o de mujer no grávida, no produce dicho efecto. Las variaciones que éstos autores dicen haber hallado, no son muy pronunciadas.

Partiendo de la misma base, Masciotra y Martínez de Roz (84), han propuesto un método biológico para el diagnóstico del embarazo, llamado por ellos, de "hipercolesterolemia hormonal". Para la realización de la prueba se procede así:

Se recoge la orina asépticamente por sondaje de la vejiga.

Se determina la cantidad de colesterol sanguíneo de un cobayo, luego se le inyecta 3 cc. de la orina en examen. A las 24 horas se vuelve a determinar la colesterolemia.

Si se produce un aumento apreciable, superior al 25 %, en la cantidad de colesterol, el resultado es positivo, es decir, se trata de una orina de mujer gestante. En el caso que no se produzca dicho aumento, la reacción es negativa.

Los autores emplean indistintamente cobayos machos o hembras y de cualquier edad.

El dosaje de colesterol lo efectúan por el método de Grigaut, en plasma o en sangre entera, extraída por punción del corazón.

Según los autores de la reacción, es absolutamente exacta y revela precozmente el embarazo. Además ofrece la ventaja de permitir el empleo de cualquier animal, sin necesidad de sacrificarlo.

Sin embargo, los fundamentos de la prueba ~~no~~ <sup>son</sup> ~~correctos~~ <sup>divertidos</sup> actual-

mente ~~sin discusión~~ y las experiencias publicadas por los autores en el trabajo, no son suficientemente numerosas como para aceptar su valor diagnóstico sin comprobaciones.

El trabajo original es muy reciente y hasta la fecha no han aparecido otras publicaciones referente al mismo asunto, de manera que carecemos de los elementos de juicio aportados por otras personas, para permitirnos un juicio más o menos definitivo.

Nosotros hemos tratado de verificar el valor de la reacción, examinando <sup>once</sup> ~~un cierto número de~~ orinas de embarazadas. Los resultados que obtuvimos, fueron casi todos negativos; no hemos observado tal aumento de colesterol sanguíneo <sup>en la orina</sup>. Puede objetarse que no haber seguido estrictamente la técnica en ciertos puntos, que no consideramos fundamentales. Es decir, empleamos orinas frescas, pero no extraídas por sonda de la vejiga, y los dosajes del colesterol los efectuamos por el método de Sackett, en lugar de emplear el de Grigaut.

Creemos no haber alterado en nada fundamental la prueba original al permitirnos variar los dos puntos enumerados. Por otra parte, para evitar posible errores de valores absolutos del colesterol, hemos efectuado las comparaciones colorimétricas de las dos determinaciones, correspondientes a cada caso, simultáneamente, con el mismo testigo.

En los primeros cinco casos, los animales no fueron mantenidos en ayunas durante la experiencia; en los cinco restantes, no comieron durante las 24 horas transcurridas entre las dos determinaciones.

Los valores que hemos hallado en las experiencias, están reunidos en el cuadro que <sup>de hallamos</sup> ~~vé~~ en la página siguiente. Todos son casos de orinas de mujer embarazada.

Solamente en un caso, el 10, constatamos un aumento del colesterol mayor de 25 %, variación establecida como límite inferior para dar por positiva la reacción.

Prueba de la "hipercolesterolemia hormonal".-

<u>Experiencia</u>	<u>Tiempo de embarazo</u>	<u>Colesterolemia</u>	
		<u>Antes de la inyec.</u>	<u>24 h. desp</u>
1	5½ meses	0,57 o/co	0,64
2	8 meses	0,81	0,75
3	8 meses	0,73	0,73
4	9 meses	0,71	0,81
5	4 meses	0,75	0,81
6	5½ meses	0,81	0,90
7	8 meses	0,63	0,77
9	5½ meses	0,76	0,81
10	6 meses	0,59	0,81
11	Reacción de Friedman positiva.	0,80 (coneja)	0,73

-----

Antes de terminar éste capítulo correspondiente a las reacciones, de embarazo, agregaremos otras dos, que, ~~sin ser de laboratorio~~, caben dentro del cuadro de éste trabajo.

#### Reacción de Geller.-

Consiste simplemente en la constatación de la presencia de glucógeno en la secreción vaginal, por medio de la solución iodurada de Pregl. Geller (85).

#### Reacción de Engelhorn y Wintz.-

Engelhorn y Wintz (86) han empleado una reacción cutánea (similar a la de von Pirquet), con albúmina placentaria.

Se practica una inyección intradérmica de albúmina placentaria en un punto cualquiera <sup>de la piel de la</sup> paciente, y al cabo de 36 horas se observa el sitio de la inyección. Si aparece una mancha rojo-marrón, congestiva, el diagnóstico es positivo. En caso contrario, no existe embarazo.

Parte III

Elección de la técnica más apropiada en relación con la clínica humana. -

Por el examen crítico de los diferentes métodos propuestos para establecer el diagnóstico de la gravidez, es posible efectuar una selección que permite descartar, de la práctica corriente, la mayor parte de ellos.

Actualmente, se acepta, casi única y unánimemente, las pruebas basadas en los principios establecidos por Aschheim y Zondek, es decir, por la caracterización de los principios activos del lóbulo anterior de la hipófisis que provocan la formación de quistes hemorrágicos y cuerpos amarillos (fases-II-y-III-) en el ovario del animal reactivo.

Las demás reacciones publicadas hasta ahora, no ofrecen garantías suficientes como para ser elementos de juicio de valor, para establecer un diagnóstico precoz o diferencial definitivo del embarazo.

Aún la prueba de Aschheim y Zondek tiene 1-2 % de resultados falsos, pero se acepta como suficientemente exacta, teniendo en cuenta la naturaleza "biológica" de la reacción.

Ofrece un inconveniente serio, que no es posible dejar de tener en cuenta: el escaso tiempo en que los ratones pueden ser empleados. Esto exige el mantenimiento de una colonia de dichos animales, cosa ni fácil ni económicamente siempre posible. Además exige cinco días para obtener el resultado.

El método de Brouha, Hinglais y Simonnet (y aún el de Borst, Böderlein y Gostimirovié), con animales machos, es algo más abordable, del punto de vista del animal reactivo; pero, como hemos visto, sus resultados no son tan seguros como los de la reacción de Aschheim y Zondek.

Afortunadamente la reacción de Friedman ofrece todas las garantías de la reacción de Aschheim y Zondek y reúne, además, otras ventajas

de importancia apreciable en la práctica.

En primer lugar, el amplio periodo de tiempo en que las conejas son utilizables y el empleo de un sólo animal, que no es necesario sacrificar, si se desea, porque puede observarse el resultado por una ~~simple~~ operación quirúrgica <sup>simple</sup> que ponga los ovarios al descubierto.

Además, el tamaño de los ovarios permite una observación macroscópica muy fácil. Raramente es necesario apelar a los cortes histológicos para conocer el resultado.

Finalmente la rapidez de la reacción, que permite dar el resultado a las 24 horas de inyectada la coneja.

Todas estas razones hacen de la prueba de Friedman, el elemento más cómodo y seguro para establecer un diagnóstico prematuro o clínicamente dudoso de embarazo en la mujer.

#### Aplicaciones a la medicina veterinaria.-

La presencia de la hormona ovárica (foliculina) en la sangre de animales adultos, sexualmente maduros, no grávidos, fué revelada primero por Frank y sus colaboradores (87) y Loewe (88), trabajando independientemente. Más tarde Fels (89) halló que ésta substancia se encuentra aumentada en la sangre los animales preñados, lo que también confirmaron Aschheim y Zondek (59). Luego Smith y Eagle (90) y Zondek y Aschheim (91), trabajando independientemente, comprobaron la presencia de las hormonas del lóbulo anterior de la hipófisis.

Según Cole y Hart (22), el suero de yeguas no preñadas y preñadas hasta el 37º día, no ejerce acción sobre el ovario de ratas impúberes. La reacción ovárica aparece entre el 37º y 42º día de preñez y desde entonces hasta el 80º día el efecto es notable, pero al final de la preñez la reacción solo se hace notar sobre el útero y la vagina.

Parece existir una correlación entre la hormona prehipofisaria

produce a los 40 días de ser cubierta por el macho (en la mujer se implanta al 7º día).

Existe una correlación cuantitativa entre la cantidad de suero inyectado y la intensidad de la reacción provocada en el ovario.

La presencia de la hormona prehipofisaria en la sangre de las yeguas preñadas, puede servir para el diagnóstico desde ~~en~~ la 6-7 semanas de gestación. Pasados los 100 días la reacción se localiza en el útero y la vagina, probablemente debido a la foliculina.

Brühl (22) probando la reacción de Aschheim y Zondek con orina de yeguas y vacas preñadas no consiguió caracterizar las hormonas del lóbulo anterior de la hipófisis, <sup>an</sup> irradiando <sup>la rina</sup> previamente a la inyección con luz ultravioleta y rayos Röntgen,

Pero Zondek (3) comprobó que durante la gestación las yeguas eliminan por la orina cantidades enormes de foliculina, cantidades reducidas de "Trolán A" y nada de "Trolán B". En estado normal las yeguas eliminan solo cantidades pequeñas de foliculina. Pasado en ésta diferente cantidad de foliculina en la orina, el mismo autor ha propuesto una prueba de diagnóstico de gravidez para dichos animales.

Se toman 5 ratas impúveres de 25-35 gramos. Las dos primeras reciben 6 inyecciones de 0,05 cc. de orina y las restantes 6 de 0,10 cc. Se inyectan el primer día a las 10 y a las 17 horas, el segundo día a las 10, a las 13 y a las 17 horas y el tercer día a las 10 horas. Se observa la aparición de la fase I de la reacción original de Aschheim y Zondek, o sea desarrollo de la vagina y demás manifestaciones del celo, en el caso positivo.

Con ésta prueba el autor ha obtenido:

Con 9 yeguas no cubiertas, todas resultado negativo.

Con 17 yeguas cubiertas pero no fecundadas, 16 resultados negativos y 1 positivo falso.

Con orina de 54 yeguas preñadas, la reacción fue 53 veces ~~positiva~~ y 1 negativa falsa.

La reacción de Friedlan fué probada por Magath y Schlotthauer (73) con orina de yeguas, vacas, cerdos, perras preñadas con resultado negativo en todos los casos. Observaron que las dosis máximas de orina tolerable por las conejas, era 5 cc. de yegua, 3 cc. de vaca, 15 cc. de cerdo y 5 cc. de perra.

Por nuestra parte hemos ensayado la prueba de Friedlan con orina de dos vacas supuestas preñadas. Contrariamente a lo afirmado por los autores norteamericanos, hemos podido inyectar 6 y 7 cc. de orina (por la marginal de la oreja) sin inconvenientes, teniendo la precaución de diluir previamente con igual volumen de agua e inyectar lentamente. Cada orina la probamos en dos animales simultáneamente. Fueron preparadas así: después de acidular debilmente con ácido acético, filtramos, diluimos con igual volumen de agua y agregamos 5 cc. de glucosa. Cada coneja recibió 20 cc. de orina, o sea 40 cc. de la dilución, en tres porciones con intervalos de 3-5 horas. Los animales fueron sacrificados a la 48 horas.

Orina I.-(Vaca preñada de 4-5 meses)

Coneja de 1800 gr. Ovario normal, no se observan puntos hemorrágicos.

Útero fuertemente congestivo.

Coneja de 1500 gr. Ovario normal, sin puntos hemorrágicos.

Útero congestivo.

Orina II.-(Vaca de 2-3 meses de preñez)

Coneja de 1800 gr. Ovario normal, sin puntos hemorrágicos.

Útero normal, filiforme.

Coneja de 1500 gr. Ovario normal, sin puntos hemorrágicos.

Útero normal, filiforme.

Hemos probado la acción de la orina I sobre los órganos genitales de un cobayo macho, joven. La orina acidulada y con 5 % de glucosa fué inyectada durante cinco días, a razón de 2 cc. cada día en una sola vez, subcutáneamente, a un cobayo de 33 gramos. Sacrificado al 10<sup>o</sup> día y comparando los órganos genitales con los de un animal testigo del mismo peso, no se observa diferencia.

La dificultad para obtener el material nos ha impedido ampliar los ensayos con orinas de animales preñados, como era nuestro propósito y deducir alguna conclusión de utilidad. Los datos que acabamos de consignar solamente tienen un valor ilustrativo y en parte desvirtúan las afirmaciones de los autores norteamericanos a que hemos hecho referencia, *porque los animales pueden soportar mayores dosis de orina infectada en ciertas condiciones.*

Parte IV

Acción de algunas hormonas sobre la germinación de semillas y sobre el crecimiento de plantas.-

-----

Al ~~principio~~ <sup>comienzo</sup> de éste trabajo hablamos de la influencia de la orina de mujer embarazada sobre el desarrollo de las plantas. La tradición popular ha ido transmitiendo de una generación a otra la observación del fenómeno.

Actualmente, a la luz de los nuevos conocimientos, el hecho adquiere una nueva significación y reclama ser acelerado. Se piensa en una acción hormonal, de la foliculina o del "rolón", caracterizados en la orina de gestante.

Schoeller (93) y Schoeller y Goebel (94) han encontrado que agregando foliculina al agua en que desarrollan jacintos o cebollas, por ejemplo 200 Unidades ratón por semana, las plantas crecen más ligero y florecen antes que los controles no tratados. La hormona es absorbida con el tiempo por las plantas. Observan un efecto semejante en el desarrollo y fuerza de las plantas de maíz, agregándole hormona.

Müster (95) estudió la acción de la orina de mujer grávida y no grávida, igualando el contenido en nitrógeno por dilución, sobre la germinación de semillas de cebada. Al cabo de 72 horas, el desarrollo de las semillas en la orina de mujer gestante era casi 2 cm. mayor que los controles en orina de mujer no grávida, bajo la acción de la luz roja. En resumen llega a la conclusión que en la orina de mujer embarazada existe una hormona que acelera el desarrollo de las plantas. Esta acción es estimulada por la luz roja y alterada por la luz ultravioleta, probablemente destruyendo la hormona.

No sería nada extraño que la acción estimulante del desarrollo se

encuentre en algún principio activo aún no caracterizado. Por lo menos es lo que parece deducirse de nuestras experiencias, según puede verse por los resultados que ~~van~~ detallamos más adelante.

En primer lugar hemos investigado la acción sobre la germinación de las semillas y luego sobre el desarrollo de la planta ya germinada. Para las experiencias empleamos maíz blanco "americano", de buena calidad, eligiendo los granos de mejor aspecto y del mismo tamaño.

Después de una serie de pruebas para determinar las mejores condiciones de experimentación, llegamos a establecer las técnicas siguientes:

Para probar la acción sobre la germinación de las semillas, tomamos cápsulas de Petri conteniendo trozos de papel secante, sobre los cuales colocamos 5 granos de maíz para cada caso. Luego de agregar cantidades medidas de agua y de la sustancia en estudio, las colocamos en la estufa a 25-27°. Al cabo de 48-72 horas medimos la longitud de los brotes de las semillas germinadas, tomando el término medio como cifra de comparación.

Para estudiar la acción sobre el desarrollo de las plantas, tomamos macetas de unos 250 cc. de capacidad, con aserrín de madera húmeda, colocadas sobre cristalizadores con agua. En ellas sembramos 5 granos de maíz en cada una, llevándolas después a la estufa a 25-27° hasta aparecer las plantitas al nivel del aserrín. Para regar con las sustancias en estudio, elevamos las macetas con plantas igualmente desarrolladas y continuamos las experiencias al aire libre, a la temperatura ambiente y luz difusa, regándolas periódicamente. Para control ~~en~~ <sup>con</sup> cada sustancia tomamos dos macetas.

Al cabo de varios días medimos la altura de las plantas, descartando las plantas no germinadas, para tomar el término medio como dato final.

Contrariamente a lo afirmado por Schoelle y Joebel, nosotros no hemos observado acción estimulante de la foliculina ("Frogynon"-Ciba), ni tampoco el "Relán" (Bayer), ni la adrenalina, ni la espermina parecen actuar en forma favorable, con las tortas ensayadas.

El carbón animal (Merk), que adsorbe la foliculina de la orina, parece ejercer también un principio muy activo sobre el desarrollo de las plantas de maíz. Puede apreciarse la acción en el gráfico 3 (D). El carbón solo no tiene acción apreciable, como hemos verificado.

Conclusiones

- I).-El mejor elemento, actualmente conocido, para establecer un diagnóstico precoz y diferencial de embarazo en la mujer, es la hormona (o las hormonas) del lóbulo anterior de la hipófisis que provoca la formación de puntos hemorrágicos y cuerpos lúteos. La hormona circula en la sangre y aparece en la orina durante la gestación.
- II).-Para caracterizar la hormona del lóbulo anterior de la hipófisis, en la orina de mujer embarazada, el animal reactivo más cómodo y seguro es la coneja (Reacción de Friedman)
- III).-Existe probablemente en la orina de mujer embarazada un principio activo, estimulante del desarrollo de las plantas, que muy posiblemente no es la foliculina ni el "Frolán".

-----  
*Carlos Grist*

Bibliografía.-

- A).-Abferhelden E. - Fermentos defensivos del organismo animal.
- B).-Acadnan J. - Chemical Embriology
- C).-Rondoni A. - Biochimica
- D).-Rubinstein T. - Serologie et Serodiagnostics
- 
- 1).-Aschheim W.-Schwangerschaftsdiagnose aus dem Harn durch Nachweis des Hypophysenvorderlappenhormon.-Klin. Wochr. 1928  
31, Pag. 1453.
- 2).-Cole H. A. y Hart G. H.-The potency of blood serum of mares in progressive stages of pregnancy in effecting the sexual maturity of the immature rat.-Am. J. Physiol. 1930,  
T. 93, Pag. 56-58.
- 3).-Rondak B.-Hormonale Schwangerschaftsreaktion aus dem Harn bei Mensch und Tiere.-Klin. Wochr. 1930, 49, Pag. 2285.
- 4).-Accoli -Munch. med. Wochr. 1910 No. 2.
- 5).-Accoli e Izar -Munch. med. Wochr. 1913 Pag. 403, 1170.
- 6).-Färneus K.-Physiol. Rev. 1929, 1.9, Pag. 241.-Bioch. Zeitschr. 1918,  
Vog. 89.
- 7).-Linzenmeyer .-Eine neue Schwangerschaftsreaktion und ihre theoretische Erklärung.-Blatt. f. Gyn. 1920 No. 30  
Zblatt. f. Gyn. 1922 Pag. 535
- 8).-Gragert O.-Die Bedeutung der Senkungsgeschwindigkeit der Erythrocyten.-Arch. f. Gyn. 1923 Pag. 421.
- 9).-Gänssle H.-Klinisches ueber die Fahrhäusche Schwangerschaftsreaktion.-Munch. med. Wochr. 1922 Pag 578.
- 10) Zangemeister W. y Krieger E.-Serologische Untersuchungen mit dem neuen Zeisschen Stufenphotometer.-Munch. med. Wochr. 1928, Pag. 1577.

- 11).-Pfleiderer A.-Der gegenwärtige Stand der biologischen Schwangerschaftsdiagnose und der Serologische Elternkindbeziehungen.-Mon. f. Geb. u. Gyn. V.88 Pag.1
- 12).-Vogel F.-Untersuchungen über die Schwangerschaftsreaktionen nach Dienst.-Zblatt. f. Gyn. 1928 Pag.780.
- 13).-v. Seitzinger Kj.-Zur Ninhydrinflokkungsreaktion als Schwangerschaftsreaktion nach Vogel.-Zblatt. f. Gyn. 1926 Pag.2555.
- 14).-Bragert O.-Ueber den Wert verschiedener Methoden zur Erkennung der Frühgravidität.-Ztschr.f.Geb.u.Gyn.1928 V.93.
- 15).-Sachs H.-Ueber die Beziehungen des Kobragiftes zu den roten Blutzellen.-Munch. med. Wschr. 1908 Pag.9.
- 16).-Bauer y Lehndorff.-Die Aktivierung der Kobragiftanalyse durch menschliche Sera.-Wien. med. Wschr. 1909 No.28.
- 17).-Heynemann Th.-Eine "Reaktion" im Serum Schwangerer, Krisender u. Töchterinnen.-Arch.f.Gyn.1910 V.90 Pag.236.
- 18).-Bar y Ecalle.-De l'utilisation pour le diagnostic de la grossesse des recentes découvertes biologiques.-Arch.Mens.d'Obst et de Gyn. 1919 pag.372.
- 19).-Hertz W.-Weitere Beiträge zur Serodiagnostik.-Zblatt.f. Gyn. 1928 Pag 780.
- 20).-Rodecort E.-Serodiagnostik der Gravidität mit Phosphorwolframsäurelösung.-Zblatt.f.Gyn.1928 Pag 2697.
- 21).-Sebtschuk L.-Zur Früher Serodiagnostik der Gravidität mit Phosphorwolframsäurelösung.-Zblatt.f.Gyn.1931 Pag.1991.
- 22).-Manollow E.-Eine einfache Serumreaktion zur Schwangerschaftbestimmung.-Arch.f.Gyn.1930 V.140 Pag.138  
Zblatt.f.Gyn. 1930 No.46.
- 23).-Moschkow B. M.-Manollowsche Reaktion zur Bestimmung der Schwangerschaft nach dem Blutserum.-Zblatt.f.Gyn.1931 Pag.154.
- 24).-Nerson H.-La reaction de Manollow pour le diagnostic de la

- grossesse.-Bull.Soc.Obst.et Gyn.de Paris 1931 Pag.103.
- 25).-Brofkin D.L.-Dr.Manoilow's Reaktion zur feststellung der Schwangerschaft.-Arch.f.Gyn.1931 Pag.688.
- 26).-Gymnich P.-Ueber die von Manoilow angegebene Schwangerschaftsreaktion.-Zblatt.f.Gyn.1931 pag.458.
- 27).-Gwetschikow N.y Schischow I.-Die Geschlechtbestimmung auf grund der Blutreaktion.-Zblatt.f.Gyn.1931 Pag.1236.
- 28).-Leon J.-El diagnóstico del embarazo.Con estudio especial de la reacción de Manoilow.-Trabajo de adscripción a la cátedra de Clínica Obstétrica.-ss. As. 1932
- 29).-Rosenthal E.-Zeit. f. Klin. Med. 1911 V. 72
- 30).-Scholz A.-Berliner Tierärztliche Wochr. 1913 No.48 Pag.858  
Merk's Bericht 1913 pag. 527.
- 31).-Kottmann.Z.-Correspondenz-Blatt f. Schweizer Aertze 1917,12,20  
" " " " 1919 ,12  
(Cit. por Rubinstein)
- 32).-Yottmann K.-Reacciones serológicas para el diagnóstico del embarazo y del cancer.-Rev.Arg.de Obst.y Gin.1921 P.107
- 33).-Theonen.-Munch. med. Wochr. 1917 pag. 700.
- 34).-Lütge W. y v.Mertz W.-Die Alkohol Extract Reaktion zum Nachweis von Schwangerschaft, Carcinom, Geschlecht der Finden, etc  
Leipzig 1927.
- 35).-Bragert O.-Ueber die Alkohol-Extract-Reaktion nach Sellheim-Lütge-Mertz und einige ihrer Fehlerquellen.-Mon.f.Gyn. V. 81 Pag.41.
- 36).-Zanniker H.-Ergebnisse mit der A.E.R.nach Lütge-Mertz.-Zblatt.f. Gyn. 1926 Pag. 2301.
- 37).-Weigert H.-Serologische Diagnostik der Schwangerschaft und der Kindergeschlechts-Zblatt.f.Gyn. 1928 Pag. 2699.

- 38).-Dienst A.-Zur Frühdiagnose der Gravidität.-Mon.f.Geb.u.Gyn.  
V. 72 pag. 242.
- 39).-Günsele A.-Ueber die Schwangerschaftsreaktion nach Dienst.-Mon.  
f.Geb.u.Gyn. 1924 V.66 pag.109.
- 40).-Gragert O.-Ueber den Wert verschiedener Methoden zur Erkennung  
der Frühgravidität-Ztschr.f.Geb.u.Gyn.1928 V.93.
- 41).-Lewodzinski T.-Sprawy Menesnego, etc.-Gyn.Polska 1926 No.10-12  
Gyn. et Obst. 1928 T.1 pag.482.
- 42).-Tysoki T.-Sprawy rozpoznania, etc.-Gyn.et Obst.1929 T.1 pag.232
- 43).-Palacios Costa H. y Deluca F.A.-Contribución al estudio del  
diagnóstico del embarazo.La reacción de Dienst.-Rev.  
Arg. de Obst. y Gin. 1926 pag. 173.
- 44).-Frank y Rothmann.-Ueber die Verwerthbarkeit der renale Schwang-  
erschaftsglycosurie zur Frühdiagnose der Schwangers-  
chaft.-Munch. med.Wschr.1920 pag.1433.
- 45).-Roubitschek R.-Die renale Schwangerschaftsglycosurie als Früh-  
symptome der Gravidität.-Klin.Wschr.1922 pag.220.
- 46).-Kannitzer y Joseph.-Eine neues Verfahren zur Feststellung der  
intra u. extrauterinen Frühgravidität.-Med. Klin.1922  
pag. 396.
- 47).-Hellnuth K.-Über Kunstlich erzeugte Glycosurien und ihre Ber-  
wertung für der Frühdiagnose der Gravidität in der  
Praxis.-Klin.Wschr.1922 pag. 1152.
- 48).-Dienst A.-Zur Frühdiagnose der Schwangerschaft aus dem Urin.-  
Zblatt.f.Gyn.1928 pag.2048.
- 49).-Derankowa E.-Die Bestimmung der Frühschwangerschaft mittels der  
Ninhydrin Probe im Urin nach Dienst.-Mon.f.Geb.u.Gyn.  
T.86 No 1 y 2.
- 50).-Stockard R.C. y Papanicolau G.M.-The existence of a typical oes-  
trus cycle in the guinea-pig with a study of its his-

- tological and physiological changes.-Am.J.of Anat.1917 T.22 Pag.225.
- 51).-Long y Evans.-Memoire of the University of California-1922, No.6
- 52).-Frank I.T.-The ovary and the endocrinologist.-J.of the Am.Med. Ass. 1922 No.78 Pag.181.
- 53).-Daisy E., Ellis J.O., Allen E. y Johnston I.I.-The extraction and some properties of an ovarian hormone.-J.of Biol.Chem. 1924 T.61.
- 54).-Allen E. y Daisy E.-The induction of a sexually mature condition in immature females by injection of the ovarian follicular hormone.-Am.J.of Physiol. 1924 T.69 Pag.77.
- 55).-Kort, de Jongh, Laqueur y Wijnembeck.-Ueber das Hormon des ovarialen Zyklus.-Dtsch.Med. Wochr.1925,41, Pag.1700.
- 56).-Zondek B. y Aschheim S.-Funktion und Hormon des Ovariums.-Klin. Wochr. 1925 Pag.1398.
- Zondek B. y Braun.-Darstellung des Ovarialhormons in wässriger Lösung.-Klin.Wochr. 1925 Pag.2445
- 57).-Zondek B. y Aschheim S.-Hormon des Hypophysenvorderlappens.Klin. Wochr.1927 Pag.248 - 1928 He 18.
- 58).-Aschheim S. y Zondek B.-Hypophysenvorderlappenhormon und Ovarialhormon im Harn von Schwangeren.-Klin.Wochr.1927 T.1322
- 59).-Aschheim S. y Zondek B.-Schwangerschaftsdiagnose aus dem Harn durch Nachweis des Hypophysenvorderlappenhormon.-Klin. Wochr. 1928 Pag.1410.
- 60).- Zondek B.-Beschleunigte Schwangerschaftsreaktion.-Klin. Wochr. 1931 Pag. 1484.
- 61).-Zondek B.-Über die Hormone des Hypophysenvorderlappens.-Klin. Wochr. 1930 Pag.245.
- 62).-Zondek B.-Schwangerschaftsreaktion aus dem Harn durch Nachweis des Hypophysenvorderlappenhormon.-Klin.Wochr.1930P.964

- 63).-Aschheim F.-Munch. med. Wochr. 1931 Pag. 83
- 64).-Bruha A., Ringlais y Simonnet H.-C.R. Soc. Biol. 1928 T. 99 Pg. 1384.
- 65).-Flecken.- Med. Klin. 1930 Pag. 1913.
- 66).-Kerhardt H.-Artificielle Schwangerschaftsreaktion.-Zeit. f. Gyn.  
1930 No. 47.
- 67).-Kerhardt H.-Die Artificielle Schwangerschaftsreaktion bei der  
Nichtschwangeren Frau.-Mitt. med. Wochr. 1931 Pag. 971
- 68).-García Ramos A.-Comunicación en la Facultad de Medicina de B. As.  
13 de Octubre de 1932.
- 69).-Friedman S.S.-Mechanism of ovulation in the rabbit.-Am. J. Physiol  
1929 T. 89 Pag. 435.
- 70).-Friedman S.S.-Ovulation produced by the injection of urine from  
pregnant women.-Am. J. Physiol. 1929 T. 90 Pag. 617.
- 71).-Hammond.-Reproduction in the rabbit.
- 72).-Glauberg H.-Verbesserung des Aschheim-Landek Schwangerschafts-  
reaktion in Kaninchen.-Mitt. med. Wochr. 11-II-1932 zit.  
por Stachs. med. Wochr. 1932 Pag. 640.
- 73).-Magath I.S., Randall M.L. y Schlotthauer C.F.-Proceed. of the Staff  
Meet. of the Mayo Clin.-Apr. 1932, V. 5, No. 16, Pag. 245.
- 74).-Borras P.A.-La reacción de Friedman en el diagnóstico precoz del  
embarazo.-R. Soc. Arg. Biol. 1932 V. 8 Pag. 195.
- 75).-Brouha A. y Simonnet H.-Action de l'urine de femme gravide sur le  
tractus génital male.-C.R. Soc. Biol. 1929 T. 101 Pag. 369.
- 76).-Bruha A., Ringlais y Simonnet H.-El diagnóstico biológico del em-  
barazo.-El Hospital de Paris 1930-31 No 136-137.  
Bull. Acad. Med. 1930 T. 103 Pag. 150.
- 77).-Borst H.-Über Beziehungen zwischen Hypophysenvorderlappen Hormon  
("Prolan") und der Männlichen Keimdrüse.-Deutsche med.  
Wochr. 1930 Pag. 1117.
- 78).-Borst H., Eöderlein A. y Gostimirovió D.-Geschlechtsphysiologische

- Studien. I Mitt. Münch. med. Wschr. 1930 Pag. 473  
 II " " " 1930 " 1536  
 III " " " 1931 " 19.
- 79).-Zondek B.-Über die Hormone des Hypophysenvorderlappens. IV Darstellung des Follikelreifungshormons ("Prolán" A). Methodik der klinische Harnanalyse zum Nachweis des "Prolán" Klin. Wschr. 1930 Pag. 1207.
- 80).-Kraus E.J.-Über die Verwendungsmöglichkeit infantiles männliches Häuse für die Schwangerschaftsdiagnose aus dem Harn.- Med. Klin 1930 Pag. 1484.  
 Dtsche. Ärzte 24-X-1930 - Med. Klin. 1930 Pag. 1913.
- 81).-Gostimirovié D.-Die Schwangerschaftsreaktion nach Aschheim-Zondek Artz. vor. München e. v. 25--II-1931. Cit. por Münch. med. Wschr. 1931 Pag. 653.
- 82).-Weiss V. y Langendorf K.-Beiträge zur Wirkung des Hypophysenvorderlappenhormon.-Endokrin. 1929,3, pag. 161.
- 83).-Parhon G. I. y Cahane T.-Hipercholesterinemia sérique des animaux recevant en injection l'urine de femme gravide.- C.R. Soc. Biol. 1930 T. 103 pag. 453.
- 84).-Masciotra R. L. y Martínez de Hoz F.-Una nueva prueba químico-biológica para el diagnóstico del embarazo: la hipercoesterolemia hormonal.- La Semana Médica 1932 No. 27 Pg. 53
- 85).-Geller.- Dtsche. med. Wschr. 1924 Pag. 323.
- 86).-Engelhorn y Wintz.-Ueber eine neue Hautreaktion in der Schwangerschaft.- Münch. med. Wschr. 1914 Pag. 639.
- 87).-Frank y colaborad.- J. Am. Med. Ass. 1925, 85, Pag. 510.
- 88).-Loewe C.-Klin Wschr. 1925 Pag. 1407.
- 89).-Fels B.-Klin. Wschr. 1926 Pag. 3249
- 90).-Smith P. D. y Engle E. F.-Am. J. Anat. 1927 Pag. 159.
- 91).-Zondek B. y Aschheim S.-Arch. für Gyn. 1927, 103, Pag. 1.

- 92). - Müller ..... "Seelicht" oder Schwanzschweifstrahlung. - Zeitsch.  
 med. Zeitsch. 1921 pag. 305.
- 93). - Müller ..... - Reaktionen der Wirkung der weiblichen und männli-  
 chen Geschlechts-hormone auf Pflanzen und Tieren. - Zeitsch.  
 med. Zeitsch. 1931 pag. 361.
- 94). - Müller ..... und Kochel ..... - Die Wirkung der Schilddrüsenhormone auf Pflan-  
 zen. - Hoch. Zeitsch. 1931, 19, pag. 1.
- 95). - Müller ..... - Hormon Wirkung bei der Reflexion und Hormonsteigerung  
 durch rotes Licht. - Zeitsch. med. Zeitsch. 1931 pag. 1585.
- 96). - Van Slyke J. D., Vinograd M. J. & Löwe E. R. - The Abderhalden reaction  
 J. Biol. Chem. 1915, 8, 23, pag. 377
- 97). - Ardelli A. - Riv. Soc. Chim. Arg. 1918 8, 6, 31
-

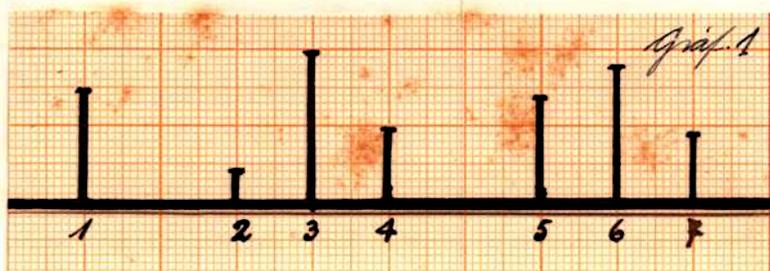
EXPERIENCIA DE GERMINACION

- 1).-Control de agua (10 cc.)
- 2).-Orina de embarazada de 1½ meses, tratada con carbón animal y diluida al 20 % en agua.
- 3).-Orina de embarazada de 1 ½ meses, tratada con carbón animal y diluida al 1,5 % en agua.
- 4).-Orina de mujer embarazada (sin tratar con carbón animal) diluida al 1,5 % en agua.
- 5).-Orina masculina, tratada con carbón animal, diluida al 10 % en agua.
- 6).-Orina masculina, tratada con carbón animal, diluida al 1,5 % en agua.
- 7).-Orina masculina (sin tratar con carbón animal), diluida al 1,5 % en agua.

Temperatura 25°.

-----

Gráfico correspondiente a la experiencia detallada en la página anterior.



Longitud de los brotes a las 72 horas.

1).- 14,4 mm. término medio.

2).- 4.- " " "

3).- 19,5 " " "

4).- 9,5 " " "

5).- 13,6 " " "

6).- 17,8 " " "

7).- 8,6 " " "

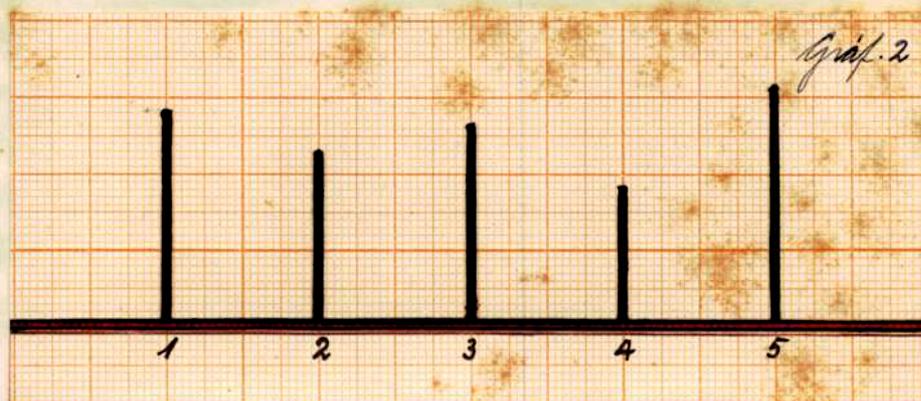
-----

EXPERIENCIA DE GERMINACION

- 1).- Contralinde agua (10 cc.)
- 2).- "Prolán" 30 unidades
- 3).- "Progynon" 100 unidades
- 4).- Adrenalina 1 mgr.
- 5).- Espermina 5 mgr.

Temperatura 25°.

-----



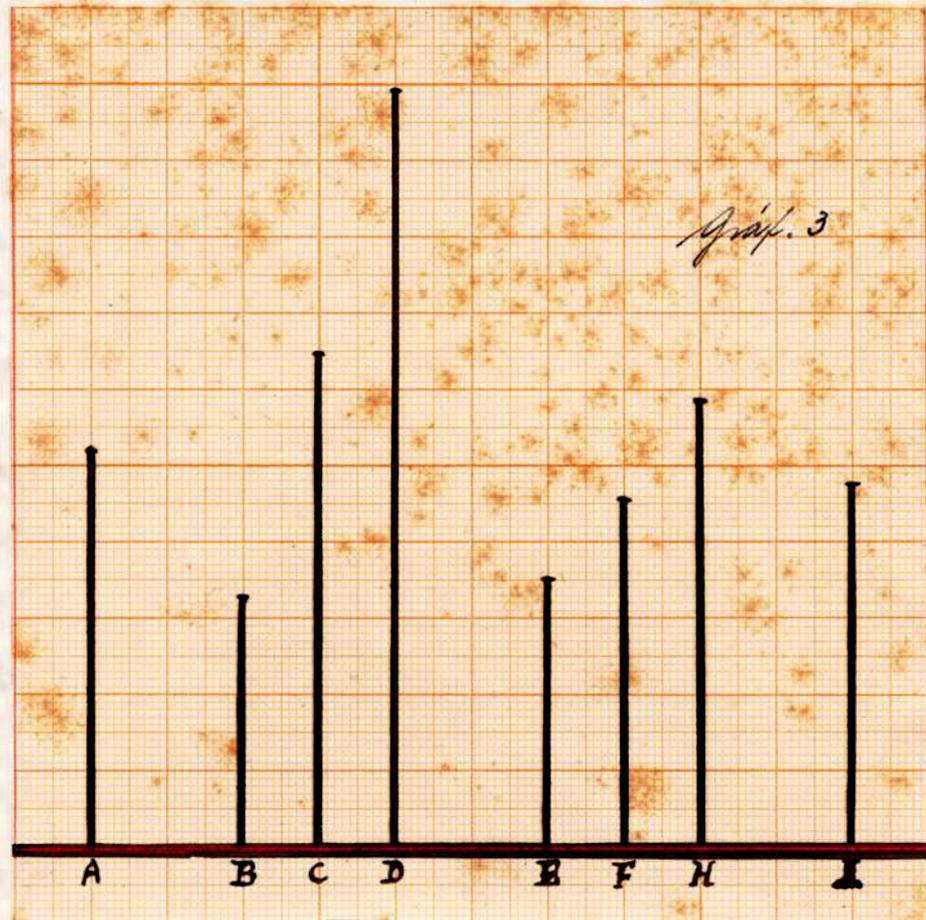
Longitud de los brotes, a las 96 horas.

- 1).- 28, mm. término medio.
  - 2).- 26,4 " " "
  - 3).- 26.- " " "
  - 4).- 18.- " " "
  - 5).- 31,2 " " "
-

EXPERIENCIA DE DESARROLLO

- A).-Plantas de ~~control~~ con agua.
- B).-Plantas regadas dos veces, con siete días de intervalo, con orina de mujer embarazada de 1½ meses. 10 cc. cada vez.
- C).-Plantas regadas dos veces, con siete días de intervalo, con la misma orina anterior tratada con carbón animal. 10 cc. cada vez.
- D).-Plantas regadas dos veces, con siete días de intervalo, con la suspensión acuosa del carbón animal, correspondiente a la orina anterior (C).
- E).-Plantas regadas dos veces, con siete días de intervalo, con orina masculina. 10 cc. cada vez.
- F).-Plantas regadas dos veces, con siete días de intervalo, con la misma orina anterior, tratada con carbón animal, 10 cc. cada vez.
- H).-Plantas regadas dos veces, con siete días de intervalo, con la suspensión acuosa del carbón animal, correspondiente a la orina anterior (F).
- I).-Plantas regadas dos veces, con siete días de intervalo, con orina de mujer normal. 10 cc. cada vez.
-

Gráfico correspondiente a la experiencia detallada en la página anterior.

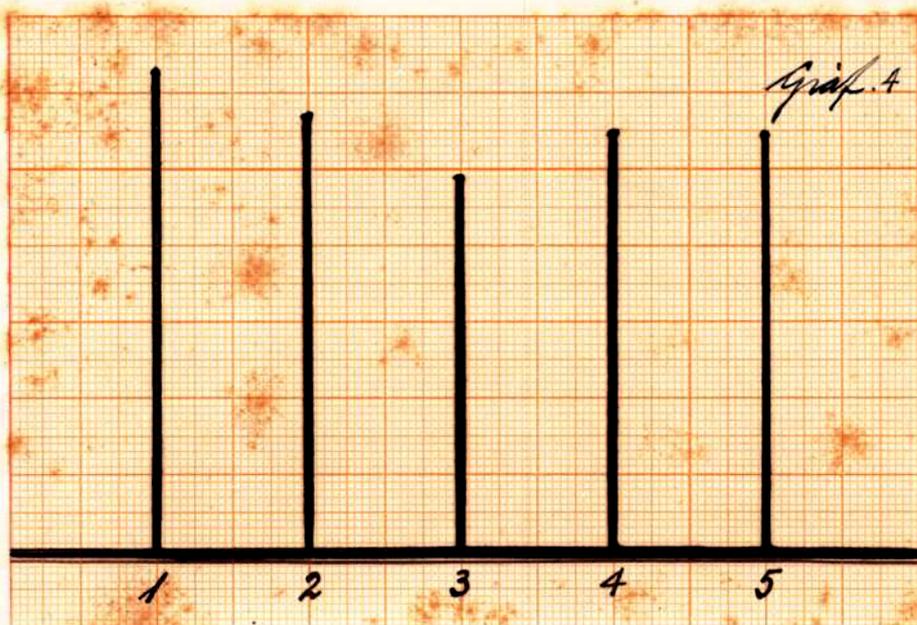


Altura media de las plantas.

	<u>A los 14 días</u>	<u>A los 17 días</u>
A).- .....	52.- mm.	65.5 mm.
B).- .....	32,7 "	34,5 "
C).- .....	64,5 "	66.- "
D).- .....	99.- "	121,5 "
E).- .....	35.- "	43,3 "
F).- .....	45,6 "	51,2 "
H).- .....	58,3 "	78,9 "
I).- .....	47,5 "	54,5 "

EXPERIENCIA DE DESARROLLO

- 1).- Control, con 5 cc. de orina normal.
- 2).- Agregando 1 mgr. de Adrenalina, dos veces, con 7 días de intervalo.
- 3).- " 10 " de Espermina, " " " " " " "
- 4).- " 50 U. de "Progynon", " " " " " " "
- 5).- " 33 U. de Prolán, " " " " " " "

Altura de las plantas.

A los 15 días

- 1).- ..... 62,7 mm. término medio.
- 2).- ..... 56,8 " " "
- 3).- ..... 49,5 " " "
- 4).- ..... 54,5 " " "
- 5).- ..... 54,5 " " "
-