

Universidad Nacional Autónoma de México
ESCUELA NACIONAL DE CIENCIAS QUIMICAS

**Estudio Comparativo
de la
Reacción de Aschheim-Zondek
con
Orina y Suero Sanguíneo**



TESIS

que para su examen profesional de
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA,
presenta la alumna
ESPERANZA MOLINA PALOMARES



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

A mis padres.

A mis hermanos.

*Al Sr. Dr. Don
Tomás G. Perrín*

*Al Sr. Quím. Don
José Suárez Isla.*

A mis maestros y compañeros.

Agradezco sinceramente a la Sociedad de Beneficencia Española, las facilidades que me fueron proporcionadas en los Laboratorios de Biología Médica del Sanatorio Español, para el desarrollo de este trabajo.

- 1.—Importancia de la reacción de Aschheim-Zondek.
- 2.—Técnica de la reacción.
- 3.—Modificación de Friedmann con orina.
- 4.—Modificación de Hoffmann con suero sanguíneo.
- 5.—Estudios personales comparativos con orina y con suero sanguíneo.
- 6.—Conclusiones.

I.—IMPORTANCIA DE LA REACCION DE
ASCHHEIM-ZONDEK

Desde hace muchos años se han hecho intentos con el fin de obtener un procedimiento biológico para el diagnóstico del embarazo, es decir, un método que haga posible dicho diagnóstico en aquellos casos en que el examen clínico sea insuficiente.

Ya en el año de 1350 A. J. (hace 3300 años), se llevaban a cabo procedimientos basados en el desarrollo de ciertas semillas, mediante la orina de la mujer embarazada. Y todavía 3000 años después, en 1697, se tiene una información análoga; según el grado de desarrollo de determinadas semillas, se creía conocer no solamente si la mujer concebiría o no, sino también si se trataba de un varón o de una niña. La influencia de orina de embarazadas sobre el desarrollo de semillas, especialmente sobre trigo y cebada, fué probada por Bak (Budapest). Estos métodos de diagnóstico han tenido gran número de variaciones.

Un decidido adelanto fué aportado por métodos fundados en las reacciones que se producen en la mujer embarazada, frente a las albúminas placentarias que actúan en el organismo como proteínas heterógenas.

En 1907 Chiric y Beauvais trataron de encontrar en la sangre de la mujer embarazada los anticuerpos placentarios valiéndose de la reacción de desviación del complemento de Bordet y Gengou. Estos experimentos fueron repetidos por otros autores hasta que Bar y Écalle, en 1919, llegaron a la conclusión de que este método no era aplicable al diagnóstico en vista de que, además de ser la reacción débil y poco constante, se presentaba por lo regular después de los cuatro primeros meses de embarazo.

Abderhalden en 1911, después de una serie de experimentos, ideó un método que se lleva a cabo poniendo en un dializador fragmentos de placenta totalmente desprovistos de sangre, y suero sanguíneo de la mujer embarazada, a 37°C., durante 24 horas. Las albúminas de la placenta son atacadas y digeridas por las diastasas contenidas en el suero sanguíneo. Los amino-ácidos, producto de la desintegración proteínica, pasan a través de la membrada dializadora y pueden ser reconocidos por la reacción de la ninhidrina. Este método, por término medio, da un diagnóstico correcto en el 85% de los casos. Selheim perfeccionó el procedimiento simplificándolo.

Otros autores han tratado de efectuar el diagnóstico por medio de reacciones anafilácticas semejantes a la de Von Pirquet, Shick, etc., empleando extractos de peptonas placentarias o bien extracto hipofisiario; así se tiene la reacción de Porges Polastcheck que se lleva a cabo por inyección intradérmica de extracto hipofisiario (0.2 c. c.); pero los resultados obtenidos por estos procedimientos son inciertos.

Se conoce también el método de Bercowitz, investigando la acción hormonal sobre las fibras musculares lisas del iris, para el cual se deposita en el fondo del saco conjuntival una pequeña cantidad del suero de la enferma, pero esta reacción no da resultados indiscutibles.

Por lo que se ve, con las reacciones serológicas, a pesar de todos los esfuerzos realizados, no se ha logrado lo que se esperaba. Un 85% de resultados positivos es demasiado poco: un 15% de fracasos en el diagnóstico biológico del embarazo anulan la utilidad práctica de tales procedimientos. La necesidad de una certeza es en este caso, mayor que en otros procedimientos biológicos de diagnóstico, no pudiendo ser suficiente un 90% de aciertos.

Más adelante se trató de llevar a cabo pruebas basadas en los cambios metabólicos del embarazo: aumento de las grasas y lípidos en la sangre, facilidad para presentar glucosuria, etc.

Así se tiene el método de Kamnitzer y Joseph (1921) basado en que inyectando floridzina se produce glucosuria; si se trata de

un individuo normal se requieren 5 mg.; en cambio, en la mujer embarazada, 2.5 mg. son suficientes. Con este método se obtuvo un 90% de certeza en los casos positivos, pero hay casos de embarazo en que la reacción resulta negativa, así como también se pueden obtener reacciones positivas tratándose de mujeres no embarazadas.

Desde luego, todos estos métodos de diagnóstico basados en los cambios metabólicos no tienen el valor que se les atribuía, puesto que dichos cambios no son específicos sino que se presentan fácilmente en muchos estados patológicos.

La necesidad de efectuar un diagnóstico de laboratorio para el embarazo es en algunos casos de gran importancia: diagnóstico diferencial entre embarazo y mioma reblandecido, entre tumor anexial y embarazo extrauterino con huevo vivo; así como también, para determinar la presencia o ausencia del embarazo ectópico, en el que la solución depende de una operación quirúrgica de emergencia. El embarazo prematuro también ha sido confundido con quistes del ovario y fibromas uterinos. El embarazo ectópico ha sido confundido con inflamación pélvica.

Las siguientes condiciones, asociadas con amenorrea, en ocasiones semejan el embarazo prematuro:

Lactancia y principio de la menopausia;

Disfunciones endócrinas como la ovárica, pituitaria anterior, tiroides y adrenal;

Disturbios metabólicos frecuentemente asociados con obesidad;

Anemias primarias y secundarias, severas;

Enfermedades que producen un debilitamiento general como

la tuberculosis y las infecciones agudas;

Intoxicaciones crónicas por plomo y alcohol;

Amenorrea psíquica.

En todos estos casos se impone una prueba de laboratorio para resolver el problema. Esta prueba tendrá valor siempre y cuando reúna determinadas condiciones: 1o.—Que sea específica para el embarazo: 2o.—Que el error no sea mayor de 2-3%; y 3o.

—Que su técnica sea rápida y sencilla; condiciones que sin duda no llenan los métodos citados anteriormente.

Hasta que se obtuvo la reacción de Aschheim-Zondek fué cuando se consiguió casi un 100% de seguridad en el diagnóstico.

En 1927 estos autores dieron a conocer su método, basado en la presencia de gonadotropina en la orina y en el suero de mujeres embarazadas.

La hipertrofia del lóbulo anterior de la hipófisis durante el embarazo fué reconocida por Erdheim y Stumme. Después Aschheim y Zondek mostraron que dicho lóbulo producía una sustancia capaz de iniciar el desarrollo de los ovarios infantiles. Ellos llamaron a esta hormona la motriz de las glándulas sexuales, y descubrieron que se excretaba por la orina en grandes cantidades, durante el embarazo. Desde el momento que era imposible demostrar la presencia de esta hormona en otras condiciones que no fueran las del embarazo —a excepción de mola hidatiforme y corioepitelioma—, su hallazgo es de valor superior a las pruebas que dependen de los cambios metabólicos o serológicos no específicos del embarazo.

De significación básica para llegar a obtener este adelanto fueron los experimentos de Stockaerdt y Papanicolaou (1917); más tarde los de Long y por último los de Evans que condujeron al establecimiento de una prueba objetiva para la hormona folicular.

En 1928 Aschheim y Zondek publicaron los resultados de sus experimentos en los cuales inyectaban la orina de la embarazada a ratones impúberes.

En 1931 Friedmann y Lapham publicaron su aplicación de este método para el diagnóstico biológico del embarazo. Una inspección de los reportes publicados subsecuentemente confirmaron el alto grado de exactitud de los resultados obtenidos con las pruebas hormonales para el embarazo. No obstante estas pruebas, como otras pruebas biológicas, están sujetas a errores, algunos de los cuales pueden ser debidos a una técnica defectuosa.

2.—TECNICA DE LA REACCION

Las relaciones entre la hipófisis y los órganos genitales, son conocidas desde hace muchos años. En 1898, Compte observó por primera vez el aumento de tamaño y de peso del lóbulo anterior de la hipófisis en mujeres embarazadas, hecho confirmado por Launois y Moulon (1908). Sin embargo, debido a los experimentos de B. Zondek y S. Aschheim se efectuó un poderoso adelanto a la vez que apareció un nuevo punto de vista.

Evans y Long, Zondek y Aschheim mostraron que las implantaciones o inyecciones de extractos de lóbulo anterior de la hipófisis, provocaban una sobreactividad de las gónadas acompañada de los efectos correspondientes al nivel del tracto genital. Independientemente Ph. Smith en América, estudió la atrofia progresiva del ovario, del tracto genital, y la supresión del ciclo estral, consecutivos a la ablación de la hipófisis.

Es bien sabido que los ovarios son dos glándulas situadas simétricamente al nivel de las crestas genitales, a cada lado del útero. En la mujer miden de 3 a 4 cm. de longitud y presentan en su superficie cicatrices producidas por la ruptura de los folículos de Graff. La histología de los ovarios varía a cada instante pues sus células están continuamente en vías de transformación cíclica. Se distingue en ellos un tejido conjuntivo, en el cual están aislados los folículos de Graff. Estos están formados por una pequeña vesícula constituida por una capa celular exterior: la teca externa y por una capa celular interior, la teca interna, adherida por dentro a una capa celular, la membrana granulosa, que es portadora del óvulo. Estos folículos encierran al óvulo en sus diferentes estados de maduración, y al líquido folicular. El folículo maduro cada vez más tenso por el líquido folicular, se rompe dejando en libertad el óvulo o gameto femenino que penetra en el oviducto donde pue-

de ser fecundado; de lo contrario degenera rápidamente. A expensas del ovisaco roto y privado del ovocito, se produce inmediatamente un cuerpo amarillo. En ausencia de fecundación el cuerpo amarillo tiene una duración bastante corta. La involución del cuerpo amarillo es el punto de partida de una nueva maduración folicular. Estas transformaciones que tanto el ovario como las glándulas anexas sufren periódicamente, se denominan ciclo estral, entendiéndose por estro, a los fenómenos que preceden, acompañan y siguen a la maduración del folículo de Graff, y que constituyen el ciclo en las hembras. Se puede dividir en cuatro períodos:

1º Diestro o fase de reposo: cuerpo amarillo en vías de regresión; el folículo del ciclo siguiente comienza a madurar; frote vaginal: leucocitos, moco y células epiteliales.

2º Proestro o fase de proliferación: reconstrucción de la mucosa vaginal; frote: células epiteliales nucleadas.

3º Estro o fase de ovulación: ruptura del folículo y salida del óvulo; células de las capas superficiales de la mucosa vaginal queratinizadas.

4º Metaestro o fase de desintegración: el folículo roto se llena de gotitas lipóidicas amarillas y se transforma en cuerpo amarillo; frote vaginal: leucocitos, células epiteliales y células queratinizadas.

Las modificaciones del tracto genital observadas en el curso del ciclo estral están determinadas por dos hormonas: la foliculina o estrógeno y la luteína o progesterona. Durante la fase folicular la mucosa de las trompas y del útero sufre modificaciones debidas a la foliculina; después de la puesta ovular bajo la influencia del cuerpo amarillo, la mucosa uterina prolifera y se hace más espesa, es la reacción decidual que está sometida a condiciones hormonales muy precisas: no se produce si el organismo no ha sido previamente atacado por la foliculina, y necesita un nivel de hormona luteínica suficiente.

Zondek obtuvo, por medio de la implantación de fragmentos de lóbulo anterior de hipófisis, en la parte superior del muslo de ratones impúberes, de 6 a 8 gr. de peso, y después de 90 a 100 horas, ciertas modificaciones del útero y vagina, secreción vaginal, y sobre todo, grandes modificaciones en los ovarios del pequeño roe-

dor. La autopsia demostró que las trompas uterinas habían engrosado grandemente y en los ovarios se podían observar las tres reacciones características:

Reacción I: Madurez de folículos, ovulación, celo. El folículo primordial aumenta de tamaño, llega a su madurez, se rompe y el óvulo penetra en la trompa. Una vez roto el folículo se forma el cuerpo amarillo. Bajo la influencia de la hormona del lóbulo anterior, el folículo maduro secreta la hormona ovárica que a su vez determina el celo, reconocible por el aumento de tamaño y congestión del útero, acompañado de hipertrofia de la mucosa vaginal y cornificación de su capa celular superficial.

Reacción II: Folículos hemorrágicos. El ovario hipertrofiado con vasos sanguíneos grandemente dilatados muestra focos hemorrágicos en la cavidad de los folículos maduros parcialmente luteinizados. Esta reacción característica es reconocible macroscópicamente, por múltiples salientes del tamaño de la cabeza de un alfiler que le dan al ovario un aspecto muriforme.

Reacción III: Luteinización de folículos. Formación de cuerpos amarillos atresicos. La luteinización de la teca se hace tan rápidamente que aprisiona el óvulo. Fuerte desarrollo de las células de la teca y de las células intersticiales del ovario. Los cambios descritos son tan marcados que pueden ser reconocidos macroscópicamente en la mayor parte de los casos.

Evans y Long ya habían hecho notar la reacción III desde 1922, después de haber dado a ratas impúberes durante algunos meses, lóbulo anterior de hipófisis desmenuzado. Aschheim y Zondek continuaron estos experimentos demostrando que se trata de un efecto específico que no se obtiene por medio de otras glándulas. Demostraron también que los cambios en la vagina y en el útero sólo tienen lugar por la presencia de los ovarios. El camino es pues, de la hipófisis sobre los ovarios, al tracto genital. Estos autores examinaron también el suero y la placenta de mujeres embarazadas en busca de la existencia de estas hormonas gonadótropas y obtuvieron poderosos y concisos resultados positivos. Encontraron también que desde el principio del embarazo se segregan en la orina grandes cantidades de hormonas y en esto fundaron su reacción para el diagnóstico.

Antes de describir la técnica llevada a cabo por estos autores para su reacción, creo necesario hacer algunas aclaraciones con respecto al origen de las hormonas gonadótropas.

La hipófisis es una pequeña glándula situada en la fosa de la porción media de la base del cráneo, en la silla turca, entre los dos senos cavernosos, unida a la base del cerebro por el tallo pituitario y limitada por la apófisis clinoides. Consta de tres lóbulos: el lóbulo anterior, glandular, voluminoso y de coloración rojiza; el lóbulo posterior de naturaleza nerviosa, menos desarrollado y de color gris; y el lóbulo intermedio en el que se encuentran cavidades llenas de líquido coloide perfectamente separadas.

Los conocimientos sobre las funciones de la hipófisis proceden casi exclusivamente de las experiencias de extirpación y de las observaciones anatómo-patológicas. Se le considera como la glándula esencial del organismo, como un verdadero cerebro endócrino, ya que mediante sus estimulinas rige el funcionamiento de las restantes glándulas y además secreta entre otras hormonas, las del crecimiento, del metabolismo de los glúcidos, de los lípidos y del agua.

El lóbulo anterior de la hipófisis está formado por islotes secretores constituidos por tres tipos de células:

1º Células cromóforas o principales: sin granulaciones, son consideradas como células madres.

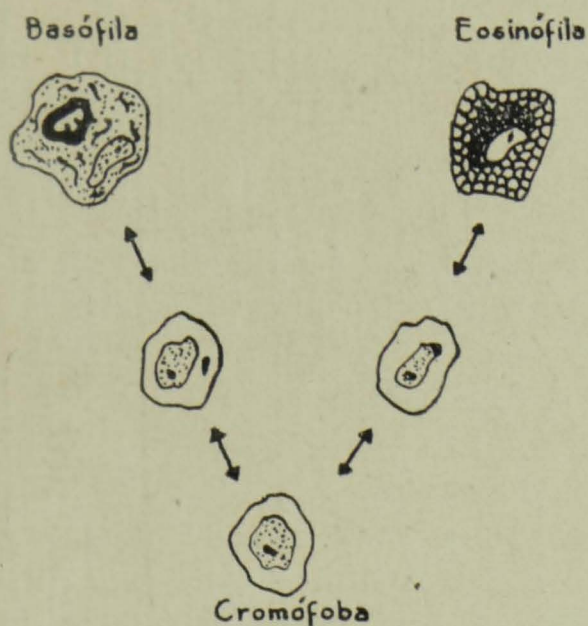
2º Células eosinófilas: grandes y repletas de granulaciones rosas, si se tratan por la eosina.

3º Células basófilas: grandes y con granulaciones de color azul, si se tratan por este colorante básico.

La proporción de estos elementos celulares varía según el estado excretor de las restantes glándulas, el sexo, el embarazo, la lactancia, la extirpación de otras glándulas, etc. Durante el embarazo las células cromóforas son las preponderantes por lo que se les llama las células del embarazo, siguiendo después las basófilas y por último las eosinófilas. En estado normal predominan las eosinófilas.

Debido a que los diferentes autores no se han podido poner

de acuerdo acerca del lugar en donde se produce la hormona gonadótropa, no es de extrañar que Severinhaus, y junto con él la mayoría de los autores, se imaginen la transformación de una clase de célula en otra, ya sea directa o indirectamente, pasando por la célula cromófoba según el siguiente esquema:



Para demostrar lo difícil que es dar solución a este problema, se mencionan algunas opiniones al respecto: Ph. E. Smith encontró que en la porción cortical de la hipófisis de la vaca existen células eosinófilas, y que en la parte central se encuentran sobre todo células basófilas. Haciendo experimentos en animales con las por-

ciones de la hipófisis de la vaca, se observaron efectos gonadótropos con la parte central de la hipófisis. También Cushing, Berblinger, Fels, Kehrer, y la mayoría de los experimentadores opinan que se pueden señalar a las células basófilas como a las formadoras de hormonas gonadótropas. Phillip, que ha superado todos los trabajos en esta materia toma a las células eosinófilas como a las originarias de los elementos gonadótropos, cuando menos de la gonadoestimulina A (estimuladora del crecimiento de folículos). Por último Seitz cree que las glándulas principales son las formadoras de las hormonas gonadótropas.

Haciendo experimentos de implantación de lóbulo anterior de hipófisis de embarazadas muertas durante la preñez, se obtuvieron resultados negativos. Phillip, basándose en numerosos experimentos, supuso que la hormona tenía un origen coriígeno, es decir, que provenía de la placenta; en tanto que Zondek fué de opinión de que la hipófisis era la principal productora, sin dejar de tener en cuenta a la placenta como coproductora.

El hecho de Aschheim no encontrara ninguna diferencia al determinar el valor de la hormona en la sangre, ya fuera que estuviera tomada de la arteria o de la vena uterina, parecía estar en oposición con la idea de considerar a la placenta como productora de la hormona.

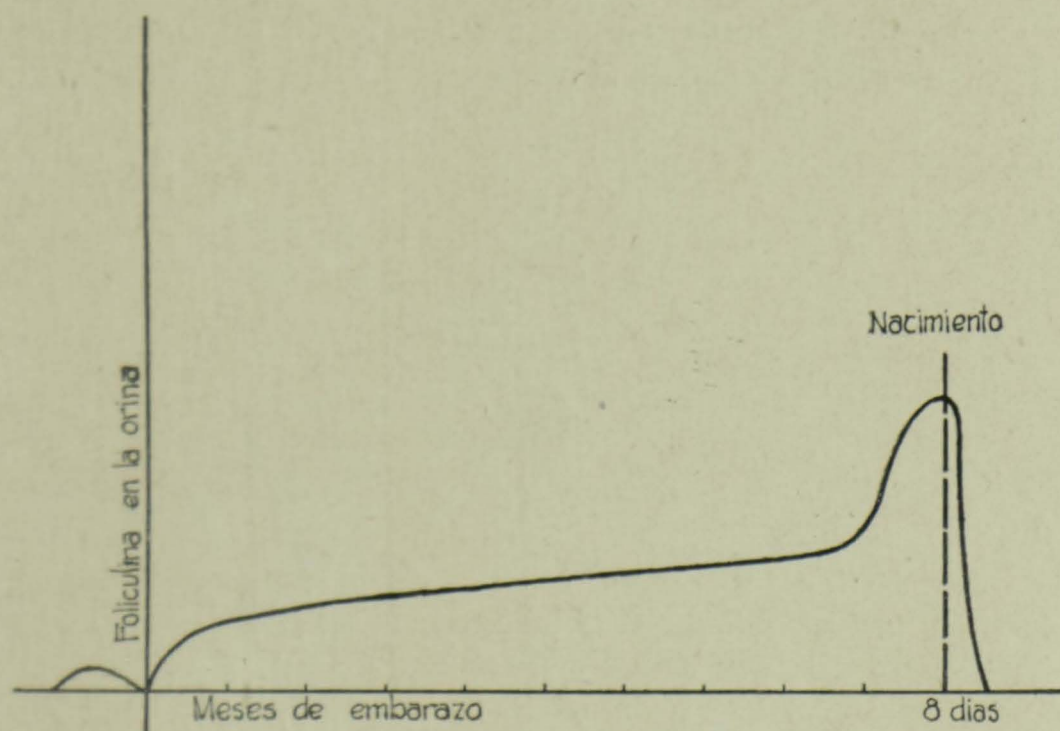
De un valor mayor para afirmar el origen coriígeno de la hormona, son los últimos experimentos de Phillip y Huber. Estos autores buscaron el contenido de la hormona en la orina, placenta y decidua, y llegaron a la conclusión de que la placenta no obtiene a la hormona de la hipófisis por medio de la circulación, puesto que en este caso, la decidua, así como otros tejidos de la mujer embarazada, deberían tener mayor cantidad de hormona que la placenta. Esto no es así: Phillip y Huber encontraron la hormona en la decidua solamente cuando el huevo está en la máxima proximidad, de aquí dedujeron que la hormona tiene su origen en la placenta, pasa a la sangre y es eliminada por la orina.

Desde el punto de vista de la Biología, no existe en general ningún fundamento para no considerar a la placenta como productora de hormona; por el contrario, en el transcurso de los diez últimos años se ha ido poniendo en claro que el tejido corial tiene

gran capacidad para la producción de hormonas. Desde 1905 Halbou admitió este hecho y después de él, el punto ha sido muy discutido llegando a la misma conclusión.

Es bien sabido que en la orina de mujer embarazada se eliminan, además de los principios gonadótropos, grandes cantidades de foliculina.

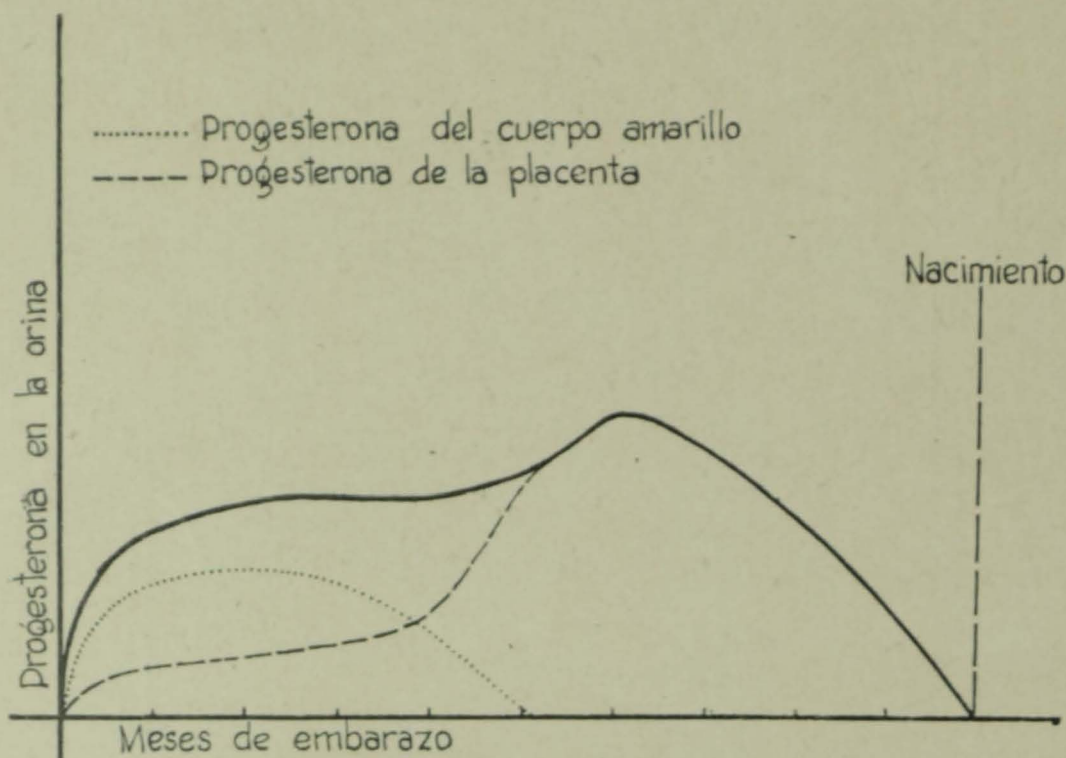
La eliminación asciende rápidamente en la segunda mitad del embarazo y precisamente poco antes del nacimiento:



Diversos autores pudieron demostrar que la cantidad de foliculina no disminuye aún cuando se extirpen los ovarios en estado de embarazo. En casos como éste, sería en verdad muy desencaminado hacer responsable a otro órgano que no sea la placenta, de la producción de la hormona folicular. Probablemente desde el segundo mes del embarazo la placenta se encarga de la producción de foliculina.

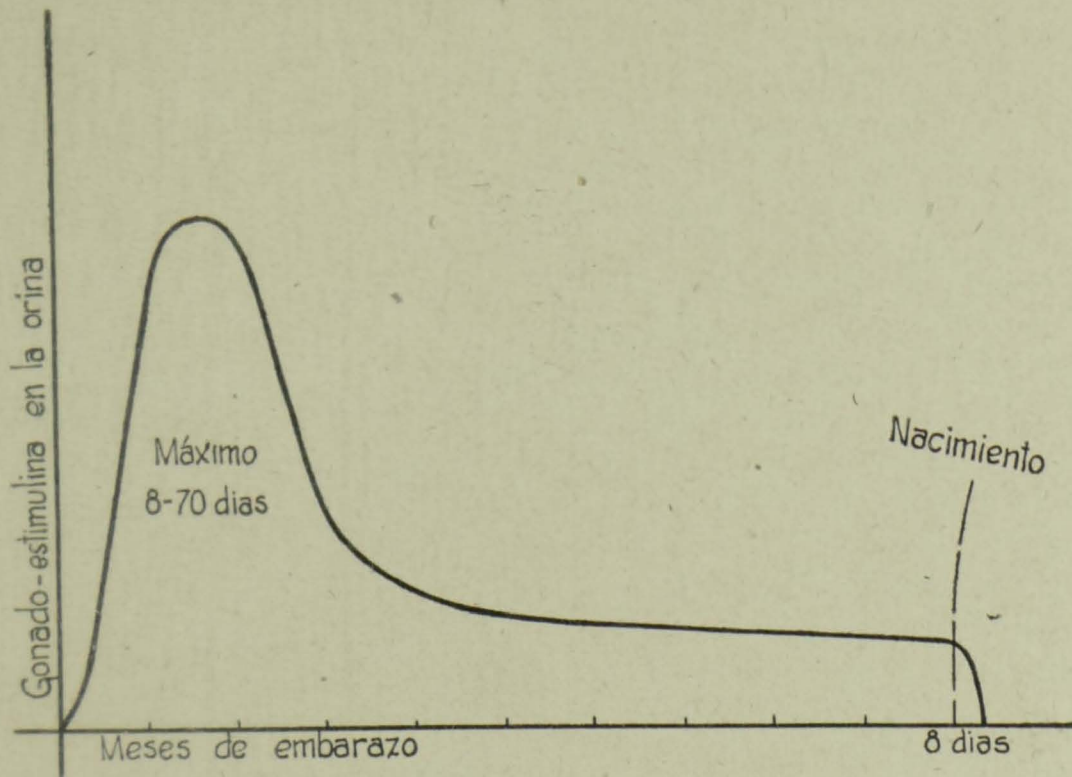
Hasta hace pocos años se creía que la progesterona, como hormona específica de la nidación, se formaba solamente en el cuerpo

amarillo. Desde que Ehrhardt hizo positivos descubrimientos de la progesterona en la placenta, se ha llegado a la conclusión de que después del tercer mes de embarazo, la placenta toma el papel de generador del cuerpo amarillo. Por medio de la siguiente gráfica nos damos cuenta, según los conocimientos que se tienen, del comportamiento de la progesterona en el embarazo:



Por último, se tienen las interesantes observaciones llevadas a cabo por Ehrhardt, Kanschegg y Leizinger hace muy poco tiempo. Estos investigadores hicieron experimentos de implantación análogos al de Aschheim y Zondek, con hipófisis de embarazada que procedía de una paciente muerta en la primera época del embarazo, obteniendo resultados positivos. La orina dió resultados positivos al efectuar las reacciones de Aschheim-Zondek y de Friedmann. Histológicamente se trataba de restos de un embarazo extrauterino. Había transformación decidual del tejido envolvente subseroso, en la proximidad inmediata del lugar de la nidación. Con esto se comprueba que cuando el trofoblasto es muy pequeño,

el lóbulo anterior de la hipófisis es el que se encarga de la producción de hormona. La siguiente curva muestra las cantidades de hormona gonadótropa en la orina durante el embarazo:



Estos resultados experimentales dan idea de la organización para la formación de hormonas en las mujeres embarazadas. De hecho se tiene una suplantación de funciones por la placenta, según el grado de insuficiencia de los lugares de producción normales. Cuando la acción del ovario no es ya necesaria para el mantenimiento de la gestación, la producción de foliculina, de luteína y de gonadoestimulinas, queda asegurada por la placenta.

Evans y más tarde Collip, haciendo experimentos con lóbulo anterior de hipófisis, con orina y con placenta, encontraron que el aumento de peso de los ovarios infantiles es más grande trabajando con preparados de lóbulo anterior de hipófisis que con productos gonadótropos provenientes de la orina o de la placenta. Schockaert afirma que el extracto de hipófisis actúa aceleradamente sobre los testículos de pájaro en tanto que la hormona

gonadotropa de orina de embarazada no tiene ningún efecto. Este hecho lo explica Evans diciendo que el extracto de hipófisis contiene además otro componente: el "factor sinérgico", que falta en la orina de embarazadas. Zondek llama a esta materia Synprolan.

En 1935 Guyenot, Held y otros colaboradores, emprendieron experimentos en ratas y cuyes hembras, a los que se les había hecho la ablación de la hipófisis. Estos animales eran tratados con orina de animales castrados o bien con orina de embarazada. Así se estableció, que la hormona gonadótropa de la orina de animales castrados corresponde al factor A (reacción I), o sea el estimulante del crecimiento folicular, mientras que en la orina de embarazada se encuentra el factor B, luteinizante (reacciones II y III). Esto último era conocido desde hace mucho tiempo por los autores americanos. Al hacer la autopsia de los animales que han sido tratados con orina de embarazada, y a los cuales se les ha hecho la ablación del lóbulo anterior de la hipófisis, se encuentra que los ovarios aparentemente no han cambiado, si acaso llegan a ser más pequeños debido a la hipofisectomía; pero en el examen microscópico se observa la luteinización de las células de la teca y de las células intersticiales del ovario, no apareciendo un cuerpo lúteo verdadero debido a que por la operación de la hipófisis los folículos se han vuelto atrésicos. Se puede demostrar que este efecto luteinizante puede conducir a la formación de un cuerpo lúteo verdadero, inyectando hormona gonadótropa de orina de castrado (A) y después hormona gonadótropa de orina de embarazada (B), a cuyes a los que se les ha hecho la hipofisectomía: los ovarios se llenan completamente de cuerpos amarillos. A iguales resultados llegaron los autores americanos: Smith, Engle, Evans, etc. Así se explican los experimentos de Evans mencionados anteriormente, puesto que la orina de embarazada carece del factor A que estimula el crecimiento de los ovarios, éstos alcanzan solamente un aumento de peso moderado. Así se explica el fenómeno, sin necesidad de tener en cuenta el factor sinérgico.

E. Held, para confirmar la existencia de los principios gonadotropos A y B, llevó a cabo sus experimentos en cuyes hipofisectomizados y en cuyes impúberes, comparando el efecto producido por la orina de animales castrados y por la orina de embarazadas. Con la hormona gonadótropa de orina de castrados obtuvo en ani-

males impúberes numerosos folículos; mientras que con el principio gonadótropo de orina de embarazada, solamente se obtuvieron unos cuantos folículos. De aquí dedujo que la hipófisis de los animales en experimentación es la responsable del efecto estimulante del crecimiento (factor A). Esto lo comprobó en animales hipofisectomizados: solamente con orina de castrado tenía lugar la reacción I, nunca con orina de embarazo. Esta reacción se produce con orina de embarazo en animales que no han sido privados de la hipófisis. De estas experiencias dedujo la existencia de los dos factores A y B.

Desde los primeros días que siguen a la concepción el complejo A-B aparece en la orina en cantidades anormales, debido al aumento de permeabilidad y al abatimiento del umbral renal observado en el embarazo. La dosificación biológica muestra que la cantidad de principios gonadótropos en la sangre y en la orina, aumenta rápidamente de los cinco a los trece primeros días consecutivos a la primera falta de menstruación, y alcanza su apogeo hacia el fin del primer mes o de la sexta semana. La eliminación continúa en masa aproximadamente hasta el sexto mes, y disminuye luego progresivamente hasta el final.

Técnica de la reacción.—Para llevar a cabo la prueba se debe emplear la primera orina de la mañana, por ser más concentrada y contener hormonas en grandes cantidades; la orina se conserva refrigerada en un recipiente limpio, aunque no necesariamente estéril. Cuando la orina es neutra o alcalina se añaden algunas gotas de ácido acético. Algunos autores añaden una gota de tricresol como preservativo, pero la adición de mayores cantidades de preservativo, o una medicación de la enferma, pueden ocasionar la muerte de los animales.

Se emplean 5 ratones hembras impúberes, de 3 a 4 semanas y de 6 a 8 gr. de peso. Es muy importante concretarse a estos límites, puesto que animales de mayor edad, pueden no ser ya impúberes y animales más jóvenes resisten mal, o no toleran las inyecciones. La cantidad total inyectada subcutáneamente a los 5 animales varía para cada uno, pero en cada caso se hacen 6 inyecciones. El primer animal recibe 6 veces 0.2 c.c. : 1.2 c.c.; el se-

gundo recibe 6 veces 0.25 c.c. : 1.5 c.c.; el tercero recibe 6 veces 0.3 c.c. : 1.8 c.c.; el cuarto recibe 6 veces 0.3 c.c. : 1.8 c.c.; y el quinto recibe 6 veces 0.4 c.c. : 2.4 c.c.

Las inyecciones se ponen dos veces al día durante 72 horas. El exudado vaginal se produce desde el tercer día. Después de las 96 horas se hace la autopsia de los animales. Los ovarios se examinan a simple vista o con una lupa; la presencia de folículos hemorrágicos y cuerpos lúteos (reacciones II y III) es considerada como indicación de embarazo. Para el diagnóstico del embarazo la reacción I se debe considerar invariablemente como negativa. En los casos dudosos o negativos se recomienda un examen histológico.

Este método da 98-99% de resultados correctos y únicamente de 1-2% de resultados erróneos.

Ehrhardt, en una serie de 197 casos, obtuvo un diagnóstico correcto en 98.5% de los casos.

Louria y Rosenzweig han publicado una serie de 132 casos con una certeza en el diagnóstico para casos de embarazo de 98%, en cambio en sus controles sólo obtuvieron un 91% de resultados correctos; pero indudablemente su error se debe a que emplearon en sus pruebas animales de 12 a 15 gr. de peso y de acuerdo con Zondek un animal de este peso no es considerado como impúber. Sin duda esto explica el considerable número de falsas reacciones que obtuvieron.

Se puede llevar a cabo la reacción tratando a todos los animales con la misma dosis: 0.5 cc. repetida 6 veces, en total 3 cc.; pero con dosis tan altas debe tenerse la precaución de desintoxicar la orina agitándola con éter porque de otra manera morirían muchos de los animales.

Las modificaciones hechas consisten en el empleo de distintos animales para la prueba, aprovechando las ventajas que ofrecen para mejorar el método; pero desde luego, en todos los casos se investiga la presencia de las hormonas gonadótropas en la orina o en la sangre.

Una reacción de Aschheim-Zondek positiva, obtenida por inyección de orina en ratones impúberes indica la presencia de

tejido vivo dependiente de un óvulo fecundado. La prueba debe ser positiva en todos los casos de embarazo no interrumpido ya sea uterino o ectópico, así como en los casos de mola idatiforme y de corioepitelioma maligno. Las orinas obtenidas algún tiempo después de la muerte del feto, aborto, etc., no deben dar reacción positiva. Sin embargo, mientras el huevo o alguno de sus elementos continúan viviendo y proliferando la reacción es positiva. En casos de amenorrea, menopausia, fibroma uterino, quiste ovárico, carcinoma uterino, etc., la reacción debe ser negativa.

Se han hecho muchas modificaciones al método; las que a continuación cito son las más importantes.

Probster empleó para su reacción ratas hembras de 30 gr. de peso; pero se ha demostrado que este método no da mejores resultados que aquél en que se emplean ratones, aún teniendo en cuenta que la rata es más resistente y soporta las inyecciones de orina mejor que el ratón: para la comprobación de la reacción es menos propicia.

Bourg empleó ratas machos y hembras, ambos impúberes, de 1 mes y de 30 a 40 gr. de peso. Inyectó a los animales 1 cc. de orina diariamente durante 5 días, sacrificándolos después. Estudió las vesículas seminales en el macho y los ovarios en la hembra.

Brouha, Hinglais y Simonnet, utilizaron ratones machos de 8 a 15 gr. de peso a los que se les inyectó subcutáneamente y durante 8 a 10 días, 0.1 a 0.4 cc. de orina. En estos animales produce la orina de embarazada un crecimiento desproporcionado de la vesícula seminal y de la próstata. La reacción es muy exacta pero para realizarla se necesita más tiempo que siguiendo el método original de Aschheim-Zondek.

M. Joel, Mengin y Mme. Andreani Constantin llevaron a cabo la reacción por inyección intracardíaca en cuyas hembras y machos impúberes (menores de un mes) de 2 cc. de orina extraída por sondeo ascéptico; la inyección se aplicaba en el ventrículo izquierdo sacrificando el animal 48 horas después, dando como reacción positiva aquella en que se observara hipertrofia de los órganos genitales. El método no es práctico, puesto que como se comprenderá resulta muy laborioso.

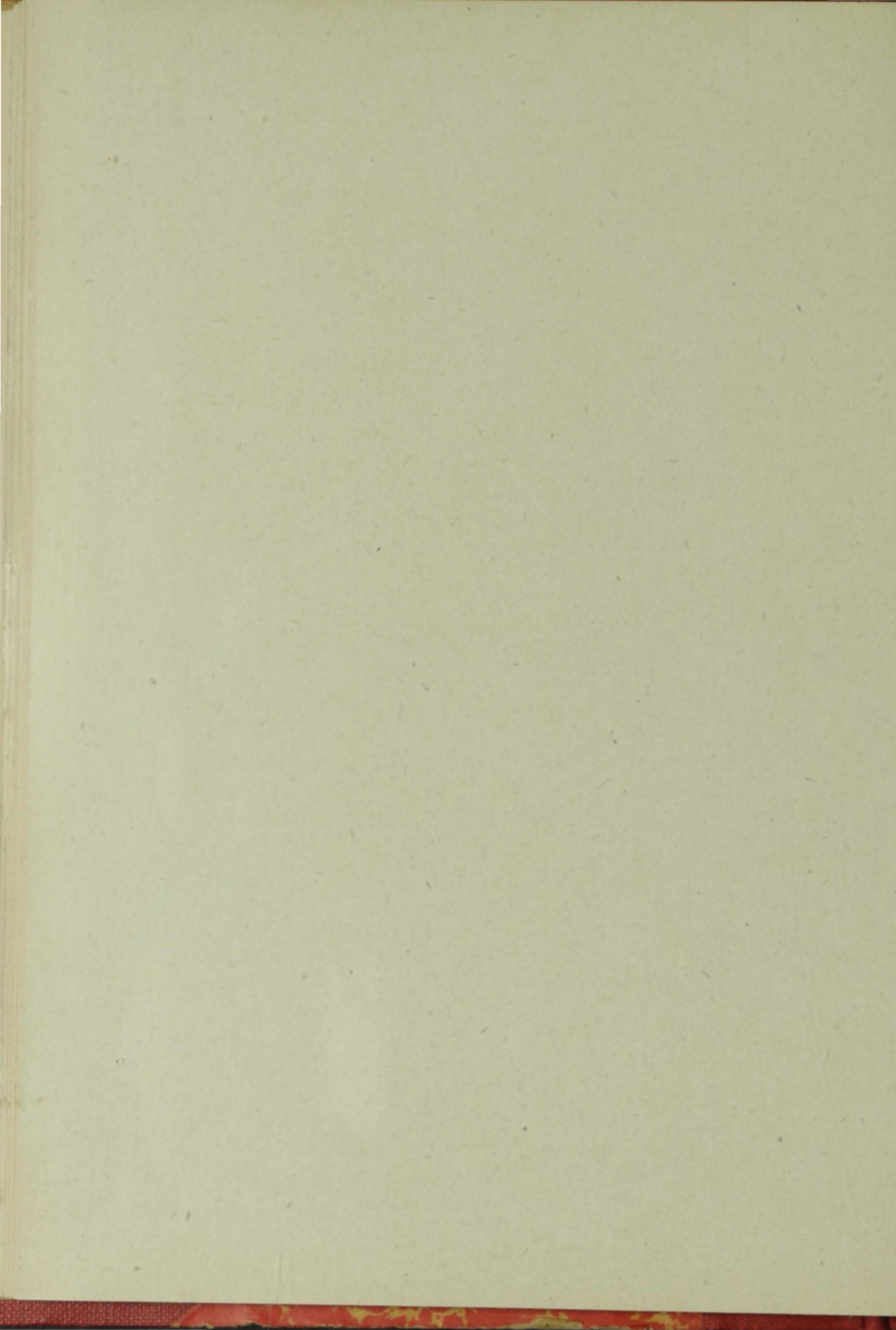
Shapiro y Zwarenstein han empleado para la prueba un animal sudafricano: *xenopus laevis*, que es un sapo armado de garras. Después de la inyección de orina de embarazada se produce la ovulación que ha sido estimulada por la acción de los principios gonadótropos. El resultado puede ser estudiado 6 a 8 horas después de la inyección. Elkan ha obtenido satisfactorios resultados con este método.

S. Aschheim, basándose en que el método original con 5 ratones, y sus modificaciones, requieren mucho trabajo puesto que las inyecciones se tienen que hacer frecuentemente, así como también que el método resulta costoso, ha tratado de simplificarlo empleando dos ratas hembras impúberes de 4 a 5 semanas y de 22 a 35 gr. de peso; los animales son inyectados subcutáneamente con 0.5 cc. de la orina a examinar. El exudado vaginal aparece a las 72, 84 ó 96 horas después de esta única inyección. En caso positivo se encuentra en el exudado, después de 72 horas únicamente células epiteliales libres de moco y sin leucocitos. Después de 84 a 96 horas se encuentran células queratinizadas que son la base para juzgar una reacción positiva. Los animales no necesitan ser sacrificados, pueden emplearse en otros experimentos. La sustancia estrógena causante de la reacción no se elimina normalmente en la orina en suficiente cantidad, así es que haciendo una sola inyección de 0.5 cc., únicamente en caso de embarazo se obtendrá una prueba positiva. Las mujeres normales excretan menos de 1000 unidades; para dar una reacción positiva el mínimo necesario es de 6000 unidades por litro, cantidad que sólo es eliminada en la orina de mujeres embarazadas y que asciende en la segunda mitad del embarazo de 6000-40000 unidades por litro. Aschheim trató de aplicar este método a las ratas machos impúberes basándose en el aumento de tamaño de la vesícula seminal, pero en vista de que este aumento no puede ser observado a las 96 horas de la inyección el método carece de importancia.

El margen de error para los diferentes métodos mencionados es de 1-2%. En general, cuando se trata de embarazo, se presentan las reacciones II y III, de 8 a 14 días después del primer período que se suspende.

Hamburger, sin embargo, obtuvo reacciones positivas en un embarazo, dos días antes del primer período suspendido. Después del parto la reacción se hace negativa en un período de 7 a 10 días.

3.—MODIFICACION DE FRIEDMANN CON ORINA



Teniendo en cuenta que para la reacción original de Aschheim-Zondek, se necesita tener disponible un gran número de animales de determinada edad y peso, y que con frecuencia es necesario hacer exámenes microscópicos en los ovarios, lo que requiere tiempo y habilidad, simultáneamente Friedmann, en los Estados Unidos, e independiente de él, Adele Brougha en Bélgica, en 1929, modificaron la reacción empleando para sus pruebas a la coneja, aprovechando la particularidad de que en este animal sólo hay puesta ovular cuando ha cohabitado con el macho. Desde luego su modificación está basada en el mismo principio: presencia de principios gonadótropos en la orina de mujeres embarazadas.

Según la técnica de Friedmann, los animales deben recibir una sola inyección de orina de 8 a 15 cc. en la vena marginal de la oreja, haciendo la observación a las 48 horas. Otros autores aconsejan inyectar de 7 a 10 cc. de orina y examinar el animal después de las 24 horas. La modificación de este método usada por Brohua es aplicando dos inyecciones de 5-10 cc. cada una con intervalo de 24 horas, haciendo el examen 48 horas después de la primera inyección.

Desde que Friedmann describió la prueba, ha habido tendencia a modificarla y no obstante referirla como prueba de Friedmann. De este modo, ciertos autores han concentrado las hormonas en la orina siguiendo el método dado a continuación: 80 cc. de orina de la mañana se llevan a un pH de 6 con unas gotas de ácido acético, se añaden 160 cc. de acetona agitando, y se deja depositar 15 minutos. Se centrifuga y se decanta. El precipitado, proteínas y hormonas, se lava con 20 cc. de éter; se decanta y se disuelve parcialmente (hormonas), en 2 cc. de agua tibia. Se cen-

trifuga utilizando el líquido sobrenadante. De esta manera se tiene en 1 cc. lo correspondiente a 40 cc. de orina.

Otros aconsejan inyectar en la vena marginal de la oreja 3 veces al día y durante 48 horas, 5 cc. de orina (30 cc.), sacrificando el animal 48 horas después de la primera inyección. Albert M. di Giola afirma que se pueden encontrar reacciones positivas a las 12 horas, después de la inyección de orina; así, recomienda inyectar dos animales, sacrificando uno a las 12 horas y el otro a las 24 ó 36 horas, en casos en que el diagnóstico sea muy urgente.

Otros autores han inyectado la orina muchas veces durante un período de varios días, o bien han usado grandes cantidades de orina.

Siguiendo la técnica de Friedmann, el error no será mayor de 3%. Si se inyecta una cantidad más grande de orina, se pueden obtener resultados positivos sin tratarse de embarazo. Así también, si se obtienen resultados positivos con pequeñas cantidades de orina inyectada, se puede afirmar que está presente una cantidad de hormona mayor que la secretada en un embarazo normal. Se pueden eliminar las llamadas falsas reacciones debidas a tales condiciones, como mola hidatiforme y corioepitelioma, inyectando pequeñas cantidades de orina.

La orina inyectada debe ser la primera de la mañana, inyectándola en el transcurso de una hora después de emitida, o bien se conserva en el refrigerador hasta su uso. Si la orina es turbia se filtra. Para evitar la mortalidad de los animales se aconseja aplicar la inyección muy despacio; se puede desintoxicar la orina agitándola con éter, y cuando se trata de orina infecciosa se pasa por un filtro Berckefeld. La reacción debe estar comprendida entre un pH de 6.8 a 7.4; una orina muy ácida o muy alcalina puede producir la muerte de los animales, por lo que se aconseja ajustar el pH a esos límites mediante la adición de HCl N/10 ó NaOH N/10. Para que el título de la hormona en la orina sea mayor, la paciente no debe tomar el día anterior ningún líquido, empleando para la reacción la primera orina de la mañana.

Los animales empleados en la reacción deben ser conejas impúberes de 2½ meses y de 1000 a 1200 gr., de peso aun cuando desde hace algunos años, por recomendación de Briendeau y Hin-

glais se emplean animales de 2000 gr., adultos sexualmente, pero que se han mantenido estrictamente aislados por lo menos durante 4 semanas, antes de emplearlos, no debiendo estar dos hembras en la misma jaula.

Como reacción positiva se considera aquélla, en la que se encuentran folículos hemorrágicos en uno o en los dos ovarios (reacción II). La reacción III, luteinización, no se hace evidente puesto que el animal es observado a lo sumo a las 48 horas. También se presenta una marcada congestión del útero y los oviductos. Para comprobar la estimulación folicular (reacción I), no se presta la coneja debido a que los folículos maduros aparecen normalmente en el animal impúber. En cambio, experimentos comparativos han demostrado que para la comprobación de la reacción II, la coneja es más susceptible relativamente que el ratón o la rata. Así, si se toma en cuenta el peso de los animales, la proporción de cantidad inyectada sería:

Ratón: peso del animal 6 gr.	1
Rata: peso del animal 30 gr.	5
Coneja: peso del animal 1200 gr.	200

pero en realidad, la proporción es 1 : 1/5 — 1/8 : 5.

Brohwa aconseja hacer una laparotomía exploratoria antes de la primera inyección para cerciorarse del estado de los ovarios antes de la prueba, pero Friedmann y Lapham no consideran esto necesario.

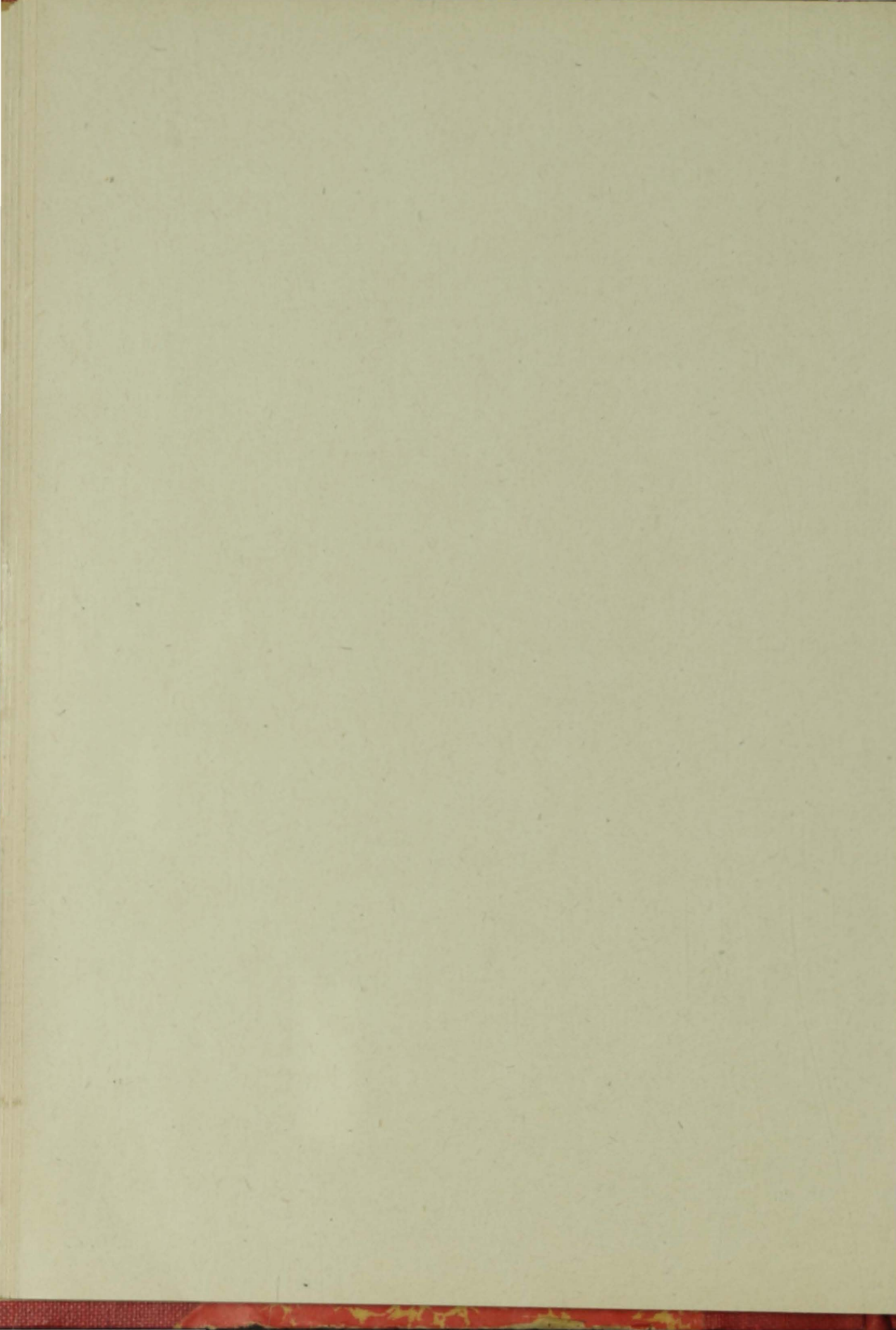
Puesto que la hormona gonadótropa se presenta también en algunos estados fisiológicos y patológicos, diferentes del embarazo, este hecho podría afectar la exactitud de la prueba, pero desde luego este error no es debido a un descuido al llevar a cabo la reacción, sino a condiciones fisiológicas y patológicas.

Es importante conocer algunas condiciones que pueden dar reacciones positivas en ausencia de embarazo: menopausia espontánea o artificial; desórdenes menstruales; quistes ováricos; carcinoma; tratamiento con preparados con lóbulos anterior de la hipófisis; enfermedades inflamatorias de la pelvis; mixedema; tuberculosis genital; y errores de técnica.

Las siguientes circunstancias pueden ir asociadas con una

reacción negativa en los ovarios de la coneja aun estando en presencia de embarazo: ejecución de la prueba prematuramente en el embarazo; dilución de la muestra de orina; insensibilidad del ovario de la coneja; cantidad insuficiente de la secreción hormonal para causar la estimulación de los ovarios; conservación de la orina con la consecuente deterioración del principio hormonal. En estos casos, la prueba de Friedmann repetida debe dar un resultado positivo, de aquí la importancia de una segunda prueba cuando los resultados son negativos.

4.—MODIFICACION DE HOFFMANN CON SUERO
SANGUINEO



Hoffmann ideó emplear el suero sanguíneo de embarazada en lugar de la orina, para la reacción del diagnóstico del embarazo. Practicando la reacción con orina y simultáneamente con suero sanguíneo de la misma paciente, llegó a la conclusión de que la reacción parecía ser más sensible que la de Friedmann-Brouha; por este motivo propuso emplear su método, en los casos de urgencia y en los casos de duda como control de la reacción de Friedmann.

Antes de los experimentos de Aschheim y Zondek, ya Binz había observado que por medio de la inyección de suero sanguíneo de mujer embarazada se producía un gran desarrollo del útero. Este hecho dista mucho de ser aplicable al diagnóstico ya que aun cuando está comprobado que la foliculina presente en la sangre de la mujer embarazada, es la que desencadena el desarrollo del útero, se sabe que esta hormona se encuentra presente en grandes cantidades en otros estados ajenos al embarazo. Se ha demostrado que desde la quinta semana de embarazo existe la foliculina en cantidad elevada. Aschheim y Zondek, lograron provocar el celo por inyección de 3 cc., de suero de embarazadas a partir del final del cuarto mes; Fels con 2 cc., obtuvo los mismos resultados.

Respecto de los principios gonadótropos, se pueden evidenciar en los primeros días del embarazo en una concentración mayor que la foliculina. Determinado el valor hormonal en la sangre se tiene que en el tercer mes se encuentran 18000 unidades-rata de gonadoestimulina A (maduración folicular) y en el 9o. mes 19000 unidades, por litro de sangre; y de gonadoestimulina B (factor luteinizante), se encuentran, en el 3er mes, 11000 unidades y en el noveno mes, 8000 unidades por litro de sangre total. La sangre

de la embarazada contiene durante todo el embarazo más cantidad de hormonas gonadótropas que de foliculina. Las hormonas hipofisarias alcanzan su máxima en los primeros meses del embarazo descendiendo después, en tanto que la foliculina, tiene su mínimo en el principio del embarazo para ascender al final.

La rata infantil es el animal más adecuado para demostrar el principio gonadótropo A, en tanto que para poner en evidencia al principio luteinizante, se emplea al ratón impúber.

En los casos de embarazo, mola idatiforme y corioepitelioma, en que existen en la sangre grandes cantidades de hormonas gonadótropas se pueden demostrar éstas inyectando a los animales suero puro o diluído con solución fisiológica, o bien la sangre citratada: a cada 9 cc. de sangre se añade 1 cc. de solución de citrato de sodio al 5%, agitando fuertemente. Según Zondek, el suero se puede desintoxicar, agitándolo con éter, eliminando de esta manera también la foliculina, de modo que si aparece en el animal el celo, se deduce que el suero en cuestión contiene el principio gonadótropo A.

Se puede hacer la objeción de que posiblemente no pasan al suero todas las hormonas de la sangre porque el coágulo retenga una parte de ellas, pero se ha comprobado que las diferencias hormonales entre el plasma y el suero, no tienen importancia.

En cuanto a la técnica de la reacción de Hoffmann, es en todo semejante a la de Friedmann: inyección en la vena marginal de la oreja de la coneja, de suero sanguíneo. Las condiciones que deben reunir los animales que se van a someter a la prueba, son las mismas que para la modificación de Friedmann. Se extrae la sangre de la vena, dejándola coagular. Se separa cuidadosamente el suero que se somete a centrifugación durante 15 minutos, empleando el líquido perfectamente claro para la inyección. Respecto a la cantidad de suero inyectada, he encontrado muchas divergencias. Así por ejemplo, A. M. di Giola lleva a cabo la reacción aplicando una inyección de 10 a 13 cc. de suero sanguíneo, cantidad indudablemente demasiado grande, puesto que hay que tomar 25 cc. de sangre a la enferma, para obtenerla. Otros autores recomiendan inyectar 2.5 cc. de suero sanguíneo, y después de

24 horas hacer el examen del animal. Una reacción positiva es aquella en la que se encuentran folículos hemorrágicos en uno o en los dos ovarios de la coneja. Held lleva a cabo la reacción inyectando dos veces 1 cc., de suero que ha estado en reposo durante 24 horas.

El doctor A. Orozco Miranda ha empleado en sus experimentos a la coneja adulta, llevando a cabo la prueba por inyección intravenosa de 3 cc. de suero separado de la sangre extraída por la mañana en ayunas, sacrificando el animal 24 horas después. Haciendo experimentos por inyección de la misma cantidad de suero, pero repetida a las 24 horas y observando al animal a las 48 horas, no ha encontrado diferencia en los resultados, de donde considera que para obtener resultados seguros basta con una inyección, haciendo la observación a las 24 horas.

5.—ESTUDIOS PERSONALES COMPARATIVOS CON
ORINA Y CON SUERO SANGUINEO

REVISED BY
A. J. H. H. H.

Al realizar este estudio de comparación, el fin perseguido no ha sido otro que el de comprobar si los resultados obtenidos al efectuar la reacción con suero sanguíneo, son tan exactos como los obtenidos empleando orina para la reacción.

Llevé a cabo mis experiencias practicando la reacción simultáneamente con orina y con suero sanguíneo de la misma paciente, con embarazo clínicamente comprobado, siguiendo los métodos de Friedmann y de Hoffmann. Las pruebas fueron hechas en conejas adultas; se tuvo la precaución de escogerlas de manera que reunieran las condiciones indicadas para el caso (aislamiento, peso, etc.).

La técnica seguida para la reacción con orina fué la siguiente: inyección endovenosa en la vena marginal de la oreja, de 10 cc. de orina repetida a las 24 horas, observando los resultados a las 48 horas, después de la primera inyección. Se empleó para la prueba la primera orina de la mañana, filtrándola en caso de que se presentara turbia.

Para realizar la prueba con suero, se inyectó de 2 a 3 cc. de suero sanguíneo separado de la sangre extraída por la mañana en ayunas, observando los resultados 24 horas después de la inyección.

Como reacción positiva se considera aquélla en que se presenta, por lo menos, un folículo hemorrágico en uno de los ovarios de la coneja.

Los resultados obtenidos en mis investigaciones están consignados en la tabla siguiente:

Casos No.	Tiempo Embarazo	Reacción Friedmann	Reacción Cant.	Hoffmann Result.	OBSERVACIONES
1	5 meses	positiva	2.5 c.c.	positiva
2	4 meses	positiva	2.3 c.c.	positiva
3	7 meses	positiva	2.2 c.c.	positiva
4	6 meses	positiva	2.7 c.c.	positiva
5	6 meses	positiva	2.2 c.c.	positiva
6	2 meses	positiva	2.5 c.c.	positiva
7	3 meses	positiva	2.3 c.c.	positiva
8	6 meses	positiva	2.1 c.c.	positiva
9	5 meses	positiva	2.5 c.c.	positiva	Al aplicar la 'segunda inyección de orina murió el animal. Se repitió la prueba obteniéndose el resultado indicado.
10	7 meses	positiva	2.7 c.c.	positiva
11	5 meses	positiva	1.7 c.c.	negativa	Es probable que la reacción negativa se deba a la pequeña cantidad de suero inyectada.
12	2 meses	positiva	2.2 c.c.	positiva
13	3 meses	positiva	2.3 c.c.	positiva
14	2 meses	positiva	2.0 c.c.	negativa	Como en el caso No. 11, el resultado negativo puede ser debido a la pequeña cantidad de suero inyectada.
15	4 meses	positiva	2.3 c.c.	positiva
16	6 meses	positiva	3.0 c.c.	positiva	Al aplicar la segunda inyección de orina murió el animal. Se repitió la prueba obteniéndose el resultado indicado.
17	4 meses	positiva	2.4 c.c.	positiva
18	2 meses	positiva	2.3 c.c.	negativa	Falsa reacción negativa con suero sanguíneo.
19	2 meses	positiva	2.7 c.c.	positiva
20	3 meses	positiva	2.0 c.c.	negativa	Reacción negativa con suero sanguíneo, probablemente debida a la cantidad de suero inyectada.
21	3 meses	positiva	2.6 c.c.	positiva
22	5 meses	positiva	2.5 c.c.	positiva

Casos No.	Tiempo Embarazo	Reacción Friedmann	Reacción Cant.	Hoffmann Result.	OBSERVACIONES
23	2 meses	positiva	1.8 c.c.	negativa	Falsa negativa de Hoffmann debida probablemente a la cantidad de suero inyectada.
24	3 meses	positiva	2.5 c.c.	positiva
25	4 meses	positiva	1.5 c.c.	positiva	Reacción de Hoffmann positiva con 1.5 c.c. de suero sanguíneo.
26	5 meses	positiva	1.8 c.c.	negativa	Falsa negativa de Hoffmann.
27	5 meses	positiva	2.5 c.c.	positiva
28	3 meses	positiva	2.4 c.c.	negativa	Falsa negativa de Hoffmann. Al aplicar la segunda inyección de orina murió el animal, por lo que se repitió la prueba.
29	3 meses	negativa	3.0 c.c.	positiva	Falsa negativa de Friedman. Se repitió la operación dando resultado positivo.
30	6 meses	positiva	2.3 c.c.	positiva	En la prueba de Hoffmann la coneja murió a las 12 horas después de la inyección, llevando a cabo la observación con el resultado anotado.
31	6 meses	positiva	2.8 c.c.	positiva
32	4 meses	positiva	1.9 c.c.	negativa	Falsa negativa de Hoffmann.
33	4 meses	positiva	3.0 c.c.	positiva
34	5 meses	positiva	2.9 c.c.	positiva
35	3 meses	positiva	2.7 c.c.	positiva	Al aplicar la segunda inyección de orina murió el animal, repitiéndose la prueba.
36	3 meses	positiva	1.9 c.c.	positiva
37	3 meses	positiva	2.6 c.c.	positiva
38	4 meses	positiva	3.0 c.c.	positiva
39	7 meses	positiva	1.4 c.c.	positiva	Reacción de Hoffmann positiva con 1.4 c.c. de suero sanguíneo.
40	4 meses	positiva	2.9 c.c.	positiva
41	2 meses	positiva	2.7 c.c.	positiva
42	3 meses	positiva	2.5 c.c.	positiva

Casos No.	Tiempo Embarazo	Reacción Friedmann	Reacción Cant.	Hoffmann Result.	OBSERVACIONES
43	5 meses	positiva	2.1 c.c.	negativa	Falsa negativa de Hoffmann.
44	4 meses	positiva	1.7 c.c.	positiva	Reacción de Hoffmann positiva con 1.7 c.c. de suero sanguíneo.
45	2 meses	positiva	2.5 c.c.	positiva
46	6 meses	positiva	3.1 c.c.	positiva
47	4 meses	positiva	2.9 c.c.	positiva
48	3 meses	positiva	3.0 c.c.	positiva

Hago notar que en los casos de reacción con orina, se presentaban los ovarios con numerosos folículos hemorrágicos, en cambio, en las reacciones con suero sanguíneo, el número de folículos hemorrágicos era muy escaso, algunas veces observé solamente uno, en uno de los ovarios.

En 48 casos obtuve 9 reacciones falsas negativas con suero sanguíneo (casos Nos. 11-14-18-20-23-26-28-32 y 43). No puedo afirmar que estas reacciones falsas sean debidas a la poca cantidad de suero inyectado puesto que, en los casos Nos. 25-36-39 y 44, pude observar resultados positivos con cantidades inferiores a 2 cc., como en el caso No. 39 que con 1.4 cc., de suero sanguíneo observé una reacción francamente positiva.

En los casos números 14-23-27-29-31-36-37-40-41 y 42, hice además, la reacción con una concentración de hormonas en la orina, siguiendo el método descrito en el capítulo No. 3, inyectando a la coneja 1 cc. de concentrado y haciendo la observación a las 24 horas. Solamente obtuve una reacción falsa negativa en el caso No. 27, en todos los demás, la reacción fué positiva: los ovarios de la coneja se presentaban con numerosos folículos hemorrágicos.

En algunos casos, (Nos. 9-10-28 y 35), al aplicar la 2ª. inyección de orina, sobrevino la muerte del animal, probablemente debida al shock. Inmediatamente procedí a hacer la autopsia del animal, considerando los resultados observados como de reacciones provocadas por una sola inyección de orina y comprobación de los resultados a las 24 horas. De los casos anotados únicamente el No. 35 resultó positivo. En los casos Nos. 38-44-45-46 y 48 hice, además de las pruebas mencionadas una más, inyectando 10 cc. de orina y

haciendo la observación 48 horas después de esta única inyección. En los tres primeros casos, los resultados fueron positivos.

Hago la aclaración de que sólo obtuve una falsa reacción negativa con el método de Friedmann que empleé, en el caso No. 39. Repetida la prueba se obtuvo un resultado positivo, pudiendo considerar este caso dentro de los límites de error aceptados para la prueba.

Mis investigaciones se concretaron a casos de embarazo clínicamente comprobado, no habiendo tenido oportunidad de anotar resultados de casos patológicos, a excepción del siguiente: caso probable de feto muerto de 6 y $\frac{1}{2}$ meses de embarazo; la urgencia del caso me obligó a efectuar pruebas cuyo resultado fuera apreciable a las 24 horas, de esta manera la reacción producida por 20 cc., de orina fué a las 24 horas, negativa; resultando la prueba por concentración de hormonas, positiva. Por el resultado anterior se dedujo que el feto estaba vivo, habiéndose comprobado más tarde.

6.—CONCLUSIONES

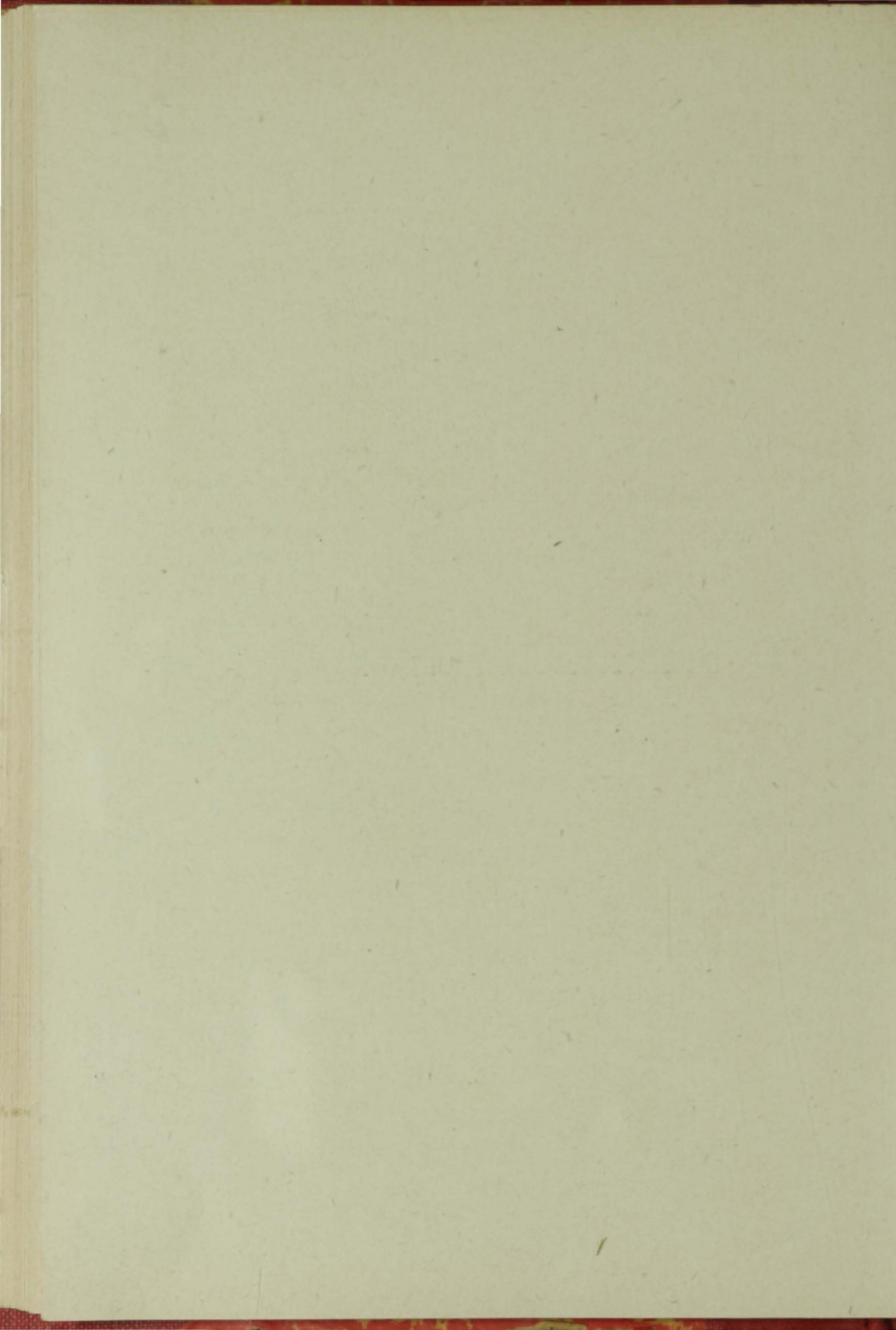
El método que consiste en aplicar a la coneja, dos inyecciones de orina con intervalo de 24 horas, haciendo la observación de los resultados a las 48 horas, da una certeza casi absoluta en el diagnóstico biológico del embarazo.

Si se trata de efectuar un diagnóstico de urgencia, cuyo resultado sea apreciable a las 24 horas, el método más adecuado será haciendo una concentración de hormonas en la orina, aun cuando este procedimiento resulta laborioso.

La reacción hecha con suero sanguíneo, según las experiencias realizadas no puede ser aplicable al diagnóstico, en vista del gran número de falsas reacciones negativas que se presentan.

Respecto a los otros métodos citados, las conclusiones a que se llegó en este trabajo, carecen de valor, ya que estas pruebas fueron realizadas en un corto número de casos.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA



- S. ASCHHEIM.—*Diagnóstico del embarazo mediante la orina*. 1935.
- S. ASCHHEIM.—“*Simplified Method for the Biological Diagnosis of Pregnancy*”. *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*. Enero, 42.
- ALBERT M. di GIOLA A. B.—“*Friedmann test; difficulties encountered; new modification using blood serum*”. *Journal Laboratory and Clinical Medicine*. Feb. 37.
- R. B. H. GRANDWOHL M. D.—*Clinical Laboratory Methods and Diagnosis*. 1938.
- E. HELD.—“*Die Schwangerschaftsreaktion nach Aschheim-Zandek und ihrer Modifikationen*”.—*Zschweizerische Medizinische Wochenschrift*. Nov, 41.
- THOMAS B. MAGATH, NORMAN PAUSCH and LAWRENCE M. RANDALL.—“*Study of false Friedmann tests for Pregnancy*”. *The Journal of the American Medical Association*. Feb, 40.
- ARMANDO OROZCO MIRANDA.—*La reacción de Hoffmann en el diagnóstico del embarazo*. Tesis. 1935.
- B. ZONDEK.—“*El prolán en la hipótesis*”.—*American Journal of Obstetrics and Gynecology*. Junio, 33.
- Surgery, Gynecology and Obstetrics*. Oct., 30