

Sobre la resistencia del *LEPTODACTYLUS OCELLATUS* (rana argentina) hacia el Curare
y sobre otros puntos de la Fisiología general de los músculos



SUMARIO

	Pág.
I. La acción del <i>Curare</i> en el <i>Leptodactylus</i>	29
a) Consideraciones generales.	29
b) Observaciones sobre el animal íntegro.....	32
c) Observaciones sobre preparaciones neuro- musculares.....	37
II. La acción de otras drogas en el <i>Leptodactylus</i> y la doctrina de la <i>substancia receptiva</i>	54
d) Acción de la <i>nicotina</i>	58
e) Acción de la <i>veratrína</i>	66
III. El <i>tiempo de excitación</i> del músculo del <i>Lepto- dactylus</i>	70
Sumario y conclusiones.....	79



Sobre la resistencia del LEPTODACTYLUS OCELLATUS (rana argentina)
hacia el Curare y sobre otros puntos de la Fisiología general de los músculos

POR EL

PROFESOR DR. MARIO CAMIS

I

a). Los primeros ensayos que hice el año pasado para curarizar unas ranas, con el objeto de mostrar en clase las clásicas experiencias relacionadas con la acción de esta droga, no tuvieron ningún éxito y yo, sin dar a la observación mayor importancia, atribuí el hecho a la deficiente calidad del curare. Es en efecto harto conocido entre los fisiólogos la dificultad para conseguir un curare bueno y activo.

De los primeros estudios sobre esta droga se sabe que distintas muestras de curare tienen una distinta actividad, de manera que el único modo de conocer el valor farmacológico de la substancia en el *ensayo biológico*, es decir, la determinación de la cantidad necesaria para obtener prontamente con una solución determinada la parálisis de una rana. Ya en el texto de Schmiedeberg (1) se lee que: «no se pueden encontrar en el comercio preparaciones aproximadamente seguras y uniformes»; pero

(1) O. Schmiedeberg. Grundriss der Arzneimittellehre, Leipzig. 1888.

las condiciones son ahora mucho peores que en la época referida. El curare que llegaba a los laboratorios contenido en los zapallitos originales, donde lo habían puesto los indios de los Amazonas, representa hoy para nosotros un ideal legendario; y tenemos que contentarnos con la droga de muy variable eficacia distribuida en frasquitos de cristal por algunas casas de productos químicos.

Cuando, en este año volví a tentar la curarización de las ranas, con curare de diferente origen, y tropecé con el mismo éxito negativo, comencé a dudar que el hecho fuera dependiente más bien de una propiedad del animal, que de la calidad de la droga; y la duda quedó rápidamente confirmada cuando una simple experiencia de contralor me demostró, que con el mismo curare se podía curarizar rápidamente un conejo.

La rana Argentina—*Leptodactylus Ocellatus*—(1) es un batracio que presenta la más grande analogía con la rana europea; una observación sistemática deja reconocer muchas diferencias morfológicas entre estos dos géneros, pero al examen empírico el género «*Leptodactylus*» no se distingue del «*Rana*» sino por la falta de membrana interdigital y por el mayor tamaño que puede alcanzar (Linne lo ponía en el género *Rana*: *R. ocellata*). Me pareció, pues, muy raro que un animal zoológicamente tan cercano a la rana europea, ofreciera un comportamiento excepcional hacia una droga cuya acción es uniforme sobre casi todas las especies animales, y me propuse hacer algunas observaciones al respecto, usando curare de tres orígenes distintos que pude conseguir: uno de Merck; uno de Baird y Tatlak de Londres y otro de Grübler que

(1) Por la sistemática de los batracios tomados en consideración en estas páginas, véase C. Berg, Batracios Argentinos. Anales del Museo Nacional de Buenos Aires, 1896 V. pág. 147, 226.

existía en una farmacia de La Plata desde hacía muchos años. Todas las experiencias referidas en adelante son hechas con las dos últimas muestras que se manifestaron más activas.

Antes de informar sobre investigaciones personales no es malo recordar brevemente, en sus rasgos principales, la posología del curare. Ya he dicho que la rana (*Esculenta* o *Temporaria*) es tan sensible a la acción del curare, que se usa como reactivo para medir la actividad de la droga. La acción del curare es una parálisis de los movimientos voluntarios, debida según la doctrina clásica de Cl. Bernard, a la parálisis de las placas motrices, a consecuencia de la cual los impulsos nerviosos no pueden llegar más a las fibras musculares. Una rana curarizada no puede moverse, no reacciona a ningún estímulo, y permanece inmóvil en la posición en que la pone el observador.

La cantidad de curare necesaria para que una rana sea paralizada prontamente no se puede, por las razones anteriormente mencionadas, determinar exactamente y varía también con el peso del animal. Según Schmiedeberg. 0,003 0,005 mg. de curarina, o una correspondiente cantidad de curare inmovilizan completamente una rana; es decir de 0,075 a 0,125 mg. de curare.

Según Tarchanoff (1) «Pour paralyser une grenouille il suffit de lui administrer la dixième partie d'un milligramme». Morat y Doyon dicen que bastan para una rana dos—cuatro gotas de solución al 1 %.

En algunas experiencias de Langley (2) un centímetro cúbico de curare al 0,05 % daba parálisis del ciático en una hora y cuarto.

(1) Diction de Physiol de A. Richet. Paris 1900. Article Curare.

(2) Journal of Physiol. 1909. XXXIX. pág. 249.

En la guía para trabajos prácticos del laboratorio de Fisiología de Cambridge, se indica usar dos gotas para hacer la experiencia de Cl. Bernard.

Para los mamíferos las indicaciones son menos seguras y la regla general es de inyectar paulatinamente pequeñas cantidades de curare, vigilando la aparición de los síntomas de parálisis.

En el conejo, según Tarchanoff (l. c.) las dosis de 3-7 miligramos producen parálisis. Según Morat y Doyon, (1) un curare de buena calidad dá sus efectos habituales sobre un kilogramo de conejo en dosis de un centígramo.

Animales refractarios a la acción del curare solamente se encuentran entre los invertebrados. Tarchanoff (l. c.) recuerda la gran resistencia de los moluscos y de algunos crustáceos, en los cuales el sistema nervioso central sería afectado antes que los músculos y afirma la refractariedad de las medusas.

Entre las observaciones modernas sobre invertebrados recuerdo las de Lapicque (2), que usó para curarizar un caracol (*Helix pomatia*) cinco miligramos de curare y la misma cantidad para un *Astacus fluviatillis*.

Por lo que respecta a la menor sensibilidad de algunos animales hacia el curare, recuerdo que según Lapicque el sapo (*Bufo vulgaris*) necesita una dosis triple que la rana; y las observaciones del mismo confirman las antiguas de Weir Mitchell sobre la notable resistencia de la tortuga hacia el curare.

b) Mis observaciones empezaron en el mes de Abril y duraron hasta el mes de Noviembre, pudiéndose resumir en pocos ejemplos.

(1) *Traité de Physiologie*. París Masson. 1902 tomo II, pág. 113 y sig.

(2) *C. r. Soc. de biol.* 1910. LXVIII. p. 1007-1010.

La inyección de curare en el saco dorsal de la rana (*Leptodactylus oc.*) se hacía al principio, según la técnica común en todos los laboratorios, con una fina pipeta de vidrio cuya extremidad se introducía en una pequeña abertura practicada en la piel del dorso.

Un centímetro cúbico de esta pipeta daba 28 gotas regulares de la solución usada. Mar tarde, como la introducción de 2-4-6 gotas se mostrara insuficiente y como la introducción de cantidades mayores fácilmente podrían determinar el escape de una parte de la solución por la abertura cutánea, he practicado siempre la inyección con una jeringa de Pravaz, haciendo un leve masaje antes de extraer la aguja, para facilitar la absorción del líquido en las vías linfáticas.

Núm. 1) Leptodac ♀ gr. 36.

Horas 4,7' Inyección de cm^3 0,2 de solución curare al 1 % en el saco dorsal.

4h,15' Ningún efecto.

4h,24' Ningún efecto.

4h,30' Ningún efecto.

5h, El animal no muestra absolutamente nada anormal en su comportamiento.

Núm. 2) Leptodac ♀ gr. 34.

Horas 4,13' Inyección cm^3 0,5(=14 gotas) de solución 1 % curare en el saco dorsal.

4h,25' Ningún efecto.

4h,45' Se mueve y salta muy ágil

5h, Ningún efecto; no muestra nada de anormal.

5h,15' Ningún efecto; la rana se dá vuelta prontamente cuando se la pone sobre el dorso.

Núm. 3) *Leptodac* ♂ gr. 40.

Horas 4,15', 0,5 cm⁵ solución de curare 1 % en el saco dorsal.

4h,35' Ningún síntoma de parálisis.

4h,45' Ningún efecto.

4h,55' Siempre vivaz.

5h,5' Se mueve espontáneamente, pero se muestra un poco atolondrada, puesta en el agua nada regularmente.

5h,15' Se mueve muy bien y se dá vuelta cuando se la pone sobre el dorso.

Núm. 4) *Leptodac* ♂ gr. 50.

Horas 4,25', 1 cm⁵ de solución 1 % de curare en el saco dorsal.

4h,40' Ningún efecto.

4h,50' Muy vivaz y enérgica.

5h,10' Ningún efecto.

5h,15' Ningún efecto; se mueve y salta enérgicamente.

El resultado de estas observaciones de las cuales no he referido que pocos ejemplos es que, ranas del peso de 35-50 gramos, no manifiestan ningún síntoma de curarización después de 50 minutos á una hora de la inyección de 0,2—1,0 cm⁵ de curare al 1 %.

Necesitaba ante todo comparar la acción de nuestro curare sobre la rana, con su acción sobre otros animales y voy a referir brevemente el resultado de las experiencias hechas sobre el sapo, la hyla, el conejo y el perro.

Los ejemplares de sapo usados por mí, pertenecían a la especie *Bufo marinus* y alcanzaban dimensiones notables, mostrándose siempre regularmente sensibles a la

acción del curare, como se puede ver en la siguiente tabla, en la cual están incluidas observaciones paralelamente hechas, con la misma solución de curare, sobre ranas y sobre un ejemplar de *Hyla raddiana* (rana de zarzal):

	Cantidad de curare	Parálisis completa desps. de	Observaciones
5. <i>Bufo marinus</i> , peso gr.	102—cm ³	0,5 m' 15	} Fueron sacrificados para una experiencia.
6. » » » »	110— »	0,5 » 11	
7. » » » »	137— »	0,5 » 15	
8. » » » »	96— »	0,5 » 9	} Se restablecen perfectamente en 48 horas.
9. » » » »	73— »	1,0 » 6 ^{1/2}	
10. <i>Hyla raddiana</i> , »	15—gts.	2 » 20	
11. <i>Leptodac.</i>	48—cm ³	0,5	} Después de 40—45' no son paralizadas.
12. » » » »	75— »	1,0	
13. » » » »	42— »	1,0	
14. » » » »	40— »	0,5	
15. <i>Conejo</i> , peso kg.	1,500 cm ³	1,0 en 4'	muere
16. » » » »	1,300 »	0,5 » 7'	Paralizado
17. » » » »	1,500 »	0,5 » 11'	Parálisis incomp.
18. » » » »	1.500 »	1,0 » 3'	» »
19. <i>Perro</i> , » »	7,500 »	1,0 » 13'	» »

Resulta entonces que el curare usado en estas experiencias tiene una intensidad de acción que concuerda con los datos clásicos; hemos visto en efecto que 3-7 miligramos es la dosis tóxica para un conejo, y en nuestras experiencias 5 miligramos son paralizantes y 10 mortales. Los efectos en el perro de 1 centígramo y en la rana de zarzal de 2 gotas, corresponden también a los conocimientos anteriores; como concuerdan con ellos el comportamiento del sapo (que ya hemos visto ofrecer una cierta resistencia al curare) el cual queda rápidamente paralizado por

dosis que no son elevadas en proporción a su talla (véase el número 7 del peso de 157 gramos, paralizado en 15 minutos por 5 miligramos de curare).

Bastante rara al contrario es la notable resistencia de la rana, especialmente relacionada con la rana europea: resistencia que se manifiesta por la inactividad de dosis regulares y con el largo tiempo necesario para obtener una parálisis con dosis muy elevadas.

No hay, en efecto, que pensar que el *Leptodactylus* presente una absoluta refractariedad, en el sentido que cualquier cantidad de curare quede sin efectos tóxicos: lo cierto es que las dosis tienen que ser muy grandes y los efectos se dejan esperar un buen rato.

Prolongando la observación de la rana por más de una hora se puede ver que la inyección de un centímetro cúbico, y a veces de medio, determinan un estado paralítico, que no comparece generalmente antes de una hora y que termina con la muerte del animal.

Véanse por ejemplo las siguientes experiencias hechas con distintas dosis sobre 11 ranas en la primera semana de Noviembre:

20. *Leptodac.* ♂ gr. 60—4h,20' cm³ 1,0 curare 1 %
—5h,5' se mueve y nada regularmente.
—5h,20' paralizada, (al día siguiente muerta).
21. *Leptodac.* ♂ gr. 47—4h,55' cm³ 1,0 curare 1 %
—6h,5' nada y se mueve.
—6h,15' paralizada, (al día siguiente muerta).
22. *Leptodac.* ♀ gr. 34—11h, { curare 1 %, cm³ 0,5 } 6h de la tarde,
23. *Leptodac.* ♀ gr. 36—12h, { paralizadas } muertas.
24. *Leptodac.* ♀ gr. 32—10h,25' { 0,5 curare 1 %,
25. *Leptodac.* ♀ gr. 33—11h,35' { se mueven y nadan; la primera es
muy vivaz y fuerte.
A la tarde las dos son paralizadas,
pero la más chica incompletamente.

26. *Leptodac.* ♂ gr. 56—10h,30' 1 cm³ curare 1 ‰.
—11h,40' paralizada.

27. <i>Leptodac.</i> ♀ gr. 52	} cm ³ 0,25 curare 1 ‰ ningún efecto nunca.
» ♀ » 30	
» ♀ » 38	
» ♀ » 34	

Como se vé facilmente, la parálisis del animal no se manifiesta nunca antes de una hora después de la inyección, y los animales que han sido paralizados generalmente mueren sin restablecerse lo que parece indicar un mecanismo tóxico distinto del habitual envenenamiento por el curare.

c). Existen dos experiencias bien conocidas, experiencias de curso, para demostrar la acción específica del curare sobre el mecanismo de conducción neuro-muscular. Una es conocida como «*Experiencia de Cl. Bernard*» porque este sabio la ideó, y fundó en ella su doctrina de la acción curárica. He aquí la descripción del procedimiento con palabras del mismo autor (1) «Nosotros tomamos una «rana y antes de envenenarla, ligamos fuertemente la aorta «y las partes blandas, menos los nervios en la región lumbar, de tal suerte que la sangre del corazón no pueda «llegar a los miembros inferiores; la parte posterior y el «tronco se encuentran en comunicación por los nervios «lumbares y estos órganos, como ya sabemos, no recibiendo por sus extremidades la sangre emponzoñada, no sirven para propagar el envenenamiento por el curare que «marcha siempre del centro a la periferia. En lugar de conservar toda la parte posterior podríamos conservar un

(1) *Cl. Bernard*. Lecciones sobre las propiedades de los tejidos vivos. Traducción de R. Ibañez Abellan. (Madrid, 1880). Pág. 176.

«solo músculo, el soleo, por ejemplo, ligando la arteria que le conduce la sangre. La rana preparada de esta manera, manifiesta entonces su sensibilidad para este músculo como para los miembros cuyo uso se le había conservado».

La otra consiste en poner una preparación neuromuscular (ciático-gastrocnemio) en una solución al 0,1 % de curare de manera que el nervio quede fuera del líquido; después de un cierto tiempo la estimulación eléctrica del nervio no causa contracción del músculo. Al contrario, en otra preparación de control cuyo nervio ha sido sumergido en la solución curárica mientras el músculo queda afuera, la excitabilidad indirecta—es decir por el ciático—es conservada. Estos métodos experimentales me parecieron los más indicados para averiguar, si la escasa sensibilidad del *Leptodactylus* depende de una propiedad intrínseca de los elementos, que son normalmente afectados por el curare, o si depende de una propiedad del animal íntegro y vivo como podía ser—por ejemplo—una rapidísima eliminación del veneno.

Las experiencias sobre preparaciones neuro-musculares se hicieron aprovechando el aparato ideado por Lucas (1) y constituido por una cubeta de ebonita en la cual se fija el músculo teniéndolo sumergido en la solución a estudiar; dos electrodos de platino penetran en el aparato y pueden aplicarse al nervio mientras éste queda fuera del líquido; la extremidad tendinosa del gastrocnemio se conecta por medio de un hilo con la extremidad de la palanca inscriptora. Este aparatito muy sencillo y práctico

(1) La descripción y figura de un aparato que difiere solamente en detalles de aquel usado por mí, se encuentra en la memoria de K. Lucas. The effect of alcohol on the excitation and recovery processes in nerve, *Journ. of physiol.* 1913. XLVI 470-505.

permite hacer fácilmente experiencias sobre músculos y nervios en distintas soluciones.

Las soluciones de curare de concentración diversa se hacían en líquido de Ringer, isotónico con la sangre de rana.

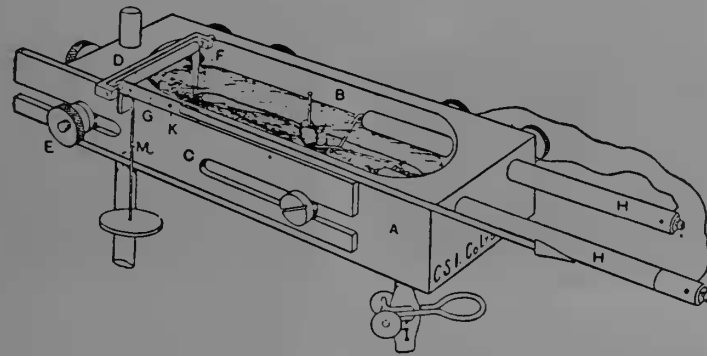


Fig. 1

- A, Cubeta
- B, Punto en que se fija el músculo.
- C, Porta-palanca móvil.
- D, Eje de la palanca.
- E, Tornillo para fijar C.
- F, Gancho al cual se fija la extremidad libre del músculo.
- G, Brazo inscriptor de la palanca.
- H, Eléctrodos.
- I, Pinza para descargar el contenido líquido.
- K, Agujeros para colocar la carga.
- M, Carga.

En una primera serie de experiencias he ensayado la excitabilidad indirecta del músculo después de una inmersión variable en curare al 0,1 y al 1 %.

El curare al 0,1 % no mostró ninguna acción. Tampoco soluciones más concentradas, tuvieron acción apreciable, como se puede ver en la Fig. 2, la cual demuestra que la excitabilidad indirecta queda perfectamente conservada después de cuarenta minutos en curare al 1 %.

En otra serie de experiencias ensayé la acción del curare sobre el ergograma del gastrocnemio. El aparato usado era el mismo, pero los estímulos de abertura llegaban rítmicamente al nervio ciático por medio de un elije-estímulos rotativo, accionado por un motorcito eléctrico. La frecuencia de los estímulos era de 50 cada minuto.

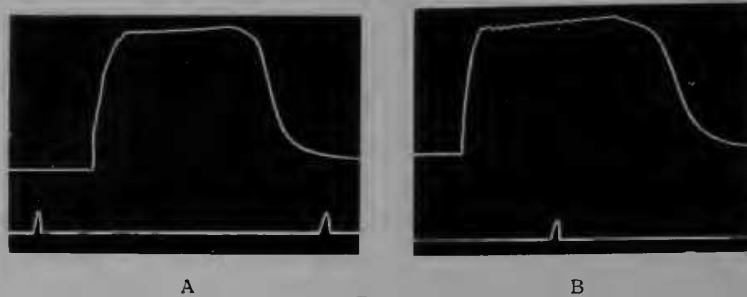


Fig. 2
Estimulación farádica del ciático con 50 unidades Kronecker; A, músculo en líquido de Ringer; B, músculo durante 40 minutos en solución 1% de curare (tétano incompleto).

El resultado fué, que la inmersión del músculo en curare no disminuye sensiblemente la duración del ergograma. Dos preparaciones del mismo animal se usaban en las mismas condiciones experimentales, con la diferencia que, una estaba en el líquido de Ringer y la otra en solución de curare. No es necesario referir muchos gráficos de estas experiencias y bastarán los ejemplos de las figuras 3 y 4.

En estas se vé que la excitación del ciático dá un ergograma que no presenta diferencias sensibles si el músculo está en una solución de Ringer o si está en curare al 1%. La duración total del ergograma del cual han sido sacados los dos trozos fué de 45' para los dos músculos, mostrando que el curare no tuvo influencia sobre

la fatigabilidad del músculo, habiendo permanecido sumergido en curare durante una hora.

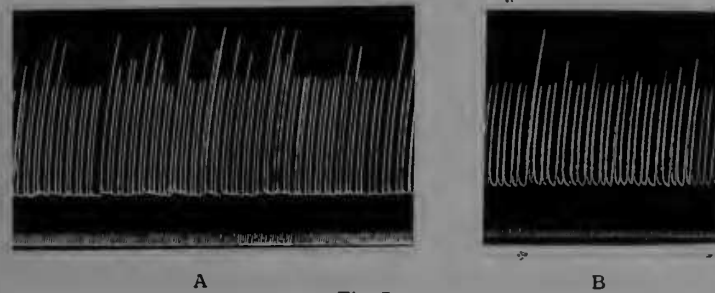


Fig. 3

Trozos de ergograma de gastrocnemio en líquido de Ringer; A, período inicial; B, después de 20 minutos. Tiempo en segundos.



Fig. 4

Trozos de ergograma de gastrocnemio en curare al 1 %; A, período inicial; B, después de 20 minutos, y 35 minutos después de la inmersión en curare.

«Es fácil demostrar—dice Tarchanoff—que la parálisis de las placas motrices por el curare no tiene lugar de una manera regularmente progresiva y continua, porque las contracciones musculares que resultan de la excitación eléctrica del nervio ciático (sacudidas de inducción 60-80 por minuto) durante el envenenamiento curárico no disminuyen progresivamente, hasta la cesación completa, sino que dan una curva periódica, es decir con-

tracciones interrumpidas por períodos de reposo más o menos largos». Me parece interesante a este propósito, comparar el ergograma de un gastrocnemio de sapo, con los de la rana.

La figura 5 muestra que 15-20 minutos después de la inmersión en curare, el músculo se vá haciendo inexcitable y que las contracciones disminuyen irregularmente quedando a menudo sin efecto el estímulo y existiendo un período de reposo bastante largo entre dos grupos de contracciones. Es decir, que el músculo de sapo se comporta como el de todos los batracios europeos estudiados, contrariamente al *Leptodactylus*.

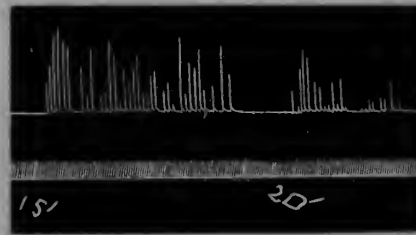


Fig. 5

Progresiva pero periódica excitabilidad del gastrocnemio de sapo.
Entre 15 y 20 minutos después de la inmersión en curare al 1 %.

Otra serie de investigaciones fundadas en la citada experiencia de Cl. Bernard fueron hechas con la siguiente técnica. En un *Leptodactylus* a cerebro y médula destruidos se practicaba una doble ligadura muy estrecha en el tercio superior del muslo, dejando afuera el nervio ciático. El animal se fijaba sobre una tablita de corcho mantenida vertical y los dos gastrocnemios disecados se conectaban con las palancas de un miógrafo doble. Dos electrodos para ciáticos daban el estímulo, es decir una sacudida de inducción o siempre de abertura o siempre de cierre, según las experiencias, medidas en unidades de Kronecker.

En el animal así preparado se inyectaba en el saco dorsal, el curare disuelto en líquido de Ringer.

Hé aquí el resultado de algunas experiencias resumidas en sus rasgos principales en estas tablas.

EXPERIENCIA 35 — 11 DE AGOSTO DE 1914

LEPTODACTYLUS ♀ gr. 34

Preparado con ligadura en la pata derecha

4h,20'—cm³ 0,5 curare 1 % en el saco dorsal

HORA	Intensidad y calidad del estímulo	Altura de la contracción mm.		Observaciones
		Pata ligada	Pata no ligada	
5h,10'	Abertura 1000	29	0	Diferencia en el umbral 2000 unidades
	3000	29	25	
	5000	40	31	
	5000	40	31	
5h,20'	Abertura 4000	32	22	
	5000	39	22	
	5500	39	33	
5h,40'	Abertura 8000	32	22	
	10000	34	31	

EXPERIENCIA 36 — 13 DE AGOSTO DE 1914

LEPTODACTYLUS ♀ gr. 32 — Preparación como la precedente

4h,25' — Curare 1 % en el saco dorsal — cm^3 0,3

HORA	Intensidad y calidad del estímulo	Altura de la contracción mm.		Observaciones
		Pata ligada	Pata no ligada	
5h,	80	26	0	Diferencia en el umbral 70 unidades
	100	26	0	
	150	30	16	
	200	31	16	
	500	30	16	
5h,20'	Cierre 200	0	7	Diferencia en el umbral —200 unidades
	300	0	17	
	400	12	17	

EXPERIENCIA 37—13 DE AGOSTO DE 1914

LEPTODACTYLUS ♀ gr. 34—Preparación como la precedente

6h,—Curare 1 % en el saco dorsal — cm³ 0,5

HORA	Intensidad y calidad del estímulo	Altura de la contracción mm.		Observaciones	
		Pata ligada	Pata no ligada		
6h,20'	Abertura	60	6	0	Diferencia en el umbral 40 unidades
		80	15	0	
		100	16	11	
		500	15	12	
		1000	16	13	
6h,30'	Cierre	90	0	4	Diferencia en el umbral —110 unidades
		100	0	6	
		150	0	8	
		200	12	10	
		1000	16	12	
6h,40'	Abertura	90	2	0	Diferencia en el umbral 110 unidades
		100	14	0	
		150	14	0	
		200	14	10	

EXPERIENCIA 38—16 DE AGOSTO DE 1914

LEPTODACTYLUS ♂ gr. 42—Preparación como las precedentes

4h.—Inyección curare 1 % en el saco dorsal — cm³ 0,5

HORA	Intensidad y calidad del estímulo	Altura de la contracción mm.		Observaciones	
		Pata ligada	Pata no ligada		
4h,30'	Abertura	150	18	0	Diferencia en el umbral 100 unidades
		200	18	0	
		250	18	13	
		500	18	18	
		1000	18	18	
5h,	Abertura	150	0	0	Diferencia en el umbral 0 unidades
		200	20	19	
		250	20	19	
		500	19	19	
5h,15'	Abertura	1000	20	20	Excitabilidad igual
		2000	29	26	
		3000	29	29	
		4000	30	32	
		5000	32	32	

EXPERIENCIA 39—16 DE AGOSTO DE 1914

LEPTODACTYLUS ♂ gr. 40—Preparación como las precedentes

5h,55'—Curare 1 % en el saco dorsal — cm³ 0,5

HORA	Intensidad y calidad del estímulo	Altura de la contracción mm.		Observaciones	
		Pata ligada	Pata no ligada		
6h,30'	Cierre	400	0	15	Diferencia en el umbral —200 unidades
		500	0	18	
		600	3	18	
		700	?	18	
		900	4	18	
		1000	6	18	
		1500	11	18	
		2000	13	18	
6h,45'	Abertura	250	8	0	Diferencia en el umbral 250 unidades
		300	12	0	
		400	16	0	
		500	17,5	3,5	
		1000	17,5	17,5	
		2000	17,5	17,5	
7h.	Abertura	600	16	0	Diferencia en el umbral 200 unidades
		700	16	0	
		800	17,5	17,5	

EXPERIENCIA 40—16 AGOSTO DE 1914

LEPTODACTYLUS ♂ gr. 40—Preparación como las precedentes

3h,30'—Inyección en el saco dorsal—1 cm³ curare 1 ‰

HORA	Intensidad y calidad del estímulo	Altura de la contracción mm.		Observaciones	
		Pata ligada	Pata no ligada		
3h,55' 4h,5'	Cierre	1000	6	0	Diferencia en el umbral 250 unidades
		1250	25	14	
		2000	25	26	
		4000	27	24	
		6000	28	30	
4h,15'	Abertura	900	20	10	Diferencia en el umbral 300 unidades
		1000	20	13	
		2000	18	15	
		3000	20	22	
		5000	20	22	
		6000	20	22	
4h,30'	Cierre	900	10	0	Diferencia en el umbral 350 unidades
		1000	17	0	
		1250	20	2	
		1500	20	23	
		2000	20	23	
		3000	26	23	

De la inspección de estos datos y de los gráficos (véanse figuras 6-11) podemos obtener un conocimiento más exacto sobre la acción del curare en la rana; es decir, podemos averiguar el momento en que algún efecto de la droga comienza a manifestarse y el grado de su intensidad, cuando la simple observación del animal nos daba solamente un resultado grosero.

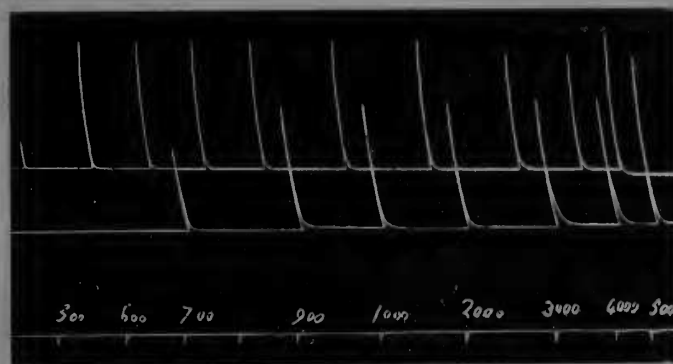


Fig. 6

Sacudidas de abertura una hora después de la inyección. La línea superior representa la pata derecha atada, cuya excitabilidad es de 200 unidades más grande que la de la otra (línea segunda). La línea inferior indica los estímulos.

De esta manera podemos ver que mientras dosis de 0,5-1,0 centígramos no llegan a causar la parálisis muscular en el espacio de una hora a una hora y media, una acción menos evidente empieza ya a manifestarse después de veinte minutos. Esta acción es la disminución de la excitabilidad, es decir el elevamiento del umbral del estímulo indirecto. Pero esta disminución de la excitabilidad nunca llega a la abolición de la excitabilidad por vía nerviosa, ni aún después de una hora o una hora y cuarto desde la inyección de curare. Lo que significa, en otras palabras, que en estas condiciones experimentales

no se puede obtener en el *Leptodactylus* el efecto típico del curare.

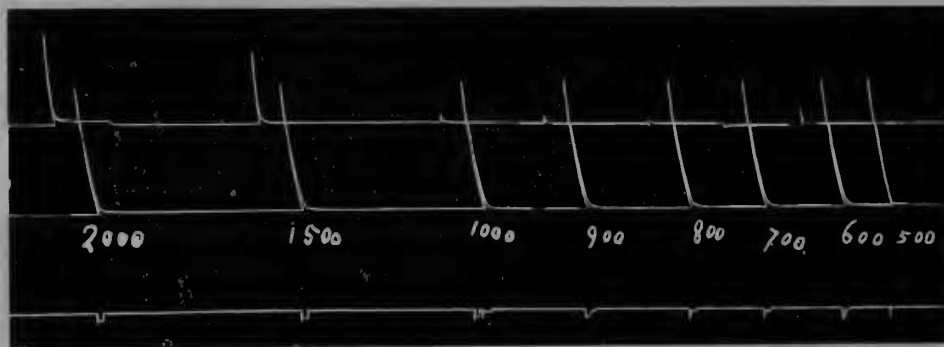


Fig. 7

Sacudidas de cierre. La línea superior corresponde a la pata ligada, la media a la no ligada, en la inferior están marcados los momentos del estímulo. 35 minutos después de la inyección de $0,5 \text{ cm}^3$ de curare.

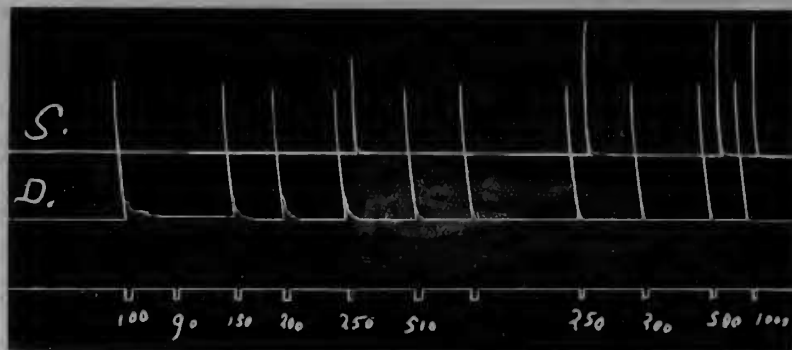


Fig. 8

Experiencia 38.—30 minutos después de la inyección de curare. Sacudidas de abertura. La línea mediana corresponde a la pata ligada (derecha); la superior a la curarizada, la inferior indica los estímulos.

Además hay que hacer una observación interesante, es decir, que en muchos casos mientras el umbral es más alto para estímulos de abertura, es más bajo—es decir, la excitabilidad es aumentada—para estímulos de cierre. Ejemplos de este hecho los encontramos en las experiencias

números 36, 37 y 39 donde, en las tablas correspondientes, la diferencia en el umbral es indicada como negativa (por ejemplo experiencias 36; estímulos de cierre: diferencia —200 unidades). Sobre este detalle tendré la oportunidad de volver en otra ocasión.

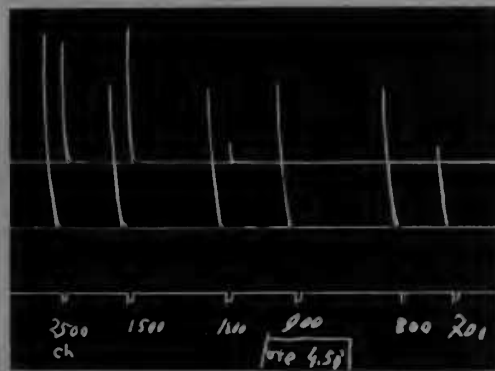


Fig. 9

La misma preparación de la figura 8, 50 minutos después de la inyección. Sacudidas de *cierre*.

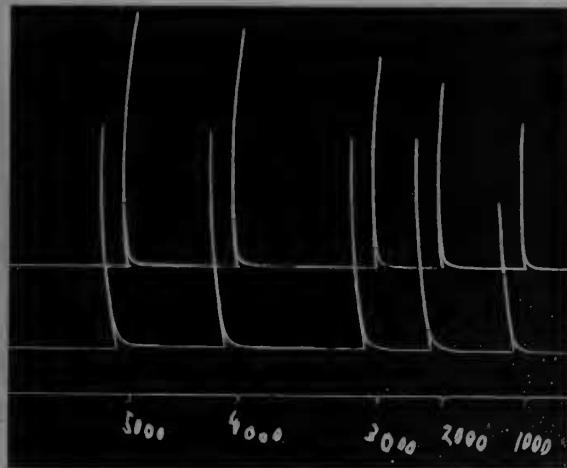


Fig. 10

La misma preparación de las figs. 8 y 9, 1 hora y 15' después de la inyección. La línea superior corresponde a la pata no ligada (curarizada) la media a la pata ligada. Sacudidas de *apertura*.

Resumiendo esta primera serie de observaciones podemos repetir que el *Leptodactylus* presenta hacia el envenenamiento curárico, una notable resistencia, desde que, cantidades por lo menos 20 veces mayores, de las consideradas suficientes para paralizar una rana, no pueden determinar el fenómeno de la inexcitabilidad muscular por

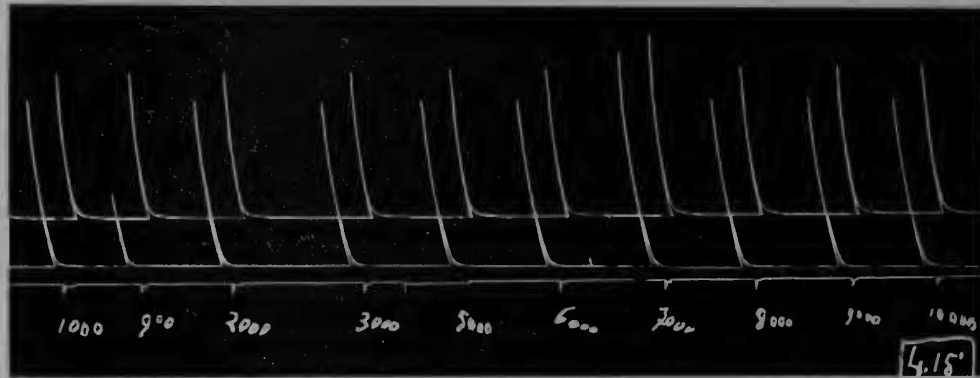


Fig. 11, A

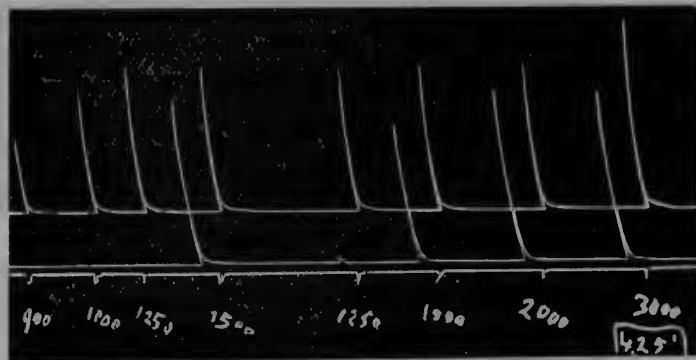


Fig. 11, B

Experiencia 40. — Preparación como las precedentes. Curare 1 cm^3 al 1 %. La línea superior de los gráficos corresponde a la pata ligada, la media a la no ligada (curarizada), la inferior indica los estímulos.

A, Sacudidas de *apertura* 45 minutos después de la inyección.

B, Sacudidas de *cierre* 55 minutos después de la inyección.

vía nerviosa, que es característico y esencial en dicho envenenamiento. Debemos no olvidar un hecho, es decir, que el Curare no deja de tener ninguna acción sobre el *Leptodactylus*. Hemos visto que una dosis de un centígramo y tal vez de medio centígramo pueden determinar una parálisis motriz del animal, que se manifiesta siempre con notable retardo—mínimo una hora—y que termina con la muerte del animal. El modo como se manifiesta el envenenamiento, nos sugiere que no se trata del mecanismo típico de curarización. De todas maneras, era indicado investigar si el animal así paralizado presentaba el fenómeno de la inexcitabilidad indirecta, y en caso afirmativo se podía pensar que el conjunto de los fenómenos observados y descriptos se resumen, en una *notable resistencia* del animal hacia la droga.

Los *Leptodactylus* números 20, 21, 22, 23, 25 y 26, de los cuales hemos anteriormente referido que permanecieron paralizados por 0,5-1,0 centímetro cúbico de Curare y que murieron más tarde, fueron examinados a este respecto y se encontró siempre, que el músculo gastrocnemio se contraía por estimulación del nervio ciático y que la excitabilidad era bastante elevada, siendo suficientes estímulos farádicos entre 30 y 100 unidades Kronecker. Podemos pensar, pues, que no se trata únicamente de una menor sensibilidad sino de una distinta reacción del organismo hacia la droga; en otras palabras, el efecto del Curare es distinto en el *Leptodactylus* que en los demás animales no solo cuantitativamente sino cualitativamente.

II

Hablando de la acción del Curare y de los síntomas que caracterizan esta acción, yo siempre me he referido hasta ahora a la doctrina clásica según la cual, el Curare determina una parálisis de las placas motrices. Pero si esto se podía hacer por brevedad y para no introducir elementos de discusión, que habrían tenido únicamente el efecto de complicar la descripción de los hechos, no se puede hacer más cuando se quiera tentar una interpretación de los fenómenos observados. En efecto, los estudios modernos nos han demostrado que el mecanismo de la acción curárica no es el que había sido universalmente aceptado, después de los estudios de Cl. Bernard, y que nuestras ideas a este respecto—como respecto a la acción de las drogas en general—tienen que tomar una orientación nueva.

El especial comportamiento del *Leptodactylus* hacia el Curare me pareció poder ofrecernos el modo de contribuir al estudio de este problema, que ha sido llamado *el problema del Curare* y que tiene íntimas relaciones con otros puntos interesantes de la fisiología general de los músculos. Empecemos, pues, con una rápida exposición de los antecedentes de la cuestión.

En una serie de trabajos sobre el mecanismo de acción de la nicotina, del 1905 al 1908, Langley demostró que la nicotina no actúa sobre las terminaciones nerviosas, sino directamente sobre el músculo. Las experiencias se fundaban especialmente en la observación de la acción de la droga, después que los nervios habían sido cortados dejándolos degenerar junto con sus terminaciones. Los re-

sultados de estos estudios son reunidos en una memoria del 1908 (1) y son los siguientes:

De las dos substancias que hay que tomar en consideración en el músculo—sarcoplasma y substancia contractil—la nicotina actúa sobre la segunda.

Tenemos sin embargo que distinguir las contracciones lentas de las sacudidas breves, causadas por la droga, y resultaría que las dos clases de fenómenos derivan de la combinación de la droga con dos substancias distintas contenidas en la substancia contractil. Langley admite que el mecanismo de acción de las drogas, es el mismo en que se funda la doctrina de la inmunidad de Ehrlich.

La molécula contractil contiene numerosos grupos atómicos—raíces de la cadena lateral de Ehrlich—que se pueden indicar brevemente como *grupos o substancias receptivas*; la nicotina combinándose con una de estas substancias receptivas causa la contracción tónica, combinándose con la otra la sacudida breve.

Un gran número de alcaloides y otras drogas se consideraban anteriormente como dotados de acción específica sobre las terminaciones nerviosas, pero fué demostrado recientemente por Langley mismo y otros, la independencia de su acción característica de las terminaciones nerviosas.

Naturalmente este modo de considerar los fenómenos no transcurrió sin discusión: recuerdo por ejemplo los trabajos de Fühner (2) y de Magnus (3) sobre la guanidina

(1) J. N. LANGLEY. — On the contraction of muscle chiefly in relation to the presence of «receptive» substance. Part. III. (Journ of Physiol. 1908, XXXVII, pág. 285-300.)

(2) H. FÜHNER. — Curarestudien. I, Die periphere Wirkung des Guanidins. (Arch. f. exper. Path. 1908. LVIII.)

(3) R. MAGNUS. — Kann man den Angriffspunkt eines Giftes durch. Antagonistische Giftversuche bestimmen? (Pflüger's Arch. 1908. CXXIII. pág. 99-112.)

y la fisiostigmina, que sostiene la acción específica de estas sustancias sobre las terminaciones nerviosas. Pero para la guanidina yo mismo he demostrado (1) que su acción se manifiesta sobre el músculo y probablemente sobre dos distintas sustancias, según que determine contracciones rápidas o modifique la contractilidad muscular.

Las investigaciones en este campo estriban, en parte, en la observación del antagonismo entre dos drogas distintas. Ejemplos de esos antagonismos habían sido demostrados por Heidenhain, (fisiostigmina y atropina) por Langley, (pilocarpina y atropina) Edmund y Roth (fisiostigmina y curare), pero algunos autores como Magnus (l. c.) y Dixon (2) no aceptaron la interpretación que se daba de estos fenómenos.

Langley, después de haber demostrado en 1905 que en el pollo una inyección de Curare impide dentro de ciertos límites las contracciones causadas por la nicotina; demostró que en la rana y en el sapo se manifiesta el mismo fenómeno de antagonismo.

Una investigación más prolija de este problema fué, más tarde, publicada en distintas memorias por Langley mismo, llegando a la confirmación de las ideas referidas y al conocimiento de muchos detalles (3).

He aquí por lo que se refiere a nuestro estudio, los hechos más importantes.

(1) M. CAMIS. — Physiological and histological observations on muscles in relation to the action of guanidine. (*Journ. of. physiol.* 1909. XXXIX. pág. 73-97.)

(2) DIXON. — *Proc. Roy. Med. Soc.* 1912. VI pág. 14.

(3) J. N. LANGLEY. — On the contraction of muscles chiefly in relation to the presence of «receptive» substances. IV. The effect of curari and of some other substances on the nicotine response of the sartorius and gastrocnemius muscle of the frog. (*Journ. of. physiol.* 1909 XXXIX pág. 235-255.)

id. id. The protracted contraction of muscle caused by nicotine and other substances chiefly in relation to the rectus abdomis muscle of the frog. (*Journ. of. physiol.* 1913 XLVII pág. 159-195.)

id. id. The antagonism of curari and nicotine in skeletal muscle. (*Journ. of. physiol.* 1914. XLVIII pág. 73-108.)

La nicotina causa en los músculos de la rana contracciones tónicas y sacudidas rápidas. La concentración de nicotina que determina estos efectos es distinta, en los distintos músculos. Por ejemplo, en el *sartorius* la concentración mínima es de 0,001 ‰; para el *flexor carpi radialis* es de 0,0001 ‰ y para el *rectus abdominis* 0,00001 ‰. La velocidad y la altura de la contracción aumentan con el crecimiento de la concentración. Hay que distinguir la contracción causada en la región nerviosa del músculo de la contracción de la región no nerviosa. Las soluciones diluidas de nicotina, hasta 0,1 ‰, tienen un efecto limitado a la región nerviosa del músculo, que es de dos clases: una es una sacudida rápida que se propaga más o menos a lo largo de la fibra muscular; la otra es una contracción tónica lenta de naturaleza más bien local. La teoría de Langley es que, por lo menos dos sustancias especiales, (sustancias receptoras), existen en la región nerviosa del músculo y que el impulso nervioso puede causar la contracción, únicamente actuando sobre la sustancia receptiva; y que las sustancias receptoras forman combinaciones disociables. Así la nicotina, combinándose con estas sustancias, por un lado impide que sean influenciadas por los impulsos nerviosos, del otro, tiende a causar un proceso catabólico en la sustancia contractil, por el cual se efectúa la contracción.

El Curare combinándose con la sustancia receptiva simplemente impide que ella—y la sustancia contractil—sea influenciada por los impulsos nerviosos.

Pero la nicotina en concentración mayor de 0,25 ‰ a 1 ‰, causa contracción del músculo tanto en la región nerviosa como afuera de ella. La sustancia sobre la cual actúa la nicotina en estas condiciones, se denomina: *sustancia general del músculo*, para distinguirla de la

substancia receptiva. Sobre el efecto de la nicotina en la porción no nerviosa del músculo, el Curare no manifiesta un antagonismo apreciable: el antagonismo está limitado a la substancia especial de la región nerviosa.

He creído oportuno recordar en sus rasgos fundamentales esta doctrina, porque los hechos en que ella estriba constituyen el punto de origen de mis experiencias. En efecto, puesto que el Curare normalmente actúa combinándose con una *substancia receptiva*, la hipótesis que más espontáneamente se presenta a nuestra mente, para explicar la resistencia del *Leptodactylus* hacia el Curare, es que los músculos de este animal no contengan el grupo atómico receptivo, que normalmente—séame permitida esta expresión para indicar la inmensa mayoría de las especies—se combina con esta droga. La confirmación directa de esta hipótesis por medio del análisis químico no es posible, porque no conocemos los caracteres químicos de esta substancia. Pero podemos tentar un análisis fisiológico fundándonos en el hecho de que la misma substancia con que se combina el Curare, es la que se combina con la nicotina.

Entonces, si la substancia receptiva falta en el músculo del *Leptodactylus*, podemos esperar que la nicotina tampoco pueda tener sobre ella su acción normal.

d) Las investigaciones se hicieron sobre músculos *gastrocnemius*, *sartorius* y *rectus abdominis*, poniendo el músculo en el aparato ya recordado (cubeta de Lucas) sumergido en líquido de Ringer y dejándolo unos minutos en los cuales se sacaba un trozo de gráfico, que naturalmente es una línea recta horizontal, hasta que el músculo permanece inmóvil; abriendo la pinza que cierra la abertura inferior de la cubeta se sacaba el líquido, que se sustituía con la solución de nicotina en Ringer de concen-

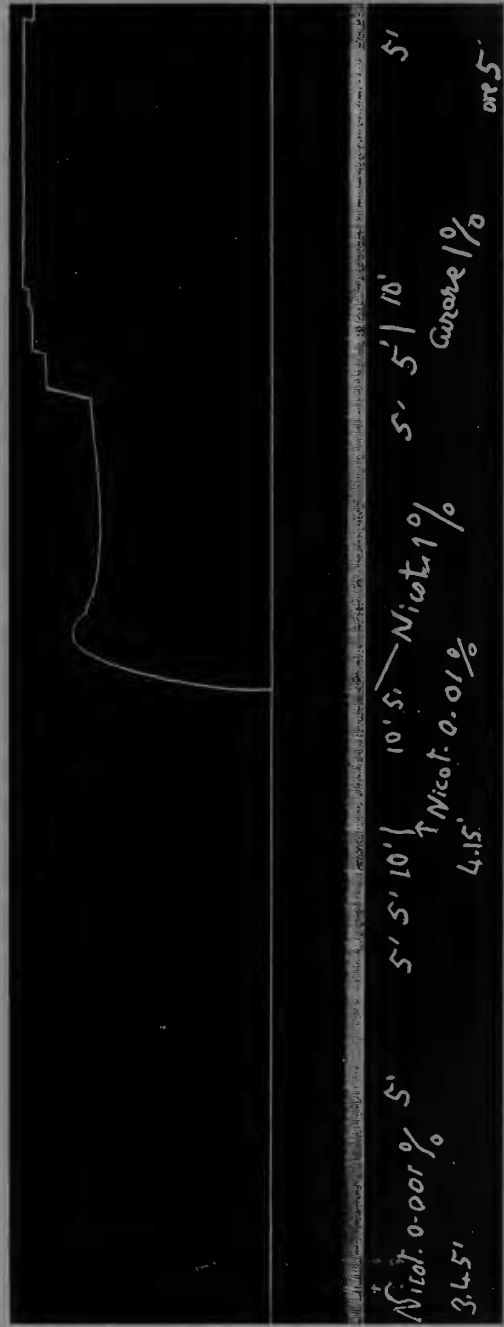


Fig. 12

Inmersión del músculo *Sartorius* sucesivamente en soluciones de nicotina al 0,001, 0,01 y 1 %.
En los puntos indicados el tambor es detenido durante 5 o 10 minutos, *Tiempo en segundos.*

tracción oportuna. Con el mismo sistema se podía, naturalmente, poner el músculo en cualquier otra solución (Curare, etc.) sin molestarlo ni llevar alteración artificial alguna al gráfico. El tambor marchaba lentamente y se paraba cada pocos segundos, dejándolo firme 5-10 minutos, lo que es el método oportuno para observar modificaciones lentas en el estado del músculo. La carga variaba con arreglo a la fuerza del músculo usado, siendo siempre una carga muy moderada (de 1 a 5 gramos).

Examinando el resultado de estas observaciones se nota en seguida que la sensibilidad del músculo de *Leptodactylus* hacia la nicotina, es muy inferior a la de los músculos de rana.

La primera observación es que en ningún caso yo pude observar que la nicotina, en ninguna concentración, determinara las sacudidas rápidas (*twitches*) observadas por Langley especialmente en el *sartorius*.

La única forma de contracción observada en el *Leptodactylus*, es la de contracciones tónicas: como ya he recordado, en la rana, estas contracciones tónicas determinadas por concentraciones de nicotina hasta 0,1 % son propias de la región nerviosa y la nicotina tiene un mínimum de concentración activa distinto para los distintos músculos, es decir 0,001 % para el *sartorius*, 0,0001 % para el *gastrocnemius*, 0,00001 % para el *rectus abdominis* y 0,0001 % para el *flexor carpi*. Pero en el *Leptodactylus* estas concentraciones mínimas son inactivas y para obtener acortamiento del músculo es menester usar soluciones mucho más concentradas.

He aquí algunos ejemplos de nuestras experiencias: En las figuras 12-16 se vé que concentraciones inferiores al 1 % no causan contracción tónica, mientras la solución 1 % origina una contracción notable y de larga



Fig. 13
Los dos *Leptodactylus* sucesivamente sumergidos en soluciones al 0,001, 0,1 y 1 % de nicotina.
Tiempo en 10 segundos. Detención del tambor en los puntos indicados por 5 m.



Fig. 14
Sartorius en soluciones al 0,001, 0,01, 0,1 y 1 %.
Detenciones del tambor indicados en el gráfico. Tiempo en segundos.

duración. En la figura 16 se puede comparar la contracción causada por la nicotina al 0,1 % con la determinada por la solución al 1 %.

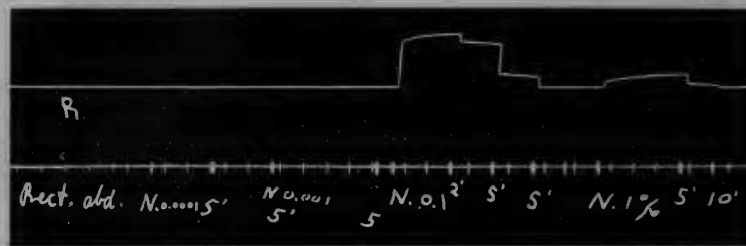


Fig. 15

Músculo *rectus abdominis* en soluciones progresivamente más concentradas de nicotina. Contracción en la solución al 0,1 %. Tiempo en 10 segundos.

Como las concentraciones arriba de 0,1% son las que en la rana actúan sobre la substancia general del músculo, y estas son las únicas concentraciones que se muestran activas en el músculo del *Leptodactylus*, hay motivo para suponer que en ellos únicamente exista esta clase de substancia.

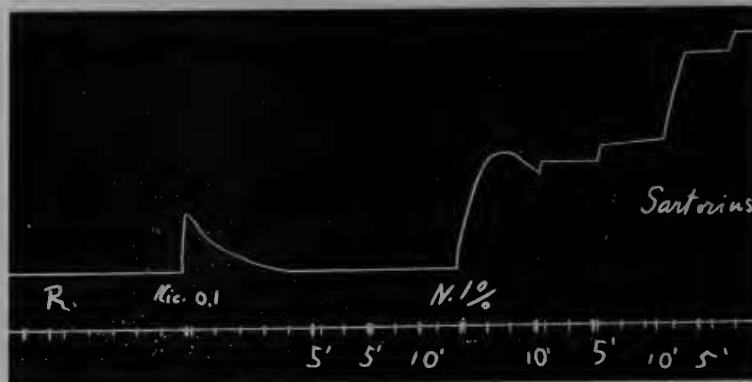


Fig. 16

Sartorius en nicotina. Pequeña contracción tónica de la duración de 30 segundos, por nicotina al 0,1 %; contracción grande y durable en nicotina al 1 %. Tiempo en 10 segundos. Detén del tambor en los puntos indicados por 5 y 10 minutos.

Pero, si en la máxima parte de las experiencias los resultados fueron los que acabo de mencionar en algunos casos soluciones de nicotina, más diluidas que al 0,1% determinaron una contracción. Estos casos fueron excepcionales y de todas maneras las soluciones eran siempre mucho más concentradas que las que ya pueden ser activas sobre la rana.

En la tabla siguiente están resumidas unas cuantas experiencias y observándola se puede ver que la sensibilidad de los músculos del *Leptodactylus*, es siempre mucho más baja que en la rana.

TABLA

Músculo	Concentración mínima activa en la rana (según Langley)	EFECTO EN EL LEPTODACTYLUS			
		0,001	0,01	0,1	1
Sartorius	0,001	0,001	0,01	0,1	1
»	—	Nada	Nada	Nada	Contrac.
»	—	—	—	Peq.ybrv.	Contrac.
»	—	Nada	Nada	—	Contrac.
»	—	—	Trazas	Nada	Contrac.
»	—	—	—	—	Contrac.
»	—	—	Nada	—	—
Gastrocnemius	0,0001	—	Trazas	—	—
»	—	—	Nada	Nada	Contrac.
»	—	—	—	—	Contrac.
»	—	—	—	—	Contrac.
»	—	—	—	Contrac.	—
»	—	—	—	Nada	Contrac.
»	—	Nada	—	—	Contrac.
»	—	—	Trazas	Nada	—
»	—	—	Nada	Nada	Contrac.
»	—	—	—	—	Contrac.
»	—	—	—	Nada	—
»	—	Nada	Nada	—	Contrac.
»	—	—	Nada	Nada	Contrac.
Rectus Abdominis	0,00001	—	—	Contrac.	—
»	—	Nada	Nada	Nada	Contrac.
»	—	—	Nada	Nada	Contrac.
»	—	—	—	Nada	Contrac.
»	—	Contrac.	—	—	—

Naturalmente no se puede esperar que todos los músculos ofrezcan la misma excitabilidad, ha sido siempre notado por los autores,—y a este propósito también por Langley—que de individuo a individuo y de uno al otro de los músculos simétricos del mismo animal hay diferencias en el grado de excitabilidad. Menos aún puede esperarse que esos límites indicados por Langley entre las concentraciones activas sobre las substancias receptoras, y las activas sobre la substancia general, sean exactamente el mismo en la Rana y en el *Leptodactylus*. De todas maneras hay que notar que las contracciones causadas por soluciones diluidas son siempre—cuando existen—mucho menos pronunciadas que las causadas en el mismo músculo por soluciones al 1 %. Véase, por ejemplo, la figura 17.

Pero, a mi parecer, la ausencia completa de las contracciones rápidas, que es el efecto de la nicotina sobre una de las substancias receptoras, y la escasa excitabilidad para las concentraciones que actúan sobre la otra substancia receptiva, son argumentos para pensar que la primera falta completamente y la otra o falta o se encuentra en un estado distinto.

En efecto, según la doctrina que hemos tomado como hipótesis de trabajo, los grupos atómicos receptivos están conectados con la molécula de manera que combinándose con una droga pueden ser puestos fuera de juego sin daño para lo demás de la molécula. Otra clase de grupos atómicos, que pueden también asociarse con drogas o venenos, no pueden combinarse ni separarse sin perjuicio para la integridad molecular y constituyen parte integrante del mecanismo, o como la hemos llamado, substancia general.

Ahora los pocos casos en que la nicotina causó



Fig. 17

Sartorius. — Comparación entre la curva por nicotina al 0,01 % y la curva por nicotina al 1 %.

contracción del músculo en concentración igual o inferior a 0,1 %, nos presentan el problema de saber: si se trata de acción sobre la substancia fundamental, o si bastan ellos a demostrar la presencia de la substancia receptiva. Recordamos que el Curare tiene una acción antagonista, según una proporción constante, sobre las soluciones diluidas de nicotina, pero no tiene acción antagonista para las concentradas, que actúan sobre la substancia general del músculo. Este hecho ha sido demostrado por Langley y lo he podido confirmar yo mismo en muchas observaciones. Pero, si los ejemplos de contracción (en el *Leptodactylus*) por soluciones más diluidas que 0,5 %, son debidas a una acción sobre la substancia general, el Curare no tendrá tampoco en este caso acción antagonista. La figura 18 muestra que en un caso en el cual nicotina al 0,05 % causó contracción notable en un *rectus abdominis*, substitución de la nicotina con Curare no determinó el relajamiento del músculo que continuó en estado de contracción (1).

El conjunto de estas observaciones me pareció pues favorable a la hipótesis que el curare no tiene en el *Leptodactylus* una acción semejante a la que tiene sobre la rana y otros batrácidos, porque en el músculo de *Leptodactylus* falta la substancia receptiva con que el Curare se combina. Al mismo tiempo estos hechos son una confirmación de la doctrina del mecanismo de acción de las drogas, que hemos mencionado.

e) A efecto de controlar de otra manera la explicación que propongo para los hechos observados, me

(1) Para tener una comparación de como el Curare, substituyendo a la nicotina causa el rápido descenso de la curva, véanse las figuras 24 y 25 en: Langley, The antagonism of curari and nicotine in skeletal muscle, (*Journ of physiol.* 1914, XLVIII, pág. 73-108).

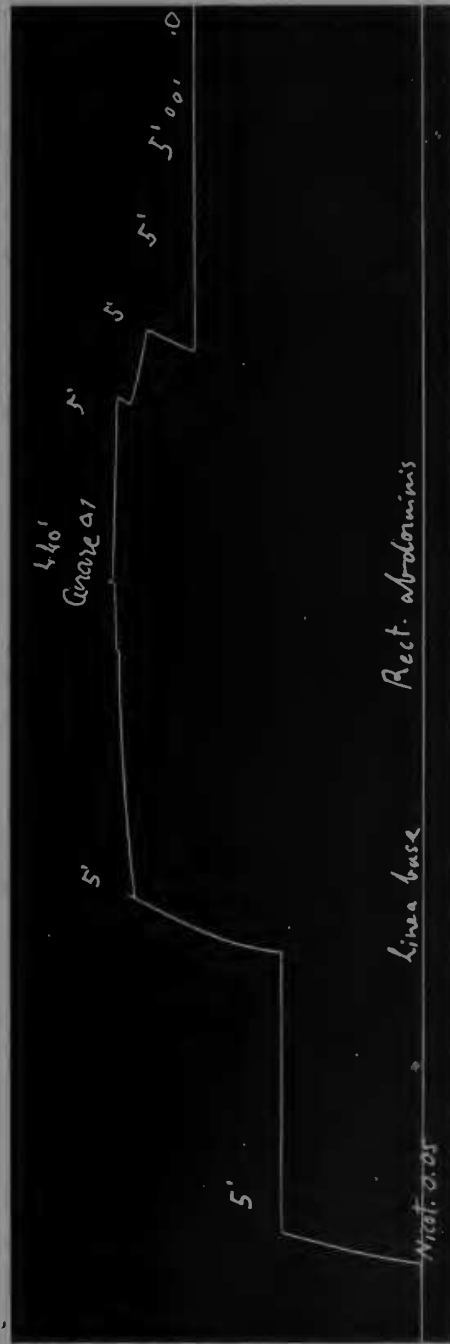


Fig. 18

Efecto del Curare al 0,1 % después que el músculo fué sumergido durante 10 minutos en nicotina al 0,05 % - Músculo. *Rectus abdominis*.

pareció interesante ver si el *Leptodactylus* presenta el mismo comportamiento hacia el curare que hacia otras drogas de acción conocida. Entre las que son conocidas como *venenos curarizantes* y cuyo mecanismo de acción es en general objeto de discusión, he elegido la *veratrina* porque su acción ha sido muy estudiada por numerosos autores. En los últimos años, el mecanismo de acción de la veratrina ocupó vivamente a los fisiólogos y solamente recuerdo entre ellos a v. Frey (1) y su escuela, Lamm (2) Hoffmann (3), Quagliariello (4) y Boehm (5).

En este mismo año Verzár y Felter (6) han hecho algunas publicaciones y consideraciones teóricas sobre el mecanismo de acción de esta droga.

La doctrina v. Frey, y su escuela, es que la característica contracción veratrínica se produce porque en la contracción inicial, debida al estímulo, se forma una substancia que se combina con la veratrina y el producto de la combinación causa el tétano sucesivo, que es un tétano químico. Verzár y Felter, habiendo observado que muchas substancias pertenecientes a diferentes grupos químicos, tienen una acción parecida á la de la veratrina, no admiten que todas estas substancias puedan combinarse con la hipotética que se forma en la contracción inicial y modifican la teoría de v. Frey en el sentido, que por la contracción inicial aumenta la excitabilidad del músculo

(1) v. FREY. — Sitzungsber. d. physik. chem. Gesellsch Würzburg. 1912.

(2) G. LAMM. — Untersuchungen über die Wirkung des Veratrin auf den quergestreiften Muskel Zeitschr. f. Biol. 1912-T. 58, pág. 37.

(3) P. HOFFMANN — Ueber die Aktionströme des mit Veratrin vergiftetem Muskels. Zeitschr. f. Biol. 1912 T. 58, pág. 55.

(4) G. QUAGLIARIELLO. — Wirkung des Veratrin auf die quergestreiften Muskeln der Warmblütern. Zeitschr. f. Biol. 1913-T. 59, pág. 441.

(5) R. BOEHM. — Ueber die Wirkung des Veratrin und Protoveratrin (Arch. f. exper Pathol. 1913. LXXI, pág. 269).

(6) F. VERZÁR und. M. FELTER. — Untersuchungen zur Theorie der sogenannten, Veratrincontraktion (Pflüger's Arch. 1914. CLVIII, pág. 421-442).

hacia esas substancias. Excusamos detenernos sobre estos detalles de secundaria importancia; para nosotros lo que importa es hacer notar que la veratrina actúa directamente sobre el músculo y según la opinión universalmente aceptada, actúa combinándose con algunos de sus constituyentes, y sobre todo es importante notar que actúa sobre la substancia general del músculo.

La veratrina, por su acción directa sobre la substancia general del músculo, produce efectos parecidos á los que la nicotina origina indirectamente por intermedio de la substancia receptiva; pero las contracciones espontáneas duran más tiempo y tienen caracteres distintos. La contracción tónica causada por la veratrina al 0.01 %, no es escasamente influenciada por la parálisis de la substancia receptiva, debida a la nicotina (1).

Ahora bien, mis experiencias demostraron que el *Leptodactylus* tiene hacia la veratrina la misma sensibilidad que la rana europea.

No es necesario referir detalles sobre este punto, desde que son demasiado conocidos los fenómenos debidos a la veratrina. Es suficiente decir que la inyección de 3-4 gotas de una solución al 1 % de veratrina en el saco dorsal del *Leptodactylus*, o la acción directa de una solución al 0,001 % sobre una preparación muscular, manifiestan los fenómenos característicos en 5-10 minutos.

La refractariedad del *Leptodactylus* hacia el Curare, no se extiende, pues, a otro veneno curarizante, cuya acción se explica sobre la substancia general del músculo y cuya acción no es influenciada (en la rana europea) por las dosis medias de nicotina que paralizan la substancia

(1) J. N. LANGLEY.—The effect of curari and of some other bodies on the nicotine contraction of frog's muscle *Proceed. of the physiol. Soc.* March 27-1909. (*Journ. of. physiol.* XXXVIII.)

receptiva. Me parece evidente que este hecho es una confirmación indirecta de la idea, que dicha refractariedad depende de que, en el *Leptodactylus*, el Curare no puede combinarse con la substancia receptiva para la cual tiene afinidad.

III

En el capítulo precedente, hemos visto que los músculos del *Leptodactylus* muestran una resistencia hacia la acción de la nicotina análoga a su resistencia hacia el Curare; y como el punto de acción de la nicotina es el mismo que el del Curare, es decir, que las dos drogas actúan sobre la misma substancia receptiva, hemos llegado a la conclusión de que esta substancia falta o se presenta bajo otra forma en los músculos de este animal.

La naturaleza hipotética— aunque sólidamente fundada —de la doctrina de Langley, me aconsejó buscar otra vía para controlar mi conclusión.

Una confirmación de la existencia de la substancia receptiva, ha sido aportada, con métodos enteramente distintos de los de Langley, por Lucas. Este autor determinó el *optimum* del estímulo eléctrico para algunos tejidos excitables, es decir, el estímulo eficaz que corresponde al *minimum* de energía. Un concepto de esta clase era el que había guiado a Waller en la determinación de la *característica* y a Lapicque en la determinación de la *cronaxia*. Como cada uno de estos autores guió sus investigaciones con una técnica y según principios personales, yo voy — para evitar confusiones — a uniformarme con los trabajos de Lucas, y llamo *tiempo de excitación* la característica de la cual hablamos.

Se sabe que cuando la duración de una corriente es inferior a un cierto límite, el umbral de la excitabilidad es más alto que para corrientes de duración infinita; y, disminuyendo todavía la duración de la corriente, el valor del estímulo mínimo va aumentando. El *tiempo de excitación* es la duración del estímulo, para el cual la corriente excitante es *doble* de la corriente mínima de duración infinita.

Además de su aplicación al estudio de otros problemas, estos métodos, fueron utilizados en el análisis de los tejidos excitables complejos. En efecto, no solamente los tejidos de diferentes animales, sino los distintos tejidos de un animal, muestran regulares diferencias en la relación entre la duración de la corriente y su voltaje mínimo.

La determinación de la duración, por la cual el voltaje mínimo sube hasta el valor doble, es un método más fácil y más exacto que la determinación, con descargas de condensadores, del minimum de energía; este es el motivo porque he preferido adoptar, como aconseja Lucas, el *tiempo de excitación* como carácter distintivo de los tejidos, en vez que el carácter análogo fundado en el minimum de energía.

En el músculo *sartorius* normal, Lucas (1) encontró tres substancias, cada una de las cuales posee su tiempo de excitación particular y de cuya existencia podemos enterarnos precisamente por la constatación de estos tres distintos valores. En la extremidad pélvica, desprovista de nervios del *sartorius*, hay una única substancia con un tiempo de excitación = 0,017 m". Esta se puede considerar como la substancia propia del músculo, (substancia α de Lucas).

(1) K. LUCAS.—The analysis of complex excitable tissues by their response to electrical currents of short duration. Journ. of physiol. 1907. XXX. V pág. 310-331.

Excitando el tronco nervioso (ciático), se encuentra otra substancia con un tiempo de excitación más breve, $=0,003 \text{ m}''$, esta sería la substancia propia nerviosa, substancia γ de Lucas.

Experimentando sobre la región mediana, o nerviosa, del sartorius, se encuentran no solamente estas dos, sino una tercera substancia (β de Lucas) cuyo tiempo de excitación es de $0,00005 \text{ m}''$, y que sería la substancia intermediaria o receptiva.

Este método de análisis de los tejidos irritables, me pareció muy oportuno para controlar mi interpretación sobre el comportamiento del *Leptodactylus* hacia el Curare. Es decir, me propuse investigar si el músculo sartorius de este animal presenta o no la misma constitución compleja del sartorius de «Rana» y de «Bufo».

El método usado es el método indicado por Lucas; y el dispositivo experimental, muy parecido al de este autor, era el siguiente (véase fig. 19): Los dos hilos A y B, tienen el primero una resistencia de 5 Ohms, el segundo una resistencia despreciable. La corriente de una batería vá a los terminales C y D del hilo A a través de una resistencia R. El contacto móvil S sirve para variar las diferencias de potencial entre D y el terminal E del hilo B. Los hilos m y m' van a un invertidor de corriente I que permite enviar la corriente al voltmetro V o al músculo M.

Hasta que las llaves L y L' están cerradas, D y E están en corto circuito y la corriente no puede llegar, a través de L, a los hilos m y m'. Cuando L está abierta y L' cerrada, la corriente pasa a lo largo de m y m', llegando al músculo (o al voltmetro); cuando las dos llaves están abiertas la corriente no pasa. Entonces si las dos llaves se abren sucesivamente, la duración de la corriente es igual al intervalo entre las dos aberturas.

El aparato para abrir las dos llaves con un intervalo breve, variable y conocido—véase fig. 19 P—es una modificación del aparato a péndulo, que Lucas había usado en sus investigaciones (1). Este aparato utilizado por mí, permite abrir las dos llaves por intermedio de un resorte, y la distancia entre las dos llaves se puede variar a lo largo de un arco de círculo graduado. Es claro que el intervalo entre la abertura de las dos llaves es tanto mayor

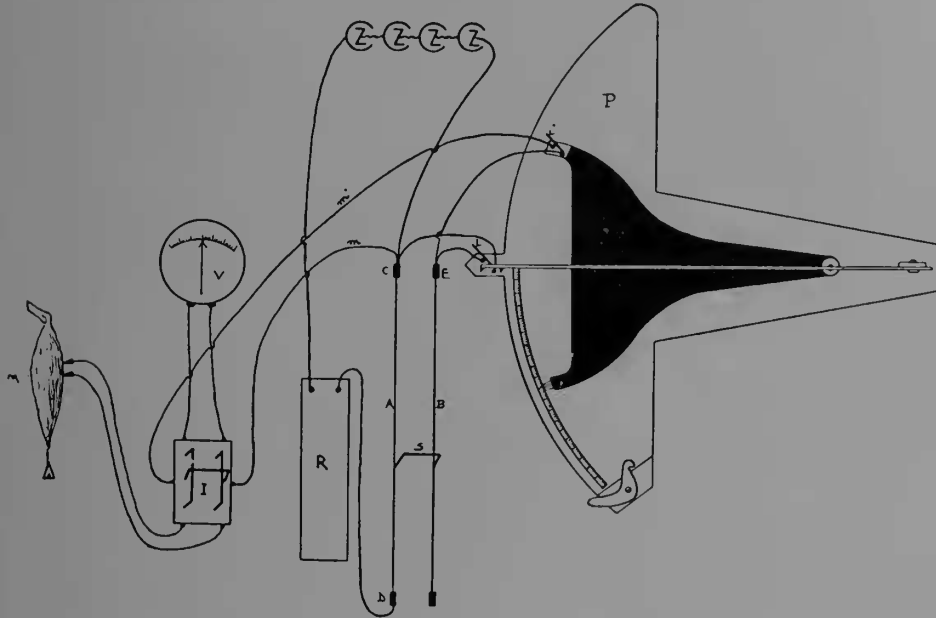


Fig. 19

cuanto ellas son más distantes, y que para conocer este intervalo, para cada posición de las llaves, es menester calibrar el aparato. La calibración de mi aparato se hizo fotografiando las vibraciones de un oxilógrafo mientras el

(1) La descripción del aparato a péndulo de Lucas, ha sido publicada, por el autor, en Journ. of physiol. 1908. XXXVII, pág. 459. El aparato mucho más sencillo usado en mis experiencias es construido por la Cambridge Scientific Instruments Co.

circuito era cerrado y abierto sucesivamente por medio del aparato y midiendo directamente el oxilograma. Haciendo esta determinación para diferentes distancias de las dos llaves, se obtuvieron algunos puntos que permitieron fácilmente conocer el carácter de la curva relativa. El oxilógrafo, usado para esta calibración, pertenece al instituto de física de la Universidad Nacional de La Plata y la calibración fué efectuada con la ayuda de los doctores Gans y Simons, que me complazco agradecer.

Resultó que el máximo intervalo de tiempo permitido por el aparato es de 0,03627 segundos, cuando las dos llaves distan entre ellas de 180° y que la curva de calibración del aparato es un sinusoidal.

Hé aquí algunos valores del intervalo para diferentes distancias de las llaves, y la curva, fig. 20, que permite determinar cualquier valor intermedio.

Distancia de las llaves	Intervalo en segundos
180°	0,03627
120°	0,02085
60°	0,00965
30°	0,00456
10°	0,00146
2°	0,00020
1,°5	0,00015
1°	0,00009

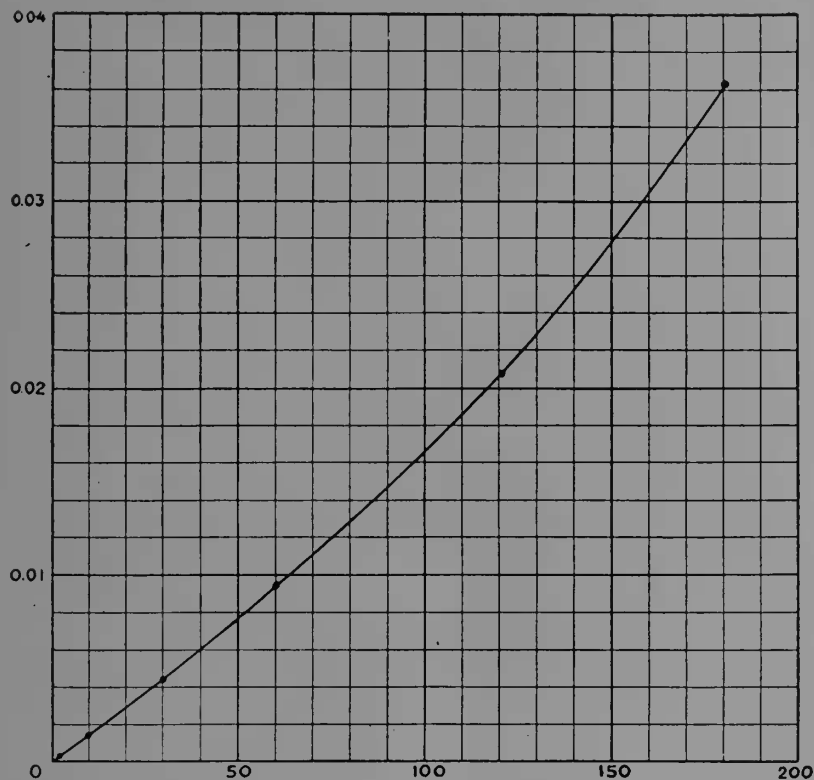


Fig. 20.— Curva de calibración del aparato

Extremidad tibial del Sartorius

Duración en m''	Voltaje mínimo
∞	0,450
0,03627	0,450
0,02085	0,450
0,00965	0,450
0,00800	0,450
0,00620	0,460
0,00540	0,480
0,00456	0,500
0,00146	0,510
0,00020	0,510
0,00015	0,510
0,00009	0,850

Extremidad pélvica del Sartorius

Duración en m''	Voltaje mínimo
∞	0,320
0,03627	0,320
0,02085	0,320
0,01450	0,320
0,01280	0,330
0,00620	0,330
0,00146	0,330
0,00020	0,330
0,00009	0,640
∞	0,320

Ciático		Región nerviosa	
Duración en m''	Voltaje mínimo	Duración en m''	Voltaje mínimo
∞	0,210	∞	0,170
0,03627	0,210	0,3627	0,170
0,02085	0,210	0,02085	0,170
0,00965	0,210	0,00620	0,170
0,00456	0,210	0,00020	0,170
0,00146	0,210	0,00015	0,250
0,00020	0,290	0,00009	0,325
0,00015	0,410	∞	0,170

La determinación del *tiempo de excitación* del nervio ciático, tomando como signo de excitación la contracción del músculo gastrocnemio, dió un valor de 0,00015'' para el tiempo de excitación. El voltaje mínimo suficiente para estimular el nervio es constante para tiempos superiores a 0,0002'' en cuyo punto presenta un leve aumento y sube al doble con la duración de 0,00015''.

El valor del voltaje mínimo, suficiente para excitar la extremidad no nerviosa del sartorius, es constante para tiempos inferiores a 0,006''; disminuyendo el intervalo, sube lentamente hasta la duración de 0,00015'' y alcanza rápidamente el doble para la duración de 0,00009''.

En la región mediana del sartorius, el voltaje mínimo presenta un valor doble para una duración de corriente = 0,00009''; pero entre las dos duraciones de corriente 0,00020'' y 0,00015'', es decir en un intervalo extremadamente breve, el voltaje mínimo sube de 0,170 a 0,250. Es decir que en este punto existe una interrupción en la continuidad de la curva, que—aún si no se alcanza á doblar el voltaje—deja pensar en un cambio en la substancia irritable.



SUMARIO Y CONCLUSIONES

Las observaciones referidas en las páginas precedentes, concuerdan en la demostración, de que los músculos del *Leptodactylus* difieren en sus propiedades de los de otros batrácidos y especialmente de los batráceos más estudiados por los fisiólogos, la *rana* europea y el *sapo*.

Al describir el comportamiento del *Leptodactylus* hacia el Curare he usado siempre las expresiones *resistencia* o *poca sensibilidad*, evitando la palabra *refractariedad* que espontáneamente se me presentaba. En efecto hay una gran diferencia entre uno y otro concepto, y si resistencia puede expresar aproximadamente el concepto de refractariedad, no se puede decir lo contrario. Ahora, bajo el punto de vista doctrinal, me parece esencial establecer si se puede o no hablar de refractariedad.

En caso afirmativo, la explicación que propongo de los fenómenos, es aceptable, en caso negativo nó.

En efecto, si hay en los músculos del *Leptodactylus*, falta de la substancia receptiva para el Curare, el animal es refractario para la droga y no poco sensible.

En esta hipótesis, no se puede más admitir una graduación de sensibilidad: el mecanismo por el cual la droga actúa existe o no existe.

Insisto sobre este punto porque puede ser que otros observadores, habiendo notado el estado paralítico a que fuertes dosis de Curare pueden llevar al *Leptodactylus*,

piensen que en realidad se trate solamente de una mayor resistencia del animal, análoga a la que en comparación con la rana europea presentan otros batrácidos; por ejemplo, el sapo. Que esta no sea una interpretación justa, me parece demostrado por unos detalles sobre los cuales vuelvo a insistir. En los casos en que el *Leptodactylus* queda paralizado por 0,5-1 centígramo de Curare, la parálisis comparece muy lentamente y el animal no se restablece casi nunca y muere. Esto significa, que el Curare tiene un mecanismo de acción distinto del habitual.

Podría ser que la droga envenenara al animal por otras sustancias contenidas en ella, como es conocido, y que en las grandes dosis usadas y siendo el principio específico ineficaz, tuviesen acción preponderante. A este propósito he querido ver si el principio activo de la droga, *la curarina*, es perfectamente inactiva en cualquier dosis, lo que confirmaría la hipótesis. Pero la única curarina que pude conseguir fué tan poco activa, en el sapo y en el perro, que yo no he podido considerarla pura. En efecto, medio milígramo de curarina era ineficaz en un sapo de 65 gramos, mientras 5/100 de milígramo tendrían que ser suficientes. Si las experiencias que hice con esta curarina no me parecieron concluyentes, de todas maneras ellas no confirmarían la explicación, porque igualmente se comportó en el *Leptodactylus* esta droga como el curare.

Creo que en el mismo orden de ideas ya seguido, se pueda encontrar la explicación verdadera. Ya sabemos que, además de los grupos atómicos constituyentes—las sustancias receptoras de cuyas propiedades ya hemos hablado—existen otros grupos atómicos que forman parte de la substancia general del músculo, Estos también pueden combinarse con las drogas, pero a diferencia de los

otros, no pueden combinarse, sin daño para la molécula de que forman parte; ni pueden, disociándose fácilmente del resto de la molécula protoplasmática, alejar el veneno con el cual están combinados. Si el Curare, en el *Leptodactylus*, se combina en grandes dosis con grupos atómicos de la substancia fundamental, esto explica porque son necesarias grandes dosis, porque el animal no puede restablecerse, y porque su acción no se manifiesta como en la clásica curarización.

Recuerdo, en efecto, que la acción de las fuertes dosis de Curare, cuando se manifiesta, difiere esencialmente de la clásica curárica porque la excitabilidad indirecta no desaparece. Y el examen de estos animales muestra que, en el estado paralítico mencionado, la excitabilidad *directa* de sus músculos parece alterada notablemente.

¿Hay fundamentos para admitir una acción directa del Curare sobre la substancia fundamental del músculo?

Sobre este punto tenemos las observaciones de Langley, en las que, los músculos sumergidos en soluciones de Curare (en Ringer) pierden lentamente la irritabilidad *directa*; el descenso de la irritabilidad es más pronto cuando la solución es más concentrada, pero es siempre lento; con el progresar de la acción disminuye también la conductibilidad; las contracciones de cierre son iguales o más fuertes que las de abertura; probablemente, como sugieren M. y Mme. Lopicque, porque la corriente de cierre es más larga.

Estos hechos nos permiten considerar como fundada la idea de que los fenómenos, que pueden constatarse en el *Leptodactylus* por dosis elevadas, son efecto de una acción del Curare sobre la substancia general de los músculos; y el aumento relativo de las contracciones, coincide con la mayor excitabilidad para estímulos de cierre, que he referido anteriormente.

Me parece, pues, que la interpretación propuesta para explicar la escasa acción del Curare,—falta de la substancia receptiva—concuere con los demás fundamentos referidos, sin podersele oponer el efecto tóxico de las grandes dosis.

Resumiendo, los hechos observados son los siguientes:

- a) El *Leptodactylus ocellatus* presenta una notable resistencia hacia el *Curare*, de manera que son necesarias para inmovilizarlos dosis por lo menos 20 veces más elevadas que para la rana europea, y la parálisis no comparece que con gran lentitud.
- b) Dentro del límite de una hora, dosis de 0,5–1 centígramos no causan la abolición de la excitabilidad indirecta del gastrocnemio y solo determinan un leve elevamiento en el umbral.
- c) La resistencia hacia el *Curare*, se nota también en el *Leptodactylus* para la *nicotina*.
- d) La *veratrina* actúa en el *Leptodactylus* como en la rana europea.
- e) La parálisis causada por dosis elevadas de *Curare*, no es acompañada por inexcitabilidad nerviosa y termina generalmente con la muerte del animal.
- f) El método analítico, que estriba en la determinación del tiempo de excitación, permite reconocer solamente dos substancias excitables en la región nerviosa del sartorius del *Leptodactylus*.
- g) Todos estos fenómenos sugieren la idea que el comportamiento particular del *Leptodactylus*, dependa de la falta en sus músculos de la substancia receptiva para el *Curare* y constituyen un sostén a la doctrina de la substancia receptiva o substancia β .