

CONTRIBUCIÓN AL ESTUDIO
DEL MECANISMO
DE LA SECRECIÓN URINARIA

EL FUNCIONAMIENTO DEL RIÑÓN
DE LA *RANA TEMPORARIA* (SCH.)

por

ÁNGEL JORRO AZCUNE

INTRODUCCIÓN

Este trabajo comprende dos partes relativamente diferentes.

Hemos ensayado en la 1.^a parte dar una descripción citológica del riñón de la *Rana temporaria*; hemos estudiado en la 2.^a las modificaciones que esta estructura histológica nos demuestra durante ciertos estados funcionales. Después de la morfología estática, la morfología dinámica.

Como todos los resultados de las investigaciones biológicas no tienen valor más que por los métodos empleados; antes de ninguna descripción haremos una relación detallada y crítica de nuestros procedimientos técnicos, tanto experimentales como citológicos.

Las investigaciones que constituyen la base de este trabajo fueron verificadas en el Laboratorio de Histología

de esta Facultad de Medicina, al que estoy adscrito como interno honorario. Aprovecho, pues, este lugar para dar mis más respetuosas y sinceras gracias al Dr. D. Carlos Calleja y Borja-Tarrius por sus provechosos consejos.

CAPÍTULO I

RELACIÓN CRÍTICA DE LAS TÉCNICAS

Examinaremos en este capítulo las diferentes condiciones de nuestra técnica experimental y citológica.

I. — TÉCNICA EXPERIMENTAL

1.º *Animales de experimentación.* — Las ranas sujetos de nuestros experimentos, suponemos que fueron capturadas en el Prat del Llobregat, punto de los alrededores de Barcelona, donde son en extremo abundantes; eran conservadas en el Laboratorio en un terrarium durante un mínimum constante de tiempo, y practicado siempre el examen de la sangre para cerciorarnos de la existencia de parásitos.

2.º *Vía de introducción de las substancias experimentadas.* — Las substancias que deseábamos introducir en el organismo eran, o bien administradas por vía estomacal (utilizando una fina sonda uretral introducida por el esófago), o bien inyectadas en los sacos linfáticos dorsales o en la gran vena subcutánea abdominal.

3.º *Obtención de orina.* — Pudimos sondear fácilmente las ranas, introduciendo por el orificio cloacal una cánula de inyecciones intraarteriales para perros. Es una operación fácil, a condición de que se haga muy poco a poco dirigiendo la cánula hacia arriba y paralelamente al plano de la superficie dorsal del animal. La cantidad de orina

así obtenida excede corrientemente de un centímetro cúbico, y en casos no excesivamente raros obtuvimos 2 y 3 cm³. Con estas cantidades, estamos naturalmente muy lejos de podernos permitir un análisis completo y sobre todo cuantitativo; pero siempre fueron suficientes para poder verificar ciertas reacciones o caracterizaciones químicas definidas.

II. TÉCNICA HISTOLÓGICA

Ya en los primeros esbozos de nuestro trabajo se nos impone un estudio *prejudicial* de nuestro método. ¿Hasta qué punto debemos considerar como a exactas y conformes con la realidad las figuras, las disposiciones morfológicas que las preparaciones nos ofrecen?

Hasta estos últimos años olvidaban frecuentemente los histólogos el hacer de sus métodos una crítica suficiente; y así veíamos aparecer un numerosísimo conjunto de detalles morfológicos, a los que sus autores daban una desmedida importancia fisiológica, y que no eran realmente más que artificios creados por una técnica defectuosa y que venían a ocultar, a encubrir de un modo más o menos directo la verdadera, la realmente importante estructura citológica del elemento objeto de estudio. Este es, pues, uno de los grandes méritos que debemos reconocer en *Emil Fischer* (1894) por haber sido él el primero en lanzar el grito de alarma contra tales errores. Se puede decir en términos generales que los fisiólogos se fían muy poco de los métodos histológicos; la falta aparente de precisión en los mismos, la necesidad de numerosos reactivos, etc., toda esa técnica complicada hace absolutamente necesario un estudio crítico precedente, basado en experiencias precisas, de todos los procedimientos empleados. En histofisiología, más que en parte

alguna, el valor de los resultados depende siempre del de los métodos. Es, pues, éste el estudio, somero a nuestro pesar por nuestra insuficiencia, el que vamos a emprender en las líneas que siguen.

1.º *Fijación.* — El primer acto de la técnica que se debe primeramente estudiar — el de la fijación — es fundamental.

En primer lugar, nos ocuparemos de la composición del fijador. Hemos empleado dos categorías generales de fijadores: los unos líquidos, los otros en vapores. Estos últimos son mucho más convenientes que los primeros; en efecto: empleándolos no nos exponemos en modo alguno al peligro de que intervengan factores vulnerantes de orden osmótico.

La fijación «tipo» consiste en una coagulación, es decir, en una modificación del estado coloidal, sin transformación alguna de la estructura aparente. Realmente, siempre hay una modificación en la estructura propiamente dicha; pero ésta no pasa del grado micelar o de las partículas coloidales y no puede nunca afectar la disposición de agrupaciones más elevadas que para nosotros ya constituirían una estructura aparente. Es evidente que una célula fijada es siempre una célula modificada en su constitución molecular (química) y coloidal; pero es necesario que las modificaciones que haya sufrido no excedan del orden de las partículas coloidales. Si la agrupación de estas micelas es afectada, sobreviene inmediatamente la rápida y más o menos intensa alteración de la fina estructura citológica.

En la práctica dos causas perturbadoras importantes pueden tener lugar en el acto de la fijación.

La primera causa de error reside en la intervención de fenómenos de orden osmótico. Cuando se emplea un fijador líquido, que nunca es rigurosamente isotónico

para con el contenido celular, se producen corrientes de difusión entre el líquido y el contenido celular, a través de la membrana de cubierta, revistiendo todos los caracteres de una verdadera osmosis, y como es de suponer, estas corrientes ocasionan rupturas en la disposición mecánicamente estructurada del protoplasma y, por tanto, un considerable trastorno en la morfología. Es por demás evidente que esta causa de error no tiene lugar cuando se emplean fijadores gaseosos.

La segunda causa de error consiste en los cambios morfológicos consiguientes a las transformaciones autolíticas que se producen en la célula inmediatamente después de la muerte. Estas modificaciones, imperceptibles por los procedimientos químicos actuales, llevan consigo consecuentemente cambios morfológicos sobre los que conviene prestar mucha atención.

Estos cambios consisten esencialmente, al principio, en ciertas fragmentaciones de algunos organitos protoplasmáticos diferenciados: los condriosomas. Estudiaremos más adelante los detalles exactos de este fenómeno, limitándonos tan sólo aquí a citar la realidad de su existencia.

Cuando un fragmento recién extirpado de riñón se coloca en una cámara húmeda bajo la acción de los vapores ósmicos, las células de la superficie del órgano se fijan perfectamente; pero esto no sucede así más que en las células de las primeras capas superficiales (0'5 mm. como máximo). Las capas más profundas no experimentan sino mucho más tarde la acción del fijador; presentan modificaciones de orden autolítico y, por tanto, son mal fijadas. Las células del centro del segmento a fijar están por completo indemnes de la acción del fijador y, por lo tanto, los trastornos y transfiguraciones que hallamos en la morfología son enormes. Es éste el gran inconveniente.

niente de la fijación por los vapores ósmicos; fijan admirablemente bien, pero tan sólo la superficie de las piezas de estudio. De este hecho dicen los histólogos que los vapores ósmicos «penetran mal».

Cuando se emplea un fijador compuesto líquido, acontece un fenómeno sobre el que muy pocos se han fijado. El líquido fijador penetra siempre más que el vapor; pero esta penetración es más o menos rápida según la naturaleza química del cuerpo considerado. En los líquidos fijadores compuestos es muy disimilar para sus diferentes componentes; una determinada substancia química penetrará en el fragmento mucho más de prisa que otra cualquiera. Lo que hace que a una cierta distancia de la superficie ya no será el mismo líquido el que obrará, sino que sus proporciones estarán por completo alteradas; los cuerpos fácilmente difusibles son relativamente más abundantes que los que difunden con dificultad. Esto es particularmente importante para los fijadores líquidos a base de ácido ósmico, como el líquido de *Flemming*; la totalidad de ácido ósmico se deposita en los primeros «stratum» de células, hasta unos 0'5 mm. de la superficie; en un plano inferior, ya no obra más que la mezcla cromocética, de modo que si en la parte superior el ácido ósmico ha desempeñado perfectamente la función que le estaba encomendada, en el centro de la pieza objeto de estudio no encontraremos más que la acción del agua saturada de ácido acético; podemos, pues, fácilmente pensar en qué condiciones de perfección se operará la «fijación» en este nivel.

He aquí el principal inconveniente de los fijadores compuestos; y es por lo que creemos mucho más pertinente emplear tanto como nos sea posible fijadores muy difusibles y, a ser posible, simples.

Uno de los mejores es el aldehído fórmico. Es casi sin

disputa el mejor y más práctico fijador de que podemos disponer hoy día; empleándolo líquido, en solución con suero fisiológico, en frío o en caliente (40°), o en vapores en la cámara húmeda encerrada en la estufa, nos ha dado siempre excelentes resultados. Así, pues, nos adherimos en todo al parecer de *Sjöbring* (1904), que fué uno de los que primero y con más vigor preconizaron el uso de este fijador.

Verificando las pruebas necesarias para comprobar las propiedades de los fijadores en lo referente a las modificaciones estructurales de la morfología celular, pudimos claramente observar:

1.º Que la fijación exagera la diferente refringencia del complejo coloidal que compone el protoplasma.

2.º La fijación hace aparecer y resaltar detalles que casi o en absoluto eran imperceptibles al examen del tejido en fresco y no disponiendo de otros medios que los ordinarios, pues sabido es que utilizando la iluminación por los rayos ultravioletas, con pantalla de cuarzo e iluminación lateral, parecen éstos con casi igual limpidez y claridad que utilizando una fijación previa y un procedimiento de tinción cualquiera (sistema empleado con éxito ya hace diez años por *Köhler*).

2.º *Coloración*. — Los cortes histológicos de las preparaciones se hicieron siempre en las mismas condiciones técnicas y fueron coloreados por los diferentes métodos.

Además de los procederes corrientemente usados en los laboratorios, que no haremos sino citar, hemos utilizado asimismo algunos métodos especiales con lacas férricas de hematoxilina.

Hemos empleado muy a menudo los métodos derivados de la célebre técnica de *Martin Heidenhein*, con la hematoxilina. Particularmente el método de *Regaud* nos

ha dado excelentes resultados, y es el que hemos empleado la mayoría de veces como procedimiento comparativo.

Entra en nuestros propósitos el emplear, para esclarecer algunos puntos que dejamos a medio tratar en este trabajo y comprobar otros debidamente, el magnífico procedimiento, que estamos actualmente ensayando, de la impregnación argéntica (Método de *Achúcarro* con las variantes indicadas por *P. del Río Hortega*).

No insistiremos sobre los procedimientos microquímicos sobradamente de todos conocidos, para caracterizar las grasas (ácido ósmico, Sudán III, Scarlach, etc.).

3.º *Coloraciones vitales*. — Hemos usado muy frecuentemente este proceder siempre con halagüeños resultados; sin entrar en consideraciones generales sobre el mérito de este método, cosa que nos apartaría en absoluto del camino trazado para el desarrollo de nuestro tema, creemos sin embargo útil el consignar en breves palabras lo que opinamos de este procedimiento.

El mecanismo íntimo de las llamadas «coloraciones vitales» es hoy día, si no por completo conocido, en una buena parte supuesto. Conforme ha demostrado recientemente *Beauchamps* (1913), debemos explicarnos y representarnos a la vez esta coloración, en una gran parte, por las leyes que rigen las acciones coloidales. En efecto: encuéntranse los dos coloides, la materia colorante de una parte y los proteicos del protoplasma por otra. Pero si bien es cierto que esta teoría de las coloraciones vitales nos explica un cierto número de hechos de observación de una manera bastante satisfactoria, quedan un conjunto bastante numeroso de fenómenos que no se explican muy claramente por esta teoría: la razón fundamental, el «porqué» de esta insuficiencia estriba en el desconocimiento relativo de las leyes por que se rigen las acciones intermoleculares de las complejas moléculas proteicas.

Hemos empleado en estas coloraciones dos substancias: el rojo neutro en todos los casos y el azul de toluidina más raramente, pues en contra de las aserciones de *Gurwitsch* nos ha parecido que esta substancia era bastante tóxica. Al contrario, el rojo neutro (de Grübler) es un excelente medio de tinción vital, de uso muy sencillo, y, contrariamente a lo que se haya podido decir, muy constante en sus resultados.

Empleamos estos colorantes, en solución muy débil, redisueltos en la solución salina fisiológica; tenía entonces el líquido empleado una coloración ligeramente rosácea o azul pálida muy poco visibles, y observándolo al microscopio aparecía completamente incoloro.

DATOS TÉCNICOS

A) *Fijación*

Vapores ósmicos. — Se fija con parafina o colodión un pequeño hilo de platino a la parte inferior del tapón de un bocal, hilo del que se cuelga el riñón recién extirpado; inmediatamente se cierra el bocal a fin de imposibilitar la producción de fenómenos autolíticos u otras alteraciones. Se deja unos 15 minutos colgado el riñón objeto de estudio dentro de este recipiente, el fondo del cual hemos llenado, hasta la altura de 0'50 m., con una solución de ácido ósmico y agua destilada al 1 por 1000. Se coloca el órgano inmediatamente después en un líquido fijador como el formol al 5 ó 10 por 100, el bicromato potásico al 3 por 100 o aun también el alcohol de 80°.

Formol. — Empleado en solución al 5 ó 10 por 100, con agua salada fisiológica o combinado con el bicromato potásico bajo la forma de *bicromato-formol*, modificación

indicada por *Regaud* (bicromato potásico al 3 por 100 adicionado de 10, 15, 20 por 100 de formol puro).

Bicromato potásico. — Empleado bajo la forma de líquido de *Regaud*, o bajo la de líquido de *Tellyesniczky* (bicromato al 3 por 100 acetificado al 5 por 100).

El bicromato desempeña un papel fundamental como mordiente y agente de oxidación: su acción es más lenta que la del ácido crómico, pues tiene que obrar durante cerca de ocho días, pero la fijación se hace mejor y sin la menor alteración en la estructura celular.

B) *Coloración*

1. *Hemalun eosina*.

2. *Hemateína safranina*, método preconizado por *Regaud*: después de un «mordantage» por el bicromato y como coloración de conjunto, ningún método puede superarle.

3. Hemos empleado muy a menudo los métodos de la *hematoxilina férrica*, ensayando siempre un gran número de variantes al método fundamental. De todas las investigaciones que en este sentido hemos verificado, hemos podido obtener un numeroso conjunto de conclusiones:

a) La concentración del alumbre de hierro amoniacal empleado como mordiente no tiene la más ligera influencia sobre los resultados finales de la coloración. Hemos empleado alumbre al 2, 3, 4, 6 y 10 por 100, obteniendo siempre los mismos resultados.

b) El elemento verdaderamente importante del «mordantage» es su duración: debe de ser al menos de 24 horas: cuanto más largo es el «mordantage», más precisa es la elección de la laca hematoxilínica; consignaremos también que la estancia en la estufa, a 38°, activa mucho este

proceso, pero, aun y empleando la estufa, la estancia del elemento bajo la influencia del mordiente no debe bajo ningún pretexto ser inferior a 24 horas.

c) La mejor solución colorante es la más sencilla, es decir, la solución acusa de hematoxilina al 1 por 100 sin ninguna adición de alcohol; es preferible que la solución colorante haya sido ya hecha bastante tiempo atrás, pero sin haber sido empleada nunca. Por otra parte, no hay ya más que algunos pequeños detalles al emplear las innumerables soluciones de hematoxilina propuestas por los diferentes autores, pero siempre los resultados obtenidos difieren muy poco entre sí. La coloración pudiéramos decir que no es sino un punto en cierta parte secundario, por decir así: el punto realmente fundamental es el «mordanzage». Cuando éste se ha llevado a términos rigurosamente, la coloración encuentra ya el camino trazado y no tiene más que actuar en los lugares que el proceso anterior ya ha determinado con una precisa selección.

4. Hemos utilizado algunas veces el método de *Benda*, y nos parece que es bastante inferior al método férrico de *Regaud*. Es evidente que puede dar, si se ejecuta con pulcritud, resultados idénticos a los de este último, pero los da muy costosamente; no es un procedimiento muy claro. Algunas veces, ejecutándolo todo igual que siempre, da resultados muy mediocres o francamente malos.

En el escasísimo tiempo que llevamos dedicados a la histofisiología y a la técnica histológica, nos hemos podido hacer ya un cierto número de ideas generales sobre esta parte tan importante de la ciencia biológica. Y vemos sobre todo que, en general, se ha mirado mucho, hasta demasiado quizás, la parte de las coloraciones, y en cambio muy poco se ha estudiado y hecho por parte de la fijación. Y esto es en absoluto fundamental. Si no

pareciese paradójico diríamos que los descubrimientos de los innumerables colorantes de anilina han perjudicado quizás más que beneficiado a la ciencia histológica. Un examen en estado vital, «en fresco», como actualmente se dice en términos de laboratorio, demuestra muchas más cosas exactas que una preparación espléndidamente coloreada, pero deficientemente fijada. Todo lo dicho hasta ahora podrá parecer por completo banalmente insubstancial, pero es de tal modo exacto y ocurren a cada paso fracasos en las investigaciones debido a ello, que no nos cansaremos en repetir insistentemente estas ideas.

CAPÍTULO II

EL TUBO URINARIO DE LA RANA (ESTRUCTURA ANATÓMICA)

I. LOS SEGMENTOS SUCESIVOS DEL TUBO URINARIO

El tubo urinario comprende un cierto número de segmentos que se distinguen los unos de los otros por su estructura citológica y por su situación topográfica en el riñón.

Distinguiremos seis partes principales en el tubo urinario, que enumeraremos sucesivamente partiendo del glomérulo y siguiendo el curso de la orina:

1.º El corpúsculo de Malphigio comprendiendo el glomérulo propiamente dicho dentro de la cápsula de Bowman (1).

(1) Es frecuentemente observado el hecho de confundir los términos de: *glomérulo* y *corpúsculo de Malphigio*. Es una forma inexacta de expresión, pero de tal manera entrometida en la costumbre que es muy difícil el poderlo modificar. Cometeremos, para hacernos más fácilmente entender, la falta de denominación de llamar *glomérulo* al *corpúsculo de Malphigio* entero, tomando así una parte por el todo.

2.^o Un segmento de epitelio cúbico con potentes formaciones ciliares que viene inmediatamente después del glomérulo y antes de la primera parte del tubo urinario, y que por ser más estrecho que estos dos, recibe el nombre de «*cuello*»; no haremos más que enumerarlo en razón de su escasa importancia.

3.^o Un segmento de diámetro más considerable con células recubiertas por una formación especial denominada *bordura estriada*.

4.^o Un segmento de diámetro más pequeño con células cúbicas o achatadas. Es el segmento delgado.

5.^o Un segmento constituido por células que no están revestidas por la *bordura estriada*, pero presentando un aparato protoplasmático diferenciado y muy particular, los *bastoncillos*.

6.^o Un *segmento excretor* que conduce la orina hasta los grandes canales colectores, ramificaciones del uréter.

Como ya hemos dicho anteriormente, el cuello inicial ciliado no constituye un verdadero segmento. Desde el punto de vista de la anatomía general, representa una adaptación particular, y no tan siquiera especial para los Batracios, de la región que une la cápsula de Bowman y la parte inicial del tubo urinario propiamente dicho.

Los otros cuatro segmentos son, por el contrario, fundamentales y constantes, con algunas ligerísimas e imperceptibles variaciones en todos los grupos de Vertebrados. He aquí, pues, la rápida enumeración de estos segmentos y sus principales características:

Segmento I: células que presentan *bordura estriada* (1.^{er} tubo contorneado).

Segmento II: células planas, segmento delgado (asa de Henle).

Segmento III: células que poseen *bastoncillos* (2.^o tubo contorneado).

Segmento IV: células cúbicas sin caracteres secretores (tubo colector).

En lo que se refiere especialmente a la situación topográfica del tubo urinario en el riñón de los Batracios, es necesario que hagamos notar la situación ventral, en relación con la totalidad del órgano, del glomérulo y del segmento III; y por el contrario la posición dorsal del segmento I.

Esta disposición es importante, experimentalmente considerada.

Los segmentos más largos del tubo urinario, aquellos que reunidos constituyen la parte fundamental del órgano son los segmentos I y III; en una preparación microscópica cualquiera siempre las secciones de estas porciones del tubo urinario son las que más abundan en el campo del microscopio.

La vascularización del riñón presenta una muy interesante disposición, sobre la que más tarde ya hablaremos al tratar del glomérulo.

Las primeras investigaciones verificadas en el tubo urinario de los Batracios datan de fecha muy lejana. Según *Stanis* y *Gruby*, *Swammerdam* (1738) fué el primero que estudió este órgano.

Huscke (1828) comprobó la dirección transversal, dorso-ventral, de los canalículos urinarios de la rana.

Bowmann (1842) descubrió las relaciones fundamentales entre el tubo urinario y el glomérulo, utilizando entre otros sujetos de estudio, el riñón de la rana. Fué el primero que puso en evidencia el movimiento ciliar de la porción inicial del tubo urinario de este animal.

Después *Hüfner* (1866) determinó, por inyección de azul de Berlín, la anatomía topográfica y la sucesión de las diferentes partes del tubo urinario.

Después de este investigador, *R. Heidenheim* (1873), *Nussbaum* (1878), *Adami* (1887), *Beissner* (1896), etc., estudiaron particularmente las tres clases de epitelio secretor que revisten al tubo urinario. Estos trabajos serán varias veces citados en el curso de este trabajo.

Como puede verse más abajo, hemos hecho un cuadro resumiendo los caracteres generales de los diversos segmentos fundamentales del tubo urinario de los Vertebrados. Como punto de comparación, reproducimos otro semejante que da *Vignon* (1899). Se puede notar, a primera vista, el carácter muchísimo más generalizado de la división que

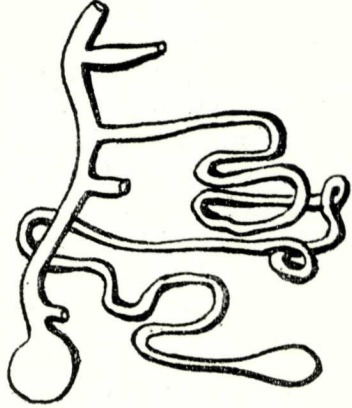


Fig. 1.ª—Esquema del tubo urinario de la rana según *Hüfner* (1866.)

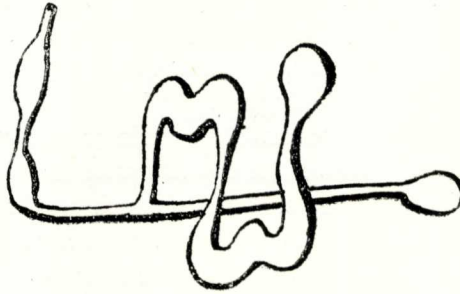


Fig. 2.ª—El tubo urinario de la *Rana fusca* según *Beissner*.

nosotros proponemos y que es el fruto de numerosos trabajos de histología comparada. Hemos podido aislar, en términos generales, las disposiciones del tubo uri-

nario fundamentales y características, de los caracteres de simple adaptación, desarrollados bajo la influencia de ciertas condiciones fisiológicas particulares a una determinada clase de animales. El ejemplo más claramente perceptible es el descubierto por *Regaud* (1911), de una adaptación del segmento III del tubo urinario de los Ofidios machos, a ciertas funciones sexuales, hecho ulteriormente confirmado por nosotros (*Boletín de la Real Sociedad Española de Historia Natural*, 1916).

Citaremos aún en este género de ideas los hechos descubiertos por *Möbius* sobre la transformación mucípara de un segmento del tubo urinario del pez espinoso (*Spinachia vulgaris* Flem.), a fin de poder ayudar con esta secreción a construir su nido, por otra parte muy característico de esta especie tan común en todos los ríos de España.

Comparación de los segmentos del tubo urinario de los Vertebrados

SEGMENTOS	MAMÍFEROS	AVES	ANFIBIOS	REPTILES	PECES
I	Sin cuello inicial ciliado		Con cuello inicial ciliado		
	Segmento con células de bordura estriada				
II	Segmento con células aplanadas sin bordura estriada				
	Sin cilios		Formaciones ciliares en algunos puntos		
III	Segmento de células con bastoncillos y sin bordura estriada				
IV	Segmento de células cúbicas ; papel excretor				

Cuadro de Vignon

SECCIONES	MAMÍFEROS	AVES	ANFIBIOS	SERPIENTES	LAGARTOS
1. ^a	Cuello muy corto y no cilado		Cuello más largo con grandes pestañas vibrátiles		
2. ^a	Epitelio cilíndrico con bastoncillos	S n bastoncillos			
3. ^a	Epitelio cúbico claro y no cilado		Grandes c lios	Sin pestañas vibrátiles	
4. ^a	Epitelio cilíndrico con bastoncillo:			Epitelio cúbico claro (id.)	Epitelio cilíndrico con bastoncillo:
5. ^a				Células gigantes	

El cuadro de *Vignon* tiene algunos puntos erróneos. No existe en modo alguno en los Mamíferos ninguna representación que se asemeje al cuello ciliado que tan claramente aparece en los Anfibios. Y en vez del cuello no ciliado que dice *Vignon* que allí aparece, hay siempre una región de transición de apariencia más o menos infundibuliforme entre la cápsula de Bowmann y el tubo urinario.

Luego también, en las serpientes, el 3.^{er} segmento de *Vignon* está provisto de apéndices vibrátiles; y no existen en los Anfibios.

Dejando a un lado las Aves, cuya citología renal ha sido poco estudiada, se puede admitir que hay en los Vertebrados tres tipos de modificaciones del esquema fundamental del tubo urinario; aunque si bien es cierto que estas modificaciones no vienen a representar más que

adaptaciones a determinados actos funcionales poco conocidos o indeterminados todavía a causa de deficientes estudios.

1.º En los mamíferos, de un modo más o menos acentuado, los segmentos delgados se reúnen todos en una determinada región de vascularización especial, de tal modo, que la casi totalidad de la substancia medular del riñón está constituida por la reunión de todos estos segmentos; esta disposición particular es el origen de la formación bien conocida bajo la denominación de «Asa de Henle» (fig. 3).

2.º En los animales de sangre fría aparecen en el origen del segmento I (cuello ciliar) y a veces al nivel del segmento delgado, unas potentes formaciones ciliares.

3.º En ciertos casos, no muy frecuentes, hay una diferenciación sexual (principal o secundaria) de los segmentos III y IV (Ofidios, Pez espinoso, etc.).

El mismo glomérulo no es una formación fundamental. Puede faltar (Peces), *Huot, Policard y Maxas* (1912); (Ofidios), *Regnaud y Policard* (1909); o bien estar profundamente modificado (caso de Ciclóstomos), *Renaut* (1899) y *Regaud y Policard* (1912).

II. EL CORPÚSCULO DE MALPHIGIO

El examen de un corte transversal de riñón, a poco aumento, nos permite comprobar en seguida el hecho de que los corpúsculos de Malphigio están dispuestos en medio de las dos partes, ventral y dorsal, y siguiendo en conjunto una línea ligeramente cóncava hacia adelante.

La totalidad del corpúsculo tiene un volumen de unas 150 μ , y el glomérulo aislado de 100 a 120 μ .

El corpúsculo es piriforme: su eje mayor, que es vertical, tiene una dirección ventro-dorsal. El glomérulo es habitualmente esférico.

En la extremidad ventral del eje principal se encuentra el polo vascular, o punto por el cual penetran los vasos sanguíneos en el glomérulo; la extremidad opuesta, o dorsal, es el polo urinario, punto de salida del canalículo.

El polo vascular está constituido por el vaso aferente y el eferente. Así como el primero posee un rudimento de túnica muscular lisa, el segundo está por completo desprovisto de esta disposición anatómica; no es más que un enorme capilar.

Los Anfibios presentan, en cuanto al origen y destino de estos vasos, una notable disposición anatómica. El vaso arterial aferente proviene de la arteria renal, rama de la aorta en su porción abdominal; el vaso eferente va a desembocar a la vena renal mediante un trayecto absolutamente directo, sin participar en modo alguno de la formación irrigadora de los segmentos de bordura estriada, puesto que esta irrigación está efectuada exclusivamente por ramas de la vena porta renal. Esta vena, o vena aferente del riñón, nombre bajo el que también se la conoce, aborda al riñón por su borde externo, da numerosos ramitos sobre la cara dorsal, ramillos que se hunden luego y se hacen profundos formando redes vasculares alrededor de lo que nosotros denominamos segmento I, o segmento con bordura estriada. La sangre que ha pasado ya estas formaciones gana en seguida las ramificaciones de la vena renal, en la cara ventral del riñón. Las otras porciones: glomérulo, cuello ciliado, segmento delgado y segmento III con bastoncillos, están irrigados por la arteria renal y sus ramas.

Al meterse el vaso aferente en el corpúsculo de Malpighio, pierde sus fibras musculares, pero no parece que

se forme en modo alguno aquella especie de esfínter rudimentario descrito en el riñón de los Mamíferos.

Es muy importante el determinar la posición de los vasos para constituir el glomérulo. Es necesario saber si realmente está constituido por un solo vaso, arrollado sobre sí mismo como un ovillo (opinión de *Roth*), o bien si se ha formado por muchos capilares, ramificaciones del vaso aferente (glomérulo de los Mamíferos). El glomérulo está realmente constituido a base del tipo simple del de los Ofidios: es un glomérulo por apelotonamiento, por arrollamiento desigual de un capilar único, un ovillo, en el verdadero y amplio sentido de la palabra. Este problema no tiene solamente un sencillo valor anatómico, morfológico mejor dicho, sino que es muy importante el saber la disposición de los capilares en el glomérulo para poder luego elucidar bien la presión de la sangre en este órgano. Es por demás evidente que un simple capilar por apelotonado y retorcido que sea no equivaldrá nunca a una «red admirable», como es la del glomérulo de los Mamíferos.

No existe en el glomérulo de los Batracios un núcleo conjuntivo central tan claro como en los Reptiles. El tejido conectivo glomerular es muy reducido, no hallándose representado más que por finísimas láminas conectivas intercapilares; hay pocos elementos conjuntivos con núcleos hemateinófilos fuertemente cromáticos, un poco irregulares; a veces no es nada raro el hallar algunos leucocitos polinucleares emigrados a este núcleo conjuntivo.

Las preparaciones hechas por el método tricrómico del Dr. Calleja dan muy claras y hermosas representaciones de este conectivo glomerular.

Los capilares sanguíneos están constituidos por un endotelio separado del epitelio glomerular por una membrana basal.

El conjunto de estas tres formaciones: endotelio vascular, basal y epitelio glomerular, constituye el dializador glomerular, órgano fundamental desde el punto de vista fisiológico.

III. EL SEGMENTO CON BORDURA ESTRIADA

Nos atenderemos especialmente al estudio de esta división del tubo urinífero, pues parecen ser en este nivel y en el del segmento III donde tienen lugar los fenómenos secretorios más importantes de todo el funcionalismo renal.

Este segmento se caracteriza por su epitelio uniestratificado (1), compuesto de células cilíndricas, con bases groseramente exagonales, con límites intercelulares claros y perfectamente visibles y con los extremos superiores recubiertos por una formación cuticular denominada bordura estriada, y sin presentar en el interior del protoplasma ningún dispositivo que rememore los bastoncillos.

Dados, pues, estos caracteres específicos, comenzaremos inmediatamente por el estudio analítico de estas células:

1.º *Protoplasma*. — Cuando se examina una célula

(1) Dos discípulos del Prof. *Holmgren* de Stockhol'm, *Victor Wigert* y *Hjalmar Eckberg* (1913), han descrito en el tubo urinario de la *Rana sculentia* una especialísima disposición de las células. Distinguen estos autores, en el tubo contorneado dos clases de células: unas que tienen acceso a la luz con bastoncillos y pestañas vibrátiles. Su aspecto es homogéneo. Dichos autores las comparan a las células que bordean las glándulas pépsicas. Y otras que no tienen acceso a la luz y que son comparables a las células principales de las glándulas del estómago.

Nosotros no hemos podido nunca comprobar, ni tan siquiera de un modo ligeramente aproximado, los resultados de estos autores. Puede ser que estas células que ellos tomaron como principales no fuesen más que elementos parasitados por Mixosporidios, hinchados y un poco rechazados hacia la periferia del tubo. — Pero esto tan solo lo indicamos a vía de hipótesis.

viva en una disociación con suero fisiológico, por ejemplo, el protoplasma aparece claro, homogéneo en la parte supernuclear, y finalmente granuloso en la parte infranuclear de la célula. Los vapores de ácido ósmico dan un tinte ligeramente ahumado y un aspecto ligeramente granuloso a todo el protoplasma. En cortes micrométricos, después de fijación con reactivos líquidos (alcohol-formol), por ejemplo, nos damos cuenta de que el protoplasma se presenta como una substancia de estructura fundamental idéntica en todos los puntos de la célula, pero dispuesta de un modo variado; o bien limitando vacuolas en la zona subcuticular, o bien englobando formaciones filamentosas, los condriosomas en la región basal. La substancia fundamental es de la misma constitución por todas partes; tan sólo varía la disposición estructural.

El protoplasma aparece en general como muy finamente granuloso. ¿Es esto una disposición vital? ¿encuéntrese ya en la célula viva estas formaciones? Sin aportar aquí una demostración crucial del fenómeno, pensamos que en el elemento vivo el protoplasma es perfectamente homogéneo; el aspecto muy finamente granuloso visible en las preparaciones, se origina por la acción del fijador, de conformidad con las experiencias bien conocidas de *Emil Fischer*.

El protoplasma contiene un cierto número de *inclusiones* y presenta *diferenciaciones*. Mucho se podría discutir sobre la diferencia que existe entre estas dos clases de formaciones celulares: según nuestro concepto, una *diferenciación* protoplasmática es una formación hasta cierto punto autónoma en lo referente a su vitalidad, pero siempre y cuando esté bajo la égida del elemento anatómico; en cuanto éste se deshace, muere, se acaba a la vez la vitalidad de la diferenciación plasmática. Son *formaciones vitales* que están contenidas en el espesor del

protoplasma. Una inclusió es una *substancia no viviente* contenida en el protoplasma.

En la pràctica hallamos en el interior de una ganga protoplasmàtica fundamental, un cierto número de edificaciones que resumiremos así:

- 1) El *núcleo*.
- 2) *Vacuolas subcuticulares*, fácilmente demostrables (colorantes vitales).
- 3) *Condriosomas*.
- 4) *Vacuolas lipoides y grasosas*, que necesitan para ser vistas métodos más complejos.
- 5) *Granulaciones* no constantes, que estudiaremos en el capítulo III, y
- 6) Una formación característica de revestimiento, la *bordura estriada*.

2.º *Núcleo*. — El núcleo de las células del segmento I ofrece un carácter muy especial: su extremada irregularidad. Su forma no es comparable ni a una forma geométrica ni a objeto conocido.

La membrana nuclear relativamente gruesa, recortada profundamente como si hubiesen grietas, lobulada a veces, presenta estos mismos detalles mucho más exagerados en ciertos estados fisiológicos, como en seguida veremos.

La cromatina, poco abundante, se encuentra escasamente repartida en pequeñas plaquetas, como adheridas a la membrana nuclear.

Hay un gran nucleolo central acidófilo.

El jugo nuclear es incoloro: a veces, en algunas preparaciones coloreadas con la hemateína-safranina, está ligeramente teñido en rosa. La razón de esta colorabilidad nos es en absoluto desconocida.

3.º *Vacuolas subcuticulares*. — La región subcuticular de la célula renal siempre contiene vacuolas. Su presencia es constante. Sobre los cortes fijados por reactivos líqui-

dos, lo más a menudo no aparecen. Bajo la acción perturbadora de influencias osmóticas, se han vaciado por efracción o por diálisis viacuticular.

Empleando los vapores ósmicos se pueden observar perfectamente sobre el fondo oscuro del protoplasma. En estas preparaciones se puede comprobar la no existencia de ninguna membrana limitante diferenciada (contrariamente a la teoría del tonoplasto); no parecen sino ser agujeros, lagunas en el espesor del protoplasma.

El método «tipo» para evidenciar estas formaciones es la coloración vital mediante el rojo neutro. Este colorante se condensa electivamente en rojo caoba, y no en rojo cereza. Este hecho nos indica que el contenido de estas vacuolas no es ácido, como las vacuolas digestivas de un leucocito en vía de fagocitosis. No se puede, pues, hacer intervenir la reacción ácida de estas vacuolas para explicar su coloración electiva.

Las vacuolas no tienen todas el mismo tamaño: hay algunas muy pequeñas, otras más grandes; pero existe siempre una dimensión máxima que generalmente no acostumbra a sobrepasar nunca.

Estas vacuolas no contienen ningún granulito. Cuando presenciemos en una disociación cualquiera el estallido de una célula, hecho por otra parte muy frecuente, vemos romperse asimismo a las vacuolas, y como su contenido se esparce por el medio de observación; no queda ningún granulito ni brizna alguna de contenido sólido que nos pudiera indicar algo sobre el contenido granular de estas vacuolas.

Las vacuolas pueden presentar variaciones de número y de repartición, según los estadios por que pase el proceso secretorio; pero como que este hecho es tan frecuente en histofisiología, no podemos más que hacer constar estas variaciones sin poderlas relacionar de un modo preciso

con tal o cual estadio. Como en muchos otros detalles celulares, estas variaciones se producen de un modo idéntico en todas las células de un mismo segmento; las variaciones tienen lugar de tubo a tubo, y no de célula a célula en un mismo tubo.

1) Las *variaciones de cantidad* de las vacuolas aparecen muy claramente: se traducen por el hecho bien visible de que ciertos tubos tienen muchas vacuolas, y en cambio otros muy pocas; pero nunca ningún tubo está por completo desprovisto de estas formaciones.

2) Las *variaciones de repartición* aparecen tan sólo cuando se examina la superficie de un segmento, de un modo tangencial, y no por una sección óptica que pasase por su eje. Siguiendo esta disposición, se ven perfectamente los «campos de vacuolas», según la expresión clásica de los histólogos. Tan pronto éstas ocupan la superficie apical de la célula, y no hay libre de vacuolas más que la periferia celular, de donde resultan dibujos exagonales separados por límites claros, como otras veces el centro y la periferia de la superficie apical están por el contrario libres de vacuolas: éstas forman como un anillo. Entre estos dos términos opuestos y extremos hay toda una gama de estados intermediarios.

Estas variaciones de situación de las vacuolas son interesantes; pero nunca hemos podido relacionarlas con ningún otro fenómeno celular microscópicamente visible.

4.º *Condriosomas*. — El protoplasma muy finamente granuloso que ya hemos descrito contiene unas formaciones filamentosas o filamentogranulosas, con reacciones cromáticas características que las hacen en todo identificables con los condriosomas de *Meves* o mitocondrias de *Benda*. A estos elementos u organitos protoplasmáticos diferenciados se les ha dado una gran importancia: así, pues, nosotros tenemos la obligación de estudiar un poco más

detenidamente la disposición de esta variedad específica de «protoplasma superior» en la célula, durante su funcionalismo normal, y haremos además todo lo posible para no alejarnos demasiado del objeto de este trabajo, la célula renal.

Debemos dar en primer lugar una definición de las formaciones mitocondriales. En conformidad con los datos de *Regaud* nosotros pensamos que no reside en la similitud del dispositivo estructural el carácter común de estas formaciones; es en el conjunto de reacciones químicas en donde se tiene que buscar este criterio. No hay una reacción característica, sino más bien toda una serie; una formación mitocondrial podrá no poseer todo este conjunto de reacciones microquímicas, y sin embargo deberá formar parte de este grupo de protoplasma superior. Tendremos ocasión de tratar más adelante este mismo punto, al hablar de los condriosomas del segmento III.

Las reacciones histoquímicas que caracterizan las mitocondrias son las siguientes:

a) Sensibilidad para con el alcohol, antes de la impregnación metálica.

b) Sensibilidad para con el ácido acético.

c) Afinidad física (adsorción) o química (combinación) para ciertos metales como el cromo, el osmio, la plata, el platino, etc.

Los recientes trabajos de *Mayer* y de sus colaboradores *Rathery*, *Schaeffer* y *Fauré-Fremiet* tienen un interés considerable. Mediante investigaciones microquímicas, estos autores han demostrado de un modo preciso y concluyente lo que los citólogos (*Fauré-Fremiet*, *Regaud* y *Policard*) ya sospechaban: la naturaleza lipóide de estas formaciones.

Los ácidos grasos libres, adsorbidos por determinados

proteicos o combinados, como en los fosfátidos, por ejemplo, dan las mismas reacciones cromáticas que las mitocondrias; es necesario, pues, el atribuir a la presencia de estos ácidos las propiedades que ellas presentan (*Fauré-Fremiet*).

No es éste el sitio más indicado para exponer estas investigaciones; pero era absolutamente necesario el subrayar la importancia que realmente tienen, cosa que hemos intentado hacer en los párrafos que preceden. Es muy probable que dentro de poco tiempo se pueda dar una definición precisa y química de las mitocondrias; hoy día es imposible; y para no decir los mismos conceptos, algo reformados quizás, que el lector podrá ver en todos los tratados de Histología, preferimos abstenernos en absoluto de enunciar definición alguna.

Disposición general. — En un corte de riñón fijado y coloreado según los procedimientos de *Benda* o de *Regaud*, se puede comprobar que los dos tercios externos contienen filamentos más o menos regulares o granulosos y teñidos por estos métodos.

Examinados individualmente, cada uno de los filamentos aparece como de diámetro regular, de constitución a primera vista homogénea y de trayecto más o menos sinuoso. Los filamentos parecen tomar su origen en un manojo bastante abundante y enmarañado que se encuentra por debajo del núcleo; muy a menudo este pelotón tiene el aspecto de un cesto de filamentos que contiene al núcleo en su concavidad como en un nido.

De este conjunto, salen divergentes a los lados del núcleo numerosos filamentos que entre sí se parecen mucho; ascienden luego en variadas y múltiples trayectorias entre el núcleo y la pared celular, hasta la región media de la célula, en donde acaban a niveles variables.

Los condriosomas llegan a veces a contactar con la

membrana nuclear: es el caso de los más internos. Al contrario sucede con los más externos, que no llegan nunca a ponerse en contacto con la membrana celular lateral: hay siempre un espacio libre entre la membrana y el paquete de formaciones mitocondriales.

Esta disposición aparece muy claramente en los cortes que han interesado tangencialmente el tubo urinario. Fijando particularmente la atención en estos cortes tangenciales del segmento I, se puede comprobar la existencia de profundas modificaciones entre las relaciones de los condriosomas y la porción lateral de la membrana de cubierta de la célula según los diferentes estados funcionales en que se haga la observación.

Variaciones. — Son en efecto muy frecuentes, y se refieren al número, a la forma, a la cromaticidad y al modo de agruparse (véase el capítulo III).

Estructura íntima. — Cuando sometemos una preparación a una lenta diferenciación progresiva, podemos fácilmente comprobar que la decoloración no se hace de un modo uniforme en todo el filamento; la porción central decolorase mucho más rápidamente que la parte periférica. Cuando esta decoloración ha sido convenientemente verificada, entonces el filamento toma el aspecto de un tubo vacío. De aquí que se debe suponer que los filamentos no son homogéneos; presentan un eje central y una corteza periférica que son ligeramente diferentes en cuanto a sus reacciones microquímicas. Por otra parte, este fenómeno que es perfectamente cierto para los condriocotes (1), lo es asimismo para los mitocondrias:

(1) De conformidad con los datos de *Meves*, emplearemos la siguiente terminología:

Los *condriosomas* comprenden:

- los *condriocotes* o filamentos,
- los *condriomitos* o filas de gránulos, filamentos granulares,
- los *mitocondrias* o gránulos.

éstas ofrecen una parte central, que toma mucho menos enérgicamente la hematoxilina, que la parte periférica; de donde su aspecto de esférulas vacías.

Si la reacción «mitocondrial» se ha verificado con toda corrección y pulcritud, de conformidad con los trabajos de *Mayer* con lipoides o lipoproteidos, es la corteza del filamento, o la zona media entre ésta y el protoplasma, la que ofrece esta composición química.

Nos hemos fijado particularmente en el estudio de las variaciones y modificaciones de los condriosomas durante el curso de diferentes estados funcionales del riñón. La generalización de estas formaciones a todas las células de los Protozoarios y Metazoarios constituye una prueba en pro de su importancia biológica fundamental.

Transformaciones autolíticas de los condriosomas. — Los condriosomas son edificaciones protoplasmáticas de una sensibilidad extremada. Algunos minutos después de la muerte del animal (de diez minutos a un cuarto de hora en los Batracios y aun menos en los Mamíferos), ya empiezan a iniciarse las primeras modificaciones. Como que no existe ningún criterio preciso de la muerte de la célula, tampoco sabemos cuanto tiempo es necesario que transcurra para iniciarse ya estas alteraciones; es, por otra parte, muy razonable creer asimismo que esta alteración, o cuando menos sus comienzos, son agónicos y preceden a la muerte del elemento.

Pero sea del modo que se quiera, las alteraciones autolíticas de los condriosomas son muy precoces, y es por lo que nos ha parecido necesario el determinarlas bien.

De un modo general, al principio, los condriosomas, aun y conservando sus reacciones histológicas (probablemente por su origen lipoide), cambian de forma; se fragmentan en gránulos.

La fragmentación que se produce no es un proceso sencillo; el filamento no se rompe en un cierto número de granulitos, teniendo cada uno de ellos el diámetro del filamento primitivo, sino que hay fragmentación en cortos segmentos baciliformes y retracción de cada uno de ellos en una esferita, cuyo diámetro es entonces superior al diámetro primitivo del filamento.

Esta transformación es bastante rápida y asimismo su mecanismo íntimo aparece bastante confuso.

Después de estas transformaciones de forma, y después de un cierto tiempo de reposo, los condriosomas se modifican entonces químicamente, pierden sus reacciones histoquímicas y poco a poco se van haciendo coloreables por los colorantes ácidos: eosina, fuchsina, etc. Es el principio del estado patológico bien conocido con la designación de *tumefacción conjusa*.

Hemos creído útil hacer esta descripción de las alteraciones autolíticas de los condriosomas antes de empezar el estudio de sus variaciones fisiológicas.

5.º *Formaciones lipoides y adiposas* (exceptuando los condriosomas). — Podemos distinguir dos variedades de cuerpos grasos desde el punto de vista citológico:

1) Los que reducen el ácido ósmico; son las grasas neutras.

2) Los que no lo reducen pero que son asimismo demostrables por otros métodos especiales y en particular por la hematoxilina cúprica. Este procedimiento colorea electivamente la mielina de los elementos nerviosos. Se debe también pensar que estas formaciones que tiñe así también en la célula renal, deben de parecerse químicamente mucho a la substancia anterior. Este hecho es confirmado por otros que le son afines.

Pero es evidentemente mucho más práctico y razonable el que no edifiquemos muchas teorías que realmente

no tengan un fundamento estable, siendo así que pudieran ser fácilmente derrocadas por cualquier trabajo más minucioso y de mayor valor científico que el nuestro.

Nos limitaremos tan sólo, pues, a la sencilla exposición de los hechos sin ningún comentario.

Estudiaremos sucesivamente:

A) Las formaciones adiposas que reducen el ácido ósmico, y

B) Las formaciones lipoides que no lo reducen.

A) *Las formaciones adiposas que reducen el ácido ósmico.* — Estas son muy raras, se las puede hallar esparcidas por todas partes, en células que aparte de este detalle, no ofrecen ningún otro carácter particular.

Son unos granitos muy pequeños, coloreados en negro. Después que el ácido ósmico se ha depositado en estas formaciones, son completamente insolubles en el xilol.

Su extremada rareza hace que nos limitemos tan sólo a señalar su existencia.

B) *Las formaciones lipoides que no reducen el ácido ósmico.* — Estos elementos hácese resaltar de un modo evidente y selectivo, mediante los métodos de coloración de la mielina. Empleando el método de la hematoxilina cúprica de *Weigert-Regaud*, se pueden comprobar en el protoplasma tres clases de formaciones coloreadas.

1) Una especie de charcos de una substancia que parece estar alojada en vacuolas. Esta substancia se tiñe uniformemente en un ligero tono gris claro. Los límites de la vacuola no se colorean: la vacuola no aparece más que por la existencia de una zona clara entre el protoplasma y la substancia cuprúfila. Nos da la impresión de un producto de exudación, normal o patológico, coagulado y teñido. Esta masa está situada muy cerca del núcleo y casi todas las células suelen contener en más o menos cantidad.

Según nuestro concepto, se trata en este caso manifiestamente de producciones artificiales; que su constancia hace en este caso interesante el estudio de su producción. En preparaciones medianamente fijadas se puede comprobar casi constantemente la formación cerca del núcleo de una vacuola de exudación: es esto, por otra parte, un fenómeno perfectamente conocido por la mayoría de histólogos. En las condiciones corrientes de la técnica, el contenido de esta vacuola queda completamente incoloro y tan sólo el método de la hematoxilina cúprica impregna este producto de exudación. Y es éste un hecho interesante, por dar un producto de transformación química del protoplasma la misma reacción microquímica de los lipoides como la mielina.

2) Unas granulaciones muy finas, coloreadas en azul-negruczo y situadas por debajo de la bordura estriada. Parece que estas granulaciones hubieran de corresponder, por su número, situación y manera de agruparse, a las vacuolas subcuticulares más internas. Pero ahora bien: ¿es la pared de la vacuola la que se tiñe o es su contenido? Esto ya nos es por completo desconocido.

3.º Debajo y a los lados del núcleo se encuentran granulaciones más gruesas que las precedentes. Tienen las más pequeñas el aspecto de granulillos llenos, y las más voluminosas, el de vacuolas cuya única parte teñida fuera su pared. Es de notar que estas granulaciones no existen en la periferia del corte; parece pues que sea necesaria una fijación deficiente para que éstas se pongan en evidencia.

Según nuestro criterio, se trata aquí de mitocondrias mal fijadas, transformadas en vacuolas y refundidas en una gran vesícula.

6.º *Granulaciones.* — En algunos animales recién capturados se pueden hallar, algunas veces, en la región supranuclear, entre el núcleo y la bordura estriada, algunos gra-

nulitos alojados en el interior de vacuolas, y coloreándose electivamente por idénticos procedimientos que la cromatina nuclear. Estos granulitos ya son de por sí ligeramente coloreados, tienen un matiz amarillo-verdoso muy ténue.

Estos son formaciones *normales*, pero *no constantes*; se hallan ligadas a ciertas condiciones fisiológicas, y ante la imposibilidad de escoger un sujeto de estudio, sin haberlo antes sometido a un determinado régimen, las estudiaremos con mayor detenimiento al hablar de las variaciones fisiológicas del mismo segmento en el capítulo III.

7.º *Bordura estriada*. — Por el lado de la luz, la célula renal está limitada por una formación especial bien conocida con la designación de *bordura estriada*, o, con la más significativa aún, de *bordura en cepillo*. Mucho se ha dicho acerca de la naturaleza y valor morfológico de esta formación; no reemprenderemos estas discusiones, en parte muy exageradas y desprovistas de la proporción necesaria para la verdadera importancia del asunto a tratar.

Nos contentaremos tan sólo con exponer la estructura de la bordura estriada en la célula renal de la rana.

Esta formación viene a constituir un verdadero revestimiento cuticular de la superficie apical de la célula. Este revestimiento es de un grosor variable según los diferentes estadios de la secreción. Estas dimensiones oscilan entre 5 y 8 μ . Su aspecto varía con frecuencia inusitada; tan pronto se nos aparece con su estriación perceptible y característica, mereciendo entonces con razón su nombre, como otras veces es por completo homogénea a la más detenida y perfecta observación. Estudiaremos más de cerca estas modificaciones.

Por su parte interna o celular, la bordura estriada está limitada por una línea clara; diremos que nunca, en células perfectamente fijadas hemos podido poner en evidencia las granulaciones basales o corpúsculos basales, que tan

característicos son del epitelio vibrátil, y que muchos autores han descrito también en este lugar. Pero trabajando en células manifiestamente autolizadas, hemos encontrado de un modo admirablemente claro estos corpusculitos. Aparecen bajo la forma de guiones muy claros, habiendo siempre un número infinitamente mayor de estriás que de corpúsculos; evidente es pues que no habrá un granulo en la base de cada estriación. Según nuestra opinión, los guiones que se pueden hallar entre la bordura estriada y el cuerpo celular resultan de una fragmentación de una zona particular, verdadera película elástica situada entre la bordura estriada y el protoplasma. Cuando la célula ha sido bien fijada, la sección de esta película aparece bajo la forma de una línea de trazado limpio, y perfectamente manifiesta. En cambio, cuando esta fijación se haya hecho deficientemente, o hayan intervenido acciones de orden osmótico, esta película se encuentra rasgada, fragmentada, y los segmentos doblándose sobre sí mismos dan el aspecto de una línea de puntos o guiones.

Por su parte superior, la que da a la luz celular, la superficie es clara. El conjunto de todas las borduras apicales constituye un verdadero revestimiento cuticular interno del tubo urinario. En cortes, la forma de este tubo cuticular interno varía según la disposición de la luz canicular, que puede ser estelar o lineal.

Si se examina el dispositivo cuticular en un corte transversal del tubo urinario, nos podemos fácilmente dar cuenta de que esta formación es elástica dentro de muy estrechos límites. Si esta elasticidad fuese perfecta, cuando la luz canalicular fuese estrecha, la cutícula se retraería sobre sí misma, conservando una configuración circular. Y no pasa absolutamente nada de esto, sino que el dispositivo cuticular de un segmento corresponde a la forma de un tubo circular, cuando la luz es amplia, no sucediendo lo

mismo cuando es estrecha. La retracción del diámetro del tubo se verifica por otro procedimiento. Las dos caras de la cutícula aplicándose la una contra la otra hacen la luz del tubo lineal, a veces estelar, pero nunca puntiforme. Las paredes opuestas del tubo se cierran como un libro, en vez de comportarse como un tubo elástico hinchado por insuflación, que al deshincharse se retrajera sobre sí mismo.

La estriación de la cutícula. — Des opiniones han sido emitidas en lo que se refiere a la significación de la estriación de la cutícula.

A) Esta estriación es consecuencia de la misma arquitectura de la cutícula. Esta no sería exactamente una cutícula propiamente dicha (y los autores que preconizan esta teoría rehuyen este término), sino una *bordura de pestañas vibrátiles* más o menos modificada.

B) El aspecto estriado de la cutícula no es sino consecuencia de un factor actual: el paso de las sustancias a su través. Cuando nada la atraviesa, esta cutícula aparece homogénea, no estriada; en cambio, si hay diálisis vuelve a recobrar su aspecto estriado.

La discusión de estos hechos ha provocado numerosas controversias; pero como que el estudio de esta cuestión doctrinal no estaría en su lugar en este trabajo, remitimos al lector a las publicaciones de *Studnicka* (1901) y *Prenant* (1910).

Nuestras investigaciones nos han demostrado de un modo fundamental que la bordura estriada no era una formación invariable; en ciertos momentos aparecía perfectamente homogénea, y en otros, en cambio, aparecíasenos como estriada. No hacemos más que confirmar aún una vez más, lo que ya numerosos autores habían comprobado hace bastante tiempo, en particular *Tornier* (1899) y *Gurwitsch* (1903), en la rana.

Ensayaremos, en nuestras investigaciones experimen-

tales, determinar los factores de aparición del estado estriado. Pero es necesario que digamos ya que la estriación cuticular no nos ha parecido nunca un *aspecto*, y tampoco hemos podido ver nunca *aislada e individualmente*, las pestañas vibrátiles de que estaría compuesta según el criterio de ciertos autores.

IV. EL SEGMENTO DELGADO

Al segmento de bordura estriada le sigue una sección que, al revés de la anterior, parece morfológicamente, no tener grandes funciones secretoras: es el *segmento delgado o estrecho*. Conforme ya se ha visto en la primera parte de este trabajo, la existencia de un segmento de células planas, sin caracteres secretores, siguiendo a un segmento activamente secretor y poseyendo bordura estriada, es constante en todos los vertebrados. Al paso que en los Mamíferos, este segmento (rama estrecha del asa de Henle), es excesivamente delgado y con células tan aplanadas, casi, como las endoteliales de un capilar; en los Batracios estos caracteres no están tan marcadamente acentuados.

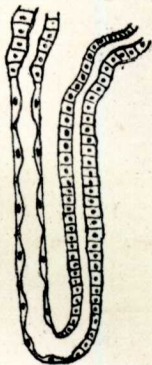


Fig. 3.^a—Esquema representativo de *Henle*.

El epitelio uniestratificado está compuesto por células cúbicas, con membranas basales, intercelulares y apicales muy claras. El protoplasma es muy finamente granuloso, con formaciones mitocondriales muy escasas, prácticamente ninguna; sin gránulos y sin vacuolas tingibles por el rojo neutro; y con un núcleo esférico regular.

Un estudio detenido de este segmento no revela la menor modificación secretoria. La luz central de este segmento, está en absoluto libre de gránulos que provengan

de su epitelio; cuando se encuentran formaciones de esta clase, provienen de segmentos superiores más o menos alterados.

En la *Rana temporaria*, este segmento delgado no contiene, como en ciertos Vertebrados de sangre fría: Peces, Reptiles, y otras especies de Batracios, células con mecanismos ciliares.

En resumen: que este segmento parece, morfológicamente, ser muy poco activo y desempeña un papel mínimo durante la secreción del riñón de la rana.

V. EL SEGMENTO CON BASTONCILLOS

En los cortes histológicos ordinarios el segmento III es fácilmente caracterizable por su amplia luz canalicular y su epitelio compuesto de células sin límites celulares claros, y sin bordura estriada. En cortes teñidos por la hematoxilina férrica, los segmentos III son en absoluto característicos; sus células en efecto no contienen formaciones mitocondriales espaciadas como en las células del segmento I, sino al contrario, dispuestas en paquetes de bastoncillos. Esta disposición absolutamente típica, aparece también, pero menos claramente, en los cortes teñidos por la hemateína-safranina o la hemateína-eosina.

Disposición general. — Este segmento está siempre situado en la región ventral del riñón: algunos de ellos interpuestos íntimamente entre los cordones de la suprarrenal y la gran vena de la cara anterior del riñón. Esta disposición anatómica nos ha hecho siempre admitir como evidente la imposibilidad de destruir la suprarrenal, por ablación o ignipuntura, sin alterar un gran número de segmentos III.

Experimentalmente, la ablación de la suprarrenal en la rana nos parece pues como irrealizable. Una de dos: o

bien la ablación es incompleta, o bien forzosamente se han de destruir un gran número de ramas (sino un gran tronco) de la gran vena renal anterior, y sobre todo destrúyense asimismo las continuidades de un sinnúmero de canalículos urinarios, por sección del segmento III en el punto preciso donde ofrece su curvatura ventral. Según nuestro criterio, es por estas razones, el que todas las deducciones fisiológicas que se basan en experiencias de ablación de suprarrenales en la rana (*Kruian, Von Helm, De Beule, et-cétera*), han de ser comprobadas por las experiencias de otros investigadores, y por otros diferentes procederes. La ablación completa, sin lesión alguna de los órganos vecinos, es una operación anatómicamente imposible.

El epitelio uniestratificado está compuesto por células menos altas que anchas. Son células aplanadas, verdaderas losas celulares.

1.º *Membranas.* — Su base de implantación es irregular y no comparable a forma geométrica alguna ni a objeto conocido. Las células reposan sobre una membrana basal bastante delgada, sin caracteres citológicos bien diferenciados.

Los límites laterales de las células no son visibles en los $\frac{3}{4}$ basales o externos de su extensión; en su cuarto interno o apical se los distingue a veces; y muy a menudo bastante mal.

Se puede pensar que debe pasar en este caso un fenómeno análogo al señalado ya hace mucho tiempo en el riñón de los Mamíferos, en el cual los bordes celulares serían ondulados, acañalados, etc. Pero no creemos que esta explicación pueda ser válida, puesto que nuestras preparaciones de impregnación no nos han demostrado nunca ninguna formación que pudiera llamarnos la atención para elucidar, si realmente se trataba de esta estructura. Por otra parte, si en los Mamíferos el *aspecto* recortado de la

base de las células es un hecho histológico indiscutible, creemos que la conclusión que se saca afirmando la ausencia de límites celulares no está en modo alguno justificada. La membrana celular, por muy ondulada que fuese, sería siempre interesada por el corte, y así en el caso de un corte perpendicular a la superficie aparecería ésta bajo la forma de líneas claras y perfectamente demostrables; y en caso de ser una sección oblicua o tangencial, se presentaría como un conjunto de guiones más o menos espaciados según sus ondulaciones y la oblicuidad del corte. La explicación dada habitualmente en lo referente a esta ausencia de límites celulares no es exacta. La membrana, si no aparece en las preparaciones, no es por razón de su forma, sino debido a su misma naturaleza. Es extremadamente delgada y no se impregna por las sustancias que ordinariamente dan a la membrana su colorabilidad habitual. Resumiendo: que la pared celular, es a los lados muy delgada, y tan sólo constituida por una zona protoplasmática aún no perfectamente condensada.

Parece también que, a los lados, las células no contacten exactamente: hay entre ellas un espacio en el cual preferentemente se reduce el cromato argéntico en las preparaciones ejecutadas por el método de Golgi. La existencia de un espacio así es bastante importante desde el punto de vista fisiológico: es un paso entre el plasma intersticial y la célula, cuya importancia debe de ser realmente considerable.

En el tercio o cuarto internos de la célula, los límites intercelulares aparecen bajo la forma de una línea clara excesivamente delgada; únese después a la membrana que reviste la superficie apical de las células y que es asimismo muy delgada. En el punto de unión de las dos membranas, la intercelular y la apical, no hay ningún engrosamiento notable, así como tampoco se puede observar un verdadero *Kittleisten*.

En resumen: aparte de la membrana basal, de origen conjuntivo, las células epiteliales de este segmento no se hallan recubiertas por una membrana citológicamente diferenciada como tal.

2.^o *Protoplasma*. — El protoplasma tiene una estructura algo difícil de precisar. Es extremadamente claro, sin apariencia alguna reticular, vesicular o granulosa; parece homogéneo; en las preparaciones fijadas con los vapores ósmicos, está ligeramente coloreado en gris.

Hay alojados en este protoplasma los bastoncillos característicos, y algunas veces, en la base de las células, raras formaciones grasosas demostrables por el ácido ósmico. No contiene ni gránulos ni vesículas de ninguna clase, coloreables por los métodos histológicos conocidos. No obstante, en ciertas condiciones, el método de la hematoxilina cúprica consigue colorear, a veces, unas gruesas vesículas de aspecto irregular y con pared, muy a menudo, incompleta. Creemos que se trata en este caso de modificaciones de los bastoncillos mitocondriales absolutamente asimilables a las que ya hemos descrito en el segmento I. En las coloraciones vitales el rojo neutro no tiñe absolutamente nada.

3.^o *Bastoncillos*. — Los bastoncillos constituyen el detalle que primero llama la atención. Mientras que en el segmento I, los condriosomas no aparecen más que en ciertas condiciones de técnica bien definidas, en este caso estas formaciones, que les son homólogas, son mucho más fácilmente visibles. Después de una fijación cualquiera, con tal que sea buena, son conservables y coloreables por la eosina y demás reactivos plasmáticos, igual que con los vapores ósmicos. Pero en estos casos no están definidos individualmente por el colorante, como con la hematoxilina férrica; es casi más bien el protoplasma quien coloreándose intensamente, los dibuja más o menos. En estas con-

diciones no hay una visión clara de cada uno de los filamentos, sino la impresión de una disposición estriada del protoplasma. Para estudiar estos filamentos mitocondriales con todo su detalle, es necesario el empleo de los métodos de *Benda* o de *Regaud*.

Mediante estos procedimientos técnicos se llegan a poner en evidencia un conjunto de filamentos muy estrechos, muy finos, que partiendo de la base suben siguiendo una trayectoria ligeramente paralela al gran eje de la célula. Nunca estos filamentos se anastomosan entre sí ni se bifurcan; no se ponen nunca en contacto ni tan siquiera en los puntos de cruce: siempre están separados los unos de los otros, por un poco de protoplasma no diferenciado.

Los bastoncillos se encuentran siempre agrupados en paquetes más o menos paralelos; y esto no es, como a primera vista podría creerse, una disposición artificial: pues efectivamente, en trozos fijados por los vapores ósmicos y sin intervención ninguna de fenómenos osmóticos perturbadores, la misma orientación aparece claramente.

La situación de los bastoncillos mitocondriales es muy interesante examinada detenidamente. Esta situación es variable según las diversas fases secretorias; ya tendremos más adelante ocasión de tratar de nuevo estos hechos, en el capítulo III de este trabajo.

A pesar de estas variaciones de una bastante grande amplitud, se puede comprobar que en todos los estadios los bastoncillos no se ponen nunca en inmediato contacto con el núcleo: se suelen colocar, casi siempre, en las regiones periféricas de la célula. Este hecho se ve particularmente bien en cortes tangenciales de los tubos urinarios. Los bastoncillos seccionados, casi todos perpendicularmente a su eje, ofrecen en conjunto la disposición de campos de fibrillas contráctiles en un músculo cortado transversalmente. Se puede comprobar además que entre las célu-

las hay un espacio libre por completo de mitocondrias: este espacio es más o menos grande, pero constante. ¿Qué representa? ¿Se trata de un espacio intercelular, o bien solamente de la parte cortical del protoplasma desprovista de bastoncillos? Es difícil el decirlo. En todo caso es interesante el saber que hay una zona del tubo urinario que hasta ahora era desconocida y cuya importancia fisiológica debe de ser grande, en razón proporcional con las variaciones que ésta experimenta durante ciertos momentos funcionales.

Desprendiéndose de la base de la célula, suben hacia arriba, pero al nivel de la membrana apical o más frecuentemente, a alguna distancia de ésta se terminan claramente sin diferenciación particular.

La cromaticidad de los bastoncillos no varía por así decir; y asimismo tampoco ofrecen transformaciones granulosas de ningún género, ni de orden autolítico; este hecho es importante de señalar.

Ahora bien: de lo que hemos expuesto se deducen las siguientes diferenciaciones entre mitocondrias y bastoncillos:

	SEGMENTO I	SEGMENTO III
<i>Colorabilidad</i>	Idéntica en ambos casos	
<i>Variaciones de forma</i>	Transformación granulosa en ciertos casos	Nunca hay transformación granulosa
<i>Transformación autolítica</i>	Gránulos	No hay aparición de gránulos

Estas diferenciaciones son muy importantes, según nuestro concepto para demostrar que estas formaciones no son de la misma naturaleza; pero acaban ya en este punto las referencias que nos da la morfología.

Benda (1904) suponía que los bastoncillos, serían en el riñón embrionario, absolutamente idénticos a las mitocondrias. En resumen: que no serían más que mitocondrias adaptadas a una determinada función. Nosotros no hemos hecho personalmente ninguna experiencia que pueda sostener ni derrocar esta teoría, realmente muy plausible, y que por ahora nada contradice.

4.º *Núcleo*. — El núcleo es siempre regular, con membrana muy manifiesta y con jugo nuclear claro; contiene un gran nucléolo central, y algunos copos o briznas aisladas, de cromatina casi siempre en grupos periféricos. Se halla generalmente en ranas a ayuno y eliminando una débil cantidad de agua, en la región externa de la célula; esta situación está sujeta a variaciones que más adelante estudiaremos de cerca.

5.º *Inclusiones*. — Exceptuando, algunas veces, granulaciones adiposas muy escasas, no se puede descubrir en las células de este segmento ninguna inclusión protoplasmática.

6.º *Luz*. — La luz de este segmento es siempre muy amplia, nunca es virtual o muy estrecha como en el caso del segmento I.

7.º *Resistencia de las células*. — Las células epiteliales son mucho más resistentes en este caso, que en el segmento I. Los reactivos fijadores, que en otros sitios del tubo renal (células con bordura estriada, por ejemplo), producen trastornos morfológicamente importantes, no causan en este segmento ninguno aparente para cualquiera observación minuciosamente practicada.

8.º *Vascularización*. — La vascularización de este seg-

mento está asegurada mediante capilares que provienen del vaso sanguíneo glomerular, y que van a desagüar en la gran vena renal anterior.

En resumen: debemos retener los siguientes detalles citológicos:

Espacios intercelulares de mucha superficie;

Bastoncillos protoplasmáticos cuya periferia parece estar constituida por un lipoide;

Sin gránulos ni inclusiones de ningún género; y

Célula desnuda, sin bordura estriada.

VI. EL SEGMENTO EXCRETOR

Sigue directamente al segmento con bastoncillos. La transición se hace de un modo repentino, no progresivamente: el epitelio disminuye de altura y pierde su carácter esencial, los bastoncitos.

Al principio del segmento, las células se parecen mucho a las del segmento II (estrecho): idénticos límites celulares claros, la misma ausencia de detalles citológicos que pudieran inducirnos a sospechar un funcionalismo secretor importante, etc. Algunas veces se han hallado en estas células algunas raras formaciones mitocondriales excesivamente tenues. Estas observaciones son comparables a las de *Regaud* y *Dubreuil*, sobre el hallazgo de formaciones filamentosas en los tubos de Bellini del riñón de los Mamíferos.

En toda su extensión intrarrenal el tubo excretor no presenta otra modificación, sino un aumento de altura de sus células, aumento por otra parte, de débil amplitud.

No se puede descubrir a nivel de este segmento, la más ligera modificación citológica durante la secreción.

CAPÍTULO III

*LAS MODIFICACIONES MORFOLÓGICAS DURANTE
LAS VARIACIONES FUNCIONALES DEL RIÑÓN*

Nos hemos propuesto investigar las modificaciones presentadas por la estructura normal, que ahora acabamos de describir, cuando se hace variar el régimen de la secreción.

Siempre nos colocamos en casos muy sencillos, pues la imposibilidad de obtener datos cuantitativos precisos sobre la composición química de la orina, nos ha impedido por completo el poner en relación una determinada modificación citológica con el predominio de un cuerpo químico bien evidenciado en la orina. Este hubiera sido nuestro deseo; pero, por desgracia, está muy lejos de ser factible para nosotros.

Las condiciones de régimen urinario que hemos estudiado son las siguientes:

1.^a Secreción abundante de los productos de desasimilación, realizada, o por una alimentación casi exclusivamente albuminoidea, o por una exageración del papel emunctorio del riñón.

Comparación con animales normales (capturados el mismo día de ser sacrificados), y animales sometidos a ayuno absoluto desde bastante tiempo.

2.^a Secreción abundante de agua, y comparación con animales en estado de anuria.

3.^a Acción de ciertas sustancias medicamentosas: floridzina, por una parte, y atropina y pilocarpina, por otra.

Nos hemos esforzado siempre, en el curso de estas investigaciones, el determinar los estados bien claros, dejando aparte los detalles, no, insignificantes, pues nada hay

insignificante en citología, sino aquellos cuya presencia no era constante, y por ende, cuya aparición pudiera dar lugar a torcidas interpretaciones; es decir, que hemos desechado cualquier detalle por debajo de los límites probables de error. Preferimos dar hechos concluyentes poco numerosos, pero claros.

I. AUMENTO DE LA ACTIVIDAD ELABORATRIZ DEL RIÑÓN

El fin que hemos intentado conseguir en esta parte de nuestras investigaciones, ha sido el aumentar la actividad elaboradora del riñón, el hacer eliminar a este órgano un máximum de productos nitrogenados.

Este procedimiento es muy antiguo, y desde que los biólogos emprendieron el estudio de estos problemas de histofisiología, ha sido muy a menudo empleado. No dejaremos de notar, sin embargo, su imperfección, sobre todo a causa de su escasa precisión.

El procedimiento que consiste en introducir en el organismo un cuerpo químico definido para estudiar después su eliminación, quizás sea mejor desde el punto de vista químico, pues se pueden investigar y dosificar en la orina el cuerpo introducido o sus derivados. Pero en cambio, desde el punto de vista citológico, esta precisión ya no es más que aparente, y además, con este modo de operar podríamos muy fácilmente introducir un elemento perturbador. Siempre hemos querido experimentar en condiciones lo más similares a la función normal.

Para aumentar el trabajo elaborador del riñón sometimos a las ranas a regímenes casi exclusivamente compuestos por proteicos (carne de buey sin grasa, o más sencillamente, albúmina de huevo). Como términos de comparación teníamos ranas, unas a dieta absoluta desde un tiem-

po ya conocido, y otras que acababan de ser capturadas y sometidas por consiguiente a la alimentación mixta normal.

Al lado de este medio, en cierta parte normal, para aumentar el trabajo fisiológico del riñón, hemos procedido también de otra manera. Pudimos examinar los riñones de numerosas ranas, a quienes ya anteriormente habíamos extirpado el hígado, total o parcialmente. En estas condiciones, uno de los emunctorios más grandes del organismo (sobre todo por su acción antitóxica), habiendo sido suprimido, el trabajo que tiene que desempeñar el riñón está pues evidentemente aumentado; este órgano está en *sobrefuncionamiento*, pues casi se puede decir que él sólo tiene que eliminar todo lo que el hígado no puede fijar o transformar. Se ve claramente después, que el órgano renal no puede, él solo, cumplir esta función, y no habiendo tiempo suficiente para una adaptación a la hipersección, y a causa de la toxicidad de los productos catabólicos del metabolismo proteico, y otras transformaciones que obran muy rápida y mortíferamente sobre el organismo, se presentan un conjunto de manifestaciones patológicas que conducen rápidamente a la muerte al animal sujeto de la experiencia. Hay crisis tetánicas e incoagulabilidad de la sangre (hecho ya citado por *Doyon y Gauthier* en 1910); en resumen: que el animal muere intoxicado. Cuando una parte, tan sólo, del hígado ha sido extirpado, el tercio por ejemplo, el animal sobrevive, y se pueden entonces comprobar en el riñón interesantes fenómenos que ya estudiaremos más adelante con todo el detalle necesario.

I.º RANAS SOMETIDAS A RÉGIMEN PROTEICO. — Sujetamos las ranas a regímenes particularmente abundantes en proteicos utilizando dos clases de procedimientos: o bien por ingestión forzada de carne de buey reducida a pulpa e introducida en poca cantidad en las primeras vías digestivas, o bien por inyección en el estómago, mediante

una jeringa de Roux y un trozo de fina sonda uretral adaptada al calibre del esófago, de una cantidad conocida de clara de huevo bien batida a fin de hacerla perfectamente homogénea.

Las modificaciones reveladas en el riñón en estas condiciones de régimen, se refieren exclusivamente a los segmentos I y III. Ni el glomérulo, ni el segmento delgado, ni el segmento excretor ofrecen ninguna sensible modificación en ninguna fase de la experiencia: las formaciones vibrátiles tienen absolutamente el mismo aspecto en las ranas a dieta absoluta, que teníamos como animales testigos, que en aquellas que sometimos a un régimen exclusivo en proteicos. Algunas veces han parecido revelarse algunos dispositivos que podrían parecer no normales. Pero éstos son detalles cuya inconstancia nos prueba que no están en relación con las condiciones experimentales. Fieles a nuestra creencia de no tener en cuenta más que los hechos claros y constantes, dejaremos a un lado, al menos provisionalmente, estos detalles cuya causa efectiva aun no hemos podido averiguar.

Modificaciones del segmento I. — En este nivel, el hecho capital es la aparición de gránulos en la mitad interna de las células. En las ranas que ayunaron no hallamos nunca gránulos supernumerarios. En las ranas capturadas en su medio de vida natural, con el estómago lleno, y sacrificadas inmediatamente, la presencia de estos granulitos es posible, aunque generalmente rara. En cambio, en las ranas nutridas casi exclusivamente con proteicos es un hecho constante su presencia.

Su disposición es absolutamente característica: se encuentran siempre situadas entre la extremidad interna del núcleo y la zona de pequeñas vacuolas subcuticulares coloreables por el rojo neutro. Son irregularmente esféricas.

Sus reacciones son las de la cromatina nuclear; tíñense

electivamente por la hematoxilina ferruginosa de Heidenhein y los colorantes básicos de anilina; el hemalun los tiñe menos bien que a la cromatina. En resumen: que aun pareciéndose mucho a la cromatina por ciertas reacciones histoquímicas, se diferencian sin embargo claramente; el único nombre que en justicia les corresponde es el de gránulos cromatoides, designación que no nos da más que un solo carácter sin prejuizar nada sobre su función y probable naturaleza, aun insuficientemente determinadas.

Estos granulitos no se encuentran directamente submergidos en la masa protoplasmática, sino contenidos en una vacuola: son granulaciones invacuoladas. Esta disposición, muy clara en cortes fijados satisfactoriamente, no es la imagen de ninguna modificación artificial. Se puede, en efecto, pensar que podría esta vacuola resultar de una retracción del gránulo sobre sí mismo en el momento de la fijación: el plasma de quien estaría impregnado saldría como el agua al escurrir una esponja, y formaría una capa circular que tendría la apariencia de una vacuola. Y esto es un fenómeno tan corriente en histología que no hay por menos que examinar aquí detenidamente este caso especial. Pero en este caso se trata verdaderamente de una vacuola preexistente a la fijación y no engendrada por ésta. Examinando células vivas en una disociación cualquiera, se pueden ya ver estas formaciones vasculares aunque con una cierta dificultad; cuando fijamos la atención en una célula que se haya roto en el transcurso de la disociación, se pueden comprobar unas granulaciones libres que se presentan esparcidas por todas partes de la preparación y no adherentes al resto del protoplasma. La vacuola que rodea al gránulo es, pues, una manifestación perfectamente «vital». Pero esto no quiere decir, como es natural, que en el acto de la fijación

se exageren un poco las proporciones de la vacuola, debido a la ligera contracción del granulito central.

El contenido de la vacuola es incoloreable. Su superficie externa está constituída por el mismo protoplasma, que no parece haberse diferenciado en este lugar para constituir una membrana tonoplástica, conforme tendría que ser, de cumplirse la ley, según *Holmgren* universal, conocida por «teoría del tonoplasto».

En una misma célula los diversos gránulos cromatoides están muy distantes de poseer el mismo aspecto y las dimensiones; luego, algunas son más fácilmente descoloreables que otras: retienen meros enérgicamente la laca fina férrica, por ejemplo, en el caso particularmente típico de la coloración por la hematoxilina férrica. En el caso de doble coloración, por ejemplo, la hemateína-safranina después de un «mordanzage» prolongado en el bicromato, se pueden comprobar las diferencias de cromaticidad entre los diversos gránulos: los unos toman la hemateína y tienen una coloración violeta-azulado y los otros la safranina y aparecen de un tono rosáceo. Entre los dos tipos hay toda una serie completa de intermedios. No nos ha sido posible discernir el porqué de estas diferencias de cromaticidad entre los diversos gránulos; pero es muy probable que esto sea debido a una modificación en su estructura coloidal. Mas, en verdad, ignoramos cuál pueda ser la razón de este fenómeno. En todo caso la comprobación de su existencia debe hacernos admitir la realidad de una «maduración» de estos gránulos cromatoides, entendiéndose de este modo que experimentan en el transcurso de su evolución una serie de modificaciones físico-químicas que les hacen asimismo variar su composición.

Tampoco dejamos de notar que un cierto número de vacuolas están completamente vacías; no hay en el inte-

rior el granito que antes habíamos descrito; hay algunas de ellas muy pequeñas; parece entonces que el gránulo no se hubiese formado todavía (véase más abajo). Otras son más voluminosas y de tamaño absolutamente idéntico al de las que contienen gránulos en su interior; nosotros pensamos que en este caso puede que se trate de vacuolas cuyo contenido haya sido arrastrado por la navaja del microtomo; fenómeno por otra parte muy frecuente y perfectamente conocido en técnica histológica, sobre todo tratándose, como en este caso, de cortes muy finos. Sucedería aquí un fenómeno análogo al que tiene lugar al cortar a 5 μ . bloques de testículo, que después en las preparaciones se comprueba una falta casi completa de las cabezas de los espermatozoides debido al arrastre mecánico por la navaja del microtomo. No son realmente más que vacuolas vaciadas artificialmente.

Hemos intentado seguir la evolución de estos granulitos. Nos ha parecido muy claro que su aparición se inicia en la formación de una vacuola, primero muy pequeña, que se agranda progresivamente luego. Esta evolución es siempre mucho más clara en las ranas a las que se extirpa el hígado total o parcialmente.

No hemos podido discernir claramente aún el modo de desaparición de estos granitos. En el caso de régimen proteico, podíase comprobar que en muchas células, y de una manera uniforme en la sección de un mismo tubo, los gránulos son muy pequeños dentro de sus correspondientes vacuolas, bastante grandes cada una de ellas: parece que el gránulo central se haya disuelto poco a poco en el líquido vacuolar. Decimos «parece», pues es necesario no deducir demasiado de prisa una conclusión fisiológica de detalles morfológicos claros pero difíciles de interpretar: en este lugar, más que en otro alguno, es preciso recelar de las explicaciones demasiado simplistas.

Estas reservas deben de hacerse en todo trabajo en el que intervengan investigaciones citológicas.

Debemos plantear una cuestión en cuanto a lo que al origen de estos granulitos se refiere: es la de sus relaciones con las formaciones mitocondriales.

Las mitocondrias sufren pocas modificaciones durante el régimen proteico. Hay, sin embargo, un punto perfectamente claro: y es que son siempre mucho más fáciles de distinguir individualmente en estas condiciones; están más claramente aisladas las unas de las otras, y parecen ser al mismo tiempo menos numerosas. La determinación de su número aproximado es hoy día considerada como prácticamente imposible. Pero consideramos proporcionales su aumento o disminución en correspondencia a su más o menos intensa apariencia en el campo del microscopio.

Pero hecho fundamental desde el punto que nos ocupa es que no hay el más leve paralelismo entre la cantidad de mitocondrias y la presencia más o menos abundante de gránulos. No hay el menor balance entre estas dos formaciones: lo cual debe hacernos pensar que no hay entre ellas ninguna relación genética constante.

Y es por lo que queremos decir que en el funcionamiento normal de una célula toda mitocondria no tiene que dar un gránulo de un modo constante y en cierta parte fatal. Lo único posible es que en las condiciones de régimen que hemos emprendido, haya tenido lugar esta evolución para un número limitado de mitocondrias.

Se pueden concebir dos maneras diferentes de relaciones entre condriosomas y granulitos cromatoides.

Puede haber transformación directa de los condriosomas en granulillos; es éste un mecanismo ya descrito muy a menudo en ciertas glándulas. Pero no podemos en este caso afirmar la existencia de un tal procedimiento para la génesis de los gránulos objeto de nuestro estudio.

Habíamos admitido en un principio la posibilidad de este mecanismo: pensábamos que en el riñón todo debía ocurrir como en las demás glándulas ya conocidas. Pero buscando la exacta filiación de cada uno de los estadios, nos dimos cuenta de que nunca podíamos sorprender el tránsito exacto entre mitocondria y gránulo de secreción. Hicimos varias investigaciones encaminadas a este fin, y nunca pudimos hallar esta fase.

Es absolutamente exacto que el condriosoma pueda fragmentarse en granitos; esto no es dudoso. Pero este gránulo no es un grano de secreción tal como nosotros lo consideramos. Cuando el condriosoma se transforma en gránulos, éstos son: o bien mitocondrias propiamente dichas, o bien gránulos de autolisis (granitos resultantes de la transformación autolítica, a menudo muy precoz, de los condriocontes). Particularmente hay entre el granulito cromatoide y el grano de autolisis diferencias fundamentales: el gránulo cromatoide está siempre contenido en una vacuola, al paso que el de autolisis está alojado directamente en el protoplasma sin mediación alguna de vacuola.

Otro punto de vista debemos señalar, y es que en el riñón mismo, si se admite que los gránulos cromatoides provienen de las mitocondrias, se debe considerar que esto no es más que una rara modificación de estas formaciones: no sería más que una evolución de un escasísimo número de ellas, pues comparado con el número de gránulos de secreción, el número de mitocondrias es inmenso. Además, ya hemos visto que los granitos cromatoides no existen más que en ciertos momentos funcionales.

La constante existencia de condriosomas y la presencia no constante de gránulos, nos demuestran que la evolución de los segundos es por completo independiente de la de los primeros.

Por otra parte, en los estadios en que hay existencia de gránulos y condriosomas, no hemos podido hallar nunca un balance entre estos dos tipos de formaciones. Si realmente tienen entre sí alguna relación, ésta no se nos ha traducido nunca por hechos precisos e indiscutibles.

En resumen: que no habiendo podido hallar filiación directa entre un condriosoma y un gránulo de secreción, pensamos que esta filiación no existe. Por otra parte, no existiendo correlación ninguna entre el número, el volumen y el aspecto de los gránulos y de los condriosomas, creemos que si existen relaciones indirectas entre estas formaciones, quedan en absoluto por determinar y demostrar.

Parece, pues, que desde este punto de vista el riñón de los Batracios funciona de un modo diferente al de las demás glándulas.

¿Proviene estos granitos del núcleo? — Estudiando la cronología de su aparición, se les ve aparecer de una manera un poco brusca por debajo del núcleo, a una cierta distancia de la membrana nuclear. Ya esta disposición debe hacernos pensar en que su origen no es intranuclear: si cada gránulo proviniese de un nucléolo o de un gránulo intranuclear que hubiese salido del núcleo, observaríamos una disposición totalmente diferente: los gránulos no harían su aparición tan repentinamente y ligeramente apartados del núcleo: y no tan sólo veríamos figuras de corpúsculos intranucleares en el momento de desprenderse del núcleo, sino que además también hallaríamos estos corpúsculos en las inmediaciones de la membrana de cubierta. Y ahora, conforme ya se ha visto, la aparición de los gránulos se hace de una manera que pudiéramos muy bien llamar «explosiva». No admitiremos, pues, que los granitos provengan *directamente* del núcleo, según el mecanismo descrito ya por muchos autores.

Pero la aparición de estos gránulos en sus proximidades nos hace suponer que nacen del protoplasma bajo la dirección e influencia particulares del núcleo.

La irregularidad en las formas nucleares puede estar en relación con los fenómenos secretorios intensos de las células; pero no parece estar ligada al proceso de formación de los gránulos. En efecto: en una rana alimentada exclusivamente con carne desde más de diez días, y con gránulos muy característicos y extremadamente abundantes, el núcleo era regularmente esférico.

La cuestión del *origen nuclear* de ciertos gránulos citoplásmicos es una de las más discutidas en citología. Podremos preguntarnos si son *emisiones* nucleares directas; pero como no es éste el lugar más oportuno para la solución de este problema, remitimos al lector que quiera conocer más detalles al trabajo de *Launoy* (1909).

Según nuestros conceptos, la salida de corpúsculos fuera del núcleo nos ha parecido siempre un fenómeno extremadamente raro. Es tan fácil el comprobar el arrancamiento de partículas celulares durante los cortes, aunque se verifiquen con el microtomo más fino y la navaja mejor afilada, que debemos siempre considerar con escepticismo todos los hechos de salida por efracción de corpúsculos fuera del núcleo. No negamos la posibilidad del hecho, pero lo conceptuamos como extremadamente raro.

¿Hay alguna relación entre los granitos que ahora estudiamos y las vacuolas situadas por debajo de la bordura estriada? (vacuolas que se tiñen por el rojo neutro). — No hay ninguna evidente: primeramente la existencia de vacuolas no está ligada a la presencia de gránulos, puesto que los gránulos ya sabemos que son formaciones inconstantes que no aparecen más que en ciertas condiciones bien determinadas de nutrición. Por el contrario, las vacuolas son constantes en todos sentidos. La aparición

de aquéllos es, pues, independiente de la existencia de éstas.

Las demás modificaciones observables en las células son menos aparentes ya a primera vista. El protoplasma propiamente dicho, exceptuando las mitocondrias, no está modificado. El núcleo está profundamente recortado y es muy irregular: está hendido muy frecuentemente y presenta lóbulos y surcos bastante profundos en su membrana de cubierta. La bordura estriada es poco estriada y las vacuolas subcuticulares no parecen modificarse en lo más mínimo en ningún período secretorio.

En resumen: la principal transformación que sufren las células del segmento I durante el curso de la eliminación de los productos de desintegración catabólica de los proteicos consiste en la aparición de granitos cromatoides: éstos parecen formarse directamente en el espesor del protoplasma y no proceden directamente del núcleo o de los condriosomas (1).

Modificaciones del segmento III. — Los riñones que poseen muchas granulaciones en el segmento I presentan en los segmentos III todos los signos de una intensa actividad secretoria. La disposición de los bastoncillos en series paralelas es absolutamente clara y típica; éstos ofrecen

(1) Se ha señalado desde hace mucho tiempo la existencia de voluminosos gránulos supra-nucleares en el riñón de los Batracios *Solger* (1885) notó su coloración más o menos amarillenta en la rana. *Champy* (1908), en el *Bombinator igneus*, encontró gruesas granulaciones situadas por encima del núcleo y coloreables por el método de *Benda*, la hematoxilina férrica y el método de *Altmann, Weigert* y *Eckberg* (1903), hablan de granulaciones tingibles, en la *Rana esculenta*, por el azul de toluidina. *Courmont* y *André* (1905), pudieron teñir por un procedimiento inédito muy ingenioso, unos gránulos que ellos consideraban como de naturaleza púrica o pirimídica.

Por el contrario, *Mercier* (1904), describe una serie de formaciones segregadas o figuradas, en la célula renal de la rana, pero nada que se pareciese a los gránulos cromatoides.

Nuestras experimentaciones nos han demostrado las razones de divergencia en los resultados de los autores.

una disposició perifèrica en cada cèlula; el nucli està situat en un hialoplasma desprovist en absolut de formacions de este gènere.

2.º EFECTOS QUE CAUSA EN EL RIÑÓN LA ABLACIÓN TOTAL O PARCIAL DEL HÍGADO. — Con la colaboración de nuestro amigo José M.^a Piera, pudimos examinar numerosos riñones de ranas a las que previamente ya habíamos extirpado el hígado, en su totalidad o parcialmente. Conforme ya han explicado *Moleschott* (1852) y *Roger* (1892), el que sobrevivan los animales se explica por la presencia de un sistema anastomótico que une la vena porta a la vena cava, a través del riñón. La ablación del hígado lleva consigo como inmediata consecuencia, en la rana, la incoagulabilidad de la sangre (*Doyon, Morel y Gauthier* 1906) y crisis tetánicas (*Doyon, Gauthier*).

Las transformaciones del tubo urinario son muy profundas y tanto más intensas cuanto más haya sobrevivido el animal; inmediatamente después de la ablación y en las primeras horas que siguen, las modificaciones visibles son mínimas; 24 horas más tarde, aun son poco considerables; pero a partir de este instante aumentan más y más para alcanzar una máxima intensidad en el momento de aparecer las crisis tetánicas, es decir, a los 3 ó 4 días de la operación.

Cuando la ablación no ha sido más que parcial (por ejemplo, ablación de un tercio de hígado solamente), las modificaciones aparecen más lentamente y no sobrepasan de un cierto límite.

Nuestra opinión es que las únicas lesiones verdaderamente interesantes son las del principio, las más aproximadas al estado fisiológico.

Para dar mayor claridad a la descripción, expondremos de un modo en cierta parte sintético la marcha de los fenómenos.

Aparecen primeramente todos los signos de una intensa actividad celular. Los núcleos son extremadamente irregulares. Los condriosomas pierden la disposición en condriocontes: se hacen finamente granulosos, aun conservando sus características reacciones histoquímicas. Casi al mismo tiempo aparecen en la zona supranuclear, vacuolas primeramente muy pequeñas y vacías. Aumentan luego poco a poco, y en medio de cada una de ellas aparece un granito de una substancia de refringencia particular, que puede tener en ciertos casos una coloración ligeramente amarillenta; esta substancia tiene aproximadamente la misma colorabilidad que la cromatina. Vacuola y gránulo tienen entonces la misma disposición que los que hemos ya descrito en el caso de régimen proteico.

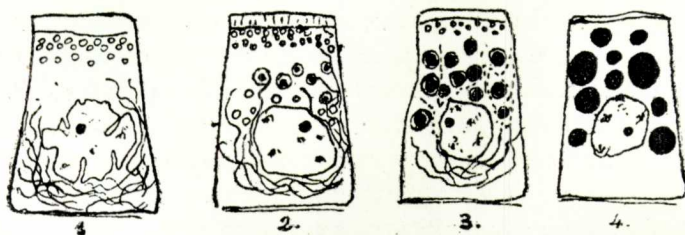


Fig. 4.^a — Esquema demostrando las tasas sucesivas de acumulación y de estado granular patológico en el caso de la extirpación del hígado.

Pero en este caso de ablación del hígado la evolución de estos gránulos es completamente diferente. Mientras que en el caso de que ya nos hemos ocupado, estos gránulos no traspasan un cierto límite y en un momento determinado, cuando cesan las condiciones que habían motivado su aparición, van poco a poco desapareciendo, y en este caso los gránulos no desaparecen en ningún momento, se hipertrofian todos de un modo per-

fectamente regular, disminuyendo de número por fusionamientos entre ellos mismos, pero aumentando claro está, su volumen; de modo que en un momento determinado la célula se encuentra llena de gránulos voluminosos que pueden muchas veces ser de un tamaño mayor que el núcleo. Esta hipertrofia de los gránulos normales se hace de una manera extremadamente regular en todas las células de un mismo tubo.

La aparición de estos gránulos invacuolados es seguida por modificaciones protoplásmicas poco aparentes morfológicamente, lo que sin embargo no quiere decir no sean muy importantes fisiológicamente. Las formaciones mitocondriales conservan durante un cierto tiempo su disposición normal en condriocitos; pero más tarde, por un proceso especial que pudiéramos llamar de *desgranamiento*, pues realmente se van como difundiendo en unos finísimos granulillos que se pueden hallar entre los gruesos granos cromatoides. Este *desgranamiento* especial de los condriosomas tiene lugar, generalmente, en el momento en que estos gránulos son más voluminosos. Pero no hay la menor relación entre este *desgranamiento* de las mitocondrias y la génesis de los gránulos, puesto que son fenómenos cronológicamente diferentes.

La transformación granulosa de los condriosomas es un fenómeno tardío que coincide generalmente con una transformación de la cromaticidad de los gránulos. Estos, al principio, presentan todas las reacciones de la cromatina; pero muy pronto se hacen coloreables por los colorantes plasmáticos, como la eosina.

La bordura estriada nos ha parecido siempre como perfectamente homogénea.

La luz canalicular era siempre muy estrecha. Los núcleos muy irregulares y sin diferenciaciones apreciables con los de las células normales.

3.º CONSIDERACIONES GENERALES. — Los datos que acabamos de adquirir nos sugieren un cierto número de deducciones en lo que concierne a la *naturaleza, origen y papel* de estos granos cromatoides, que aparecen en tan íntima relación con determinadas condiciones fisiológicas.

No creemos en modo alguno que estos gránulos sean edificaciones celulares motivadas por la excreción de agua, puesto que en ranas con una activa poliuria no pudimos nunca observarlas. Están en manifiesta relación con la eliminación de los residuos de la asimilación de los proteicos.

Estas granulaciones hemos visto que asimismo aparecen cuando el riñón está en sobrefunción, esto es, cuando también elimina productos que normalmente son fijados o transformados por el hígado. Y puesto que en este último caso se puede comprobar que el volumen de los gránulos aumenta proporcionalmente al déficit funcional del órgano, agotado ya por este exceso de trabajo, con razón podremos pensar que estos gránulos son un modo de funcionar del riñón; que aun funcionando como riñón de *eliminación*, admitiría también el cargo de riñón de *acumulación*, absolutamente igual que el de un Invertebrado, un Molusco, por ejemplo. Lo que el órgano no puede eliminar por el procedimiento ordinario, lo acumula, y a este proceso de acumulación corresponden justamente estas granulaciones. Si no hubiésemos observado este fenómeno más que en el caso de extirpación del hígado, podríamos creer que este proceso de formación de gránulos no era sino un hecho patológico, una lesión de las células; y no es así, puesto que el estudio del riñón después de ablación parcial del hígado, o después de dietas abundantes, o casi exclusivamente compuestas por proteicos, nos demuestran que no es más que la exageración de un fenómeno normal. Los gránulos cromatoides aparecen siempre que el riñón tiene una gran cantidad de substan-

cias a eliminar. No parece sino que el riñón no pueda funcionar sino muy lentamente, para eliminar los productos catabólicos, químicamente complejos, del metabolismo proteico; estos productos serían acumulados en estas granulaciones.

Estos hechos son parecidos a los que ocurren en los Mamíferos hibernantes. En estos animales, durante el sueño hibernal, el riñón contiene abundantes granulaciones que desaparecen al despertar cuando la micción vuelve a restablecerse normalmente. Nosotros creemos que estos granos representan una forma de eliminación por acumulación. Durante el sueño hibernal los productos de desintegración se acumulan bajo el aspecto de granulaciones, verdaderos condensadores. Al despertar, estos materiales son definitivamente eliminados y los gránulos desaparecen.

Ya hemos visto que en la rana estos fenómenos eran idénticos; pero sin estar habitualmente localizados en la hibernación, puesto que siempre podemos provocar su aparición, exagerando la eliminación de productos de desasimilación de los proteicos. En el caso de ablación del hígado los fenómenos aun son más claros: el riñón funciona como órgano de acumulación, y en estas condiciones los gránulos toman un incremento y proporciones enormes, sin aparición de lesiones celulares propiamente dichas.

Esto debe hacernos admitir igualmente el no-paralelismo entre la excreción del agua y la eliminación de las materias elaboradas. Mientras que la primera se hace rápidamente, la segunda es una operación que parece ser mucho más lenta.

La eliminación del agua parece ser independiente: en las ranas sometidas a ayuno esta eliminación se hace muy de prisa. Pero la eliminación de las sustancias elaboradas depende ciertamente de la excreción de agua: cuando ésta falta no hay excreción, sino tan sólo acumulación.

Los materiales acumulados bajo el aspecto de granulaciones serán definitivamente eliminados cuando se reanude la excreción de agua. El conjunto de la función urinaria comprende, pues, dos clases de fenómenos: la excreción propiamente dicha y la acumulación. Sucede en este caso un fenómeno muy similar, hechas todas las reservas convenientes, con la glucogenia hepática. En este caso tenemos una función en un todo constante; la glucogenia, formación continua que transforma y fija la glucosa de la sangre en glicógeno, asimilable a la formación igualmente continua de orina; y una función que no toma lugar más que secundariamente como regulador de la primera, verdadera función de acumulación de un producto que llega al órgano de un modo irregular, discontinuo, y que debe de ser liberado de una manera regular y continua: para el hígado sería la formación del glicógeno, y para el riñón la formación de estos gránulos cromatoides. Si bien los productos formados son muy diferentes por su naturaleza química, su aparición revela dos procesos formativos muy semejantes en sus rasgos generales.

Sería necesario, para redondear el problema que tratamos aquí, un conjunto numeroso de trabajos que aclarasen ciertos puntos fundamentales. Entre ellos, en primer lugar, la determinación de la naturaleza química exacta de estos gránulos cromatoides. El problema es difícil de resolver, pues exige extensos conocimientos de química. Hemos intentado para ello diversas reacciones histoquímicas sin resultado ninguno. Tenemos poca confianza en el valor de las reacciones histoquímicas hasta aquí propuestas. En todo caso, los granos cromatoides no son grasa propiamente dicha (grasa neutra): la reacción de *Saint Hilaire* (1)

(1) *Saint Hilaire* ha propuesto dos reacciones para caracterizar el ácido úrico. Hemos utilizado la primera indicada en su memoria. Comprende esencialmente las operaciones siguientes: tratamiento del corte

no nos ha dado ningún dato preciso que pueda hacernos admitir o rechazar la naturaleza úrica de estas formaciones. Un análisis químico sólo podría darnos datos exactos; pero para ello se necesita una cantidad demasiado considerable de un material que nos sería difícilísimo procurarnos. Los caracteres generales de coloración deben hacernos pensar que se trata aquí de una substancia químicamente muy compleja: muy probablemente núcleo-proteínas (analogía de caracteres histoquímicos con la cromatina). Pero éstas son razones que pueden en rigor satisfacer a un histólogo, no a un químico; mas, a falta de otras, nos debemos contentar con ellas, al menos provisionalmente.

II. AUMENTO O DISMINUCIÓN DE LA SECRECIÓN DE AGUA

1.º *Consideraciones generales.* — Nos hemos propuesto investigar:

- 1) el lugar;
- 2) el mecanismo citológico de la eliminación de la parte líquida, «el agua» de la orina.

Asimismo es necesario conocer el lugar exacto en el que la eliminación de agua se verifica, o al menos el segmento, o segmentos que presiden especialmente esta función. Es lógico admitir que el agua no pasa únicamente por un punto bien determinado, del riñón, puesto que la eliminación de sales y de productos elaborados necesita también del paso de una cierta cantidad de agua. Pero, puesta ya esta cantidad aparte, ¿cuál es el segmento por el que se elimina la mayor parte del agua de la orina?

por el sulfato de cobre al 10 por 100; reducción en una solución de bisulfato sódico, lavado en agua destilada; tratamiento por el ferrocianuro potásico (*Zeitsch. f. physiol. Chemie*, XXVI, 102-109).

Investigaremos igualmente si el paso del agua provoca a nivel de las células glandulares la aparición de actitudes protoplásmicas suficientemente constantes para que se las pueda, lógicamente y con razón, atribuir a este paso. Por otra parte, ya sabemos que estas actitudes protoplasmáticas no serán más que la resultante, visible, de acciones moleculares complejísimas.

Creemos útil, para el desarrollo de este capítulo, recordar aquí de un modo sumario las experiencias clásicas de *Nussbaum*, y al propio tiempo discutir las en ciertos puntos.

Ya conocemos (cap. I) la doble vascularización del riñón de la rana. Ligando la arteria renal, se suprimiría la irrigación, el funcionamiento de los glomérulos. La experiencia ha demostrado que, efectivamente, esta ligadura ocasionaba el cese de la secreción de orina; de lo que se ha deducido siempre que el glomérulo es quien segrega el agua de la orina.

Se hizo a esta experiencia ya famosa una objeción anatómica (*Adami* 1887). Una parte tan sólo del riñón estaría irrigada conforme al esquema de *Nussbaum*. En particular, en los extremos del riñón, la rigurosa distinción entre los dos territorios no existiría. Pero nosotros creemos que la experiencia de *Nussbaum*, sin tener quizás todo el rigor que su autor ha querido darle, es sin embargo fundamental. Que haya algunos glomérulos que funcionen todavía, poco importa. El punto esencial de la experiencia es el siguiente: la ligadura de la arteria renal produce la supresión funcional de un gran número de glomérulos y una disminución considerable, si no total, de la secreción de la orina. (La inyección de un diurético hace aparecer un poco de orina, procediendo probablemente de la secreción de los «tubuli».) *Halsey* (1901) ha repetido un sinnúmero de veces las experiencias de *Nussbaum* y las ha comprobado siempre.

Gurwitsch (1904) ha realizado la contra-prueba de la

experiencia de *Nussbaum*. Ligó la vena porta renal y observó, no una supresión, sino una disminución de la secreción de la orina: de donde dedujo que los «tubuli» segregaban una parte del agua: no segregarian toda el agua de la orina; los glomérulos se encargarían de verificar el resto de la función.

Estos son los hechos.

Si su realidad está en absoluto fuera de duda, en cambio su interpretación, según nuestro criterio, no es exacta.

La arteria renal irriga *además* de los glomérulos los *segmentos III con bastoncillos*. Los autores han olvidado siempre este punto. Cuando se liga la arteria renal se suprime pues el funcionamiento de los glomérulos y de los segmentos III. Las experiencias de *Nussbaum* nos prueban pues una cosa: que el agua de la orina está segregada a nivel del glomérulo o del segmento III con bastoncillos, o a nivel de los dos a la vez. Nada nos pueden probar más que esto, así como tampoco nos permiten discernir el papel del glomérulo del que desempeña el segmento III con bastoncillos.

2.º *Técnica experimental*. — Hemos puesto ranas normales, sometidas a ayuno desde unos ocho días aproximadamente, unas en estado de anuria por desecación relativa, otras en estado de poliuria por inyección de agua en los sacos linfáticos o en las venas, o bien por inyección, asimismo, de soluciones fuertemente azucaradas.

A) *Ranas con anuria*. — Las ranas, bien secadas con un paño, envueltas en papel secante y después de un sondeaje para que la vejiga quedase completamente vacía, se colocaron debajo de una campana de vidrio con un poco de cal en una cápsula para asegurar la desecación del aire.

Los animales experimentaron una desecación media de 24 horas. Cuando estas desecaciones eran prolongadas las ranas sometidas a la experiencia no tardaban mucho

en morir en tiempos muy variables según los animales (30 a 40 horas en las condiciones de nuestras experiencias).

Al cabo de 24 horas, el aspecto de las ranas es bien característico: la piel está plegada, arrugada, adherente a los músculos, cuyos contornos resaltan. No hay una gota de orina en la vejiga.

B) *Ranas con poliuria.* — Inyección de suero fisiológico (2 cm.³) en los sacos linfáticos dorsales.

Inyección de suero fisiológico (hasta 1 cm.³) en la vena abdominal anterior.

Inyección de solución al 8 por 100 de sacarosa en los sacos linfáticos (2 cm.³)

Inyección en la gran vena abdominal anterior de 1 cm.³ de la misma solución.

Al cabo de un cuarto de hora hallamos, por sondaje, que la orina ha sido abundantemente segregada. No hay glucosa en la orina.

3.º *Ranas con anuria.* — El estudio detenido de los riñones de ranas sacrificadas a las 24 horas nos ha dado los resultados siguientes:

Glomérulo. — Ninguna modificación aparente en la constitución del glomérulo propiamente dicho. Los movimientos ciliares de los cilios vibrátiles en la cápsula de Bowmann son, si se quiere, menos activos, pero esta disminución de movilidad es tan poco aparente que no hay razón alguna para instituirle en modificación.

Segmento I de bordura estriada. — Se observan a su nivel modificaciones importantes. En las preparaciones hechas con los vapores ósmicos, se puede ver que la luz canalicular es muy estrecha, casi virtual, de forma lineal o estelar. En las células, la zona estriada nos ha parecido como homogénea: la zona subcuticular contenía vacuolas muy pequeñas y con contenido no coloreable; sin granuleciones; condriosomas no visibles; núcleos homogéneos:

Empleando los demás métodos, se puede ver que las condriosomas, se hallan bajo el aspecto de condriocontes baciliformes, muy claros, bastante agrupados y muy coloreables, pero no presentando modificación particular alguna. Los núcleos tienen una cromatina poco abundante: dos nucléolos, por lo general de forma extremadamente irregular. Al igual que en las preparaciones hechas por los vapores ósmicos, la luz canalicular es muy estrecha, pero nunca, como en el caso anterior, es realmente virtual, pues la fijación provoca, por un mecanismo que ya hemos indicado, el paso a la luz, de una pequeña cantidad de coloides celulares; de este fenómeno depende asimismo el aspecto ligeramente estriado de la bordura.

Segmento II delgado. — Sin modificaciones aparentes.

Segmento III con bastoncillos. — En las preparaciones hechas con los vapores ósmicos, los bastoncillos mitocondriales son claramente visibles. En estas preparaciones se puede ver muy bien la repartición de estas formaciones en la célula: están alojados en las capas periféricas del protoplasma; en el centro el núcleo está rodeado por un poco de protoplasma claro y libre de condriosomas. La luz canalicular es siempre amplia, libre de ningún residuo: su diámetro es menor que en una rana en funcionamiento normal; los núcleos son bastante irregulares y muy frecuentemente situados en la parte media de la célula. Cuando se colorean los condriosomas, por el método de Regaud, por ejemplo, se comprueba de un modo indudable una variación en la repartición de los condriosomas; parecen estar más individualizados en unas células que en otras.

Segmento IV excretor. — Sin modificaciones aparentes.

En resumen: que la anuria no parece provocar modificaciones notables en la morfología celular.

El único punto que hay que observar es la ausencia de espacios intertubulares. Los tubos urinarios están estre-

chamente apretados unos contra otros. No existen entre ellos los amplios espacios conjuntivos que ya hallaremos más adelante al hablar de la poliuria.

4.º *Diuresis por inyección de agua* (poliuria). — Ni el glomérulo, ni los segmentos delgado y excretor presentan modificaciones apreciables. Tan sólo los segmentos I y III ofrecen variaciones notables.

Segmento I.— Los diferentes tubos presentan variaciones secretorias muy acentuadas. Vemos pues con esto una prueba de su gran actividad funcional.

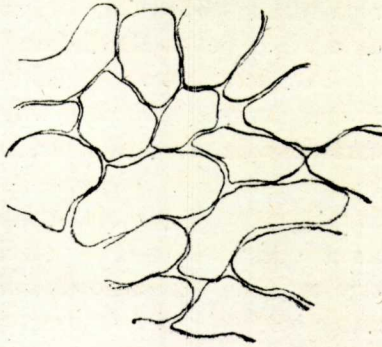


Fig. 5.ª — Riñón en estado de anuria (Esquemática). No hay espaciamento de los tubos.

Los condriosomas son muy aparentes, en forma de condriocotes. Su abundancia es variable;

cuando son numerosos, tienen generalmente el aspecto de condriocotes muy aparentes; cuando hay pocos, tienden a formas granulosas.

Ninguna inclusión se presenta en el protoplasma.

En la zona subcuticular hay menos vacuolas que en los animales testigos y asimismo de contornos no tan bien limitados. La zona subcuticular es, en general, de menos espesor que en las preparaciones de riñón normal.

Los núcleos son muy irregulares. El jugo nuclear presenta variaciones de cromaticidad notables (con la hema-teína-safranina, particularmente). Uno o dos nucléolos centrales; costras de cromatina periféricas; la membrana nuclear aparece muy a menudo con nódulos y espesamientos especiales.

Las células son bajas, con bordura estriada intacta, pero no más estriada que en las ranas testigos.

Segmento III. — Los bastoncillos mitocondriales están reunidos, mejor dicho, apelonados en las regiones periféricas de la célula. En el centro hay un espacio claro, de protoplasma homogéneo, sin condriosomas, dispositivo que recuerda un poco el que *Mayer* y *Rathery* han consignado en el riñón de los Mamíferos.

Los núcleos no son jamás irregulares; al contrario: siempre regularmente esféricos, con un jugo nuclear claro y con cortecitas de cromatina periféricas; no hay nucléolo central. El núcleo está siempre colocado en la zona interna de la célula, casi junto a la membrana apical. Este desplazamiento del núcleo nos ha parecido constante. Hay pues, en este caso, un fenómeno de *anteropulsión* nuclear, relacionable con los que *Launoy* (1903) señaló en las glándulas

venenosas. Es posible que esto sea, conforme su autor opina, un fenómeno puramente pasivo.

En un corte de riñón, a poco aumento, se ve que los tubos están muy apartados unos de otros. Este fenómeno es aquí particularmente claro.

En resumen, durante la poliuria provocada por el agua, las mo-

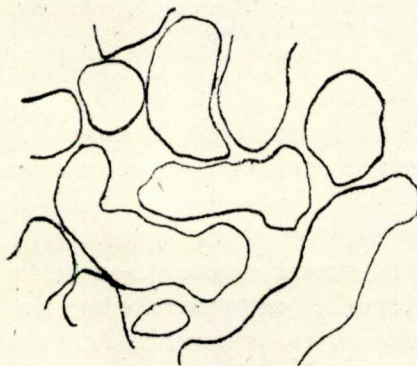


Fig. 6.^a — Riñón con activa diuresis (Esquemática).
Espaciamiento de los tubos.

dificaciones fundamentales son:

- 1.^o Un espaciamiento de los tubos;
- 2.^o Fenómenos secretores particulares a nivel del seg-

mento III; aumento de tamaño (altura) de la célula; aparición de una vacuola perinuclear; anteropulsión del núcleo;

5.º POLIURIA POR INYECCIÓN DE SACAROSA. — Al igual que en el caso anterior no hay modificación alguna en los glomérulos ni en los segmentos delgado y excretor.

A nivel del segmento I, se pueden observar hechos análogos a los ya observados en la diuresis puramente acuosa, pero con algunas ligeras diferencias que ya indicaremos.

No hay modificaciones en el protoplasma propiamente dicho; tampoco hay granulaciones de ninguna clase. Los condriosomas aparecen muy abundantes, elevándose muy por encima del núcleo; son granulosos, no aparecen jamás en forma de condriocontes y son siempre extremadamente pequeños y finos.

Vacuolas subcuticulares muy reducidas.

Núcleos menos irregulares que en el caso de diuresis acuosa pura; sin embargo, están hendidos y lobulados. Tienen un gran nucléolo central.

Bordura estriada bastante elevada y poco estriada relativamente. Células bajas, por lo general.

A nivel del segmento III, las modificaciones son más profundas.

Los condriosomas son poco abundantes; siempre un poco granulosos y poco coloreables. Aparecen esparcidos en la célula, limitando entre sí vacuolas análogas a las que Mayer y Rathery han descrito en las diuresis salinas.

Hay variaciones funcionales muy claras entre los diferentes tubos, en lo que concierne a su riqueza en condriosomas.

Los núcleos son regulares, con poca cromatina; hay uno o dos nucléolos. El núcleo está siempre situado en la mitad interna de las células. Hay pues la misma disposición que en el caso de diuresis acuosa.

Los tubos están muy fuertemente apartados unos de otros.

En sus caracteres generales, los fenómenos morfológicos

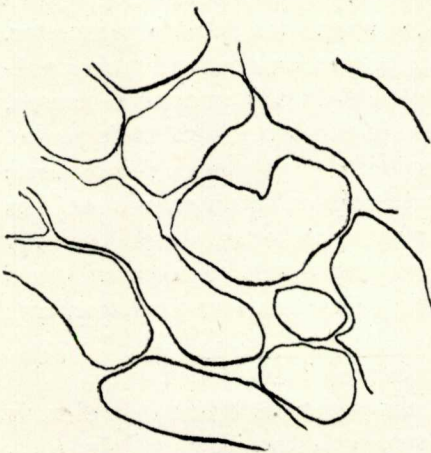


Fig. 7.^a — Riñón con activa diuresis por una inyección de una solución de sacarosa. Espaciamiento de los tubos. (Esquemática).

observados son los mismos que en el caso de diuresis por inyección de agua. Hay quizás algunas pequeñas diferencias en lo concerniente al aspecto de los condriosomas del segmento I, pero estas variaciones son muy ligeras. A nivel del segmento III, existen vacuolas entre los condriocontes.

6.º CONCLUSIONES.

— De estas investigaciones que hemos expuesto aquí, creemos

poder enunciar un cierto número de hechos precisos y constantes:

1) Durante la excreción de agua, el glomérulo no experimenta ninguna modificación aparente.

Confírmense pues en los Batracios los resultados que *Lamy, Mayer y Rathery* han observado en los Mamíferos.

2) La secreción abundante de agua se traduce por un notable espaciamiento de los tubos. Parece que este fenómeno esté ligado al almacenamiento de agua en los espacios intertubulares.

3) Sólo el segmento III ofrece modificaciones apreciables en su morfología durante la secreción abundante de agua.

No es pues aventurado el afirmar, que el funcionamiento de este segmento con bastoncillos está ligado a la secreción de la mayor parte del agua de la orina. Las experiencias de *Nussbaum* pueden explicarnos por este hecho, el que la ligadura de la arteria renal suprime la irrigación, y por tanto suspenda el funcionamiento de este segmento con bastoncillos.

III. ACCIÓN DE CIERTOS CUERPOS QUÍMICOS SOBRE

EL RIÑÓN

A manera de ensayo y sin siquiera intentar hacer un estudio un poco completo de la acción fisiológica de estos cuerpos, hemos ensayado la acción que ejercían en el riñón, dos diuréticos, la *floridzina* y la *pilocarpina*, y la substancia antagonista de esta última, la *atropina*.

La caracterización general de estos cuerpos, es su enorme toxicidad celular. Aun a dosis muy débiles, estas substancias provocan ya en los tubos renales la aparición de fenómenos patológicos. Es pues un error utilizarlos, sobre todo la pilocarpina, como «excitantes de la secreción» para mejor poner en evidencia ciertos detalles morfológicos. Es por esto que *Bouillot* (1886), por haber obrado así, describió minuciosa y concienzudamente como normales fenómenos estricta y manifiestamente patológicos.

Pero es interesante, desde el punto de vista de la fisiología celular, el estudiar el modo de alteración patológica de la célula renal por estos cuerpos. Y es con esta intención que los hemos utilizado.

De un modo general y salvo en lo que concierne a la floridzina, hemos inyectado estos cuerpos a dosis muy elevadas en los sacos linfáticos dorsales. Los animales eran

sacrificados, poco tiempo después de la inyección, de diez minutos a cuatro o cinco horas.

1.º FLORIDZINA. — Hemos utilizado la solución habitualmente empleada en clínica, al 1 por 200 de agua. Las ranas recibían 1 cm³ de esta solución en los sacos linfáticos dorsales. Eran sacrificadas al cabo de 1, 2, 3, 4 y 6 días.

Investigábamos la glucosa existente en la orina expulsada al exterior, mediante el licor de Fehling. La glucosuria no se presentaba hasta las 24 ó 30 primeras horas.

El hecho esencial en la acción de la floridzina, es que no causa alteraciones más que en el segmento I con bordura estriada. El glomérulo y los segmentos, delgado, con bastoncillos y excretor no están modificados. Pero hay que hacer notar que si la floridzina ha obrado durante más tiempo, se pueden ya entonces comprobar alteraciones patológicas en las células de todos los segmentos.

Estudiaremos sucesivamente las modificaciones del segmento I al principio, y después de un cierto tiempo de acción de la floridzina.

A) Al principio, las células secretoras presentan todos los signos de una gran actividad, pero sin trastornos patológicos.

Las mitocondrias son abundantes y muy estrechamente reunidas; los núcleos son muy irregulares, incididos, lobulados, con uno o dos nucleolos siderófilos voluminosos, y con membrana particularmente espesa, sobre todo en ciertos puntos. Es éste un carácter bastante típico en el riñón después de la inyección de floridzina. La bordura es débilmente estriada.

Hay un punto a observar: los reactivos mediocres, que estropean considerablemente las células de un riñón normal, parecen alterar mucho menos las células de estos riñones; parece que en los animales floridzinados las células sean

mucho más resistentes, en particular al rompimiento (plasmolisis) por acciones osmóticas. Según nuestro criterio esto es debido a modificaciones en la concentración molecular de la célula, debidas quizás al paso de glucosa por la célula, pues sabido es que la floridzina hace permeables a la glucosa de la sangre, las células renales, y así es que sobreviene la glucemia, no por acción directa de la floridzina, sino por su obra indirecta.

B) Cuando la floridzina ha obrado ya un cierto tiempo (o poco tiempo después de la inyección de una solución muy concentrada), se pueden apreciar modificaciones muy considerables, ciertamente mortales para la célula, y de muy interesante estudio. Se producen solamente en el segmento de franja estriada. Los otros segmentos no ofrecen modificaciones claramente precisas.

Lo que a primera vista parece muy raro es el aspecto variable de las células en el corte de un mismo tubo. Algunas de ellas tienen sus $\frac{2}{3}$ externos ocupados por una masa intensamente siderófila o eosinófila, que engloba a menudo todo el núcleo, a veces tan sólo una parte. Esta masa que aparece teñida en negro intenso en los cortes coloreados por la hematoxilina férrica, no se extiende nunca hasta la membrana celular. Viene a ocupar el sitio en que están colocadas las mitocondrias en una célula normal. Parece que la substancia que da a los condriosomas su colorabilidad, sea aquí particularmente abundante, haya difundido e impregne al protoplasma de la región dándole sus aptitudes especiales de coloración.

El protoplasma está modificado; es vacuolar, con vacuolas particularmente claras y de considerable volumen, pero sin contener nunca la más fina granulación. La franja en cepillo de Nussbaum, o bordura estriada, es homogénea, muy aparente, pero nada estriada. Los núcleos son de aspecto homogéneo, con dos o tres masas cromáticas. Las

células son particularmente resistentes a las alteraciones de orden osmótico debidas a los reactivos. La luz canalicular, aun después de malas fijaciones (alcohol, etc.), está en absoluto desprovista de todo despojo o residuo celular. Esta disminución de la vulnerabilidad es absolutamente exacta.

En un mismo tubo, las células no difieren entre sí más que por la presencia o ausencia de esta impregnación de la parte central y basal de su protoplasma. La coexistencia, en la sección de un mismo tubo, de células claras y de células con masa central siderófila nos demuestra bien que no se trata aquí únicamente de diferencias de extracción del colorante por el alumbre de hierro amoniacal. Es evidente que si diferenciásemos poco, todo estaría obscuro, negro casi, y que si diferenciáramos demasiado todo se nos aparecería como casi incoloro y sin detalle aparente alguno. Pero tampoco es menos cierto que hay en ciertas células unas masas de aspecto difuso que retienen enérgica y más fácilmente la hematoxilina férrica. Dicho sea en términos más exactos: ciertas células contienen una substancia de impregnación que forma con la laca ferro-hematoxilínica una combinación particularmente estable.

¿Cuál puede ser esta substancia? No se pueden a este objeto más que emitir hipótesis bastante vagas. Parece, según sus reacciones histoquímicas, que debe relacionarse con las substancias lipoides, con todas las restricciones que ya hemos hecho sobre el empleo de este término. El fácil paso de glucosa bajo la influencia de la floridzina, haría fácil la combinación de este cuerpo con los fosfátidos celulares. Podría tratarse aquí de una de estas *yecorinas*, combinación de un hidrato de carbono y de lecitina o más generalmente, de esta substancia y un diamino-mono-fosfátido. Esto está todavía por determinar.

La indudable disminución de la sensibilidad de la célula

a las acciones osmóticas vulnerantes debe estar relacionada, o bien a modificaciones de la concentración de los coloides intracelulares, o bien a modificaciones de la permeabilidad de las membranas celulares.

En resumen: de este rápido estudio parece resaltar que la floridzina determina al nivel del segmento de franja estriada modificaciones que parecen esencialmente residir en una transformación de la substancia mitocondrial. Los condriosomas son alterados electivamente por la floridzina.

2.º PILOCARPINA. — Inyectamos a ranas, en los sacos linfáticos dorsales, 1 cm³ de una solución al 1 por 100 de clorhidrato de pilocarpina; es ésta una dosis enorme (1 centigramo por animal).

Los animales fueron sacrificados 10, 30, 45 minutos, 1 y 2 horas después de la inyección; pero muy frecuentemente los animales mueren ya en la primera hora. No hemos tenido en cuenta más que las modificaciones del principio.

Las modificaciones presentadas por el segmento I de franja estriada son en extremo variables, según los tubos de un mismo riñón, y en un tubo determinado, según las diferentes células.

Hay una absolutamente grande independencia entre las diferentes partes de la célula, núcleo, condriosomas, etcétera, en cuanto a su modo de reaccionar con la pilocarpina. Algunas veces, nótanse, por ejemplo, modificaciones nucleares relativamente considerables, correspondidas con cambios muy débiles, o nulos casi, de los condriosomas. Este punto merece señalarse, pues podría creerse *a priori* en un paralelismo más claro.

Los condriosomas parecen aumentar de número, forman grandes acúmulos a los lados, y sobre todo debajo del núcleo. Algunas veces, éste descansa sobre un verdadero lecho de condriosomas filamento-granulosos. Hay una

exageración considerable de lo que se ve en estado normal. El aumento del número de las mitocondrias aparece muy claramente en secciones tangenciales de los tubos: el corte de estos acúmulos mitocondriales ofrecen el aspecto de las fibrillas de un músculo cortado transversalmente.

La cantidad de mitocondrias, aumentada en todas las células, no lo está en todas de un mismo modo. En algunas de ellas, los acúmulos son tan considerables que parece tener a la vista un verdadero *Nebenkern* de contornos difusos.

El protoplasma no parece modificarse sino muy tardíamente. Y lo es entonces en vía de desintegración granulosa. Es la alteración patológica conocida con el nombre de «tumefacción», la que entonces aparece. Las células renales son de una extremada sensibilidad para la pilocarpina, que es un cuerpo muy tóxico para ellas.

El núcleo presenta modificaciones bastante interesantes; lo que más llama la atención es su irregularidad de forma: es incindido, lobulado; se parece siempre mucho al núcleo de las células en funcionamiento activo. El jugo nuclear aparece generalmente claro con nódulos cromáticos irregularmente dispuestos por la periferia. Generalmente hay un gran nucléolo central. La membrana nuclear es espesa y parece mal limitada.

La bordura estriada, dislocada siempre en las células que han sufrido un principio de alteración, es poco estriada en las células no alteradas, y esto, a pesar de los signos indudables de hiperfuncionamiento celular; hay en este caso una evidente contradicción.

Las solas modificaciones apreciables a nivel del segmento III consisten en la situación siempre muy interna de los núcleos, al igual que en los riñones diuretizados. Las mitocondrias están regularmente dispuestas: no están agrupadas en paquetes ni aumentadas de número.

Los tubos están apartados unos de otros.

En resumen: las modificaciones observadas a nivel de este segmento son insignificantes, comparativamente con las del segmento de bordura estriada.

Conclusiones. — De estas experiencias podemos entresacar un cierto número de hechos. Primeramente la toxicidad muy grande de la pilocarpina altera rápidamente la célula epitelial del segmento I. Pero al comienzo de su acción suceden interesantes fenómenos; en particular, un aumento cierto y notable del

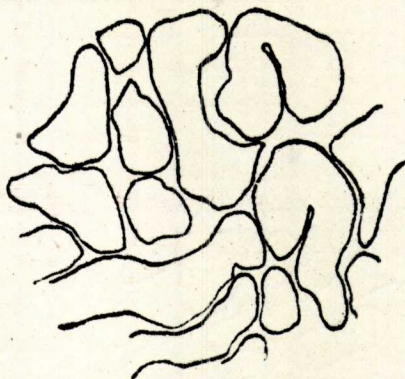


Fig. 8.ª — Riñón después de inyectar pilocarpina. Esparcimiento de los tubos. (Esquemática).

número de condriosomas, que aparecen en el tercio inferior de la célula, casi en contacto con el núcleo. Sin sacar conclusión alguna convincente, que sería prematura, debemos señalar la repartición particular de la cromatina nuclear en la periferia del núcleo, el espesor notable de la membrana y su contorno bastante difuso. ¿Sería éste el indicio de un origen nuclear de los condriosomas?

Conforme ya hemos señalado, la pilocarpina es un cuerpo que ha sido fatal a los histólogos: Bouillot (1887) quiso estudiar el riñón de la rana aumentando la claridad de los fenómenos secretorios mediante la pilocarpina; y así describió constantemente fenómenos puramente patológicos de nefritis epitelial: expulsión de una parte del contenido celular y del núcleo mismo. Estos trabajos deben de ser definitivamente excluidos.

3.º ATROPINA. — Hemos utilizado una solución al 1 por 400 de sulfato de atropina: 1 cm³ por rana, en el saco linfático: sacrificio, 4 y 5 horas después.

No hemos hecho estas experiencias más que en un pequeño número de animales y a título de comparación con la pilócarpina.

Los tubos urinarios estaban separados por vastos espacios. Es éste el carácter más notable de los cortes examinados a poco aumento.

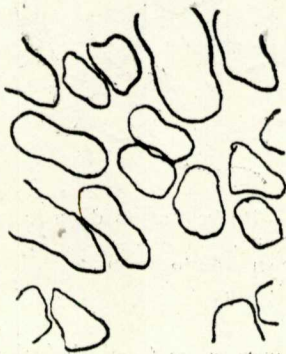


Fig. 9.ª — Riñón después de inyección de atropina. Espaciamiento de los tubos. (Esquemática).

Las transformaciones más notables son las del segmento de franja estriada.

El protoplasma está poco modificado. Los condriosomas son abundantes; no se puede observar ninguna variación de cantidad entre los diversos tubos en lo que concierne a su riqueza en condriosomas. Todas las células de todos los tubos parecen poseer una cantidad idéntica y máxima de condriosomas.

No hay granos cromatoides.

Las vacuolas subcuticulares son poco numerosas; en un aspecto tangencial de un tubo, aparecen dispuestas en corona. El centro del campo apical está libre de vacuolas.

La bordura estriada es alta y bien estriada. Los núcleos están enormemente hipertrofiados. Ocupan la mayor parte del volumen de la célula: y esto puede contribuir a hacer aún más aparente el aumento de cantidad de los condriosomas. La cromatina nuclear está fragmentada en partículas que ocupan casi toda la periferia del núcleo;

éste tiene un aspecto empizarrado absolutamente característico. En cortes espesos estos grumos cromáticos pueden fácilmente simular gránulos citoplásmicos. Un examen detenido nos demuestra fácilmente su situación intranuclear. La membrana nuclear es espesa y débilmente recortada por hendiduras poco profundas.

Si bien existen entre los tubos vastos espacios, al contrario las células de los segmentos I parecen muy fuertemente unidas unas al lado de otras. No hay entre ellas los espacios intercelulares que hemos señalado en los riñones normales.

A nivel del segmento III hay muy pocas modificaciones. La luz canalicular es estrecha; los núcleos externos, un poco irregulares; los bastoncillos, apretados, pero paralelos entre sí, no separados por vacuolas.

En resumen; la atropina provoca: 1.º, a nivel del segmento de franja estriada solamente, modificaciones que consisten en hipertrofia nuclear y transformaciones especiales del núcleo (aspecto empizarrado); 2.º, un apartamiento notable de todos los tubos con ausencia completa de apartamiento de las células entre sí. Esto se traduce por el hecho de que los tubos son de diámetros estrechos, pero muy espaciados unos de otros.

CONCLUSIONES

De las investigaciones que acabamos de exponer podemos sacar las siguientes conclusiones:

1.ª El tubo urinario de la rana comprende, además del gólmérulo, los siguientes segmentos:

Segmento I, con formaciones mitocondriales y franja estriada.

Segmento II, con células planas (segmento delgado).

Segmento III, con bastoncillos y sin bordura estriada.
Segmento IV, excretor, con células cúbicas.

Los segmentos fisiológicamente fundamentales son el primero y el tercero; estos dos únicamente, con exclusión de los demás, muestran modificaciones durante la secreción.

2.^a Desde el punto de vista de la vascularización de estos diversos segmentos debemos distinguir entre ellos dos grupos. La arteria renal irriga el glomérulo y el segmento III. La vena porta renal hace lo mismo para el segmento I. Dejamos a parte los otros dos segmentos que pueden considerarse como accesorios.

Cuando, en la experiencia clásica de *Nussbaum*, se liga la arteria renal, la circulación está por este hecho interrumpida no tan sólo en el glomérulo, sino que también en el segmento III. Si en esta experiencia se observa una supresión completa de la secreción del agua de la orina, se debe concluir diciendo que no tan sólo es el glomérulo quien segrega el agua, sino que este papel debe compararlo, aun con inferioridad, con el segmento III.

Cualesquiera que sean las modificaciones aportadas al régimen de la secreción urinaria, el glomérulo no demuestra la menor transformación que pudiera achacarse en algún modo a la secreción. La prueba de su papel secretor está todavía por dar. También es verdad que tampoco se ha demostrado que no desempeñe en la secreción más que un papel puramente motor, conforme a las ideas de *Lamy* y *Mayer*.

3.^a El segmento I con franja estriada parece ser el lugar principal, si no exclusivo, de la excreción de sustancias elaboradas. Parece no desempeñar más que un papel accesorio en la secreción de agua.

Las células epiteliales de este segmento presentan edificaciones protoplasmáticas bien características, que su-

fren durante el curso del funcionamiento de este segmento modificaciones variables.

Las *formaciones filamento-granulosas mitocondriales* (*mitocondrias* de Benda, *condriosomas* de Meves, *edificaciones lipoides* de Regaud y Mayer), experimentan modificaciones secretoras claras, aunque poco intensas. Pero cualesquiera que sean las condiciones de funcionamiento del riñón que excrete poco, nada o muchos productos residuales de la desasimilación, las modificaciones de los condriosomas se hacen siguiendo el mismo ritmo y la misma intensidad.

Las *vacuolas subcuticulares con contenido coloreable por el rojo neutro* son formaciones constantes que, como los condriosomas, no desaparecen en ningún caso. Sufren variaciones de cantidad, cuya amplitud es independiente del número de substancias a eliminar.

Parece que estas dos formaciones deben de ser atribuídas a las funciones de elaboración de la célula.

La aparición de *gránulos cromatoides* caracteriza a nuestros ojos la acumulación por la célula de materiales a elaborar. Todo sucede como si la célula renal, no pudiendo elaborar todos los materiales que recoge, los acumula en su protoplasma bajo el aspecto de gránulos para irlos modificando poco a poco a fin de hacerlos aptos para la excreción. El fenómeno no dudoso de la acumulación resulta esencialmente del no-parallelismo entre dos funciones de la célula: de una parte, la intus-suscepción, función irregular; de otra, la elaboración y la excreción, funciones regulares.

Los gránulos cromatoides no derivan de los condriosomas. Aparecen en el seno de vacuolas muy pequeñas situadas en las proximidades del núcleo.

La *cutícula estriada o franja en cepillo de Nussbaum*, de aspecto variable, es una formación que debe estar relacionada con la excreción excelular. Se la puede consi-

derar como una membrana dializadora incesantemente adaptada a los productos a excretar.

4.^a Las células del segmento III presentan bastoncillos de naturaleza muy próxima a la de las mitocondrias; pero no hay mitocondrias propiamente dichas..

Solamente las variaciones de eliminación del agua de la orina (anuria o poliuria) ocasionan modificaciones en este segmento. Es, en el caso de diuresis, un aumento, a menudo considerable, del volumen de la célula y, por consiguiente, del diámetro del tubo, la aparición de vacuolas entre los bastoncillos, un espaciamiento de éstos y una anterpulsión notable del núcleo.

La eliminación exagerada de agua va igualmente acompañada de un modo constante de un espaciamiento de los tubos a consecuencia de la acumulación de líquido en los espacios conjuntivos intercelulares.

5.^a El tubo urinario de la rana contiene, en un punto particular, formaciones ciliares extremadamente desarrolladas (cuello ciliado). Su papel propulsor parece cierto, pero no exclusivo de ningún otro regulador.

6.^a Hemos podido elucidar ciertos puntos de la acción histológica de algunas sustancias químicas tóxicas: la *floridzina*, la *pilocarpina* y la *atropina*.

A) *Segmento I.* — La *floridzina* causa la impregnación del protoplasma celular por una substancia que presenta las reacciones histoquímicas de los lipoides mitocondriales.

La *pilocarpina* provoca modificaciones nucleares considerables. Parece aumentar el número de condriosomas.

La *atropina* causa una hipertrofia considerable del núcleo y la aparición de un estado escamoso característico de la cromatina.

B) *Segmento III.* — La *pilocarpina* y la *floridzina* a dosis débiles no causan alteraciones en este segmento

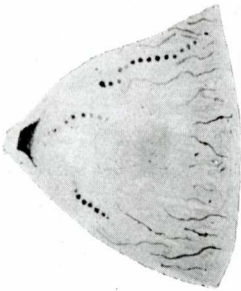


Fig. 1

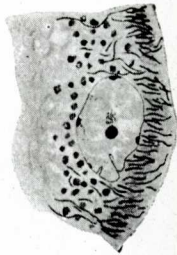


Fig. 2

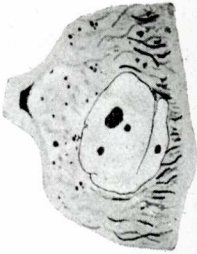


Fig. 3

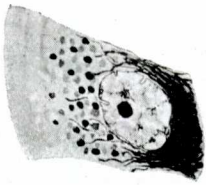


Fig. 4

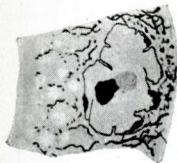


Fig. 5

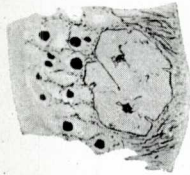


Fig. 6

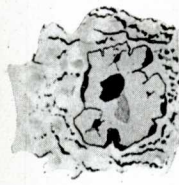


Fig. 7

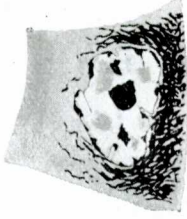


Fig. 11



Fig. 10



Fig. 9



Fig. 8



Fig. 13

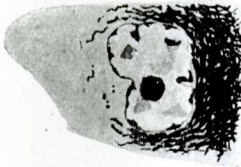


Fig. 14

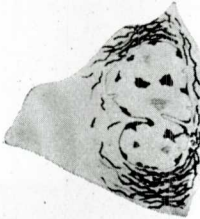


Fig. 12



Fig. 17



Fig. 19

Fig. 21



Fig. 16



Fig. 15



Fig. 18



Fig. 20

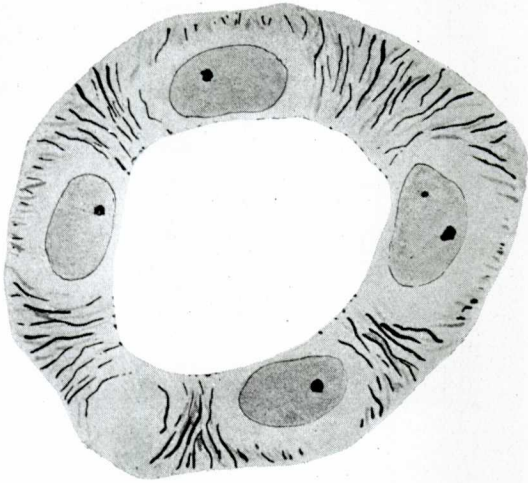


Fig. 23

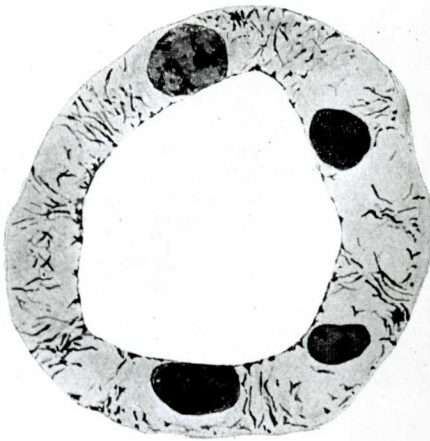


Fig. 22

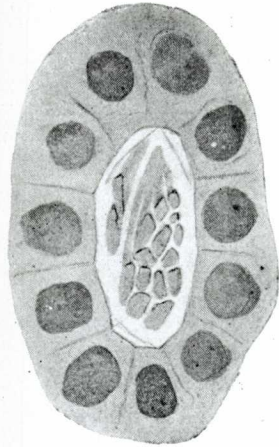


Fig. 24

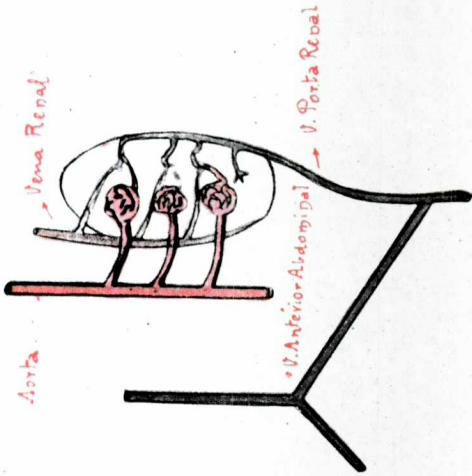


Fig. I. — Esquema de la irrigación del riñón de la rana según *Bainbridge* y *Acworth Menzies*.

1. Aorta.
2. Vena anterior abdominal.
3. V. Porta renal
4. V. Renal.

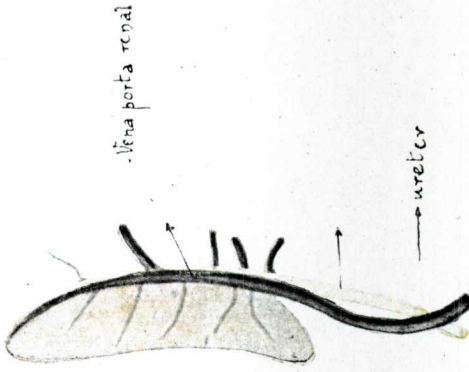


Fig. II. — Riñón derecho visto por su parte dorsal según *Widersheim-Gaupp*.

1. Vena porta renal.
2. Uréter.

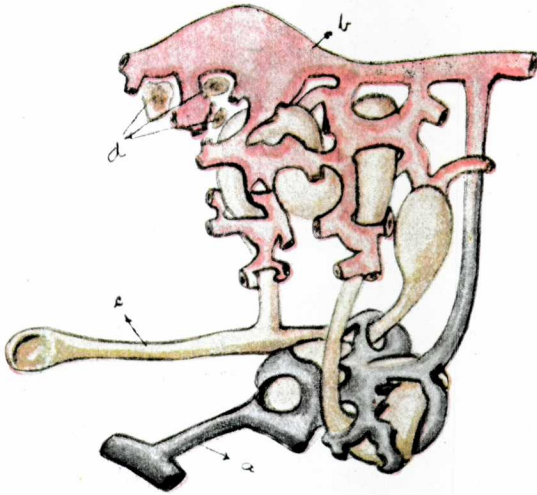


Fig. III. — Esquema demostrando la doble vascularización del riñón de la *Rana temporaria*.

- a. Vena porta renal.
- b. Arteria renal.
- c. Tubo urinífero.
- d. Cordones de la glándula suprarrenal.

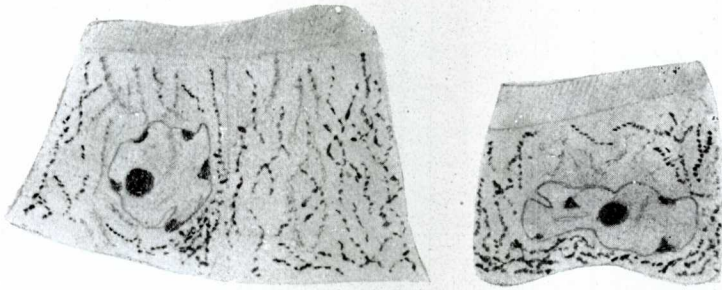


Fig. IV. — Condriosomas del segmento de franja estriada.

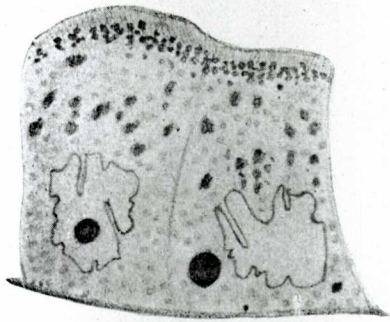


Fig. V. — Segmento de franja estriada. Vesículas y granulillos lipoides coloreables por el método de la hematoxilina cúprica de *Weigert - Regaud*.

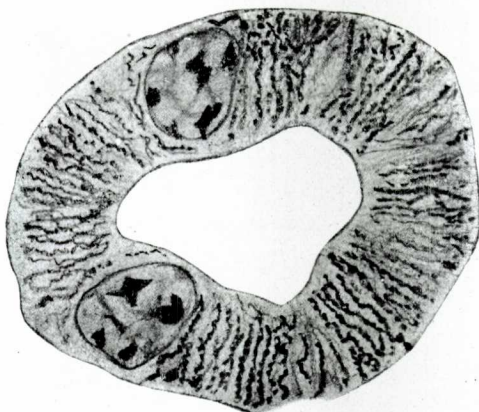


Fig. VI. — Segmento III con bastoncillos.

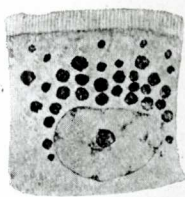


Fig. VII. — Célula renal (segmento I) en estado de acumulación (ablación del hígado).

Iniciación de la fase.

La *atropina*, que impide la diuresis acuosa, no impide la acumulaci3n de l3quido en los espacios intertubulares, sino tan s3lo el hinchamiento caracter3stico de las c3lulas. Todo sucede como si la atropina paralizara la entrada de agua en la c3lula, es decir, la intus-suscepci3n electiva

7.^a En el estado actual de la t3cnica histofisiol3gica quedan todav3a oscuros un gran n3mero de puntos en el funcionalismo renal. No se puede actualmente sino sospechar el papel que desempe1a el tejido conectivo intertubular, el protoplasma no figurado, etc.

Corresponde a la experimentaci3n fisiol3gica combinada con la observaci3n citol3gica el llevarnos a la soluci3n de este tan complejo problema que nosotros, aunque mal, hemos intentado esbozar.

Laboratorio de Histolog3a de la Facultad de Medicina.

BIBLIOGRAFIA

1887. ADAMI. — *The nature of the glomerular activity in the kidney*. J. of Phys., VI, 382.
1909. DE BEAUCHAMPS. — *Les colorations vitales*. Année Biologique pour 1907.
1900. BEDDART. — Journ. of Physiology, XXVIII.
1903. BENDA. — *Die Mitochondria des Nierenepithel*. 17 Vers. d. Anat. Gesellsch., Heidelberg, 123.
1883. BOUILLOT. — *Épithélium de sécrétion du rein des Batraciens*. C. R. Ac. d. Sciences, XCVII, 916.
1905. BOUIN (P.). — *Ergastoplasme, pseudochromosomes et mitochondries*. Arch. de Zool. expérim. et gén., III, p. 99-132, pl. IV-V.
1842. BOWMAN. — *On the structure and use of Malpighian bodies*. Philos. Trans., I, 57.
1905. COURMONT y ANDRÉ. — *Élimination de l'acide urique par le rein des Vertébrés*. Journ. de Physiol. et de Path. gén., 255-281.
1909. FAURÉ-FREMIET, A. MAYER y G. SCHAEFFER. — *Sur les réactions chimiques des mitochondries*. C. R. Soc. de Biologie, LXVII, 18 dic., 769-771.
1901. HALSEY. — *Studies on Diuresis*. Amer. Journ. of Physiolgy, VI.
1862. HENLE. — *Zur Anatomie der Niere*. Abhandl. d. königl. Ges. d. Wiss. zu Göttingen, X.
1866. HÜFFNER. — *Zur vergleichenden Anatomie und Physiologie der Harnkanälchen*. Inaug. Diss., Leipzig.
1828. HUSCHKE. — *Ueber die Texture der Nieren*. Isis, XXI, 550-559. T. I.
1906. LAMY y MAYER. — *Une nouvelle hypothèse sur l'anatomo-physiologie du rein*. C. R. Soc. de Biologie, 26 mayo, p. 932-934.
1878. NUSSBAUM (M.). — *Ueber die Secretion der Niere*. Arch. f. d. ges. Physiol., XVI, p. 139, 142.
1886. NUSSBAUM (M.). — *Zur kenntiss der Nierenorgane*. Arch. mikr. Anat., XXVII, p. 442-480.
1909. POLICARD (A.). — *Étude sur l'élimination par le rein normal des matières colorantes étrangères à l'organisme*. Thèse de Lyon. Schneider édit., 73 p.

1913. POLICARD (A.). — *Sur la structure des mitochondries*. Soc. de Biologie, I, p. 100.
1908. POLICARD y MAWAS. — *Mitochondries et cils vibratiles*. C. R. Soc. de Biologie, 1909, 1.
1901. REGAUD (Cl.). — *La sécrétion liquide de l'épithélium séminal; son processus histologique*. C. R. Soc. de Biologie, 3 nov. 1901.
1909. REGAUD (Cl.). — *Participation du chondriome à la formation des grains de ségrégation dans les cellules des tubes contournés du rein (chez les Ofidiens et les Amphibiens)*. C. R. de la Soc. de Biologie, LXVI, p. 1034, 19 junio 1909.
1911. REGAUD (Cl.) y POLICARD. — *Étude sur le tube urinaire de la Lamproie*. C. R. de l'Assoc. des Anatom., Montpellier, 1911.
1899. RENAULT (J.). — Capitulo «Riñón» del *Traité d'Histologie pratique*.
1886. TORNIER (O.). — *Ueber Bürstenbesätze an Drüsenepithelien*. Arch. mikr. Anat., XXVII, 181-191.
1899. VIGNON. — *Les canalicules urinaires chez les Vertébrés*. Année biologique III, 1899, p. 277-308.
1913. WIGERT y ECKBERG. — *Ueber Binnenzellige kanalchenbildungen gewisser Epithelzellen der Froschnieren*. Anat. Anz., XXII, p. 364-368, 6 fig.