

Tesis de Posgrado

Reacción que experimentan los melanocitos de *Fitzroyia lineata* (Jen.) Berg y *Cnesterodon decemmaculatus* (Jen.) Garman, al ser tratados con preparados de orina y suero de mujer grávida

Fiorini-von Niederhäusern, Antonia Leonor

1944

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

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

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

Cita tipo APA:

Fiorini-von Niederhäusern, Antonia Leonor. (1944). Reacción que experimentan los melanocitos de *Fitzroyia lineata* (Jen.) Berg y *Cnesterodon decemmaculatus* (Jen.) Garman, al ser tratados con preparados de orina y suero de mujer grávida. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0376_FiorinivonNiederhausern.pdf

Cita tipo Chicago:

Fiorini-von Niederhäusern, Antonia Leonor. "Reacción que experimentan los melanocitos de *Fitzroyia lineata* (Jen.) Berg y *Cnesterodon decemmaculatus* (Jen.) Garman, al ser tratados con preparados de orina y suero de mujer grávida". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1944.

http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0376_FiorinivonNiederhausern.pdf

REACCION QUE EXPERIMENTAN LOS MELANOCITOS

de

Fitzroyia lineata (Jen.) Berg

y

Cnesterodon decemmaculatus (Jen.) Garman,

AL SER TRATADOS CON PREPARADOS DE

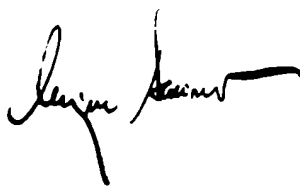
ORINA Y SUERO DE MUJER GRAVIDA

Zesis: 376

Por

Leonor Fiorini-von Niederhäusern

1944



INDICE

	Página
Prólogo.....	1
Breve reseña histórica de los trabajos de biología marina realizados por el Prof. León Binet.....	2
Las escamas. Estudios realizados al respecto.....	7
Posición sistemática de las especies <u>Fitzroyia lineata</u> (Jen.) Ber. y <u>Chesterion maculatus</u> (Jen.) Garm., estudiadas en este trabajo.....	13
Generalidades sobre la coloración de los peces.....	18
Influencia de la luz y de la obscuridad sobre los melanocitos. Comentario, Síntesis, Conclusiones.....	23
Hormona melanotropa en la orina de la mujer grávida - Métodos seguidos, Conclusiones.....	32
Ensayos realizados con suero sanguíneo de mujer grávida..	39
Conclusiones Generales.....	41
Experiencias realizadas.....	42
Bibliografía.....	71
Microfotos.....	76



PROLOGO

Este trabajo seguido atentamente durante los años 1942-43, fué encarado en un principio, en otro sentido, haciéndose por esa causa más larga su elaboración.

Muchos de aquellos experimentos hoy nos parecen innecesarios porque hemos llegado a conclusiones que en aquel entonces no podíamos prever.

Los resultados experimentales han sido, felizmente claros.

Las determinaciones fueron verificadas previamente, etapa por etapa, y se obtuvieron resultados duplicados concordantes.

Antes de dar término a este trabajo deseo expresar mi agradecimiento a los profesores de la escuela del Doctorado en Ciencias Naturales por las valiosas enseñanzas que de ellos recibí.

Al Profesor Doctor José Carbonell que me honra al apadrinar este trabajo, y a quién agradezco el interés que le ha dispensado en todo momento.

Al Doctor Twaithes Lastra, Director de la Maternidad R. Sardá, por haberme facilitado los medios para realizarlo, en el laboratorio de dicha Institución.

A la Doctora Martha Kapplombach la dirección de ésta investigación, su desinteresada y efectiva colaboración diaria.

A mis compañeros de estudios mi más cordial simpatía.

FOENBA
RESEÑA HISTÓRICA

En el año 1934, llegó a nuestro país, invitado por el Instituto de la Universidad de París en Buenos Aires; el Profesor Doctor León Binet, Director del Instituto de Fisiología de la Facultad de Medicina de París.

Muchas fueron las conferencias que dictó, en las cuales puso de manifiesto sus altos conocimientos de Fisiología y Biología Marina.

Este estudioso francés siguió la huella impercedera que conduce a la fuente en la que bebieron los más grandes fisiólogos que diera al mundo, la tierra de la razón y de la inteligencia.

Es el digno descendiente de la escuela de Lavoisier, Magendie, Claude Bernard, Brown Sequard, Charles Richet, M. G. M. Roger que merecen la admiración de los biólogos del mundo.

A tan distinguido visitante nuestro fisiólogo Dr. B. A. Houssay le ofreció su cátedra desde la cual expuso magistralmente, dados los vastos conocimientos que adquiriera en la investigación diaria.

En una de sus conferencias habló de las experiencias llevadas a cabo por el naturalista Metchnikoff en los laboratorios de Messina y Nápoles, cuyos pacientes trabajos contribuyeron a edificar la muy discutida teoría de la fagocitosis.

Se extendió sobre la teoría de la inflamación como reacción defensiva en la masa transparente de la umbela de las medusas, al introducirse una astilla.

FOFNA

Los biólogos, ayudantes del inteligente maestro Metchnikoff, vieron con asombro la formación de raras células ameboideas que significaban un llamado a los fisiólogos del mundo; este proceso es comparable a la supuración en los seres superiores, cuando por circunstancias eventuales se introduce un cuerpo extraño en los tejidos.

L. Binet, que ha escrito páginas que son un modelo en su género, sobre la vida de los animales, en el agua y en la tierra, supo aguzar en los estudiantes la curiosidad hacia el estudio de los seres marinos que tendrán en el futuro interés inmediato para la medicina.

En efecto; Charles Richet, quien, conjuntamente con Paul Portier en el Laboratorio de Biología Marina, trabajó con intensidad en la extremada sensibilidad de los Actinidos, (Zoanthus, sp.). Nadie desconoce hoy la importancia de la anafilaxia nacida de ese estudio.

Fué la vida de P. Richet llena de inquietudes y de trabajo secundada por jóvenes naturalistas que inician su marcha y escalan los primeros peldaños de la biología al lado de investigadores reconocidos mundialmente. En la hermosa bahía de Tamaris-sur-mer, sobre la costa de Provenza, donde la Facultad de Ciencias de Lyon posee un Laboratorio de Biología Marina, dirigido por A. Henry Cardot, Profesor de Fisiología.

Es allí, donde se siguen atentamente los más variados fenómenos de la reproducción en la fauna marina; seguramente los análisis biológicos del plankton llegarían a dilucidar problemas de la importancia del anti-raquitismo que tanto preocupa a los médicos.

Los cultivos en Echinus, sp. están cada día más intensificados y son atentamente seguidos; con ellos legará a aclararse el esbozo iniciado con los huevos, como reactivo, que contribuirá a solucionar los problemas terapéuticos del cáncer.

Bueno es recordar aquí la frase expuesta en una de las aulas del Laboratorio. Dice así: "La langue manque pour dire et la main pour écrire toute les merveilles de la mer"; que en manos de biólogos empedrados en la investigación científica viene a señalar una vez más la importancia y la proyección de los estudios sobre fauna marina, en los cuales me he interesado, siguiendo las experiencias de E. Hedon, C. Delezenne, Paul Portier, L. Binet, sobre la contribución de los peces como reactivo biológico; que marcan un capítulo más de los ensayos toxicológicos, llevados a cabo en Tamaris-Sur-Mer por los discípulos de H. Cardot y de A. Arnaudet operando con Gobius lota, Valenciennes.

Ellos usan los peces para investigar los tratamientos de intoxicación provocada.

Dice L. Binet: "L'absorption au niveau de leurs branchies réalise en effet la pénétration du poison par une voie qui le conduit directement aux capillaires artériels et ceux-ci sont le champ d'action des poisons" (1).

Los resultados prácticos que se obtuvieron después de numerosas experiencias con los peces y de atentos estudios llevados a cabo con la colaboración de histólogos y fisiólogos, son de suma importancia

(1) Binet León.-- Le poisson, test biologique. Six conférences de Physiologie, Paris, 1935, pág. 55.

para la ciencia. Así el estudio de la circulación, respiración, digestión, aparato renal y sistema nervioso, es base para experimentos ulteriores que llevarán a abordar los intrincados problemas de las glándulas endócrinas.

También en la Estación de Roskoff, Mlle Marie Goldsmith trabajó sobre peces y observó que las sutiles relaciones psíquicas de los peces se modificaban por la intoxicación provocada con la nicotina.

R. Richet complementó estas experiencias y llegó a determinar que al elevar la temperatura, la sensibilidad de los peces aumenta, lo mismo ocurre si en el agua en la que están sumergidos se añaden pequeñas cantidades de estricnina o avertina.

El Gobius lota, Valeno, sirvió también para demostrar la reanimación del centro respiratorio por medio de la cafeína, si está inhibido por el cloroformo. La solución definitiva de este problema traerá muchas luces en el futuro como lo entrevió L. Binet al decir en una de sus conferencias en nuestra Facultad de Medicina: "Le problème de la réanimation n'est pas un problème vide de sens: l'expérimentation permet d'en souligner la portée. Hommes d'action, médecin et chirurgien pourraient peut-être appliquer systématiquement rationnel a un moment où il est difficile de dire si le patient est "avec les morts ou encore avec les vivants"..... Il n'y a rien à perdre... Il y a peut-être quelque chose à gagner". (1) Largo sería detallar aquí los numerosos trabajos que sobre peces, realizaron

(1) Binet León.- Le poisson, test biologique. Six conférences de Physiologie, Paris, 1935, pág. 68.

L. Binet y sus colaboradores con la clara visión de acercar la medicina a un campo que permita hacer diagnóstico biológico por métodos prácticos.

Este sabio dedicó su vida a las investigaciones; y las obras didácticas que publicó le valieron su merecida reputación científica, tanto el estudio del metabolismo del azufre, como el de biología marina, que despertó en muchos estudiosos el espíritu de investigación hacia asuntos que él solamente se limitó a enunciar, esperando que germinaran en el futuro.

Después de enumerar brevemente estos antecedentes históricos, que demuestran la importante contribución que aporta a la ciencia el estudio de la fauna marina, pasaremos a ocuparnos del pequeño estudio, objeto de ésta tesis, que tiene por finalidad encontrar en el preparado de orina y suero de mujer grávida, un principio que provoque "in vitro" la dilatación de los melanocitos en escamas aisladas de Fitzroyia lineta (Jen.) Berg, y Cnesterodon decemmaculatus (Jen.) Garman.

L A S E S C A M A S

El estudio microscópico de las escamas ha llenado capítulos enteros en la biología ictiológica.

T. D. Cockerell fué el primero en llamar a ésta ciencia Lepidología. Ella nos enseña que una serie de acontecimientos de orden externo o interno de la vida de los peces están en íntima relación con las variadas esculturas de las escamas y quedan registradas en ellas.

E. Mac Donagh en su trabajo sobre "Las escamas de Cynoscion striatus (Cuvier) J.E.", hace un resumen de las observaciones exponiéndolo como sigue:

- 1º). Se admite que el número y la identidad de las escamas de un pez no varía durante su vida; es decir, que las escamas crecen de tamaño a medida que crece el cuerpo de un pez.
- 2º). En consecuencia, si el pez pierde una escama, se forma una nueva para sustituirla; pero ésta lleva caracteres especiales: a) regeneración, b) edad de regeneración, y casi siempre, c) caracteres en algo conformes a los del tipo del área donde está implantada.
- 3º). El crecimiento más o menos rigurosamente concéntrico de las escamas permite que en algunas de sus franjas se exhiba la influencia de factores internos o externos importantes.
- 4º). En consecuencia, los peces migratorios registran en sus escamas los cambios de ambiente realizados durante su vida.

- 52). Sean o no migratorios, a menos que el ambiente donde vivan sea muy regular y poco afectado por las estaciones, o de una riqueza de alimentación sobreabundante, los años de vida se registran en las escamas.
- 62). La escasez anormal del alimento, el hambre, la inanición también se registran.
- 72). Precisamente por ser concéntrico al crecimiento, en ciertas escamas muy regulares de algunas especies, la proporción normal del crecimiento permite datar con más exactitud la fecha de lo anormal así registrado.
- 82). En un buen número de especies, la indicación del año es solamente una particularidad de proximidad y de espaciado en los círculos; es una falla en la estructura y, a continuación de ella hay un cambio en la orientación de, por lo menos, parte de los círculos.
- 92). Esto, en algunas especies, se debe a que antes de la marca del año, hubo una reabsorción de perímetro.
- 102). También los accidentes individuales de las escamas quedan registrados; siempre que no sean tales que las hagan perder.
- 112). Este registro es independiente del general de las escamas del pez, pero en el caso de una simultaneidad de fechas o de repetición del tipo de lesión, en muchas escamas del mismo ejemplar, o similitud de fecha y cicatriz en diversos ejemplares, se obtiene un precioso dato sobre la vida de los peces en cuestión.

129). La herida o afección que no hace desprenderse la escama, deja su huella; el crecimiento se reanuda sobre esa base, compensando o no el perfil anterior, Es decir, pues, que no hay regulación sino regeneración: es un proceso de adultez".

Einar Lea, realizó sus investigaciones de lepidología, con escamas de diferentes especies de peces, y llegó a su estructura íntima. Así pudo comprobar que las escamas añaden cada año un anillo, y que la distancia observada entre dos de ellos está en relación directa con el crecimiento observado en el pez en igual período.

De estas conclusiones, pretendió A. von Leeuwnehck comparar estos anillos anuales de las escamas con los similares libero - leñosos en el tronco de los árboles. Los llamó "registro de edad".

Conviene recordar aquí, que en nuestro país han trabajado con escamas para llegar al conocimiento de su biología, y a la determinación de edad, entre otros Emiliano Mac Donagh, y S.E. Cabrera.

E. Mac Donagh hizo estudios con escamas regeneradas, y afirma que es un proceso de adultez; que las escamas traen en su diseño los traumatismos sufridos por el pez al que corresponden.

Terminología: Se considera la escama dividida en cuatro campos:

Un campo posterior o expuesto (motivo de nuestro estudio).

Un campo anterior o basal.

Y dos campos laterales, surcados de círculos.

Estos dos últimos y el anterior están cubiertos por la escama precedente, debido a la disposición especial que afectan las escamas, al imbricarse.

En una escama encontramos:

Foco, núcleo, o centro. Lo que fué punto de origen de las escamas, se conserva como centro, o desplazado de los círculos que recorren toda o parte de la escama según su tipo.

Círculos: son líneas finas que recorren las escamas, más o menos concéntricas al foco. Son paralelos entre sí, más o menos concéntricos en los campos laterales, cortados en el campo anterior por radios.

Son finísimas crestas formadas por la disposición regular de sales calcáreas.

Anillos: llamados también anillos anuales; bandas de invierno; anillos de crecimiento o peronidios.

Son marcas alrededor de un antiguo margen de la escama, que al crecer ha quedado en el interior. Señalan una época en la vida del pez. Su naturaleza es uno de los asuntos más discutidos en esta materia, pues, según los peces, el anillo puede significar una marca de verano o invierno; una detención en el crecimiento o su recuperación. Puede estar en relación con franjas o bandas de color más obscuro, a veces guardan entre sí diferentes distancias y ellos son los que marcan la edad.

Radios: llamados canaletas radiales.

Son estriás que cortan perpendicularmente los círculos del campo anterior. Parten del foco y aumentan su número hacia el margen.

Aristas: son elevaciones que sirven de límites entre el campo anterior y los laterales.

Valles y lomas: son depresiones y elevaciones radiantes de la escama, principalmente hacia el campo anterior, comunes en las escamas irregulares, y que no alcanzan a cortar los círculos, como sucede con los radios.

Vemos así, a grandes rasgos, que las escamas fueron siempre motivo de estudio. Vienen ahora a prestar una vez más su colaboración en este test biológico objeto de nuestro sencillo trabajo.

Porque realizamos este estudio con Fitzroyia lineata (Jen.) Berg y Cnesterodon decemmaculatus (Jen.) Garman.

Debemos manifestar aquí, el porqué de la elección de estas especies. Al solicitar material al Jefe de la División de Piscicultura, le hice presente el deseo de realizarlo con peces comunes. Esto me permitió obtener mayor cantidad de material, fácil de renovar. Se me entregaron entonces las especies citadas, pues son ellas muy abundantes en nuestras aguas, y es así posible tener continuamente ejemplares, lo que facilita una investigación.

Existe, además, otra razón para haberlas elegido; y es que las escamas de Fitzroyia lineata (Jen.) Berg. y Cnesterodon decemmaculatus (Jen.) Garman. presentan melanocitos fáciles de distinguir, en lugar de tener cantidad de melanóforos coloreados. Estas dos especies se utilizan por primera vez en nuestro país para un estudio de biología aplicada, el que tal vez, perfeccionado sucesivamente, podría ayudar a hacer diagnóstico precoz de embarazo.-

POSICION SISTEMATICA DE LAS DOS ESPECIES ESTUDIADAS.

Clase : PISCES
Sub-clase : ACTINOPTERI
Super-Orden : TELEOSTEI
Orden : CYPRINODONTES

Familia: Poeciliidae Familia : Fitzroyiidae
Género : Cnesterondon, Garman 1895 Género : Fitzroyia, Günther 1866
Especie: C. decemmaculatus (Jen.) Garman.
Especie: F. lineata (Jen.) Berg.

Para algunos autores, las familias Poeciliidae y Fitzroyiidae, se hallan incluidas en la familia Cyprinodontidae como subfamilias; pero D.S. Jordan en su "A classification of Fishes" 1923, divide al orden Cyprinodontes en las siguientes familias: Cyprinodontidae, Characodontidae, Goodeidae, Poeciliidae, Fitzroyiidae, Anablenidae, Thallostethidae, Amblyopsidae, Adrianichthyidae.

Para muchos sistemáticos éstos desdoblamientos no son aceptados en su totalidad, pero es indudable que muchas de estas familias estan bien fundamentadas.

A nuestro trabajo interesan particularmente dos de las familias del orden Cyprinodontes, las Poeciliidae y Fitzroyiidae.

Orden Cyprinodontes: Cuerpo escamoso; boca anterior, cuyo margen superior está formado por los intermaxilares; hendidura bucal horizontal o vertical. Dientes sobre la mandíbula y sobre los interma-

xilares; grupos de dientes cardiformes en las superiores o inferiores faríngeos. Ojos laterales. Una aleta dorsal, sobre la porción más elevada del cuerpo. Sin adiposa. Tracto intestinal corto o largo; sin saco ciego en el estómago; sin apéndices pilóricos. Hay familias ovulíparas, ovovivíparas

Familia: Poeciliidae

La diferencia fundamental que existe entre las familias Poeciliidae y Fitzroyidae, es la modificación que sufre la aleta caudal de los machos.

El órgano intromisor está formado por la prolongación de los radios anales, tercero, cuarto y quinto; el primero y último de los cuales son bastante fuertes, están más o menos expandidos transversalmente. En uno u otro borde presentan escotaduras y pueden adoptar también forma de tubo.

La distribución geográfica de ésta familia es sumamente amplia. Desde el Sur de los Estados Unidos de Norte América hasta el Sur de la Provincia de Buenos Aires y desde el Atlántico hasta el Pacífico.

Género: Cnesterodon

La dentición consiste en una serie externa de dientes comprimidos y curvados, los incisivos espatulados, y otra serie de pequeños dientes cónicos detrás de la primera. La aleta anal de los machos

tiene un largo órgano intromisor. Su largo es cerca de una vez y media el largo de la cabeza.

El primero y segundo radios anales son pequeños; los terceros, cuarto, quinto y sexto, prolongados. El cuarto radio termina en forma aguda; inmediatamente ventral a éste, hay otro largo y simple en forma de hoz.

Especie: Cnesterodon decemmaculatus (Jen.) Garman.

Cuerpo más o menos ancho, comprimido lateralmente. Perfil ligeramente arqueado.

Distancia que hay entre la extremidad del hocico al origen de la aleta dorsal (en las hembras) es casi igual a la distancia que va desde el último radio de la aleta anal, a la extremidad de la caudal.

El origen de la aleta dorsal es ligeramente posterior a la vertical bajada desde allí hasta la aleta anal. Las ventrales son pequeñas, casi alcanzan al ano; la caudal es redondeada.

Presenta una serie de manchas oblongas sobre los flancos cuyo número varía desde 6 hasta 12, pero lo más frecuentemente es que sean 9.

Los machos tienen una marca sobresaliente en forma de V, la cual engendra una línea de pigmento sobre la quilla del pedúnculo caudal. La distribución geográfica de ésta especie es desde Río Grande Do Sur, Chaco Boliviano, y Paraguay, Sud Este de Uruguay y Argentina; y en la totalidad de aguas estancadas.

Familia: Fitzroyiidae sinonimia Jenynsiidae

Esta familia es monogénica.

Género: Fitzroyia, Günther

Dientes de la serie externa comprimidos, ligeramente curvados, incisivos tricúspides; detrás de éstos, otra serie de dientes más pequeños numerosos y tricúspides.

El intestino es recto y su longitud equivale más o menos al largo del pez. La aleta anal de los machos presenta sus radios envueltos por una vaina movable, formando un tubo.

El cuerpo es ligeramente comprimido; el hocico es corto y su hendidura bucal horizontal; la mandíbula inferior no se extiende más allá de la superior.

Especie: Fitzroyia lineata(Jen.) Berg.

Tiene dientes tricúspides, achatados, en varias hileras,

Las escamas contadas en una línea longitudinal suman de 30 á 33; y contadas en línea transversal, son 8; en la línea media dorsal, desde la cabeza a la inserción de la aleta dorsal suman 12 á 13.

La cabeza es fuertemente escamosa.

La mandíbula inferior es saliente, obtusa, y el hocico protáctil.

Habita en charcos, lagunas y canales que desembocan en los ríos. Es un gran devorador de larvas de insectos.

Se encuentra desde Río Grande de Sur hasta Bahía Blanca por un lado y hasta Salta por otro, tanto en aguas salobres, como dulces.

GENERALIDADES SOBRE LA COLOMACION DE LOS PECES.

El color que caracteriza a los peces, se debe a la existencia de células llamadas inistintamente, cromatocitos o cromatóforos. Estos son portadoras en su citoplasma de substancias pigmentarias, cuya composición química está prácticamente estudiada.

En algunos casos, el color presenta variaciones producidas por la luz al incidir sobre corpúsculos minerales incluidos dentro de las mismas células; así se producen el brillo metálico, las irisaciones que destacan por su belleza a muchos peces.

Pero esta gama de colores llamados "colores físicos" es ajena a los colores reales, dados por las células pigmentarias.

Estas tienen su origen en la parte profunda del dermis; pero como son móviles su localización puede variar. Esta movilidad había sido observada por Emil Ballowitz en 1893 en diferentes especies de peces estudiados por él.

Los cromatóforos presentan diferente coloración y por eso se las designa con nombres particulares.

Los xantóforos: son células de forma biconvexa, poco ramificadas; en el citoplasma se hallan gránulos de pigmentos amarillos, vo luminosos.

Los guanóforos o leucóforos: son células conjuntivas ramificadas, pueden presentar expansiones largas y delgadas; en el citoplasma se encuentran cristales de guamina, cuyo origen es el producto de

la desintegración de los ácidos nucleicos al nivel de los tejidos; estos son los que dan a los peces el tono claro argentado.

Melanóforos: son células conjuntivas, que emergen de la dermis, a la superficie; el cuerpo es más o menos poligonal; pueden presentar expansiones muy largas, y en su citoplasma se encuentra melanina, pigmento oscuro de origen proteico, capaz de dispersarse o contraerse según la influencia de estímulos externos o internos, cualidad ésta que ayudó a nuestros experimentos.

Se podría enumerar muchos otros pigmentos, cada uno de los cuales puede ser un serio tema de estudio. Así lo demuestran las investigaciones últimas de los endocrinólogos japoneses, alemanes, y norteamericanos quienes llevaron sus minuciosos estudios experimentales al campo ictiológico, partiendo de la base de las diferentes variaciones de coloración acontecidas en los peces.

Aquí nos limitaremos al estudio de los melanocitos, adoptando este término porque es el usado por León Binet en sus trabajos.

Los melanocitos se originan en la parte inferior del estrato de Malpighi, donde el pigmento melánico se sitúa en forma de granos; se hallan ubicados sin preferencia en las células epidérmicas y dérmicas.

Se los considera en estrecha vinculación con el sistema nervioso y E. Bollowitz en el siglo pasado observó su inervación.

Mas tarde investigadores de variadas escuelas, tales como: von Fritsch 1910, Wyman 1926; Smith 1931; Chang y Li 1939; Parker 1941; llegaron a realizar trabajos sobre la considerable importancia fisio-

lógica que tienen los nervios periféricos sobre los melanocitos de los peces, para provocar en ellos cambios de color.

Por el método de impregnación de Ehrlich se han llegado a observar relaciones de contigüidad entre las fibras nerviosas amielóticas de los plexos dérmicos y los melanocitos.

Estos cambios de color en los vertebrados inferiores habían sido motivo de estudio para los naturalistas de la antigüedad; ya Plinio y Aristóteles se habían interesado por ello, como también fisiólogos del siglo pasado.

Los modernos estudios endócrinos, con su vehiculización por medio de agentes humorales, que poseen acción específica a distancia, las llamadas hormonas, son los que llegaron a solucionar una infinidad de problemas que hasta entonces no había encontrado interpretación científica, tal como la acción de dichas hormonas sobre el sistema pigmentario.

Los trabajos experimentales de B. Houssay - Ungar 1922-24; Kropp 1926; Karasek 1933; Huxley y Hogben en vertebrados inferiores, permitieron observar el empalidecimiento que se produce practicando la hipofisectomía. Esta operación fué realizada también en peces por Zondek en 1932, y por Matthews en 1933; quienes utilizaron para sus experiencias las especies, Fundulus heteroclitus.L; y Phoxinus laevis, Agassiz, (vulgarmente llamado éste último Vairon). En nuestro país se trabajó mucho en ese sentido con los batracios Bufo arenarum Hensel Leptodactylus ocellatus (L) Gir. en distinto estado de su metamorfosis; luego de practicada la operación, suministrándoles extractos de

hipófisis llegaban a devolverles su color normal.

Hogben y Winton en 1933, demostraron que no existe especificidad zoológica para el preparado del extracto hipofisiario, pues los melanocitos recobran su color primitivo utilizando indistintamente el extracto preparado con hipófisis de peces, anfibios, reptiles, aves o mamíferos.

Estos trabajos vinieron a comprobar la acción melánico-concentradora de los animales hipofisoprivos; como así también la acción melano - expansora que ejercen los extractos hipofisarios.

Los trabajos de Hogben establecen que los cambios de la coloración, es la resultante de las respuestas que dan las células pigmentarias (melanocitos) a la acción de numerosos estímulos. Hogben clasificó acertadamente su trabajo al titularlo "The pigmentary effector System".

Con estas experiencias según los cuales el aspecto hormonal llega a adquirir importancia en las variaciones del sistema pigmentario, el papel asignado al sistema nervioso debió sufrir modificaciones especialmente en los batracios. Pués en los peces, las modificaciones que experimenta el sistema pigmentario están regidas por la acción nerviosa y humoral conjuntamente.

Desde los trabajos realizados en el año 1928 por Mac Lean hasta los últimos resultados obtenidos por van Dyke 1940 se trabajó para obtener técnica que permitieran individualizar esta hormona-melanotrópa. La cual no solamente ha sido estudiada en los vertebrados inferiores, sino también en el hombre, en estados normal y patológico, con fines terapéuticos, y para diagnosticar embarazos.

Trataremos más adelante de demostrar la influencia que ejerce "una substancia activa" existente en la orina y en la sangre de mujer embarazada sobre los melanocitos de las escamas aisladas.←

INFLUENCIA DE LA LUZ Y DE LA OSCURIDAD

SOBRE LOS MELANOCITOS.

Nuestras experiencias se han llevado a cabo estudiando los: Fitzroyia lineata (Jen.) Berg. y Cnesterodon decemmaculatus (Jen.) Garman.

Sometidos a la acción continua de la obscuridad o de la luz, durante periodos que variaban entre uno y más de treinta días, tomando siempre y cada vez como testigos peces mantenidos en las condiciones comunes del laboratorio.

Estas experiencias se llevaron a cabo en distintas épocas del año, con diferente temperatura ambiente.

Se estudiaron primeramente los distintos factores capaces de modificar los melanocitos, en las especies elegidas para tal fin.

Fueron puestos los ejemplares vivos, normales, de cada especie, y con los melanocitos medianamente dispersos en recipientes enlozados, blancos, y en ambiente luminoso, sin ningún cuerpo extraño en su interior, cubriéndose la abertura del recipiente con gasa blanca.

En otros recipientes de vidrio, con fondo oscuro hecho con arena y carbón vegetal, en los que se añadieron plantas, fueron puestos otros ejemplares en igualdad de condiciones físicas, de ambas especies, en ambiente de escasa luminosidad.

Las observaciones macroscópicas de color y las microscópicas de los melanocitos se efectuaron simultáneamente.

Podemos apreciar en las distintas microfotos de la página N^o 81, el resultado de las pruebas seguidas durante más de quince días, y la variación en la distribución del pigmento en los melanocitos.

Esto ya había sido observado por Wyman en 1924; C. Veil en 1935. Esta última en un trabajo hecho con carpa, señaló la influencia que ejercían ciertos ambientes luminosos sobre los nervios pigmentomotores en la secreción interna, sobre los melanocitos.

Más tarde Hogben en 1936 al realizar trabajos similares con barracidos Xenopus laevis Daud. y también con elasmobranquio, Raja brachyura Günther; actualmente Raja brachyurong. Fowler, atribuyó los cambios de los melanocitos a sustancias humorales que actuaban conjuntamente en relación con los reflejos táctiles, luminosos, nerviosos, etc.

Se creó entonces una nomenclatura para designar los diferentes grados de dispersión del pigmento, y que responde a los siguientes tópicos:

- 1º. Totalmente concentrado.
- 2º. Escasamente disperso.
- 3º. Medianamente disperso.
- 4º. Ampliamente disperso.
- 5º. En retículos.

De acuerdo a nuestras observaciones hemos creído conveniente dividir en dos secciones esta nomenclatura; correspondiendo los tres primeros grados de ella a los melanocitos de los peces que vivieron

en recipientes blancos. Y los dos últimos grados a los melanocitos de los peces, alojados en los recipientes de fondo oscuro y ambiente de poca luz.

RESULTADOS OBTENIDOS

Las escamas de Fitzroyia lineata (Jen.) Berg. y Cnesterodon decemmaculatus (Jen.) Garman; presentaron variaciones en sus melanocitos bajo la acción de los estímulos luminosos, concentrándose en ambiente claro, y dilatándose en la obscuridad. Estas observaciones fueron atentamente seguidas por espacio de 15 días, mientras duró su permanencia en las condiciones antes descriptas y así pudimos observar macro y microscópicamente los cambios progresivos que se producían en sus melanocitos.

En los ejemplares observados en ambiente luminoso, como los melanocitos de Cnesterodon decemmaculatus (Jen.) Garman, son más pequeños, menos numerosos y menos expandidos que en los de Fitzroyia lineata (Jen.) Berg, se presentaron al décimo quinto día casi esféricos, persistiendo así en los días subsiguientes que duró la observación.

En cambio el proceso en los melanocitos de Fitzroyia lineata (Jen.) Berg. fué más lento, porque como sus melanocitos son más grandes y expandidos tardaron más en tomar la forma esférica y en desaparecer sus ramificaciones.

En las observaciones hechas en escamas de los peces colocados en recipientes con fondo obscuro, se vió que presentaban al duodécimo día la total expansión en los melanocitos; los cuales fueron adquiriendo paulatinamente expansiones delgadas y numerosas, hasta llegar a tomar forma estrellada.

Según los trabajos de Houssay - Ungar, 1924; Toth, 1932; J. Verne, 1933; y otros quienes observaron las variaciones que sufren los melanocitos de distintos animales de sangre fría, se llegó a la conclusión que, esos cambios no están regidos solamente por la influencia luminosa, sino también por la acción conjunta de estímulos nerviosos y humorales. Estos estímulos actúan sobre glándulas capaces de segregar o inhibir la formación de substancia activas, que en su carácter humoral ejercen acción sobre los melanocitos.

La hipófisis, en éste caso, sería el factor principal pues se llegó a comprobar que en su "pars intermedia" se origina una hormona melanotrópa capaz de ejercer su acción melano - dispersante sobre los pigmentos de melanina en la obscuridad, y contrariamente, es decir, melano -concentradora, cuando la influencia de un ambiente luminoso es prolongado, Jores 1935; Masselin 1939.

La hormona melanotropa hipofisiaria está considerada químicamente como un polipéptido de bajo peso molecular que influye sobre el pigmento melánico por la distinta variación de concentración existente en la sangre circulante, y cuyo ritmo de secreción está determinada por la hipófisis.

Se ha llegado a comprobar que la intensidad del color de los melanocitos está en relación directa con la concentración de hormona melanotropa existente en la sangre; de las cuales la melano dispersante se originaría en la hipófisis como ya se ha visto; y la melano - concentradora estaría regida por la suprarrenal con la discutida acción de la adrenalina como elemento concentrador del pigmento melánico, ya

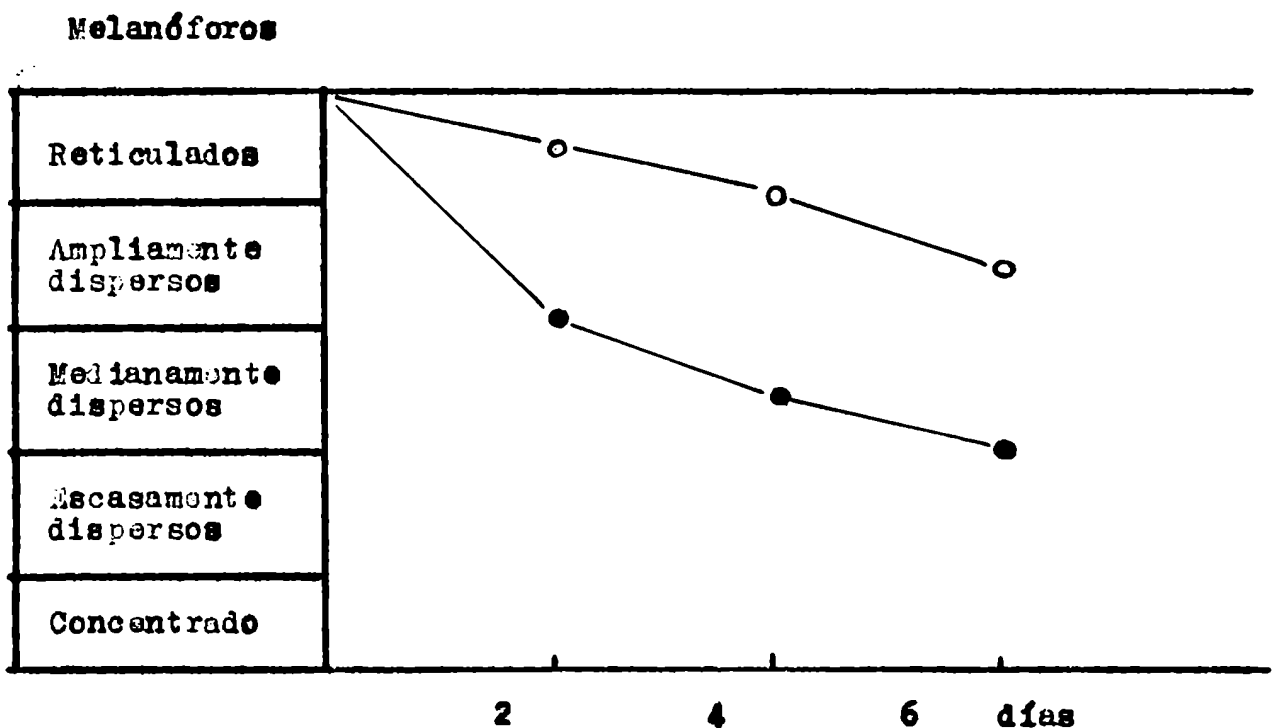
sea porqué:

1º). destruiría la acción melanotropa existente.

2º). o porqué inhibiría su formación en la hipófisis.

Los trabajos de Jores 1935, realizados con conejos, demostraron que inyectándoles adrenalina a estos animales, la hormona melanotropa existente en la sangre y en la hipófisis, disminuía.

Si sobre peces vivieron más de 30 días en la obscuridad y otros, que solamente tuvieron 12 días de permanencia en el mismo ambiente, hacemos actuar la acción luminosa, observamos, que el tiempo para obtener una mediana concentración de los melanocitos es mayor en aquellos que llevaban más tiempo en el medio oscuro.



— ◯ — Sacamas de Fitzingeria lineata (Jen.) Berg. con melanocitos reticulados después de 30 días en ambiente oscuro.

—•—Escamas de la misma especie, con melanocitos reticulados
pero con solo 12 días de permanencia en igual ambiente.→

COMENTARIO

El tiempo que tardan los melanocitos en concentrarse, está en razón directa con el tiempo que permanecieron en ambiente obscuro.

Esto concuerda con los resultados obtenidos por A. Jores; Stutinsky F. en Phoxinus laevis Agassiz; Masselin J. V. en el Bufo arenarum Hensel, según los cuales una permanencia prolongada en la obscuridad, determina, un aumento de la actividad melanotropa de la hipófisis.

SINOPSIS DE LAS OBSERVACIONES

1º). La obscuridad produce la dispersión, y la claridad la concentración del pigmento de melanina en los melanocitos de Fitzroyia lineata (Jen.) Berg. y Cnesterodon decemmaculatus (Jen.) Garman.

2º). Los estímulos luminosos prolongados, disminuyeron el poder melanico dispersante de Cnesterodon decemmaculatus (Jen.) Garman.

3º). La hipófisis es el factor causal del obscurecimiento de Fitzroyia lineata (Jen.) Berg. y Cnesterodon decemmaculatus (Jen.) Garman., y la suprarrenal, del aclaramiento por la acción de la luz (según experiencias anteriores).

CONCLUSIONES

a) Las distintas variaciones observadas, en el color de los peces, son respuestas de los melanocitos a la acción de estímulos.

b) Los estímulos luminosos ejercen un papel importante.

La permanencia prolongada en la obscuridad, provoca en la hipófisis un aumento de actividad melanotropa.

e) La variación de la melanina estaría regida, por las modificaciones en el ritmo de secreción hipofisiaria, determinadas por factores nerviosos y humerales.→

HORMONA MELANOTROPA EN LA ORINA DE LA MUJER GRAVIDA.

Es un hecho demostrado que la hipófisis aumenta de peso y de volumen durante la gravidez. Se le asignó una función considerable durante este estado; su actividad resulta mayor y su papel funcional es distinto si se le aprecia comparativamente en la mujer fuera de la gestación.

Histológicamente las células hipofisiarias se ven aumentadas durante este período y toman por eso el nombre de células de la gravidez.

Dichas células, además de la anomalía de su tamaño, producen durante la gravidez secreciones específicas que encontrando camino a través de los intersticios de los tejidos, son finalmente descargadas por entre las células endimiarias, en la cavidad del tercer ventrículo (1).

Gracias a estos pacientes estudios y observaciones, que tienen por aliados a la biología y a la química, en su más íntima relación con la dependencia funcional del organismo; se llegó a demostrar la existencia de ciertos elementos con funciones específicas que caracterizan la sangre y la orina de la mujer grávida.

Los investigadores, intensificando sus estudios llegaron a contestar muchos interrogantes planteados; porque como la orina está formada por materiales eliminados de la circulación interna como término

(1) Herring, P.T.- Quarterly Jon. of Experimental Physiology, 1908, I, 261; 1913, VI, 73.

final del metabolismo fisiológico, es en cierto modo, un elemento que refleja el estado del organismo y especialmente de la composición sanguínea.

Por este camino se llegó a solucionar uno de los problemas más rebatidos desde tiempos remotos. En efecto: el investigador Aschheim (1) nos habla de un papiro encontrado en Egipto al cual le atribuyeron los historiadores de 3 á 4 mil años de antigüedad, y en el cual refiriéndose al embarazo dice: "Cuando una mujer está o cree estar embarazada, debe plantar trigo o cebada en un recipiente, y regarlo diariamente con su orina. Si las semillas sembradas germinan, tendrá un hijo; en caso contrario significa que no está embarazada".

Desde aquél entonces hasta nuestros días, muchas fueron las técnicas por medio de las cuales trataron de constatar la existencia de ciertos principios activos existentes en la orina, que revelen el estado de gravidez.

El describirlas aquí tendría valor ilustrativo pero nos alejaría del marco asignado a éste modesto trabajo.

Solamente mencionaremos los trabajos de Aschheim, quien en colaboración con Zondek llegaron a encontrar dentro de la orina de mujer grávida una substancia activa análoga a la hormona hipofisiaria del lóbulo anterior, la que, segregada en cantidades excesivas durante éste especial estado, pasaría a la sangre y a la orina. Este principio activo llamado en razón de su origen "gravidina" fué utilizado

(1) Aschheim S.- Schwangerschaftsdiagnose aus dem Harn durch Nachweis des Hypophysenvorder lappenhorm. "Klin-Wschr", 1928-31, pág. 1453.

para diagnosticar embarazo.

En 1927 estos dos investigadores llevaron a la clínica los resultados de sus largos trabajos. Inyectaron orina rica en "gravidina" en ovarios de ratas impúberes y obtuvieron resultados satisfactorios.

Múltiples técnicas, trataron de perfeccionar estas experiencias, pero fueron todas ventajosamente reemplazadas por el método endovenoso utilizado por Friedman quien inyectó en conejos la orina de mujer embarazada, provocando en estos animales la formación de puntos hemorrágicos foliculares visibles macroscópicamente. Como vemos, el principio fué descubierto por Aschheim y Zondek, trabajando con ratas, y extendido a conejos, por Friedman.

Inspirados en éstos estudios y en las experiencias previas de L. Binet, nosotros realizamos este trabajo con el objeto de investigar el reactivo biológico de la orina de la mujer grávida sobre escamas de las especies, Fitzrovia lineata (Jen.) Berg. y Cnesterodon decemmaculatus (Jen.) Garman; a las que estudiamos previamente poniendo en evidencia, la acción de la hormona melanotropa en los melanocitos.

La técnica que hemos seguido fué dada por Jores Velde, pero luego, hemos debido realizar algunas modificaciones.

MARCA SEGUIDA PARA OBTENER EL EXTRACTO DE ORINA:

A 150 cc de orina reciente, de la mañana, se agrega igual cantidad de acetona.

Se deja en reposo por espacio de 24 horas.

Centrifugación.

El precipitado es lavado con partes iguales de acetona y agua destilada.

Se centrifuga nuevamente.

Se disuelve el residuo en alcohol a 70%.

Filtración y evaporación al vacío.

El residuo apenas perceptible en el cristizador se mezcla con 0,5 cc. de suero fisiológico.

METODO SIGUIENDO

Los peces hembras, colocados durante varios días anteriores a la reacción en los recipientes de fondo blanco anteriormente descritos se toman de la aleta caudal procurando dejar sumerigida en el agua, más de la mitad de su cuerpo y se extraen escamas de la parte anterior de la línea longitudinal.

Las escamas colocadas sobre un porta se llevan al microscopio para observar el tamaño normal de sus melanocitos.

Con una pipeta fina se deja caer una gota de extracto de orina preparado según la marcha anteriormente descripta.

Como se puede observar en las microfotos, pág. N^o 82, 83 y 84, los melanocitos a los 15 minutos llegan a su máxima dispersión. Pudimos observar cómo paulatinamente aumentaban las bifurcaciones ramosas hasta llenar totalmente el campo.

Hacemos constar que no todos los melanocitos reaccionan por igual. Observamos que:

- 12). No todos los melanocitos de una misma escama reaccionan.
- 22). En los melanocitos de las escamas extraídas a las hembras grávidas, observamos mayor expansión que en las otras no grávidas.
- 32). Ensayando con escamas de peces muertos, los melanocitos no sirvieron, pues estaban expandidos con gruesas ramificaciones.

Por ésta razón en las observaciones subsiguientes nos limitamos a utilizar los melanocitos de hembras grávidas, ya que eran los que mejor respondían a la acción melano-dispersante del tratamiento tanto en Fitzroyia lineata (Jen.) Berg., como en Cnosterodon decemmaculatus (Jen.) Garman.

Todas las marchas seguidas (que a continuación de la pág. N^o 42, indico) fueron realizadas con orinas de mujeres cuyo embarazo normal fué comprobado previamente por la reacción de Friedman en los primeros días; o por examen ginecológico en otros casos.

De todas ellas se deduce que a partir del séptimo mes la actividad melanotrópica de la orina, disminuye notablemente, si bien en algunos melanocitos se nota todavía el aumento de sus prolongaciones.

Esto nos acerca a las manifestaciones de Zondek que dice: "La cantidad de hormonas hipofisiarias es grande durante los primeros meses de embarazo, disminuyendo en los últimos".

Cosa que nosotros comprobamos con estos trabajos realizados con Mitzroyia lineata (Jen.) Berg y Cnesterodon decorniculatus (Jen.) Garman.

Utilizando orina de mujer con menos de 45 días de embarazo, la reacción es sumamente insegura; así, orinas que la reacción Friedman acusaba como positiva, no alcanzaban a producir aumento en los melanocitos.

Parte de nuestras experiencias fueron realizadas con extractos que habían sido preparados dos meses antes y conservados en tubos cerrados con tapón de parafina; los melanocitos reaccionaban con ellos en la misma forma que lo hacían con orinas preparadas en el momento.

No deja de ser interesante este aspecto del trabajo según el cuál llegamos a comprobar la actividad del extracto de orina después de un tiempo de conservado, detalle este que no está destacado en el trabajo original.

Seguramente experiencias posteriores, conseguirán ver reaccionar los melanocitos, con orinas anteriores a los 45 días de embarazo; y acercarse así cada vez más a la realidad que ya previera L. Binet, cuando afirmó que "es posible extraer, de la orina de la mujer encinta, un principio que provoca, "in vitro", la dilatación de los melanocitos de las escamas de peces; que pueden ser la base de un nuevo método práctico y no costoso, de diagnóstico biológico del embarazo.

CONCLUSIONES

a). Los melanocitos de una misma escama reaccionan ante el preparado en forma distinta.

b). En los melanocitos de Cnestarodon decemmaculatus (Jen.) Garman, muy pocas son las ramificaciones que cambian de forma al ser tratados con extracto de orina.

c). Los melanocitos de las escamas de Fitzroyia lineata (Jen.) Berg. reaccionan lentamente pero en forma más positiva y eficaz, que los de la especie anteriormente citada.

d). Las escamas de Fitzroyia lineata(Jen.) Berg. son preferibles a las de Cnestarodon decemmaculatus (Jen.) Garman para llevar a cabo este test biológico.-

TRABAJOS REALIZADOS CON SUERO SANGUÍNEO DE MUJER GRÁVIDA.

La existencia de una substancia activa en el suero sanguíneo de la mujer embarazada fué demostrado por Aschheim - Zondek y también por Fluhman.

Nosotros pretendemos comprobar si dicha substancia actúa sobre los melanocitos y produce la dispersión de la melanina, tal como lo había hecho el preparado de orina, en los experimentos anteriormente descriptos.

Realizamos el trabajo con suero sanguíneo, simultáneamente con los de orina; cuyas modestas observaciones me limite anotar en las págs (42-43) y siguientes.

Aislamos dicha substancia siguiendo una marcha, cuyo paso inicial es desproteínizar el suero sanguíneo. Luego seguimos la técnica similar a la del extracto de orina.

Las reacciones que experimentaron los melanocitos bajo la acción de éste preparado fueron satisfactorias. Si consideramos este trabajo desde el punto de vista de las experiencias de Aschheim Zondek quienes demostraron la existencia de un principio activo en el suero sanguíneo de mujer grávida, podemos afirmar entonces que la marcha seguida por nosotros dejó efectivamente en libertad esa hormona melanotropa que ellos descubrieran.

En efecto pudimos comprobar que dicha substancia activa en presencia de los melanocitos de las escamas aisladas, concentra primero y dispersa después el pigmento de melanina.

Pudimos observar comparativamente su acción sobre los melanocitos de Fitzroyia lineata (Jen.) Berg y Cnesterodon decemmaculatus (Jen.) Garman.

Vimos que sobre los primeros actúa más rápidamente que sobre los de Cnesterodon decemmaculatus (Jen.) Garman.

Cuando realizamos el ensayo con suero de embarazos que llegaban a término, comprobamos que la reacción era negativa. Igualmente negativo fué el resultado obtenido con la marcha seguida con suero de niño.

No conseguimos conservar los preparados de suero, como habíamos conseguido hacerlo con los extractos de orina.

En efecto: ocho días después de preparados, sueros que habían actuado en forma positiva, no acusaban ya ninguna acción sobre la melamina.

El preparado responde de un modo más lento con el suero, que con el extracto de orina; porque si bien al ser tratadas las escamas con suero la contracción de los melanocitos se produce antes de transcurridos los 20 minutos, en cambio la dispersión de los mismos fué comprobada media hora después.

Hacemos notar que en el curso de éste modesto trabajo, nos hemos limitado solamente a anotar las reacciones observadas en el laboratorio dejando su interpretación y aplicación a personas autorizadas para ello.

La esperanza, de que pueda ser éste una ínfima colaboración en la búsqueda de un test biológico para facilitar el diagnóstico de embarazo, utilizando peces nuestros de especies comunes, nos alentó en este sencillo trabajo de investigación.

CONCLUSIONES GENERALES

- 1º). El sistema pigmentario de los peces está sometido a la acción de estímulos luminosos.
- 2º). Los factores endócrinos y nerviosos son fundamentales en la variaciones cromáticas.
- 3º). Las variaciones de la melanina estaría regida por las modificaciones en el ritmo de secreción hipofisiaria y determinadas por factores nerviosos y humorales.
- 4º). Los melanocitos de las escamas extraídas de las hembras grávidas, responden eficazmente al tratamiento.
- 5º). Los melanocitos de una misma escama reaccionan ante el preparado en forma distinta.
- 6º). Los melanocitos de las escamas de Fitzroyia lineata (Jen.) Berg son preferibles a las de Cnesterodon decemmaculatus (Jen.) Garman. para llevar a cabo este test biológico.
- 7º). Las reacciones con preparados de menos de 45 días fueron inseguras; hasta los dos meses inclusive se obtuvieron un 57 % de casos positivos.-

EXPERIENCIAS REALIZADAS

Las distintas ~~marchas~~ que a continuación ~~indico~~ fueron realizadas algunas con enfermas que se asistieron en los consultorios externos de dicha Institución, y otras, con enfermas de consultorios particulares (1).

Algunas reacciones fueron iniciadas desde los primeros días de diagnosticarse el embarazo hasta casi el final de gestación, hecho que no pudo seguirse con todas las enfermas, pues algunas abandonaron el tratamiento.

Las reacciones con orina y suero de enfermas grávidas que acusaban una gestación de menos de 45 días, se las determinó como negativas; si bien en algunos casos dentro de éste término se llegaron a observar elongaciones en las ramificaciones de los melanocitos focales.

Después de ésta fecha resultaron todas francamente positivas; pero en las realizadas a partir del 6º mes y días las reacciones vuelven a ser positivas débil, para reducirse pronto a negativas.

De nuestras observaciones deducimos que: la cantidad de hormonas hipofisiarias es grande durante los primeros meses de embarazo, pero disminuye considerablemente a partir del sexto mes y medio; época en que la reacción es menos segura, pero es naturalmente sabido que en ese entonces hay otros signos clínicos de la preñez.

(1) Mi agradecimiento a los médicos ginecólogos de la Institución.-

Los ensayos resultaron siempre más eficientes con las marchas seguidas con extracto de orina.

R. G. C. : 3561

Nombre : N. P. de A.

Tratamiento seguido con la misma enferma

Amenorrea:	20 días.
Examen Ginecológico:	diagnóstico presuntivo de embarazo positivo.
Reacciones:	orina y suero.
Resultados:	negativo (2 ó 3 melanocitos focales reaccionaron).
<hr/>	
Diagnóstico:	embarazo de 1 mes.
Reacciones:	orina y suero.
Resultados:	negativo (2 ó 3 melanocitos focales reaccionaron).
<hr/>	
Tiempo:	45 días.
Reacciones:	orina y suero.
Resultados:	débilmente positivo (solamente algunos reaccionaron).
<hr/>	
Tiempo:	2 meses.
Reacciones:	orina y suero.
Resultados:	positivo.

R. G.C. igual registro general de consultorio.

Tiempo, igual tiempo de gestación.-

Tiempo: 2 meses, 15 días.

Reacciones: orina.

Resultado: positivo.

Tiempo: 3 meses.

Reacciones: orina y suero.

Resultados: positivo.

Tiempo: 3 meses, 12 días.

Reacciones: orina y suero.

Resultados: positivo.

Tiempo: 4 meses.

Reacciones: orina.

Resultados: positivo.

Tiempo: 4 meses, 20 días.

Reacciones: orina.

Resultados: positivo.

Tiempo: 5 meses.

Reacciones: orina y suero.

Resultados: positivo.

Tiempo: 5 meses, 15 días.

Reacciones: orina y suero.

Resultados: positivo.

Tiempo: 6 meses,

Reacciones: orina.

Resultados: positivo.

Tiempo: 6 meses, 15 días.

Reacciones: orina y suero.

Resultados: positivo.

Tiempo: 7 meses,

Reacciones: orina y suero.

Resultados: positivo débil.

Tiempo: 7 meses, 20 días.

Reacciones: orina y suero.

Resultados: negativo.

R. G. C. : 3552

Nombre : N. A. de G.

Tratamiento seguido con la misma enferma.

Amenorrea:	10 días.
Examen Ginecológico:	diagnóstico presuntivo de embarazo positivo.
Reacción de Friedman:	positivo.
Reacciones:	orina y suero.
Resultados:	negativo.

Diagnóstico:	embarazo de 1 mes.
Reacción:	orina.
Resultados:	negativo.

Tiempo:	1 mes, 15 días.
Reacciones:	orina y suero.
Resultados:	negativo (pocos melanocitos focales actuaron).

Tiempo:	2 meses.
Reacción:	orina.
Resultados:	positivo.

Tiempo:	2 meses, 15 días.
Reacciones:	orina y suero.
Resultados:	positivo.

Tiempo: 3 meses, 15 días.

Reacción: orina.

Resultado: positivo.

Tiempo: 3 meses, 15 días.

Reacción: orina.

Resultado: positivo.

Tiempo: 4 meses, 10 días.

Reacción: orina.

Resultado: positivo.

Tiempo: 5 meses.

Reacción: orina.

Resultado: positivo.

Tiempo: 5 meses, 20 días.

Reacciones: orina y suero.

Resultados: positivo.

Tiempo: 6 meses, 10 días.

Reacción: orina.

Resultados: positivo.

Tiempo: 6 meses, 25 días.

Reacciones: orina.

Resultado: positivo.

Tiempo: 7 meses, 10 días.

Reacción: suero.

Resultado: negativo.

Tiempo: 8 meses.

Reacción: orina.

Resultado: negativo.

Tiempo: 9 meses.

Reacción: orina.

Resultado: negativo.

R. G. C. : 3431

FOFBA

Nombre : M. A. de T.

Amenorrea:	15 días.
Examen Ginecológico:	diagnóstico presuntivo de embarazo positivo
Reacción de Friedman:	positiva.
Reacciones:	orina y suero.
Resultados:	negativo.
<hr/>	
Diagnóstico:	embarazo de 1 mes y días.
Reacción:	orina.
Resultados:	negativo (pocos melanocitos focales reaccionario).
<hr/>	
Tiempo:	1 mes, 15 días.
Reacción:	orina.
Resultados:	positivo débil.
<hr/>	
Tiempo:	2 meses.
Reacción:	orina y suero.
Resultado:	positivo.
<hr/>	
Tiempo:	3 meses, 10 días.
Reacción:	orina.
Resultado:	positivo.
<hr/>	

Tiempo: 4 meses.

Reacción: orina.

Resultado: positivo.

Tiempo: 4 meses, 15 días.

Reacción: orina.

Resultado: positivo.

Tiempo: 5 meses, 15 días.

Reacción: orina.

Resultado: positivo.

Tiempo: 5 meses, 27 días.

Reacción: orina.

Resultado: positivo.

Tiempo: 6 meses, 15 días.

Reacción: orina y suero.

Resultado: positivo débil.

Tiempo: 7 meses y días.

Reacción: orina.

Resultado: negativo.

Clases:

8 horas.

Reacción:

primo.

Resultados:

negativo.

R. G. C. : 3548

Nombre : J. de K.

Diagnóstico: embarazo de 20 días.

Reacciones: orina y suero.

Resultados: negativo.

Tiempo: 1 mes, 15 días.

Reacción: orina.

Resultado: positivo débil.

Tiempo: 2 meses.

Reacción: orina.

Resultado: positivo.

Tiempo: 2 meses, 10 días.

Reacción: orina y suero.

Resultados: positivo.

Tiempo: 5 meses.

Reacción: orina.

Resultado: positivo.

R. G. C. : 3574

Nombre : A. G. de W.

Diagnóstico: embarazo de 2 meses.

Reacciones: orina y suero.

Resultados: positivo.

Tiempo: 3 meses.

Reacción: orina.

Resultado: positivo.

Tiempo: 6 meses.

Reacción: orina y suero.

Resultados: positivo.

R. G. C. : 3303

Nombre : R. P. de F.

Diagnóstico : 2 meses.

Reacciones : orina y suero.

Resultados : positivo.

Tiempo : 3 meses.

Reacción : orina.

Resultados : positivo.

Tiempo : 3 meses.

Reacción : orina y suero.

Resultados : positivo.

R. G. C. : 3568

Nombre : M. A. de G.

Diagnóstico: 1 mes de embarazo.

Reacciones: suero y orina.

Resultados: negativo.

Tiempo: 1 mes y días.

Reacciones: orina y suero.

Resultados: positivo débil.

Tiempo: 2 meses.

Reacción: orina.

Resultado: negativo.

R. G. C. : 3439

Nombre : E. G. de A.

Diagnóstico: 1 mes de embarazo.

Reacciones: orina y suero.

Resultados: negativo.

Tiempo: 1 mes y días.

Reacción: orina.

Resultado: negativo (2 melanocitos focales reaccionaron).

Tiempo: 1 mes y 15 días.

Reacción: orina.

Resultados: positivo débil.

R. G. C. : 3438

Nombre : O. F. de P.

Diagnóstico: 1 mes.

Reacciones: orina y suero.

Resultados: negativo.

Tiempo: 1 mes y más de 15 días.

Reacción: orina.

Resultado: negativo.

Tiempo: 2 meses, 10 días.

Reacción: orina.

Resultado: positivo.

R. G. C. : 3558

Nombre : A. P. de P.

Diagnóstico: embarazo de 1 mes y 15 días.

Reacciones: orina y suero.

Resultados: negativo (pocos melanocitos focales reaccionaron).

Tiempo: 2 meses y días.

Reacción: orina.

Resultado: + = positivo.

R. G. C. : 3074

Nombre : M. P. de P.

Diagnóstico: 32 días de embarazo.

Reacciones: Suero y orina.

Resultados: negativo (algunos focales reaccionaron)

Tiempo: 1 mes, 15 días.

Reacción: orina.

Resultado: positivo débil.

Tiempo: 2 meses.

Reacción: orina.

Resultado: positivo.

R. G. C. : 3575

Nombre : T. C. de C.

Diagnóstico: 22 días de embarazo.

Reacciones: suero y orina.

Resultados: negativo.

Tiempo: 1 mes, 15 días.

Reacciones: orina.

Resultado: negativo (4 melanocitos focales reaccionaron).

Tiempo: 2 meses y días.

Reacciones: orina.

Resultado: positivo.

R. G. C. : 3573

Nombre : V. L. de S.

Diagnóstico: 21 días de embarazo.

Reacciones: orina y suero.

Resultados: negativo.

Tiempo: 40 días.

Reacción: orina.

Resultados: positivo débil.

Tiempo: 2 meses.

Reacción: orina.

Resultados: positivo.

R. G. C. : 3577

Nombre : D. G. de M.

Diagnóstico: 2 meses de embarazo.

Reacciones: suero y orina.

Resultados: positivo.

Tiempo: 3 meses.

Reacción: orina.

Resultado: positivo.

R. G. C. : 3571

Nombre : A. L. de V.

Diagnóstico: 1 mes y días de embarazo.

Reacciones: orina y suero.

Resultados: negativo (algunos melanocitos se expandieron).

Tiempo: 2 meses.

Reacción: orina.

Resultado: positivo.

Tiempo: 2 meses y días.

Reacción: orina.

Resultado: positivo.

R. G. C. : 3458

Nombre : R. S. de L.

Diagnóstico: 25 días de embarazo.

Reacciones: orina y suero.

Resultados: negativo.

Tiempo: 40 días.

Reacción: orina.

Resultado: positivo débil.

Tiempo: final del segundo mes.

Reacción: orina.

Resultado: positivo.

R. G. C. : 3563

Nombre : A. H. de G.

Diagnóstico: 28 días de embarazo.

Reacciones: orina y suero.

Resultados: negativo.

Tiempo: 43 días.

Reacción: orina.

Resultado: positivo débil.

Tiempo: 2 meses y días.

Reacción: orina.

Resultado: positivo.

R. G. C. : 3569

Nombre : C. E. de R.

Diagnóstico: 30 días de embarazo.

Reacciones: orina y suero.

Resultados: negativo (algunas prolongaciones se
observaron).

Tiempo: 45 días.

Reacción: orina.

Resultado: positivo.

Tiempo: final del segundo mes.

Reacción: orina.

Resultado: positivo.

R. G. C. : 3572

Nombre : V. L. de E.

Diagnóstico: 15 días de embarazo.

Reacciones: suero y orina.

Resultados: negativo.

Tiempo: 1 mes y días.

Reacción: orina.

Resultado: negativo.

Tiempo: 1 mes, 15 días.

Reacción: orina.

Resultado: positivo débil.

Tiempo: 2 meses.

Reacciones: orina y suero.

Resultados: positivo.

R. G. C. : 2605

Nombre : M. L. de A.

Diagnóstico: 30 días de embarazo.

Reacciones: orina y suero.

Resultados: negativo.

Tiempo: 1 mes, 10 días.

Reacción: orina.

Resultado: positivo débil.

Tiempo: 2 meses, 15 días.

Reacción: orina.

Resultado: positivo.

R. G. C. : 2474

Nombre : R. G. de S.

Diagnóstico: 30 días de embarazo.

Reacciones: orina y suero.

Resultado: negativo.

Tiempo: 1 mes y 15 días.

Reacción: orina.

Resultado: positivo débil.

Tiempo: 2 meses, 15 días.

Reacciones: orina y suero.

Resultados: positivo.

Lorenzo Fiorini M.

*Examinado el 12 de Diciembre
por el Dr. Fiorini, portador*

BIBLIOGRAFIA

- ADAMS A. E. The effects produced in nature triton cristaters by anuran pituitary inoculations. "Anat. Rec" 1931, 48, 38.
- AGLIALORO M., CIULIA U.-Effetti dell'ormone melanoforo e del Erolam sulla pigmentazione e sull'acrescimento dei girini. "Bull. Soc. Ital. Biol. Sper". 1935, 10, 538.
- AGLIALORO M., CIULIA U.-Sulla titolazione dell'ormone melanoforo. "Bol. Soc. Ital. Biol. Sper." 1935, 10, 537.
- ALLEN B. M. Source of the pigmentary hormone of amphibian hypophysis. "Proc. Soc. Exp., Biol.", 1930, 27, 504.
- ARON MAX M. Le tritage des hormones prehypophysaires dans l'urine humaine; son interet dans l'exploration fonctionnelle des diversess glandes andóorines. "Bull. L'Acad. de Med."
- BALLOWITZ E. Ueber die Bewgungs. erscheinungen der Pigmentzellen. "Biol. Centr." 1893 - 13.
- BAYER G. Hypophyse und Chromathophoren reaktion. "Endokrinologie" 1930, 6, 249.
- BINET, L., CARDOT H., ARNAUDT A., et BONNET V. Reanimation par la cafeine du centre respiratoire inhibé par le chlo^{ro}forme "C. R. Soc. Biol." 1931, 107, 470.
- BINET L. Biologie Marine et Médecine. "Biologiemedicale", 1933, 23, N° 8.
- BINET LEON Le poisson test biologique. Acad. de Med. Bs.As. 1934.
- BOURG R. Techniques de la Reaction Biologique de la Grossesse. "Rev. Franc. d'Endocrin", 1933, 2.
- BINET LET, JEAN VARNE. Melanocytes de l'ecaille des poissons reactif in vitro pour le diagnostiq biologique de la gróssesse. "C.R. Soc Biol." 1934, 116, 1241.
- CARDOSO D. M. Relations entre l'hipophysis et organes sexuales chez les poissons. "C. R. Soc. Biol." 1934, 115, 1347.

- COLLIN R., DROUET P. L. Présens dans l'urine de certains melades d'un principe melanophore dilatateur. Son application comme test fonctionnement de l'hypophyse. "Rev. Franc. d'Endocrin." 1933, 28, 1939.
- COLLIN R., DROUET P. L. Action de certains extraits hypophysaires sur les melanophores de la grenouille. "C.R. Soc. Biol." 1935, 118, 1008.
- CHANG H. C., LU Y. M. The light pituitary reflex. "Chin. J. Physiol." 1939, 14, 249.
- DEL CASTILLO E. B. y MAGDALENA A. Hipófisis y tiroides. Poder excitotiroideo del suero sanguíneo", "Rev. Soc. Arg. Biol." 1931, 7, 458.
- DEVINCENZI, GARIBALDI. Ictiofauna del Río Uruguay Medio. An. Mus. Hist. Nat. de Montevideo, 1942, 4, 89.
- DONAGH Mac. J. E. Las escamas de *Cynoscion striatus* (Cuvier) J. E. (pescadilla y especialmente las regeneradas como indicio para el conocimiento de su biología, con notas sobre las: corvinas, lisas, dientudos y pejerrey). Rev. Mus. La Plata, 1930, XXXII, 3ª Serie.
- DONAGH Mac. E. Nuevos conceptos sobre la distribución geográfica de los peces argentinos. "Rev. Mus. La Plata, 1934, 34.
- FLORENTIN, P. Sur la vascularisation des noyaux végétatifs du diencéphale chez les Téléostes. C.R. 1936, 122, 1090.
- GARMAN S. The Cyprinodonts. "Mem. Mus. Comp. Zoolg." 1895, 19.
- GOLDBERG, I. Extractos anterohipofisario y proteínas del plasma. "Rev. Soc. Biol." 1932, 8, 610.
- GUNTHER ALBERT. Catalogue of the Fishes in the British Museum. 1866, 6, 307.
- HENN ARTHUR W. On Various South American Poeciliid Fishes. "Ann. Mus. Carnegie", 1916, 10, 142.
- HOGGEN L. R., WINTON F. R. Studies on the pituitary. The melanophore stimulant in posterior lobe extracts. "Bioch. J.", 1922, 16, 619.
- HOGGEN L. T., The pigmentary effector system. VII, The chromatic function in elasmobranch fishes. "Proc. Roy. Soc. Lond." 1936, 120, 138.

- HOUSSAY B. B. Action sexuelle de l'hypophyses sur le poissons et les reptiles. "C.R. Soc. Biol." 1930, 377.-
- HOUSSAY B.A., GALAN J.C., NEGRETTE J. Acción de los extractos hipofisarios sobre la diuresis en el perro y en el conejo. "Rev. Asoc. Med. Arg." 1920, 32.
- HOUSSAY B.A. El porque de las discrepancias al estudiar la acción de los extractos de hipófisis. "Rev. Asoc. Med. Arg." 1921, 34, 23.
- HOUSSAY B.A., MAZZOCO P. La orina y sangre de los perros hipofisoprivos. "Rev. Asoc. Med. Arg.", 1921, 34, 1165.
- HOUSSAY B.A. Hipófisis y función sexual. "Biol. Soc. Obstat Ginec. Bs. As.", 1930, 9, 271.
- HOUSSAY B.A. Les hormones du lobe antérieur de l'hypophyse. "Inst. Physiol. Congr 16^e Zurich." 1938, 1, 52.
- HOUSSAY B.A. Las funciones del lóbulo anterior de la hipófisis. "Act. Congr. Nac. Med., 5^a Rosario". 1934, 3, 199.
- HOUSSAY B.A. Glándulas endócrinas y timo. "Act. 2^a Congr. Panamer. Endocrin.", Montevideo, 1941, 1, 240.
- HOUSSAY B.A., BIASOTTI A. Funciones de la hipófisis. "An. Congr. Nac. Med. 6^a Córdoba". 1938, 1, 395.
- IHERING von R. Cyprinodontes Brasileiros Systemática e Informaçoes Biológicas. "Arch. Inst. Biol. Agr.", Brasil, 1931, 243.
- INNES WILLIAMS Exotic Aquarium Fishes. 1938. U.S.A.
- LAHILLE Los peces argentinos. "Rev. Fac. Agr. Vet.", 1923, 4, 161.
- MASSELIN J.V., Influencia de la luz y de la obscuridad sobre la acción melanóforo dilatadora de la hipófisis. "Rev. Soc. Arg. Biol.", 1939, 15, 28.
- MUSSIO FOURNIER J.C., MORATO M., FISCHER J. Contribución experimental y clínica al estudio de la hormona melanotropa de la hipófisis. "An. Fac. Med. Montevideo," 1936, 26, 1.
- MUZLERA J. M. Acción de la temperatura sobre la pigmentación de *Jenynsia lineata* (Jen.) Günther. "Rev. Soc. Arg. Biol.", 1934, 10, 6-7.
- OSBORN C. M. The experimental production of melanin pigment on the lower surface of summer Flounders (*Paralichthys Dentatus*). "Proc. Nat Acad. Sci.", 1940, 26, 3.

- PARKER G. H. Neurohumors as activating agents for fish melanophores. "Proc. Amer. Phil Soc.", 1934, 74 (3), 177.
- PARKER G. H. Color changes in Elasmobranch. "Proc. Nat. Acad. Sc." 1936, 22, 55.
- PARODI A. S. Hipofisis y sangre. "Act. Congr. Nac. Mec. 58 Rosario". 1934, 3, 240.
- PARKER G. H. Neurohumors as chromatophore activators. "Proc. Amer. Acad. Arts Sc.", 1940, 73, 165.
- PEREYRA J., et CARDOSO D.M. Hypophysis et evulation chez de Poisson. "C.R.Soc. Biol.", 1934, 116, 1133.
- PEREZ M. L. Hipófisis y gestación. "Sem. Med. Bs.As.", 1921-28 (1), 540.
- FUCCIONE L., SIROTICH D., Sulla specificata della reazione melanoforo ipofisiaria nella rana. "Rev. Ital. Ginec.", 1933, 14, 578.
- REGAN, C. T. A revision of the Cyprinodont Fishes of the sub-family Poecilunae. "Proc. Zool. Soc. Lon.", 1913, 977, 1018.
- REGAN, C. T. The Poecilund Fishes of the genus Jenynsia. "Ann. et Mag. Nat. Hist.", 1913, 11, 232-34.
- RICHET Ch. et PORTIER P. Sur les effets physiologiques du poisson des filaments pecheurs et des tentacules des Celenteres. C.R. 134, 247, 1902.
- SAMMARTINO R., ARENAS N. Acción del ovario, de la hipofisis y de los principios gonado-estimulante de la orina, sobre los organos genitales de la peira. "28 Congr. Panamer. de Endocr.", Montevideo, 1941.
- SAMMARTINO R., ARENAS N. Efectos de la orina de mujer embarazada. "Soc.Arg. Biol.", 16, 220, 1940.
- STOYE F. H. Tropical Fishes for the home. 1935. U.S.A.
- STOYE F. H. Tropical Fishes. 1935.
- SZEPS WAL, J. Transplante de los ojos en peces adultos; su influencia sobre los cromatóforos. "Rev. Soc. Arg. Biol. 1938, 14, 5.
- VEIL C. Sur le mécanisme du changement de couleur chez les poissons. "J. Physiol. Path. Gen." 1936, 34, 824.

VEIL G., et BEAUVALLET M. Inexcitabilité au courant électrique des cellules pigmentaires à nerfs dégénérés de la carpe, "C.R. 1935, 120.

VERNE J. Hypophyse et pigmentation; l'hormone mélanotrope. Les régulations hormonales, "J.Med. Paris" 1937, 118.



Escama de Cnesterodon decemmaculatus (Jen.) Garman A x 46



Escama de Fitzroyia lineata (Jen.) Berg.
A x 23 (con filtro amarillo).



Melanocitos de
Cnesterodon decemmaculatus (Jen.) Garman. A x 50



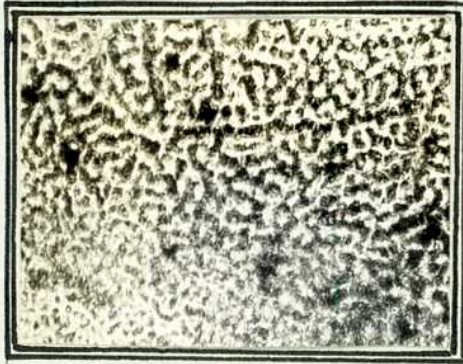
Melanocitos de
Fitzroyia lineata (Jen.) Berg. A x 96



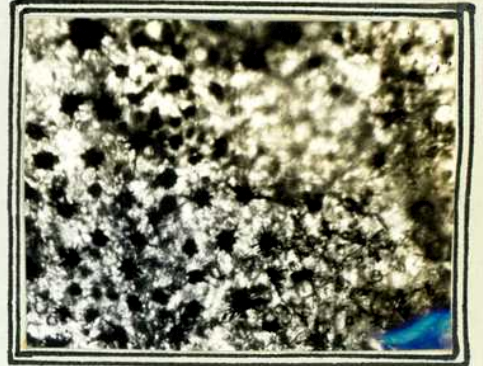
Melanocitos aislados de
Fitzroyia lineata (Jen.) Berg. A x 240

DISTINTOS GRADOS DE DISPERSION DEL PIGMENTO EN LOS MELANOFOROS DE:

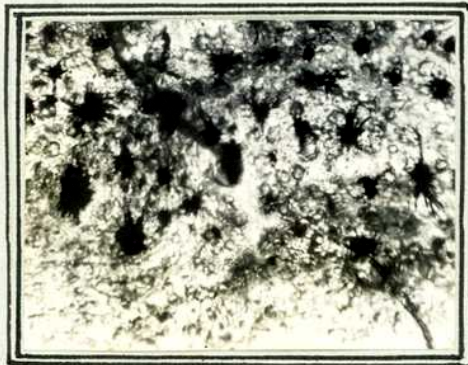
Fitzroyia lineata (Jenyns) Berg.



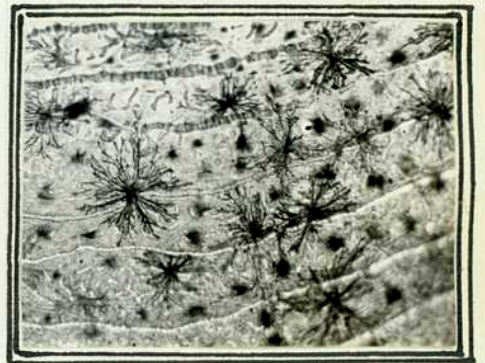
1) Melanocitos con pigmento concentrado.



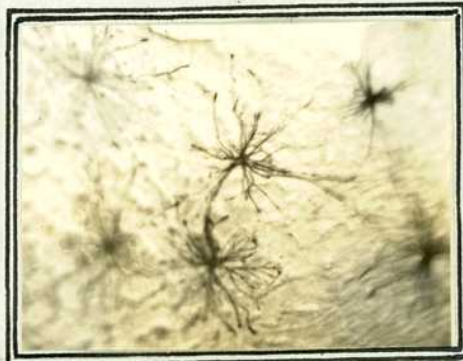
2) Melanocitos con pigmento escasamente disperso.



3) Melanocitos con pigmento medianamente disperso.



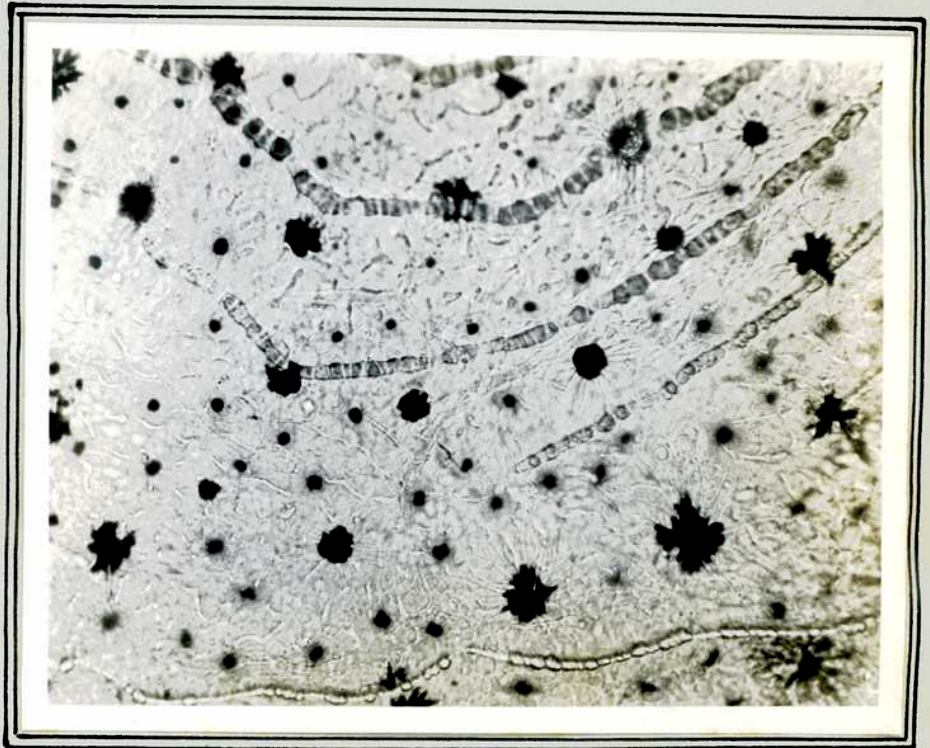
4) Melanocitos con pigmento ampliamente disperso.



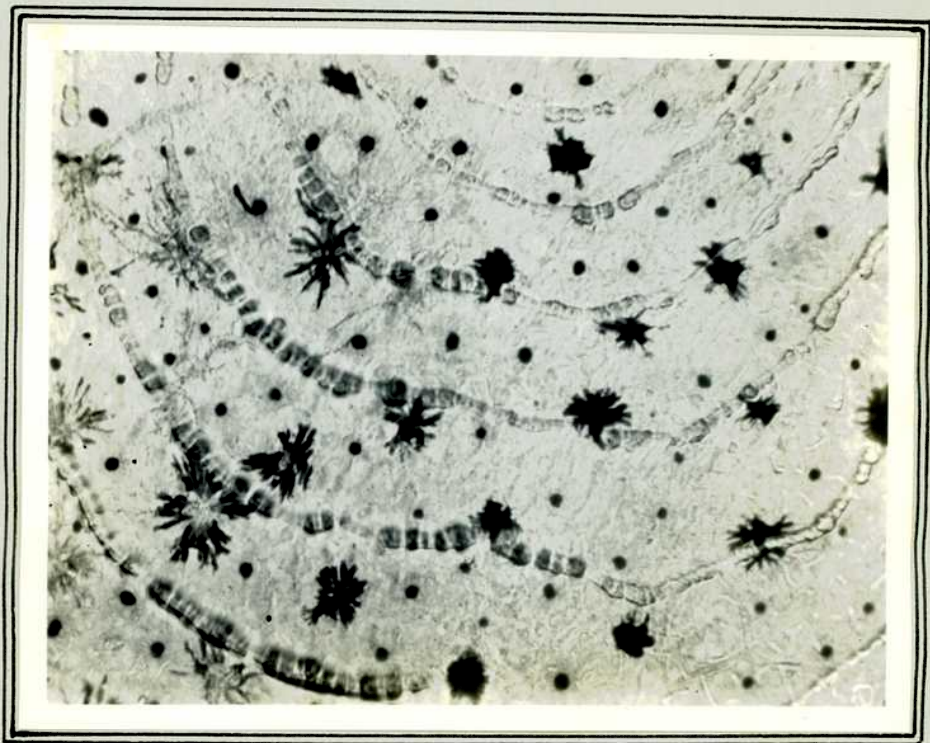
5) Melanocitos en retículos

ACCION DEL EXTRACTO DE ORINA SOBRE LOS MELANOCITOS CONCENTRADOS DE

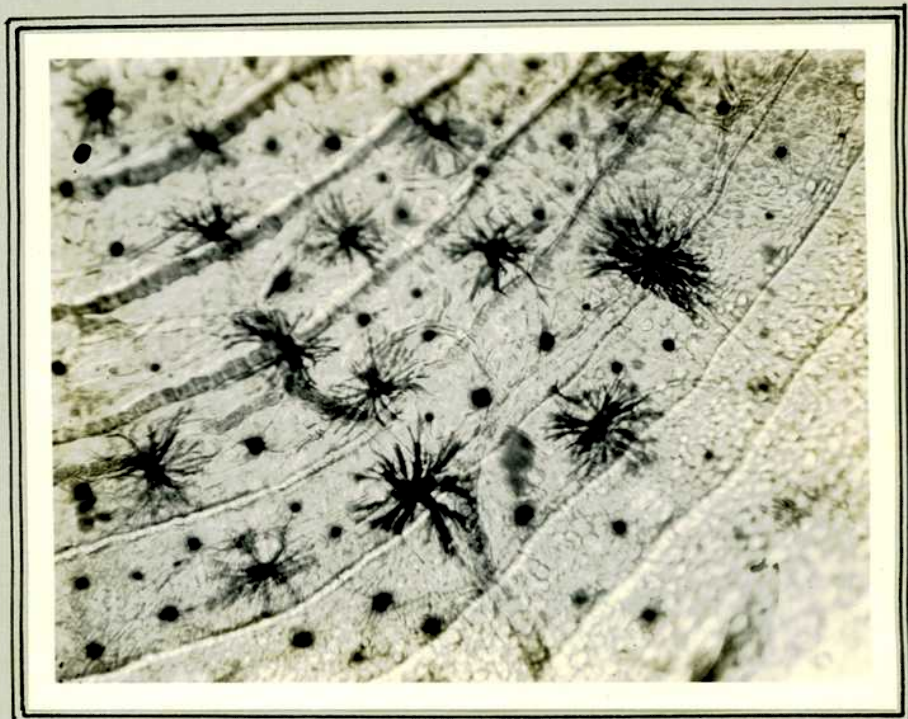
Fitzroyia lineata (Jen.) Berg.



Antes de ser tratados. A x 240



A los diez minutos de ser tratados. A x 240



Después de quince minutos las ramificacio-
nes aumentan considerablemente. A x 240.

POEY-BA

MELANOCITOS DE Cnesterodon decummaculatus (Jen.) Garman.



Después de ser tratados con extracto de orina. A x 240