





Sala 5  
Gab. -  
Est. 56  
Tab. 8  
N.º 3



UNIVERSIDADE DE COIMBRA  
Biblioteca Geral



1301500833

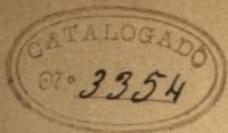
b24528 328



A TOXIDEZ DA URINA

REVISED EDITION

THE HISTORY OF THE UNITED STATES



ELYSIO MOURA

---



# A TOXIDEZ DA URINA

---

VOLUME I

---

---

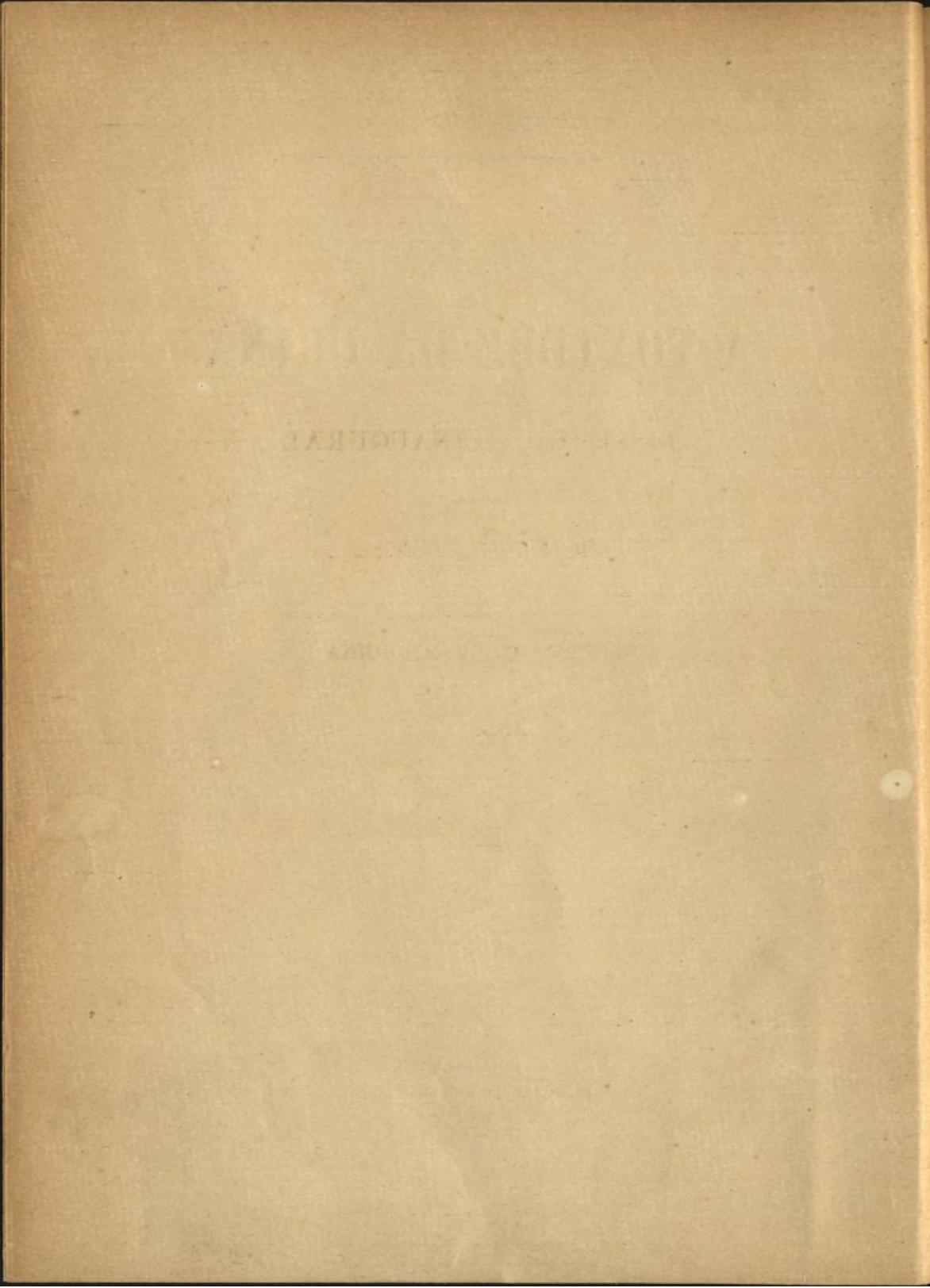


COIMBRA  
IMPRESA DA UNIVERSIDADE  
1902

---

2

(1)



DISSERTAÇÃO INAUGURAL

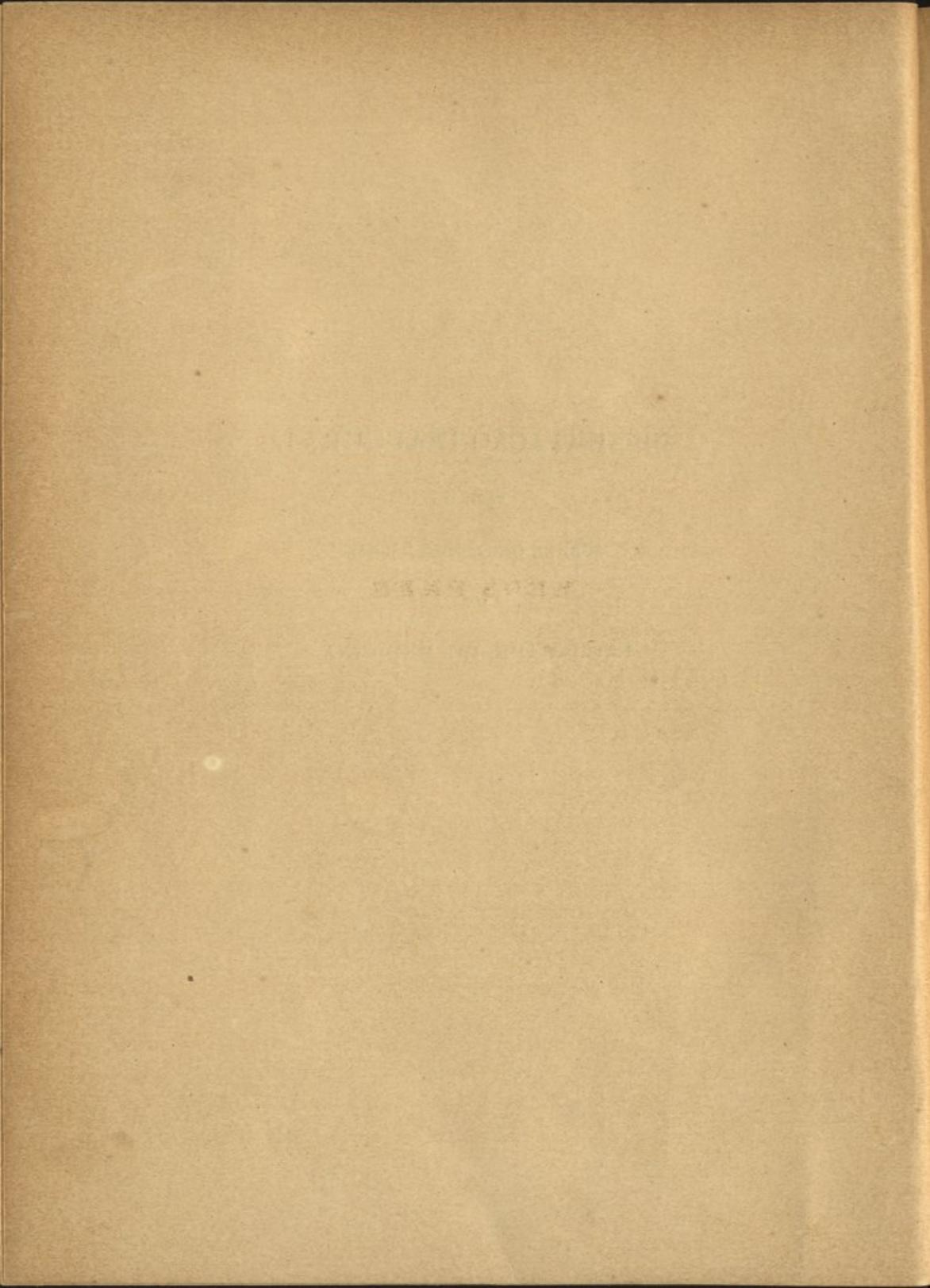
---

PARA O

ACTO DE CONCLUSÕES MAGNAS

NA

FACULDADE DE MEDICINA



A

MEUS PAES



## INTRODUÇÃO

---

A urina, antes por intuição que por experiencia, foi em todos os tempos considerada como toxica. Era tal a evidencia de que o facto parecia revestido, que as primeiras tentativas duma demonstração só apparecem quando o methodo experimental adquire direito de cidade no dominio das sciencias biologicas.

Dois physiologistas francêses, VAUQUELIN e SEGALAS, foram os primeiros que, quasi incidentemente, no começo do seculo findo, a proposito dos seus estudos sobre a presença da urêa no sangue de animaes nephrectomizados, puzeram em relevo, em duas experiencias de laboratorio, operando sobre cães, a acção, nociva até á morte, da urina introduzida no organismo por via intra-venosa.

Dos effeitos physiologicos destas injecções, nomeadamente dos phenomenos precursores da terminação fatal, que num dos casos sobreveiu tardiamente, bem como das alterações necropsicas, foi dada uma descripção, rica em pormenores, que, tendo suscitado discussões sobre a causa

real dos phenomenos observados, foi o ponto de partida do estudo experimental da toxidez urinaria.

Medicos e physiologistas de vulto deixaram o seu nome vinculado a esta ordem de investigações: — FRERICHS, ROSENSTEIN, FELTZ e RITTER, BOCCI, SCHIFFER, LEPINE e AUBERT . . . , e pairando sobre todos o genio de CLAUDIO BERNARD.

Mas como a technica posta em pratica, sobre falta de uniformidade, era por via de regra inçada de defeitos de toda a ordem, ao tempo incompreendidos, enquanto os resultados obtidos por uns vieram sancionar a ideia tradicional da venenosidade da urina, foram outros levados a pôr em duvida a realidade dessa acção toxica, chegando ainda outros, como MURON (1872), a proclamar a absoluta innocuidade das injeções de urina.

BOUCHARD, em 1887 (1), regulamentando numa porfiada serie de trabalhos memoraveis as condições experimentaes que permittem reconhecer e medir o poder uro-toxico, veio pôr termo a um periodo, que já ia longo, de discussões quasi de todo o ponto estereis: debateram-se as opiniões mais encontradas, mas, mercê da falta dum criterio experimental seguro, pouca luz se fez. A doutrina da toxidez urinaria atravessou, como sequencia de taes controversias, as mais variadas vicissitudes antes de ser definitivamente estabelecida. Todavia nem sequer em leves traços tentaremos esboçar a marcha evolutiva da questão no transcurso daquelle periodo tam accidentado. As phases caracteristicas, dominantes, dessa evolução encontram-se signaladas na obra, já citada, de BOUCHARD e offerecem presentemente um interesse mediocre.

Com o advento dos trabalhos deste insigne professor, raiou para a doutrina da toxidez urinaria uma era de

(1) *Les auto-intoxications dans les maladies*, Paris.

completa fortuna; tam decisivo foi o caracter que logo se julgou dever attribuir-se aos resultados do seu methodo experimental.

\*

O methodo preconizado por BOUCHARD consiste essencialmente em praticar a injeção de urina recente, e aspticamente recolhida, em determinadas condições de velocidade e de pressão, na veia marginal da orelha dum coelho previamente pesado, ininterruptamente até ao momento da morte do animal assignalado pela cessação dos movimentos respiratorios.

Devem ser objecto duma attenta observação as manifestações reaccionaes produzidas no curso da experiencia: — a intensidade e a natureza desses phenomenos biologicos permitem a apreciação qualitativa da toxidez da urina.

A intensidade do seu poder toxico avalia-se pelo calculo seguinte.

Designemos por  $p$  o peso do animal expresso em grammas e por  $q$  a quantidade exacta de urina introduzida nas veias até á superveniencia da terminação fatal. A quantidade da mesma urina necessaria para matar um kilo de materia viva será dada pela fórmula  $\frac{q \times 1000}{p} = U \dots (1)$ .

Este quociente representa a unidade de toxidez, ou *urotoxia*. O seu valor médio para a urina physiologica do adulto é de 40 c. c. (BOUCHARD).

Faremos desde já notar que, quando uma urina mata immediatamente um kilo de coelho na dóse de 40 c. c., não é licito dizer — embora isto vá de encontro á lingua-

gem quasi correntemente adoptada — que a sua toxidez é de 40 c. c., mas que a dóse mortal desta urina é de 40 c. c., ou ainda, que a toxidez desta urina é de 1 toxia por 40 c. c.

A necessidade de insistencia neste ponto levou-nos a interromper a descripção summaria, que vinhamos fazendo, do methodo de BOUCHARD. É que se não trata duma simples questão de correcção de linguagem, mas duma concepção falsa que conduz naturalmente a erros graves. Supponhamos duas urinas, uma das quaes mata um kilo de materia viva na dóse de 60 c. c. e a outra na dóse de 100 c. c.; não se deverá dizer que a differença de toxidez é 100 — 60 c. c. ou 40 c. c., mas que no primeiro caso 60 c. c. e no segundo 100 c. c. contêm uma unidade de toxidez ou toxia.

A quantidade de toxidez contida num litro de urina, por exemplo, será  $\frac{1000}{60}$  toxias naquelle caso, e  $\frac{1000}{100}$  toxias neste. A differença de toxidez entre um litro daquella urina e outro desta será (16,6 — 10) toxias ou 6,6 toxias; um litro da primeira urina poderia matar 16<sup>k</sup>,6 de coelho, um litro da segunda mataria apenas 10 kilos.

A simples estimação da quantidade de urina mortifera para um kilo de animal sómente póde instruir-nos ácerca das variações no numero das uro-toxias contidas num volume determinado de urina, deixando-nos no desconhecimento dum ponto sobremaneira importante:—a quantidade de productos toxicos que num tempo dado são elaborados e eliminados pela economia.

Em 24 horas será fabricado um numero N de uro-toxias igual a  $\frac{Q}{U}$  . . . (2), representando por Q o numero de c. c. da totalidade de urina emittida naquelle espaço de tempo; o denominador U já nos é conhecido. O numero de uro-

toxias ou, em geral, a fracção de uro-toxia, que um individuo elimina naquelle mesmo tempo por kilo do seu peso, será dada pela relação  $\frac{N}{P} = C, \dots$  (3) em que P representa o numero de kilos de peso desse individuo.

Ao valor desta relação, que designamos pela letra C, deu BOUCHARD o nome de *coefficiente uro-toxico*. No adulto normal a média do seu valor corresponde a 0<sup>k</sup>,460.

A unidade que BOUCHARD denominou uro-toxia, não indica uma quantidade de urina determinada, nem a natureza do toxicô nella existente, ou dos venenos multiplos cuja acção combinada dá logar á morte do animal; tambem nada nos diz ácerca do peso dessas substancias necessario para a obtenção do effeito mortal. «A uro-toxia é um valor physiologico».

O coefficiente uro-toxico é um numero abstracto, que indica a relação entre a quantidade das uro-toxias eliminadas e a necessaria para matar um peso de materia viva igual ao do individuo observado; esta relação é, como facilmente se vê substituindo na fórmula (3) N pelo seu valor, função de quatro elementos, que é indispensavel conhecer: o peso do individuo observado, a quantidade total da urina das 24 horas, o peso do animal reagente, e a dóse de urina que o matou.

Com estes dados podemos ainda ir mais além e chegar, com effeito, á determinação da quantidade de principios toxicos fabricados e eliminados por cada kilo da materia proteica constitutiva dos tecidos, da albumina fixa de todo o corpo.

Exprimindo com BOUCHARD, por 0<sup>k</sup>,460 o valor médio do coefficiente uro-toxico physiologico, como um kilo do corpo normal de homem normal encerra em média 152 grammas de albumina fixa, um kilo desta substancia deve fabricar e eliminar em 24 horas no estado hygido uma dóse

de principios toxicos sufficientes para matar  $\frac{460^{\text{gr}} \times 1000}{152} =$   
 = 3026 grammas de materia viva.

Tendo demonstrado que a urina humana póde produzir a morte quando introduzida em natureza nas veias dum animal, sem que os caracteristicos accidentes sobrevindos sejam imputaveis á massa liquida injectada, BOUCHARD procurou determinar a natureza das substancias que conferem á urina o seu poder toxico; e, sobretudo, pelo emprego do alcool como solvente, chegou á conclusão de que a multiplicidade dos symptomas da intoxicacão urinaria experimental reconhecia por causa substancias multiphas, sete pelo menos, caracterizadas mais pelas suas propriedades physiologicas do que chemicas, á excepção de duas: a urêa *diuretica* e a potassa *convulsionante*. Das cinco restantes — uma seria *sialogenea*, outra *narcotica*, a terceira *hypothermisante*, a quarta *myotica* e a ultima *convulsionante*, mas de natureza organica.

\*

As investigacões concernentes á toxidez urinaria — que sob o impulso dos trabalhos de BOUCHARD pareciam destinadas a assumir uma alta importancia na Pathologia e ás quaes interessantes problemas pathogenicos haviam perdido esclarecimentos — tẽem sido nos ultimos annos objecto de reiteradas criticas, mórmente depois que na physiologia normal e pathologica foram introduzidas as novas noções sobre a tensão osmotica dos humores do organismo. A par de objecções menos bem fundadas, com que alguns dos detractores da Obra de BOUCHARD pretendem amesquinhar o valor do seu methodo experimental, tem este sido vigorosamente impugnado, por um eleito grupo de investiga-

dores, com argumentos que têm pleno direito a serem discutidos.

É cheia de interesse a historia da questão no ultimo decennio. Não nos propomos entretanto fazê-la aqui: — os factos isolados que a compõem serão apresentados no decorrer da discussão, que nos vae occupar, á medida que ella fôr suscitando o seu interesse e fornecendo subsidios para a sua interpretação; e não reunidos numa fastidiosa enumeração chronologica.

Se alludimos ás investidas contra o methodo, foi para desde já deixarmos consignado que dahi resultou, como nota um critico, «uma certa instabilidade e fluctuação nas ideias actuaes sobre a legitimidade do emprego do methodo de BOUCHARD» (1).

Esse facto, conjugado com o de ter o methodo servido para edificar theorias, algumas já classicas, levou ao nosso espirito a convicção de que não seria despido de oportunidade e interesse o trabalho de quem, sem *parti pris*, procurasse precisar-lhe o valor. Tal tarefa ousadamente nos impuzemos; e da fórma por que della nos desobrigamos, dizem as paginas que vão ler-se na primeira parte deste trabalho.

Fazendo a analyse critica da opinião dos adversarios, ficamos compenetrado da excellencia do methodo; é por conseguinte um ensaio da sua defeza o que ahi se encontra, mas do methodo primitivo, extreme de quaesquer modificações que subseqüentes investigações tenham pretendido introduzir-lhe, inclusivamente daquellas que o proprio BOUCHARD aceita.

Assim pois, o nosso trabalho é contrario á corrente ora dominante: . . . *mais il est permis même au plus faible d'avoir une bonne intention et de la dire . . .*

---

(1) L. BERNARD, *Rev. méd.*, 1901, n. 2.

A segunda parte versa o estudo das causas da toxidez urinaria.

Procuraremos que da nossa exposição resáia clara a demonstração de que os progressos realizados posteriormente á publicação daquellas magistraes lições sobre as *Auto-intoxications dans les maladies* são sufficientes, e de mais, para capitularmos de menos exacta a affirmação, que tantas vezes se nos deparou reproduzida, segundo a qual as já mencionadas conclusões de BOUCHARD constituem ainda as mais lidimas representantes do estado actual da questão; e de menos para que o problema deixe de conter variadas incognitas.

Outras questões affectas ao assumpto e sobretudo a sua importancia clinica serão tratadas em volume subsequente.

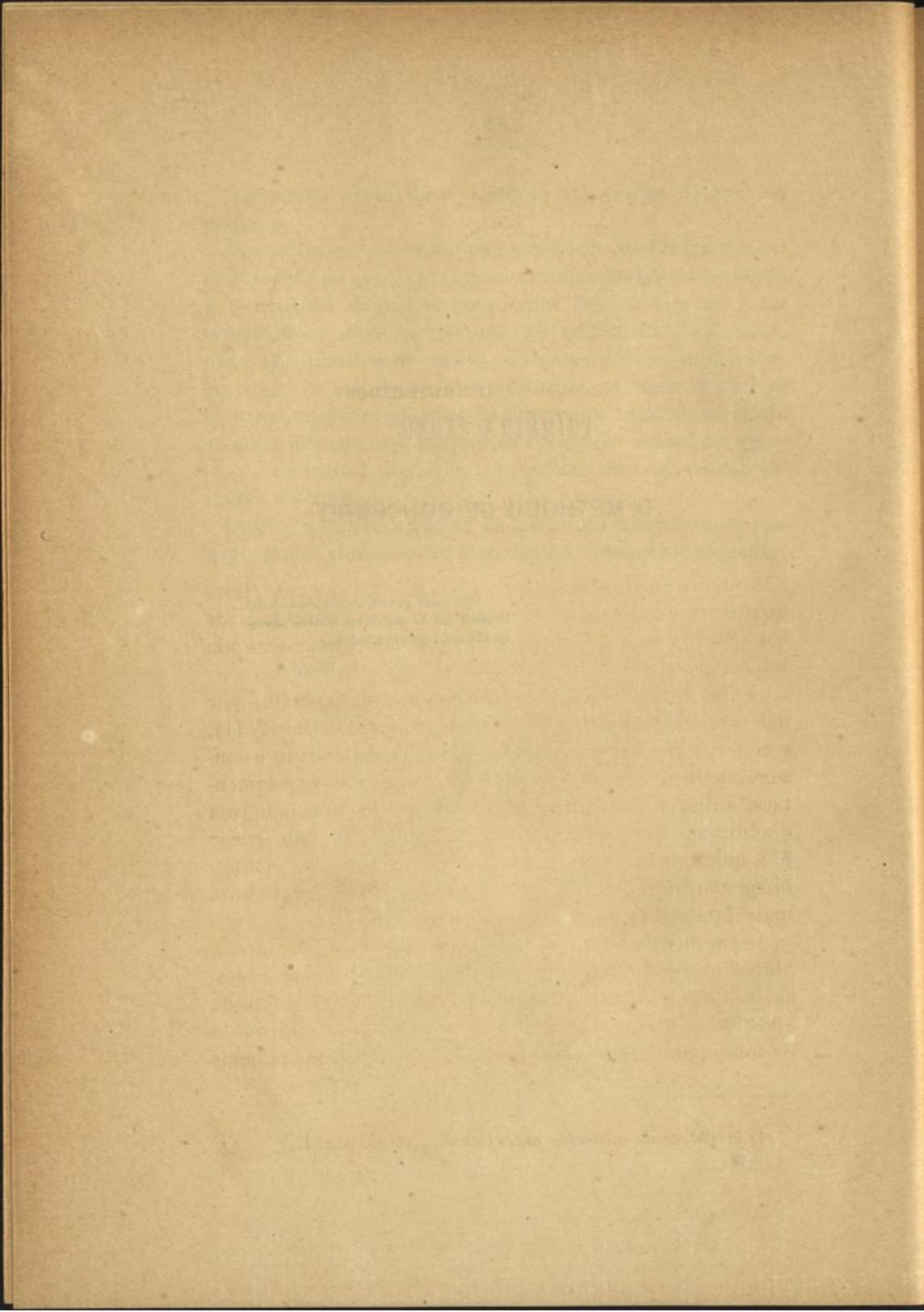
---

PRIMEIRA PARTE

O METHODO DE BOUCHARD

«Le plus grand dérèglement de  
l'esprit est de croire les choses parce  
qu'on veut qu'elles soient».

BOSSUET.



# I

## Principios fundamentaes

### I. Toxidez verdadeira e toxidez experimental. — Equivalentes toxicos

Equivalente toxico duma substancia é, segundo BOU-CHARD, o numero que exprime a menor quantidade de materia toxica susceptivel de matar immediatamente um kilogramma d'animal.

«Esta definição não é sufficientemente explicita, por não conter nenhuma indicação experimental definida» (1); e com o intuito de evitar interpretações differentes e consequentemente a variabilidade nas condições experimentaes, JOFFROY e SERVAUX precisam aquelle enunciado com o additamento seguinte: — equivalente toxico dum corpo é a quantidade minima de materia toxica que, *contida integralmente num momento dado no sangue dum animal*, mata fatalmente um kilo de materia viva.

Assim modificada, a definição traduz claramente a opinião destes e doutros auctores, que entendem ser necessario entrar em linha de conta com a quantidade de liquido emittido pelo animal durante a experiencia e subtrahida da totalidade do liquido injectado; e, duma maneira mais

---

(1) *Archives de médecine expérimentale*, 1897, pag. 1.

geral, implica a necessidade de não serem desprezados os *excreta* na avaliação da toxidez real.

Não perfilhamos esta maneira de ver no caso particular que nos occupa, sem entretanto deixarmos de admittir com JOFFROY e SERVAUX que seja indispensavel a presença actual da totalidade da substancia, cujo equivalente toxico se pretende determinar, no meio interior do animal que serve de reagente vivo. Desprezar, com effeito, na determinação da toxidez a dóse de toxico eliminado, o mesmo seria que pretender conhecer com o auxilio duma medida exacta a capacidade dum recipiente, cujo precario estado de integridade obstasse á retenção total do liquido nelle lançado. Uma vez cheio, dar-se-ia como medida da sua capacidade o numero de unidades de liquido gastas na consecução desse resultado; o que seria evidentemente um erro: se é certo que o numero encontrado não deixaria de estar em relação com a verdadeira capacidade, não soffre por egual duvida que—dada a variação da quantidade de liquido perdido em função do tempo—elle seria tambem dependente da rapidez com que, pelo processo indicado, se houvesse diligenciado satisfazer essa capacidade.

Como se vê por este simile comezinho não recusamos o nosso assentimento á opinião dos que, como DUMAREST (1), affirmam ser «a definição de JOFFROY e SERVAUX inquestionavelmente a melhor de quantas têm sido apresentadas até ao presente». Temos porém a registar o facto destes auctores haverem repudiado a supra-citada enunciação de BOUCHARD, com o fundamento de que ella não continha nenhuma indicação experimental definida, para irem fazer illogicas deducções experimentaes da definição que propõem. É que estes auctores abstrahem, sem justificação possivel, da circumstancia de que a urina emittida pelo

---

(1) DUMAREST, *Th. de Lyon*, 1897.

animal submettido a uma experiencia de determinação de uro-toxidez, não é de composição identica á que lhe é injectada. E para desde já demonstrarmos que ella é desprovida de poder toxico, citaremos a seguinte experiencia de Guinard (1), dentre as varias por elle effectuadas, já em data anterior á referida publicação de JOFFROY e SERVAUX.

Guinard injectou em dois coelhos urina humana, cuja toxina era representada por 127 c. c.; e, recolhendo a excreção urinaria dos dois animaes em experiencia, obteve 642 c. c. dum liquido claro, com uma quantidade insignificante de uréa, de densidade igual a 1011, o qual, injectado a um terceiro coelho, que pesava 1<sup>k</sup>,11, não provocou o apparecimento de nenhum dos symptomas typicos da intoxicação urinaria, vindo o animal a succumbir 5 horas depois da experiencia. Seguidamente o exame necropsico veiu revelar uma infiltração dós tecidos e abundantes derrames nas cavidades abdominal e thoracica. Eis as proprias palavras de Guinard: «la mort du troisième animal doit être attribuée aux suites de l'injection, ce que démontraient, du reste, les symptomes et les lesions bien typiques qui ont été observés».

Devemos, pois, concluir que as substancias toxicas existentes na urina humana, que matava (toxidez immediata) na dose de 127 c. c. por kilo de animal, e que provocou a eliminação dos 642 c. c. de liquido injectado na 3.<sup>a</sup> experiencia, foram retidas pelo organismo dos dois coelhos; ora os factos da natureza deste insurgem-se contra a pratica recommendada por JOFFROY e SERVAUX.

Todavia KOHLARD (2), referindo-se á definição de coefficiente toxico apresentada por JOFFROY e SERVAUX, accres-

---

(1) *C. R. de la Société de Biologie*, 1893.

(2) *La médecine moderne*, 1897, pag. 215.

centa: «importa, por conseguinte, que durante a experiencia não haja eliminação notavel de substancia toxica pela diurese; a injeção deve ser praticada com rapidez para que seja supprimida esta causa d'erro; é necessario que a injeção esteja terminada antes da eliminação ter começado».

Causas de erro, e graves, podem ser introduzidas na experiencia, como adiante demonstraremos, pela velocidade de injeção requerida por este auctor; a morte do animal pôde mesmo então ser produzida por um mechanismo estranho á verdadeira intoxicação.

Para que a maneira de vêr de JOFFROY, SERVAUX e KOHLARD fosse defensavel, necessario seria não só que o liquido eliminado fosse identico ao injectado nas veias — e contra tal supposição protestam as observações de GUINARD, que demonstram ser illusorio o perigo da eliminação dos toxicos diluidos introduzidos no sangue, e que as recentes investigações cryoscopicas apoiam, demonstrando que na urina eliminada por effeito diuretico de injeções intra-venosas de soluções hyper-tonicas (e a urina humana é hypertonica em relação ao sôro do coelho), ha uma notavel diminuição global das substancias dissolvidas, o que nos permite dizer que o effeito diuretico recahe sobre o dissolvente, deixando os principios toxicos encorporados aos elementos anatomicos; — senão tambem que a eliminação pela via renal fosse exclusivamente função da rapidez de injeção do liquido no systema circulatorio, sem que no facto pudessem intervir factores de outra ordem, como as qualidades toxicas da urina ensaiada. Mesmo no caso desta ultima parte ser exacta, quer-nos parecer que não seria facil demonstrar a necessidade de realisar a injeção «assez vite»: a causa de erro seria constante em todos os casos, e portanto sem valor, desde que se adoptasse uma velocidade invariavel e sempre a mesma.

Mas tal não succede.

Os auctores esquecem que um dos effeitos toxicos da urina injectada pôde ser justamente provocar a diurese, como noutros casos, embora mais raros, exercer uma acção inhibitoria sobre a funcção renal de excreção.

A pratica, que vimos criticando, pôde induzir-nos a erro, pois que, é obvio, dá margem a augmentarmos, pelo calculo, o poder toxico duma urina; e, o que é tudo, a convertermos, por identico processo, uma urina pouco toxica, relativamente á média normal, noutra de toxidez superior, se porventura ella fôr muito diuretica, o que aliás parece proprio das urinas hypotoxicas. Com effeito, QUINTON, em numerosas experiencias sobre a toxidez de urinas pathologicas, estabeleceu a seguinte lei, a que não fazia excepção um só dos factos observados: a eliminação renal provocada por injeções de urinas desegualmente toxicas é funcção inversa da toxidez (1).

De todo o exposto conclue-se que convem respeitar todos os phenomenos produzidos no decorrer da experiencia e não subtrahir arbitrariamente a quantidade dos excreta da do liquido injectado. DASTRE e LOYE (2) nas suas importantes e fecundas — *Recherches sur les injections d'eau salée dans les vaisseaux* — demonstraram «ser possivel augmentar o conteúdo do systema vascular, numa proporção consideravel, sem que a pressão arterial variasse dum decimo»: é que nas condições normaes estabelece-se um jogo dos emunctorios que impede a accumulção de liquido em excesso; a hipertensão vascular não se produz e por isso falta o cortejo dos accidentes mechanicos, que necessaria e consecutivamente appareceriam, se, com as substancias que elle vehicula e que ordinariamente abandona ao or-

---

(1) *Presse médicale*, 1900, pag. 246.

(2) *Archives de physiologie*, 1888 e 1889.

ganismo, o proprio liquido injectado fosse retido. Esta actividade de emuncção renal póde ser augmentada pelo effeito de toxicos diureticos injectados, como póde ser attenuada ou supprimida pela acção de venenos inhibidores.

\*

A maneira de proceder do professor BOUCHARD differe dos methodos geralmente seguidos na avaliação da toxidez dos corpos. Ordinariamente determina-se, com effeito, a dóse minima destes, susceptivel de provocar effeitos toxicos ou a morte, mas sem se prolongar a experiencia até que surja o primeiro signal de extincção de vida: assim se avalia o que podemos denominar — *toxidez verdadeira*.

Na investigação do poder uro-toxico pelo methodo de BOUCHARD tem-se em vista a *toxidez experimental*: a injeção só é interrompida e suspensa quando se verifica que o animal já não respira. É, pois, introduzida uma quantidade de veneno superflua: o animal não sobreviveria se a injeção tivesse sido sustada algum tempo antes da morte. De sorte que o *equivalente toxico experimental* é representado por um numero relativamente elevado, por ser a quantidade de urina introduzida nas veias do animal, excessiva em relação á que seria estrictamente necessaria para que a morte sobreviesse ao cabo dum certo lapso de tempo.

Quando se procede á determinação da toxidez verdadeira procura-se surprehender o momento preciso em que o animal tem recebido a quantidade de toxico necessaria e bastante para que entre o final da experiencia e o momento da morte medeie curto intervallo. A quantidade de substancia toxica que realisa este effeito, representa o

*equivalente toxico verdadeiro*, que mede a toxidez verdadeira.

É este o equivalente toxico mais importante sob o ponto de vista da physiologia pathologica, da therapeutica, da toxicologia e da hygiene; mas, visto que só pôde ser estabelecido por tentativas, não ha que menosprezar o equivalente toxico experimental, o unico ao alcance dos nossos meios em numerosos casos.

No manual de urologia clinica mais moderno que temos presente (1) vem ainda indicado o seguinte processo para a determinação da toxidez urinaria:— numa serie de coelhos do mesmo peso é injectada a urina em dósés crescentes, na veia marginal da orelha; a partir duma certa dósé todos os animaes succumbem; a toxidez da urina será representada pela média entre a quantidade mais elevada que pôde ser injectada sem causar a morte do animal, e a dósé minima que produziu este resultado.

A investigação da toxidez verdadeira exige que o experimentador tenha por assim dizer á sua disposição uma quantidade illimitada de substancia a analysar, porque demanda experiencias multiplas; é portanto incompativel com as condições geralmente impostas no estudo dos liquidos physiologicos.

Assim é que, pelo que respeita á urina, é a toxidez experimental a que ha sido quasi sempre determinada. Tem entretanto logar aqui a distineção de que nos vimos occupando, dada a illegitimidade da approximação dos resultados do methodo de BOUCHARD, com os obtidos pelos raros auctores que se tõem abalançado á determinação da toxidez verdadeira da urina: elles são absolutamente incomparaveis. Não se pôde por fórma alguma assimilhar

---

(1) *Traité pratique d'analyse chimique, microscopique et bactériologique des urines*. Paris, 1901.

um caso em que a morte sobrevem no curso da experiencia, a outro em que só se produz ulteriormente e com um intervallo variavel; por isso, na indicada approximação reside uma causa de confusões contra a qual importa estar prevenido. Vemos por exemplo, PICHINI e CONTI (1) que determinaram a toxidez mediata, confrontarem os seus coefficients toxicos verdadeiros com as uro-toxias de BOUCHARD, e, o que é mais, da discordancia notada deduzirem um argumento (?) contra «o valor das experiencias sobre a determinação da toxidez urinaria».

A determinação da toxidez experimental importa ainda comsigo a remoção dum obice de vulto, que vem a ser o da descriminação, certamente impossivel, da parte que, para o effeito mortal, podem reivindicar as complicações pulmonares ou outras, mais ou menos independentes do poder toxico, que não raro apparecem nos casos de morte secundaria.

\*

Assim reahimos na concepção de toxidez, tal como foi formulada por BOUCHARD e segundo a qual o equivalente toxico é definido pela quantidade de materia toxica susceptivel de produzir a morte immediata.

Ella tem entretanto levantado diversas criticas. Apon-tam os auctores o que se passa com a agua distillada, que mata um animal, se em certa dóse fôr introduzida nas suas veias. O facto ninguem o contesta; só é variavel com os experimentadores o valor da dóse mortal: esta é, para BOUCHARD, BOSC e VEDEL, proximamente igual a 100 c. c.

---

(1) *Il Morgagni*, 1893, pag. 430.

Deveremos dizer que a toxidez da agua distillada é de 100 c. c. ?

Por outro lado, se é certo que a urina normal mata 1 kilo de coelho na dóse média de 40 c. c. (BOUCHARD), e que portanto a morte não póde ser attribuida á agua da urina, tornando-se necessario admittir uma toxidez propria ás substancias nella dissolvidas, urinas ha que só matam em dóses muito mais elevadas (1). Deveremos admittir que sejam menos toxicas que a agua distillada ?

Na verdade, segundo a definição de BOUCHARD, trata-se em qualquer dos casos dum effeito de toxidez, porquanto este termo implica simplesmente o effeito nocivo dum corpo, sem interpretação da sua natureza. Mas tal concepção afasta-nos do objectivo da clinica, que procura por este methodo determinar a quantidade de substancias verdadeiramente toxicas contidas na agua da urina.

A questão deve ser posta noutros termos: a agua distillada é certamente toxica, mas para um determinado sistema anatomico — o sangue; a morte, causada pela introdução da agua distillada na corrente circulatoria, não é o resultado duma intoxicação do organismo, mas duma alteração do sangue, que aquelle liquido torna improprio para a vida, destruindo as hemacias e, sem duvida alguma, os leucocytos.

Teremos ensejo de mostrar como este phenomeno, hoje perfeitamente estudado, se produz e bem assim as leis que o regem. São estas que nos hão de levar á comprehensão de como um liquido contendo saes, como a urina,

---

(1) Nas experiencias de avaliação da toxidez verifica-se que a urina eliminada em certos casos de lesões renaes, póde ser introduzida na dóse de 300, 400, 500 e até 600 c. c. na circulação dum animal, cuja massa sanguinea não excede 180 ou 200 gr. Deviam ter causado verdadeira surpresa as primeiras observações deste genero.

se póde approximar mais das soluções ditas physiologicas, conservadoras do sangue, e parecer menos toxico que a agua distillada.

Do referido resulta que, para o estudo da toxidez dum corpo, convém levar este ao seio do organismo animal, sem que possam intervir factores estranhos, devidos ás reacções deste corpo e do systema anatomico vector postos em presença.

Na estimação da toxidez urinaria, para que os resultados fornecidos pelo animal-reagente sejam merecedores de confiança, não é tudo, pelo que propriamente a este respeita, a ausencia absoluta de quaesquer alterações pre-existentes: convém egualmente que não soffra, provocada pelo liquido d'ensaio, alguma lesão *inicial e parcial* que venha perturbar o futuro da experiencia.

Para realisar estas condições qual é a via preferivel para a introdução da urina no organismo? Será a urina, injectada nas vias circulatorias, um veneno do sangue?

## II. A via sanguinea nas experiencias de toxidez .

Tres vias principaes se offerecem ao experimentador que pretende levar ao organismo substancias extranhas: a *via digestiva* (ingestão), a *via lymphatica* (injecções subcutaneas) e a *via sanguinea* (injecções intra-venosas).

A superioridade da via sanguinea nas experiencias de determinação de toxidez urinaria está de ha muito demonstrada por BOUCHARD com argumentos dos que com o tempo nada perdem do seu valor.

Duma maneira geral, quando se pretende conhecer a toxidez duma substancia, o que importa determinar não é a dóse desta substancia que foi introduzida num ou noutra ponto da economia, mas a que se encontra no seio dos tecidos, no momento em que se manifestam os effectos

physiologicos ; pouco interessa saber a quantidade que foi ingerida ou levada ao organismo por qualquer outra via, mas é indispensavel conhecer a que foi absorvida e se encontra actualmente presente no momento em que surgem os accidentes de intoxicação.

Por esta razão a via digestiva é extremamente defeituosa para as investigações da physiologia. Por ingestão a absorpção effectua-se morosamente, e por isso é dado ao organismo tempo para se defender, eliminando ou destruindo os principios toxicos. A isto accresce que uma parte da substancia, quando mesmo não seja eliminada pelo vomito, é expulsa com as materias fecaes. Como determinar, pois, rigorosamente a quantidade absorvida? E a diluição e as acções chemicas exercidas pelos succos digestivos serão sem influencia alguma?

Tendo de renunciar, pelas razões expostas, á via digestiva, facil é demonstrar que não podemos vantajosamente recorrer á via sub-cutanea, que não está ao abrigo duma parte da mesma critica. Neste caso far-se-á, certamente, a eliminação apenas pelo sangue ; pelo meio hematico terá de passar a totalidade da substancia absorvida ; mas, como ha pouco, a eliminação rapida do liquido lentamente absorvido, cria reaes difficuldades. Como calcular a quantidade de substancia injectada que se encontra no sangue no momento exacto da producção dum dado phenomeno? Em nenhum momento o sangue póde conter sensivelmente a quantidade de principios toxicos injectados, tanto mais que alguns delles podem ser destruidos ou modificados por acções chemicas locais (1).

---

(1) MURON, que declarou inoffensivas as injeccões de urina, introduzia lentamente o liquido no tecido cellular sub-cutáneo de coelhos: a economia não encerrava pois, em momento algum, principios toxicos em quantidade bastante para produzirem os effectos de que eram susceptiveis.

Por outro lado, a injeção origina por si mesma certas perturbações, que podem encobrir a acção propria da urina ensaiada: é dolorosa e provoca reacções nervosas. Notaremos, finalmente, a impossibilidade de introduzir por esta via, nos animaes de laboratorio, as grandes quantidades de liquido, não raras vezes necessarias para a determinação da toxidez experimental da urina.

Resta a via intra-venosa. Tem-lhe sido imputados muitos defeitos; tem sido considerada cheia de perigos. E todavia a introdução de urina por esta via é quasi tão facil e tão expedita como a injeção no tecido cellular: é menos dolorosa e tem sobretudo a defendê-la o maior rigor que confere aos resultados; é por ella que nos é permittido conseguir, no espaço de tempo duma revolução total do sangue, a repartição pelo organismo duma quantidade conhecida de materia toxica, e saber exactamente a dóse contida no sangue no momento em que o primeiro accidente toxico fere a attenção do observador.

Já anteriormente alludimos de passagem, como agora o faremos tambem, ás experiencias em que DASTRE e LOYE demonstraram que o jogo normal dos emunctorios impede a hypertensão vascular de produzir-se, com o cortejo dos accidentes mechanicos consecutivos, que poderiam impor-se por effeitos toxicos; quando este mecanismo regulador faltar, deve-se invocar uma inibição destes *organes-soupapes*, a qual é, por si mesma, um effeito toxico.

Dos inconvenientes da via intra-venosa, resultantes das modificações do sangue pelo liquido injectado, vamos occupar-nos detidamente.

Não o faremos, porém, sem nos referirmos a duas outras vias de introdução de liquidos no organismo — a *via intra-cerebral* e *via intra-arachnoide*, que só nos ultimos tempos têm sido exploradas.

A via intra-cerebral foi proposta, para as investigações experimentaes, por WIDAL, SICARD e LESNÉ, inspirados

certamente no methodo de therapeutica anti-tetanica de ROUX e BORREL. Eis em breves palavras a technica descripta por LESNE: — pratica-se por meio duma broca um pequeno orificio no craneo; a penetração é limitada por um cursor, que evita a lesão da dura-mater; seguidamente crava-se em plena substancia cerebral, até á profundidade de cerca de meio centimetro, a agulha da seringa, e injecta-se docemente o liquido, cuja toxidez se pretende determinar» (1).

Não temos por difficil a demonstração de que esta via, cujo estudo, muito bem feito por LESNÉ, apresenta verdadeiro interesse, não pôde ser utilizada no methodo geral de investigação da toxidez dos corpos. Ella só pôde verdadeiramente instruir-nos sobre a fórma de reacção dos elementos nervosos, tão complexos e delicados, á substancia toxica injectada; determina, pois, uma toxidez parcial e não a toxidez real.

Do facto de os symptomas, pelos quaes se traduz a intoxicação urinaria experimental (e o que dizemos relativamente á urina, é applicavel ao sôro) serem principalmente — mas não exclusivamente — symptomas nervosos, não nos parece que estejamos no direito de localisar systematicamente a intoxicação numa parte do systema nervoso, e suppôr que os dados desta intoxicação localisada representem o equivalente toxico real do liquido ensaiado. E se os principaes argumentos dos que combatem o emprego da via intravenosa nas experiencias de avaliação do poder uro-toxico, são deduzidos, como veremos, do facto de a urina actuar como toxico do sangue e não sómente como toxico do organismo, — entendemos que as reacções infinitamente mais complexas e desconhecidas das cellulas nervosas nos obrigam ainda mais a acceitar, com reserva, os effeitos

---

(1) LESNÉ, *These de Paris*, 1898, pag. 41.

que resultam de ser levado directamente ao contacto destas cellulas, um liquido com venenos multiplos, como é a urina.

Supponhamos mesmo que o liquido injectado não vae provocar effeitos mechanicos, uma dilaceração do tecido nervoso, — o que, a dar-se, teria um papel importante na génese dos phenomenos observados; supponhamos que as condições creadas pela experiencia são sempre identicas a si mesmas, — embora seja certo que, feita a trepanação invariavelmente no mesmo ponto, a menor mudança na direcção da agulha por exemplo, póde mudar a região injectada, e além disso, a profundidade da injecção, ainda que o experimentador a pretenda sempre igual, pelo limite que impõe á penetração da agulha, deve variar com as diferenças de volume e as dimensões do cerebro do animal, e taes diferenças, que podem parecer minimas, vêm a sua importancia crescer com a complexidade estrutural do órgão sobre que incidem; — ainda assim a substancia cerebral não deixará de ser um reagente mal escolhido por ser muito sensivel e, por assim dizer, demasiadamente especial para o estudo da toxidez global da urina ou do sôro.

E de facto, os symptomas de intoxicacção, que estas experiencias nos revelam, são quasi sempre identicos. LESNÉ, o proprio LESNÉ, diz-nos que as substancias toxicas do sôro estudadas pelo methodo das injecções intra-venosas, provocam quasi sempre a mesma symptomatologia.

A seguinte phrase deste auctor envolve a condemnação do methodo: «les phénomènes produits ne diffèrent que par leur intensité» (1). E nós teremos ainda occasião de dizer que as injecções intra-cerebraes de urina não permitem a apreciação de certos effeitos toxicos, alguns dos

---

(1) LESNÉ, obr. cit., pag. 56.

quaes derivam, pelo menos em parte, de componentes bem conhecidos: está neste caso a diurese, por exemplo.

Estamos, portanto, privados desta rica e variada gamma de symptommas, que os liquidos injectados no sangue determinam, e cuja physionomia variavel nos ministra elementos para qualificar a sua toxidez.

Ha ainda mais. «A dóse mortal de urina humana, incluindo a normal e a pathologica, está comprehendida entre 1 e  $\frac{1}{4}$  de c. c.» (LESNÉ). Daqui se infere que a escala quantitativa da toxidez, semelhantemente ao que vimos succeder com a escala qualitativa, é muito mais restricta com este methodo do que com o das injeções intra-venosas. Ora, o facto de a determinação numerica da toxidez só poder ser effectuada entre limites muito proximos, constitue uma má condição para a sua exacta apreciação.

É provavelmente ao conjuncto destas condições defeituosas que é devida a differença, por vezes notavel, entre os resultados fornecidos por um e pelo outro methodo.

A via sub-arachnoide foi tambem recentemente preconizada para o estudo da toxidez dos humores. REALE e BOARI (1) attribuem-lhe multiplas vantagens:— não lhe são applicaveis as objecções que o emprego da via sanguinea tem levantado; permite que pequenas quantidades de liquido provoquem effeitos toxicos; os symptommas que resultam da injeção dum liquido determinado são duma notavel fixidez; o liquido impregna desde logo o nevraxe subjacente, donde resulta uma acção rapida.

Temos alguns embargos a oppôr.

Se considerarmos na via sub-arachnoide a vantagem de ser a mais proxima dos centros nervosos, reencontramos os mesmos inconvenientes indicados a proposito da via intra-

---

(1) *Riforma medica*, 1898, n.º 32, pag. 374.

cerebral; ella far-nos-á conhecer uma toxidez localisada e não a toxidez real e, se offerece sobre a precedente a superioridade de exercer um menor traumatismo sobre os órgãos que vão reagir, é-lhe inferior a outros respetos.

Na verdade, SICARD (1) demonstrou que as substancias liquidas depostas no interior da cavidade sub-arachnoide não se diffundem rapidamente, nem são transportadas immediatamente pelo liquido cephalo-rachidiano a todo o eixo nervoso cerebro-espinhal.

De harmonia com as suas observações devemos sob este ponto de vista considerar isoladamente os espaços sub-arachnoides cerebraes e os espaços sub-arachnoides lombares. As substancias inoculadas nos primeiros — que com extrema difficuldade se prestam ás injeções em doses elevadas, só muito lentamente passam nas cavidades sub-arachnoides visinhas exercendo assim, sobretudo, uma acção localisada nos centros subjacentes.

Os espaços sub-arachnoides lombares supportam mais facilmente a inoculação de altas doses de liquido, mas a respeito da lentidão com que se effectua a sua diffusão atravez de todo o liquido cephalo-rachidiano, sabe-se, pelas experiencias de SICARD, que «a densidade e a natureza da substancia introduzida pela via sub-arachnoide lombar desempenham um papel capital nesta repartição uniforme; a persistencia da substancia a nivel dos centros e das raizes medullares lombares, ou o seu accesso aos centros nervosos superiores, estão subordinados, para uma mesma dose de substancia activa, ao grau de diluição e á rapidez da injeção». Ora este facto impede que as condições experimentaes possam ser sempre reproduzidas com identidade.

Se considerarmos a via sub-arachnoide como via de ab-

(1) *Presse Médicale*. 1899, n.º 39, pag. 22.

sorpção geral, vemos que ella apresenta os inconvenientes da via hypodermica, sem offerecer as suas vantagens.

Para resumirmos toda esta discussão, diremos que é ainda hoje a via sanguinea — que foi proposta por BUCHARD — a que apresenta vantagens em mais alto grau para a introdução da urina no organismo animal nas experiencias de toxidez, e menos inconvenientes (1). É o valor destes ultimos que agora procuraremos precisar.

Varios auctores combatem o emprego desta via com o fundamento de que na autopsia dos animaes victimados por injecções intra-venosas de urina se encontram coagulos nas cavidades cardiacas e na arteria pulmonar; e de que em taes casos a morte será devida á coagulação do sangue e não á intoxicação do organismo. «La mort ne peut donc servir d'étalon de mesure de la toxicité» (GUILHON).

Vejamos, pois, se as propriedades coagulantes da urina devem preoccupar-nos na determinação do seu equivalente toxico.

---

(1) Os auctores americanos preferem a via *intra-peritoneal* de pequenas quantidades de urina no coelho e sobretudo no rato, e avaliam o grau de toxidez pela sobrevida ou pela morte, mais ou menos rapida, do animal.

Este methodo carece absolutamente de precisão, e os resultados obtidos evidenciam as multiplas causas de erro que comporta.

Tortues inter-venosa da urina

A urina das tortugas apresenta uma característica peculiar, a presença de uratos em quantidade considerável. Este fato já foi observado por vários autores, como por exemplo, por H. H. Schlegel, em 1858, e por J. G. Rehn, em 1871. A presença de uratos na urina das tortugas é devido à sua fisiologia peculiar, pois elas não possuem rins verdadeiros, mas sim glândulas análogas chamadas de glândulas de urato. Estas glândulas são responsáveis pela produção e excreção dos uratos.

A urina das tortugas é, portanto, rica em uratos, o que a torna muito espessa e viscosa. Esta característica é muito importante para a identificação das tortugas, pois a urina com uratos é uma das principais características das espécies de tortugas. Além disso, a presença de uratos na urina das tortugas também é uma característica importante para o diagnóstico de algumas doenças, como a uricose.

A urina das tortugas também apresenta uma coloração amarelada ou avermelhada, devido à presença de pigmentos biliares. Este fato também é uma característica importante para a identificação das espécies. Além disso, a urina das tortugas também apresenta um odor característico, que é muito forte e desagradável.

A urina das tortugas é, portanto, muito rica em uratos e pigmentos biliares, o que a torna muito espessa e viscosa. Esta característica é muito importante para a identificação das espécies e também para o diagnóstico de algumas doenças.

## II

### Toxidez intra-venosa da urina

---

#### I. O poder uro-coagulante

A injeção de urina nas veias dum animal mata-o—não por intoxicação, mas coagulando-lhe o sangue; ou pelo menos tal coagulação torna impossível a apreciação exacta da toxidez propria daquelle liquido.

Assim pensam muitos auctores.

JOFFROY e SERVAUX observaram a formação de coagulos, algumas vezes nas quatro cavidades cardiacas, outras sómente no coração direito; umas vezes no coração apenas, outras nos pulmões tambem.

Para estes investigadores a morte do animal depende inteiramente da localisação, extremamente variavel e fortuita, dos referidos coagulos; e, como corollario, entendem que ou se ha de banir o methodo das injeções intravenosas sempre que se pretenda determinar a toxidez dum liquido, o qual seja, como a urina, dotado de propriedades coagulantes, para não confiar ao acaso o resultado da experiencia que ha de revelar e medir o seu valor toxico, ou terá de ser evitada a coagulação. E foi para conseguirem este desiderato que aconselharam adicionar á urina o sôro de enguia, a cujas propriedades anticoagulantes exclusivamente attenderam, commettendo o grave erro de esquecer a sua notavel toxidez, que iria falsear os resultados de todas as determinações feitas com a urina e aliás com outro liquido qualquer (1).

---

(1) A injeção intra-vascular de muito pequenas quantidades de sôro de enguia determina no coelho, com extrema rapidez, le-

Depois aproveitaram as indicações dadas, havia já muitos annos, por HAYCRAFT, ácerca das propriedades anti-coagulantes do liquido boccal da sanguesuga officinal.

Em face das suas experiencias, fez este auctor a affirmação de que a injeção nas veias dum animal (cão ou coelho) dum extracto preparado com tres ou quatro sanguesugas não determina «perturbações geraes muito apreciaveis» e torna o sangue incoagulavel.

JOFFROY e SERVAUX começaram por empregar o extracto alcoolico de cabeças de sanguesugas; mais tarde, tendo reconhecido que o mesmo effeito anti-coagulante podia obter-se com o macerado (1), substituíram o extracto por este.

Admittindo por um momento a necessidade ou a conveniencia da adjunção de substancias anti-coagulantes á urina, não encontramos verdadeira justificação para a preferencia dada ao macerado, já porque o extracto é mais facil de manipular (GUILHON), já porque o macerado é sempre acompanhado duma certa quantidade de mucus (CONTEJEAN); dada, portanto, a possivel formação de pequenos flocos de mucus coagulado, é sempre para recear o apparecimento duma embolia. Pela addição de mucus numa certa quantidade, póde a viscosidade adquirida pelo sangue difficultar a circulação no animal; e certos auctores têm notado o apparecimento de convulsões precoces, que faltam quando se emprega o extracto. A preparação deste extracto comporta um tratamento pelo alcool que tem justamente por fim a precipitação e a separação do mucus

---

sões estruturales dos elementos constitutivos dos rins; «é um exemplo notavel da facilidade com que os elementos cellulares podem soffrer modificações histologicas profundas». PETTIT, *Arch. de pharm. et therap.*, 1901, t. VIII, p. 409.

(1) O terço anterior do corpo das sanguesugas, cortado em pequenos fragmentos, era posto a macerar por espaço de 6 horas em agua salgada.

segregado em tão grande abundancia por todo o revestimento cutaneo da sanguesuga.

GUILHON e LESNÉ attribuem egualmente ao poder coagulante da urina a origem duma importante causa de erro na determinação do poder uro-toxico pelo methodo de Bouchard; e, para a removerem, o primeiro destes auctores submete os coelhos a injeções previas daquelle extracto alcoolico; o segundo recorre á addição de chloreto de sodio á urina.

A pratica destes experimentadores será defensavel?

Elles pretendem insinuar que BOUCHARD obteve, para valor dos coefficients uro-toxicos, numeros muito elevados por ter desprezado o preceito de tornar o sangue incoagulavel, de sorte que «o animal morre, não só em virtude da toxidez propria da urina, mas ainda *e talvez unicamente* em consequencia da coagulação do sangue».

Por considerações d'esta ordem, GUILHON é levado a dizer que a uro-toxia deve definir-se — a quantidade de materia toxica que mata um kilo de animal vivo sem produzir a coagulação do seu sangue.

Á expressão «coefficiente uro-toxico» GUILHON pospõe o qualificativo «verdadeiro», por opposição ao coefficiente uro-toxico apparente (coefficiente uro-toxico de BOUCHARD), que elle considera como um coefficiente uro-coagulante, isto é, um numero representativo da quantidade de materia coagulante que a unidade de peso dum dado individuo fabrica na unidade de tempo.

Para os auctores citados e muitos outros, a necessidade do emprego de substancias anti-coagulantes nas experiencias de investigação sobre o poder toxico da urina — impõe-se.

Não assentimos a esta opinião; as experiencias e os argumentos com que a vemos fundamentada não nos parecem convincentes. Discutamo-los, pois.

Registremos, desde já, que a existencia dos coagulos,

cuja formação se pretende tão cautelosamente evitar, não pode offerecer a constancia nem a frequencia, que certos auctores admittem, porquanto outros ha, como MARETTE e ROGER, que jámais os observaram.

GUILHON, o citado auctor que distingue o coefficiente uro-toxico verdadeiro do coefficiente uro-toxico apparente, emprehendeu varias series de experiencias para o estudo comparativo da coagulação do sangue por effeito de injecções intra-venosas de agua distillada pura, de agua distillada com extracto de cabeças de sanguesugas e chloreto de sodio, e de urina.

Na primeira serie de experiencias, «para ficar habilitado a dar uma significação mais precisa aos resultados das subsequentes», praticou GUILHON injecções de agua distillada á temperatura constante de 37° e com a velocidade de 0,5 c. c. por minuto e por 100 grammas de animal.

Os resultados destas experiencias vão por nós resumidos no pequeno quadro que segue:

Numero de ordem das experiencias	Peso do animal	Numero de c. c. injectados por miunto	Numero de c. c. que produzem a morte		Autopsia
			Do animal	De 1000 gr.	
I	2 <sup>l</sup> ,265	11,5	309	136,4	O coração, o figado e os pulmões nada apresentavam digno de nota.
II	2 <sup>l</sup> ,010	10	283	140,8	
III	1 <sup>l</sup> ,950	10	275	141	As cavidades direitas do coração contêm um enorme coagulo escuro, adherente ás paredes ventriculares. Os grandes vasos apresentam tambem coagulos, sobretudo na visinhança do hilo do pulmão.

Estas tres experiencias, de resultados duma grande concordancia numerica, o que GUILHON admira, «attendendo á difficuldade em se encontrar, a despeito de condições experimentaes tanto quanto possivel identicas, animaes que reajam duma maneira absolutamente semelhante a uma acção destructiva na apparencia simples» — são inteiramente dissimilhanes sob o ponto de vista que ora especialmente nos interessa: o da formação das coagulações.

Com effeito, pela narrativa de GUILHON, que no quadro precedente reduzimos ao essencial, sabemos que o exame

necroscopico só mostrou coagulos no animal da 3.<sup>a</sup> experiencia; no da 2.<sup>a</sup> tudo se reduz a alguns flocos de fibrina; no da 1.<sup>a</sup>, «pas de caillots».

A conclusão, realmente bem adversa para o auctor, não vemos que possa ser outra, que não a seguinte: o equivalente hydrotoxico é relativamente constante, emquanto são inconstantes os phenomenos de coagulação; e a ausencia de coagulos coincidiu precisamente com o equivalente hydrotoxico mais forte!

Não attentou elle neste facto; e nas suas deducções finaes chega a pôr em duvida o papel da hemolyse, aliás tam claro como a propria agua distillada de que se servira, e raciocina e procede como se estivera vendo coagulos, onde elle mesmo diz não existirem.

Não sabemos esquivar-nos á tentação de transcrever, sem mais commentarios, as seguintes palavras do referido experimentador, cujos trabalhos nos parecem ser menos bem conhecidos pelos varios auctores, que acceitam, sem discussão, as suas conclusões.

«A morte do animal por effeito de injeções intra-venosas de agua distillada deve ser imputada, ou a uma alteração do sangue, que se torna incapaz de vehicular o oxygenio, ou á sua coagulação, que entrava o movimento circulatorio.

«As investigações de RICHARDSON, de PICOT e de HAYEM ácerca das alterações rapidas dos globulos rubros ao contacto de certos liquidos, da agua em particular, parecem dar razão ao primeiro modo de vêr, mas a presença de coagulos no coração e nos grossos vasos pulmonares vêem em apoio da segunda hypothese e indicam que *«la mort résulte d'un arrêt mécanique de la circulation du sang à la suite de la coagulation de ce dernier»*. Mas o exclusivismo, que esta phrase denuncia, não está afinal nos propositos do auctor; elle faz uma concessão generosa quando, logo a seguir, escreve: — *peut être aussi que les deux effets s'ajoutent*» . . .

Não nos deterá o seu segundo grupo de experiencias, no qual são comparados aos valores precedentes os fornecidos pela agua distillada com extracto de cabeças de sanguesugas e chloreto de sodio, porque o effecto destas adjunções não se reduz a annullar as propriedades coagulantes do liquido, mas modifica tambem a sua concentração molecular; e é desta modificação que dependem os resultados, como resalta á evidencia da circumstancia do equivalente hydrotoxico minimo ter sido encontrado precisamente para uma solução salgada a 9 por 1000, que póde dizer-se isotonica com o sangue do coelho.

E assim caímos nas experiencias do 3.º grupo, incontestavelmente as mais importantes. Vamos analysá-las.

**OBSERVAÇÃO I.** Individuo do sexo masculino, de 26 annos, bem constituido e pesando 26 kilos. Totalidade da urina das 24 horas: 1700 grammas.

*Experiencia I.* A urina, depois da sua neutralisação pelo carbonato de sodio e filtração consecutiva, foi injectada, com a velocidade de 6 c. c. por minuto, a um coelho de 1250 grammas; 117 c. c. produziram a morte, ou seja 95 c. c. por kilo de animal. Na autopsia encontraram-se coagulos no coração e numa veia pulmonar.

*Experiencia II.* Nova porção da mesma urina foi injectada depois da addição do extracto de sanguesugas, com a velocidade de 7 c. c. por minuto a um coelho de 1410 grammas. A terminação fatal sobrevem com 162 c. c.; a cada kilo de animal correspondem, pois, 115 c. c.

O auctor descreve os phenomenos apresentados pelo animal no curso da intoxicação; á parte outras ligeiras modificações nas qualidades toxicas da urina, nota-se, nesta segunda experiencia, o apparecimento de repetidas convulsões. Nas restantes experiencias em que á urina foi associado o extracto de sanguesugas este phenomeno observa-se com uma frequencia insolita.

Calculando pela fórmula de BOUCHARD o coefficiente uro-coagulante e o coefficiente uro-toxico desta urina, teremos :

$$\text{OBS. I} \left\{ \begin{array}{l} \text{Exp. I... Coefficiente uro-coagulante} = \frac{1700}{73 \times 95} = 0,247 \\ \text{Exp. II... } \quad \quad \quad \text{uro-toxico} = \frac{1700}{73 \times 115} = 0,202 \end{array} \right.$$

$$0,247 : 0,202 :: 0,82 : 1.$$

O coefficiente uro-toxico representa, portanto, 0,82 do coefficiente uro-coagulante.

Para tornar tam succinta quanto possivel esta exposiçãõ, limitar-nos-emos, nas referencias ás restantes observaçoẽs de GUILHON, a indicar o valor dos dois coefficientes, calculados como fica dito, com os resultados que este investigador obteve.

$$\text{OBS. II} \left\{ \begin{array}{l} \text{Exp. III... Coefficiente uro-toxico} = 0,206 \\ \text{Exp. IV... } \quad \quad \quad \text{uro-coagulante} = 0,160 \end{array} \right.$$

$$\text{OBS. III} \left\{ \begin{array}{l} \text{Exp. V... Coefficiente uro-toxico} = 0,186 \\ \text{Exp. VI... } \quad \quad \quad \text{uro-coagulante} = 0,163 \end{array} \right.$$

$$\text{OBS. IV} \left\{ \begin{array}{l} \text{Exp. VII... Coefficiente uro-toxico} = 0,195 \\ \text{Exp. VIII... } \quad \quad \quad \text{uro-coagulante} = 0,171 \end{array} \right.$$

$$\text{OBS. V} \left\{ \begin{array}{l} \text{Exp. IX... Coefficiente uro-toxico} = 0,335 \\ \text{Exp. X... } \quad \quad \quad \text{uro-coagulante} = 0,268 \end{array} \right.$$

$$\text{Média dos coefficientes uro-coagulantes} \dots\dots\dots = 0,234$$

$$\text{Média dos coefficientes uro-toxicos} \dots\dots\dots = 0,193$$

Relaçãõ dos dois coefficientes :

$$\text{OBS. I} \dots \frac{0,202}{0,247} = 0,82.$$

$$\text{OBS. II... } \frac{0,160}{0,206} = 0,77.$$

$$\text{OBS. III .....} = 0,87.$$

$$\text{OBS. IV.....} = 0,87.$$

$$\text{OBS. V .....} = 0,80.$$

$$\text{Média .....} = 0,82$$

É assás constante esta relação, e isso nos basta.

É bem certo, como diz BERNARD duma maneira geral, que «dans la mesure des phénomènes biologiques on ne peut espérer obtenir des nombres d'une rigueur mathématique; il convient de se contenter de déterminer des rapports numériques, suffisants pour reconnaître les lois de ces phénomènes».

Os numeros por que é representada a toxidez das urinas normaes ou pathologicas, não tõem, não podem ter valor absoluto; em breve mostraremos como elles variam, o que aliás era facil de prevêr, com a technica adoptada por cada investigador. O que importa é procurar reconhecer, graças a uma technica fixa, se uma urina é hypertoxica ou hypotoxica; e que não haja, na propria applicação do methodo de investigação, factores que viciem não só os termos numericos, mas ainda as relações entre estes termos.

Ora, parece-nos fóra de duvida que as citadas experiencias de GUILHON não podem entrar na categoria destas causas de erro.

Outras experiencias do mesmo auctor e publicadas na mesma obra, võem afinal corroborar a nossa asserção. Assim é que, estudando num quarto grupo de experiencias, pelo mesmo methodo comparativo, a toxidez de urina de individuos portadores de neoplasmas malignos, epithe-

liaes, aquelle investigador obtém resultados, que nos dão para valor dos coefficients uro-toxico e uro-coagulante em cada caso, numeros cuja relação, comquanto diversa da serie precedente, é egualmente constante. O seu valor médio é de 0,62.

Outros auctores, como GAUDIER, HILT (1) e SURMONT (2), determinaram pelo methodo de BOUCHARD o coefficiente uro-toxico (coefficiente uro-coagulante de GUILHON) de urina de doentes desta mesma natureza. É certo que os coefficients por elles encontrados divergem, por superioridade numerica, dos de GUILHON, da mesma sorte que o coefficiente uro-toxico normal de BOUCHARD é superior ao *coefficiente uro-toxico verdadeiro*, mas — e é precisamente isso que devemos notar — a relação entre os coefficients uro-toxicos dos cancerosos e o coefficiente uro-toxico normal (GUILHON) é sensivelmente analogá á que foi encontrada na mesma doença, mas com coefficients differentes, por GAUTIER, HILT e SURMONT, empregando o methodo de BOUCHARD.

Finalmente na obra citada deparou-se-nos uma experiencia, que reputamos decisivamente adversa á these que o auctor pretende sustentar. Com effeito, GUILHON, conhecedor dos trabalhos de FELTZ e RITTER sobre a toxidez dos saes de potassio, depois de haver notado que nalgumas das suas experiencias em animaes, cujo sangue havia sido tornado incoagulavel pelo processo já indicado, era necessario, para que se desse a terminação fatal immediata, injectar urina numa quantidade que excedia a que era licito prever em face das conclusões daquelles auctores, e que por este facto pareciam contestaveis, foi soccorrido pela ideia de que os saes de potassio poderiam talvez

---

(1) *C. R. de la Société de Biologie*, 1894, pag. 822.

(2) *Arch. gén. de méd.*, 1892, pag. 324.

dever a propriedades coaguladoras uma parte da sua toxidez.

Para resolver a questão injectou num primeiro coelho uma solução de chloreto de potassio a 3 0/0. A quantidade de liquido que produziu a morte foi de 136<sup>c. c.</sup>, isto é, 65 c. c. por kilo de animal. Pela autopsia verificou-se a ausencia de coagulos no coração e de alteração na côr dos pulmões. Num segundo coelho, que previamente havia recebido uma injeccão de 20 c. c. de extracto de cabeças de sanguessugas, foi egualmente introduzida na veia marginal da orelha a mesma solução de chloreto de potassio e verificou-se ser necessaria uma dóse de 107 c. c. para matar um kilo de animal, ou seja quasi o dobro da mesma solução toxica para obter o mesmo effeito toxico da experiencia precedente.

Acaso poderá ser incriminada, na explicação desta differença, uma coagulação do sangue do primeiro animal?

A resposta deu-no-la GUILHON ao descrever a autopsia: «Pas de caillots visibles dans l'appareil circulatoire; coloration normal des poumons».

A addição do extracto de sanguessugas altera, pois, as condições da experiencia independentemente da questão das coagulações; e introduz uma causa de erro attenuando a toxidez. Não nos parece, na verdade, que seja sem inconvenientes alterar o meio hematico do animal, que vae ser utilizado para a experiencia: as materias albuminoides, que elle contém, podem e devem soffrer, ao contacto do extracto de sanguessugas, reacções que modificam as condições dentro de limites não identicos para todos os casos, e que é impossivel calcular.

Empregar, portanto, o extracto de sanguessugas, equivale a substituir, por uma causa de erro importante, a outra, muito hypothetica, da formação de coagulos. A inconstancia, a raridade deste phenomeno, demonstra que

elle deve ser respeitado, se quizermos operar em condições sempre as mesmas.

LESNÉ (1) procurando igualmente conhecer a nocividade uro-coagulante, instituiu varias experiencias em que substituiu pelo chloreto de sodio, de conhecidas propriedades anti-coagulantes, o extracto de cabeças de sanguesugas empregado por GUILHON. Injectou, para confronto de resultados, urinas normaes e pathologicas, quer sem modificação alguma, quer após a adjuncção daquelle sal na proporção de 10 c. c. dum soluto a 10 0/0 para 100 c. c. d'urina. Analysemos esses resultados, que para o auctor são de molde a evidenciar a necessidade da addição do sal anti-coagulante á urina, cujo coefficiente toxico se pretende determinar.

Foram doze as experiencias realizadas, repartidas por quatro grupos.

Na primeira serie empregou urina de adultos sãos; na segunda, de adultos doentes; na terceira, de creanças sãs; na quarta, de creanças de peito com gastro-enterites.

Eis, por ordem decrescente do poder toxico da urina em natureza, os valores dos equivalentes uro-toxicos e dos uro-coagulantes:

---

(1) Obr. cit., pag. 30.

Experiencias		Resultados	
Numero de ordem na sua respectiva serie	Serie a que pertencem	Dose toxica por kilo de animal	
		Urina sem addição de NaCl	Urina com addição de NaCl
2	IV	13,88	20
* 1	II	16	73,33
4	IV	19	26
5	IV	23	31
1	IV	23,33	31,84
* 4	II	49,16	95
* 1	III	53,67	85,15
3	II	60	81,58
* 2	II	63,24	121
2	III	73,32	100
2	I	86	103,68
1	I	110	165

Uma rapida inspecção deste quadro mostra que o grau de *nocividade* é parallelamente decrescente nas duas columnas dos resultados, salvo para as experiencias que têm um signal á margem; e, duma maneira mais geral, aberta uma excepção apenas para a experiencia 1 da serie II, uma urina que era primitivamente hypertoxica, continua-o sendo após a addição do sal anti-coagulante, e semelhantemente uma urina hypotoxica persiste hypotoxica.

Ainda nestas experiencias as relações não mudam, mas

sómente os numeros isolados; e, num trabalho de physiologia applicado á clinica, esta constancia de relações nos basta. Discordamos portanto da opinião de LESNÉ e, para a podermos rejeitar ainda mais fundadamente, transcreveremos as suas proprias palavras: «C'est seulement avec les urines additionnées de NaCl que nous avons obtenu des crises convulsives chez le lapin».

A phrase é manifestamente contraria ao fim que o auctor se propõe, porquanto diz-nos que a addição do sal não é isenta de inconvenientes. O facto a que nella se allude não nos causou grande surpresa; mais ou menos o haviamos previsto, pelo conhecimento dos trabalhos de HOFFMANN e BOHNE (1), contemporaneos dos de LESNÉ, embora com outro objectivo, e que vieram, com effeito, tornar conhecida a grande facilidade com que se podem produzir convulsões num animal intoxicado por pequenas doses de chloreto de sodio. Dahi o nosso receio de que a introdução deste sal vá modificar qualitativamente a toxidez da urina. E deve modifica-la tambem quantitativamente, alterando as condições de tensão osmotica, de que em breve nos occuparemos.

Assim responderemos á pergunta, que naturalmente occorre fazer, sobre se a addição de chloreto de sodio não irá communicar á urina alguma qualidade nova ou modificar em sentido quantitativo alguma das já existentes.

Aquella phrase de LESNÉ tem applicação ao caso. Mas o conhecimento dos effeitos physiologicos das injeções de sôro artificial permite talvez ir um pouco mais além. Assim é que, tendo as recentes investigações de TOMPSON (2) posto em relevo os notaveis effeitos diureticos das injeções de doses minimas de chloreto de sodio, devemos

(1) *Deutch. Archiv. f. klin. med.* 1898. Bd. Lx pag. 603.

(2) *Journal of Physiol.* xxv, 1901, pag. 487.

suppôr que os efeitos diureticos da urina ensaiada serão modificados pela operação additiva de LESNÉ (1).

Por ultimo, as experiencias que LESNÉ invoca para estabelecer a existencia do poder uro-coagulante são muito complexas e podem ser interpretadas diversamente. Pela addição de NaCl á urina vê-se a sua toxidez diminuir; mas não devemos esquecer que este sal pôde formar combinações estaveis com as substancias organicas; está especialmente bem estabelecida a existencia das combinações da glucose e dos albuminoides com o sal marinho; ora, é bem possivel que estas combinações sejam menos toxicas que as substancias primitivas.

Já tivemos occasião de dizer, quando nos referimos á discutida frequencia do apparecimento de coagulos no coração e nos vasos dos animaes mortos por injecções intravenosas de urina, que alguns observadores jámais os notaram. É por isso licito suppor que aquelles auctores, que os descrevem como de grande frequencia, se collocaram em más condições para a autopsia dos seus animaes, talvez por terem sido menos diligentes na pratica desse exame. De facto, BERNARD (2), considerando o animal morto desde o momento em que cessaram os movimentos respiratorios e procedendo acto continuo ao exame necropsico, em 24 experiencias, com urina humana, obteve o seguinte resultado:

Coagulos no coração direito.....	2 vezes
Ausencia de coagulos .....	22 »

Pela descripção do auctor se vê além disso que, num

(1) 2 a 5 c. c. duma solução isotonica de NaCl por kilo de animal são sufficientes para provocar rapidamente uma diurese muito sensivel, que pôde representar mais de 100 vezes a quantidade de liquido injectado.

(2) Obr. cit., pag. 192.

dos dois casos em que havia coagulos, a agonia do animal foi muito prolongada; e certamente foi durante este periodo que os coagulos se formaram.

As duas urinas coagulantes eram hypotoxicas; entre as não-coagulantes havia umas de toxidez normal, outras hypertoxicas e as restantes hypotoxicas: o que mostra a ausencia de relação entre as propriedades coagulantes da urina e a sua toxidez.

MAZAUD (1), descrevendo os resultados da autopsia, praticada sem delongas, de animaes que succumbiram á intoxicção intra-venosa de urinas de esscarlatinosos, escreve as seguintes palavras: — «Presque toujours le cœur continuait à battre quelques minutes, et jámais soit dans le cœur, soit dans les gros vaisseaux nous n'avons relevé trace de la moindre coagulation; du fait sans doute de la dilution par l'urine, le sang paraît beaucoup plus fluide qu'à l'état normal».

Interrogando a respeito do phenomeno da formação dos coagulos as experiencias em que CLAUDE e BALTHAZARD têm estudado o poder toxico da urina (e são ellas em numero superior a 400, algumas das quaes vão já occupar-nos no capitulo immediato para lhe rebatermos a certo respeito as conclusões) reconhecemos ser baldado o trabalho de os pesquisar, assim no coração como nos vasos (2).

Afigura-se-nos agora que podemos julgar-nos de posse de seguros motivos senão para negar absolutamente o chamado poder uro-coagulante, ao menos para o pôr em duvida.

O que é indubitável é que a importancia desta causa de erro, se ella existe, tem sido singularmente exagerada. O emprego de substancias anti-coagulantes modifica o valor

(1) *Les urines au cours de la scarlatine*, Paris, 1898, pag. 46.

(2) *Journ. de Phys. et de Path. génér.*, 1900, n. 1.

numerico, mas não em regra a relação dos equivalentes toxicos das urinas, e póde viciar a experiencia alterando o meio interior do animal-reagente ou a constituição toxica do liquido d'ensaio; deve, pois, ser abandonada nas experiencias de determinação do poder uro-toxico. Se a propria coagulação, quando chegue a produzir-se, fôr um effeito toxico — e nada se oppõe a que assim seja, antes o leva a crer a inconstancia do phenomeno, supprimi-la será falsear a experiencia.

Nas experiencias de determinação da toxidez da urina e do sôro, tem por varios auctores sido conferida uma alta importancia a certas propriedades destes liquidos em virtude das quaes seriam destruidos os globulos do sangue do animal, que soffresse a transfusão: porque dahi resultaria ser posto em liberdade o fermento da fibrina, e a formação de coagulos (KÖHLER, NAUNYN e PAGANI).

Em face das considerações expendidas podemos julgar sufficientemente discutida esta opinião na parte que respeita á urina.

Para outros (PIANNIZZI, ALBERTONI, LANDOIS e HUETER), estes globulos alterados iriam formar embolias nos capillares (1).

Finalmente, CASTELLINO, que attribue á *nucleina*, actuando como zymogeneo do fermento da fibrina e posta em liberdade pela acção globulicida do liquido injectado, os effeitos coagulantes da urina e do sôro, admite que

---

(1) *Il policlinico*, 1899, n.º 19, pag. 796.

«as pretensas qualidades toxicas daquelles liquidos se reduzem fundamentalmente ás suas propriedades globulicidas» (1).

Por seu lado BERNARD affirma que «o poder globulicida da urina não tem sido devidamente estabelecido *in vitro* nem *in vivo*; sabe-se, pelo contrario, da technica histologica que a maior parte das urinas conservam muito bem as hemacias. É só theoreticamente, sob o influxo de considerações attinentes aos phenomenos physicos da tensão osmotica, que se tem supposto que a urina exerceria uma acção globulicida» (2).

Contrariamente ao modo de pensar do seu auctor, estas palavras não valem um argumento de defesa do methodo de BOUCHARD, pois não traduzem rigorosamente a verdade.

Vamos mostral-o. Comecemos por analysar a segunda parte da proposição.

## II. O papel da tensão osmotica na avaliação do poder uro-toxico

Graças, especialmente, aos trabalhos de VANT'HOFF sobre a pressão osmotica, foi nos ultimos annos introduzida nas sciencias biologicas uma noção nova: — a da isotonia ou da egualdade das tensões osmoticas das soluções aquosas.

Sempre as grandes descobertas realizadas no dominio das sciencias physicas têm tido a sua repercussão immediata no estudo dos phenomenos physiologicos e pathologicos da vida animal e vegetal.

Logo que H. DE VRIES reconheceu que as membranas de envolvero das cellulas vegetaes se comportavam como

---

(1) *Sulla tossita del siero de sangue*, etc., Millano, L. VALLARDI, 1895.

(2) BERNARD, loc. cit., pag. 198.

membranas semi-permeaveis, a physiologia dos seres vivos passou a ser estudada á luz dos principios da tensão osmotica.

Os trabalhos de HAMBURGER, de KORANYI, de WINTER, de FANO e BOTAZZI permitem-nos hoje considerar sob um ponto de vista inteiramente novo certas questões, e não das menos importantes, da physiologia geral. Estamos até um tanto propenso a crer que as hypotheses ousadas, que estes trabalhos suscitaram, precederam a accumulção de factos sufficientemente numerosos e estabelecidos que deviam servir-lhes de fundamento. Talvez se tenha um pouco injustamente deixado na sombra a participação activa e intelligente dos elementos proprios do organismo, para se considerar nas trocas nutritivas sómente uma perpetua applicação da lei que tende a equilibrar mathematicamente as pressões dos liquidos organicos.

Seja porém como fôr, e qualquer que venha a ser a sorte que o futuro reserve a estas concepções, é indispensavel para a sequencia do nosso estudo indicar a sua natureza e examinar o alcance da sua applicação ao caso sujeito.

Na platina do microscopio, com cellulas vegetaes vivas e intactas, verificou DE VRIES, que o protoplasma cellular, em presença dum soluto de concentração molecular superior, perde da sua agua de constituição; soffre, por conseguinte, uma certa retracção; a este phenomeno foi dado o nome de plasmolyse. As mesmas cellulas, mergulhadas numa solução hypoconcentrada, em vez de se retrahirem, tumefazem-se. O equilibrio só se estabelece quando ha isotonia entre o succo cellular e o meio exterior.

O phenomeno de plasmolyse foi estudado por HAMBURGER nas cellulas animaes e especialmente no sangue.

Este auctor observou nas hemacias phenomenos identicos aos descriptos por DE VRIES nas plantas. Ha equili-

brio osmotico entre o conteúdo dos globulos e o plasma sanguineo; as funcções daquelles ressentir-se-ão, pois, se a concentração deste fôr modificada.

Um globulo rubro numa solução de NaCl a 0,55% tumefaz-se por absorpção de liquido e a sua hemoglobina diffunde-se no meio ambiente; nisto consiste o phenomeno da hematologyse. Se pelo contrario a solução fôr a 2%, o globulo reduz-se de volume por perda de agua.

Entre estes dois extremos está a solução que realisa o estado de equilibrio osmotico com o globulo rubro e, portanto, com o sôro. Immerso, com effeito, numa solução de NaCl a 9%, o globulo comporta-se como se fôra banhado pelo plasma sanguineo; ha pois neste caso isotonia. Mas sempre que este equilibrio não fôr estabelecido, isto é, quando o liquido fôr hypotonico ou hypertonico haverá absorpção ou perda de agua. A força que produz este movimento — *força attractiva de agua* (SPANKRAFT), recebeu o nome de *tensão osmotica*.

O que se passa *in vitro* permite-nos a previsão do que se deve passar no animal vivo, quando no seu systema vascular fôr introduzido um liquido não isotonico com o sangue.

A urina humana, que em regra tem uma tensão osmotica mais elevada que o sangue de coelho, sendo só muito excepcionalmente hypotonica; que, em summa, não é isotonica, deve, quando injectada no systema circulatorio daquelle animal, produzir alterações globulares que são a expressão de phenomenos physicos, e não toxicos.

Assim se comprehende como a urina seja dotada dum poder globulicida, cujas manifestações vêm viciar os resultados das experiencias de determinação do seu poder toxico. É o que dizem recentes investigadores, que por considerações deste theor justificam a necessidade de proscrever o methodo das injeções intra-venosas de urina em natureza.

Entretanto, como noutro capitolo demonstraremos, a urina póde manifestar propriedades globulicidas que não sejam a expressão das leis osmoticas. Não deixaremos tambem de notar desde já, que nem todos os corpos estão egualmente submettidos a estas leis; assim, por exemplo, as soluções de uréa actuam sempre sobre as hemacias como a agua distillada, seja qual fôr a sua concentração molecular.

Por outro lado ainda, HAMBURGER demonstrou que os phenomenos de hemolyse, observados *in vitro*, nem sempre se produzem *in vivo* no sangue circulante; talvez os effeitos devidos á falta de isotonia sejam quasi totalmente compensados pela acção da causa, qualquer que ella seja, que mantem constante a força hydrophila das hemacias: «quando é injectada no sangue uma solução hypertonica ou hypotonica, o equilibrio osmotico do meio sanguineo não tarda a restabelecer-se e a força hydrophyla das hemacias fica constante» (HAMBURGER e HEIDENHAIM).

Poder-se-ia todavia dizer que, se as leis osmoticas não intervêm, no caso de injecções de soluções anisotonicas como a urina, para produzir a destruição globular, podem entretanto determinar no seio dos succos cellulares da economia, onde o sangue transporta as substancias injectadas, phenomenos de plasmolyse generalisada, puramente physicos, que virão perturbar o estudo da toxidez propriamente dita.

Importa, pois, verificar o facto e precisar em que medida os phenomenos de tensão osmotica interferem nas experiencias de avaliação do poder uro-toxico.

Crêem muitos auctores, que pelo facto de a urina humana e o sôro do coelho não serem equimoleculares, a doutrina da toxidez urinaria, estabelecida por BOUCHARD antes do advento das novas noções sobre a isotonia, não repousa sobre bases solidas. HYMANS VAN DEN BERGH vae

até á affirmação de que «esta ordem de investigações recebeu um golpe mortal» (1).

Áparte esta opinião radical, a critica ao methodo de BOUCHARD, iniciada e sustentada especialmente na Allemanha, e assente nos principios que vimos de expôr, tem sido essencialmente formulada nos seguintes termos: — A tensão osmotica das urinas é muito variavel e a do sangue é quasi constante; a injeccão em proporção notavel duma urina de tensão osmotica muito elevada nas veias dum animal, deve modificar brusca e sensivelmente a tensão osmotica do plasma sanguineo e quebrar, em detrimento dos elementos figurados, a isotonia deste plasma, a qual representa a condição physica da acção normal dos globulos e até da sua existencia.

CLAUDE e BALTHAZARD tomaram sobre si o encargo de determinar experimentalmente a parte que deve ser reservada aos phenomenos physicos de plasmolyse dos elementos cellulares na avaliação da toxidez chimica da urina pelo methodo das injeccões intra-venosas.

Do resultado desses estudos nos vamos occupar detidamente.

Seja-nos, porém, permittido abrir aqui um parenthesis a fim de resalvarmos uma verdade historica, pois não desejâmos encetar a exposição e a critica dos trabalhos de CLAUDE e BALTHAZARD sobre a «osmotoxidez» da urina, sem deixarmos consignado que o professor BOUCHARD já anteriormente ao conhecimento das leis da tensão osmotica tinha notado, como se infere com toda a clareza da leitura dalguns trabalhos seus, que as variações de densidade da urina — elle não dizia ainda as variações da isotonia — exercem uma influencia sobre o grau de nocividade de acção da

---

(1) *Zeitschr. f. Klon. med.* Bd. xxxv, 1898, cit. por BERNARD.

urina injectada ; que a agua distillada mata na dóse media de 100 c. c. por kilo de animal, ao passo que com uma solução salgada a 7‰ se pode chegar a sextuplicar a massa do sangue antes de provocar a morte que, quando sobrevem, é o resultado da distensão excessiva do systema vascular e de rupturas capillares, ficando os globulos indemnes, emquanto a agua distillada os intumescce e dissolve a hemoglobina ; que a morte por injeção de agua salgada só é produzida sendo a introdução do liquido feita muito rapidamente, pois se a absorção fôr moderada por fórma a realisar-se proporcionalmente á capacidade secretoria renal, póde fazer-se penetrar no sangue e eliminar pelos rins, num dado espaço de tempo, sem provocar accidentes, uma quantidade de liquido vinte vezes superior á totalidade da excreção urinaria normal no mesmo tempo.

As experiencias de DASTRE e LOYE sobre a lavagem do sangue vieram, com o emprego doutra via de introdução (BOUCHARD havia recorrido á via intra-bronchica), demonstrar o mesmo facto.

Finalmente BOUCHARD estabelecera que certas urinas actuavam como a agua salgada, sendo menos toxicas que a agua distillada. Eram urinas de individuos affectados de nephrite intersticial, nos periodos visinhos da uremia ; a maior parte das materias toxicas ficavam retidas e apenas certas substancias — um pouco de urêa e saes, sobretudo chloreto de sodio — se eliminavam e davam á urina a moderada densidade que preservava os globulos da destruição. BOUCHARD não dizia o grau de tensão osmotica que a fazia isotonica.

Tinha este auctor razões de sobra para não desconhecer a influencia physica exercida sobre os globulos pela maior ou menor concentração da urina injectada.

Segundo cremos foi elle o primeiro a abordar este assumpto experimentalmente. Para o seu processo de dosa-

gem dos globulos do sangue no estado fresco chegou a descobrir, por tentativas, recorrendo ao microscopio, um liquido que não provocava nenhuma modificação na composição das hemacias; que não augmentava nem diminuía as suas differentes dimensões; que, pela sua densidade, pela maior ou menor quantidade de saccharose contida em dissolução, era indifferente: dir-se-ia hoje — isotonico (1).

As primeiras tentativas de MALASSEZ, para a obtenção de um liquido indifferente aos globulos rubros, são posteriores áquellas a que vimos de nos referir. Todavia, BUCHARD, que revela ter tido a noção da influencia, nociva para os globulos, da mistura do sangue com uma solução de substancias solidas duma concentração demasiadamente reduzida ou elevada; que applicou esta noção, mostrando que em virtude das substancias dissolvidas, a urina póde ser menos toxica que a agua distillada, antes de DE VRIES publicar os seus trabalhos sobre a força de turgescencia nas cellulas vegetaes, antes de HAMBURGER emprehender a sua serie de estudos sobre a influencia que as soluções salinas exercem sobre os globulos, antes de VANT'HOFF ter estabelecido as leis da tensão osmotica, — aceita como justa a critica feita ao seu methodo e formulada nos termos já expostos; e patrocina com toda a auctoridade do seu nome as conclusões de CLAUDE e BALTHAZARD. Nós não as perflhamos; ao contrario, contestando-lhes o valor, propomos sustentar a seguinte these: — a anisotonia da urina em relação ao sôro não deve preoccupar-nos na determinação do seu poder toxico pelo methodo das injecções intra-venosas.

---

(1) *C. R. de la Soc. de Biol.*, 1870.

CLAUDE e BALTHAZARD consideram na toxidez global da urina dois elementos distintos:— a acção nociva das substancias toxicas que ella contém, e a *osmotoxidez* (1) devida á falta de isotonia da urina com o sangue.

Designando por U a toxidez experimental, por T a toxidez chimica e por I a osmonocividade, será:  $U = T + I$ .

Numa primeira serie de experiencias ácerca das relações entre a «toxidez verdadeira» (toxidez chimica) duma solução e a sua tensão osmotica, aquelles auctores chegaram ás conclusões seguintes: (2).

1.º — Em solução isotonica a toxidez verdadeira é inversamente proporcional ao volume da diluição.

2.º — Em solução não isotonica a relação precedente é ainda exacta, sob a condição de que as soluções ensaiadas tenham a mesma falta de isotonia em relação ao organismo do animal em experiencia.

3.º — Em solução não isotonica a toxidez verdadeira duma substancia cresce com a falta de isotonia.

Estas proposições têm no debate uma importancia minima; não nos occupámos por tal motivo das experiencias que as fundamentam, e que foram feitas com soluções simples de substancias toxicas (sulfato de strychnina ou chlorhydrato de morphina). Reproduzimo-las comtudo, por termos de alludir a uma interpretação que uma dellas re-

(1) Por este termo exprimem os auctores uma acção physica, não verdadeiramente toxica; é pois preferivel dizer — *osmonocividade*.

(2) *C. R. de la Société de Biologie*, 1899, pag. 430.

cebeu da parte de BERNARD (1) e que não está, manifestamente, no pensamento dos seus auctores.

Em publicações subsequentes apresentaram dois processos de suppressão das causas de erro inherentes á osmonocividade, a saber: — tornar a urina isotonica com o sangue do coelho, mediante a diluição com agua distilada ou — caso raro — por meio da addição de NaCl; — effectuar a correcção por intermedio duma formula e duma taboa de valores deduzidos das suas experiencias, uma vez determinada a toxidez global das urinas anisotonicas.

\*

Para determinar o gráu de nocividade, que deve ser imputado á anisotonia (osmonocividade) na génese dos accidentes toxicos mortaes, parece licito subordinar o trabalho experimental ao seguinte raciocinio.

Tomemos uma urina qualquer, injectemo-la e determinemos a sua toxidez; como a tensão osmotica desta urina differia da do sangue do animal, a toxidez determinada comprehenderá as alterações phisicas resultantes desse facto e as acções chemicas a que é devida a toxidez propriamente dita.

Tomemos seguidamente outra porção de urina da mesma proveniencia e reduzamo-la, por uma diluição prévia, á tensão osmotica do plasma sanguineo e procedamos de novo á determinação da dóse necessaria para a producção do effeito mortal; como foi evitada a alteração da tensão osmotica do plasma, foi eliminada a osmonocividade e

---

(1) Obr. cit., pag. 203.

obtida a toxidez verdadeira. Por uma simples differença facil será calcular o coefferente da osmonocividade na primeira experiencia.

Assim procedeu LESNÉ, que estudou comparativamente no coelho os effeitos toxicos da urina em natureza e depois de tornada isotonica com o sôro. Para conseguir este ultimo resultado fundou-se sobre o facto — que, como é sabido, se verifica quando a osmose se estabelece atravez duma membrana rigorosamente impermeavel ás substancias dissolvidas, — da egualdade de tensão osmotica se realisar quando os dois liquidos, submettidos á cryoscopia, apresentam o mesmo abaixamento do ponto de congelação.

«Adoptei, diz LESNÉ, o processo cryoscopico de RAOULT e DRESER que é baseado no seguinte principio: — duas soluções que contêm egual numero de moleculas no mesmo volume de dissolvente, têm egual ponto de congelação; ora duas soluções equimoleculares são isotonicas».

Ha outros processos para a apreciação da tensão osmotica duma solução: o das cellulas vegetaes DE VRIES, o do hematocrito de HAMBURGER e o do osmometro de PFEFFER.

O processo das cellulas vegetaes DE VRIES é, porém, em physiologia e sobretudo em clinica, duma importancia minima. É falta de precisão, além de nem sempre ser facil encontrar folhas vegetaes que conttenham cellulas proprias para a plasmolyse. Só por uma fôrma indirecta, por meio de diluições successivas, elle poderá servir para medir uma pressão osmotica e, portanto, uma concentração molecular qualquer; com relativa facilidade permite sómente apreciar a isotonia ou a anisotonia duma solução em relação a outra.

Hamburger escolheu para reagente as hemacias.

Pelo processo da hematolyse, que pareceria dever ser o de eleição, porquanto permite observar o facto contra o

qual, segundo as ideias em discussão, nos devemos precaver nas investigações sobre a toxidez urinaria pelo processo das injeções intra-venosas, o calculo duma concentração molecular qualquer é, como no processo DE VRIES, muito complicado.

Em certa ordem de investigações clinicas o seu emprego é mesmo impossivel; por exemplo, quando o liquido a examinar possuir uma côr mais ou menos sanguinolenta, o que não raro succede com as serosidades, ou quando contiver uma substancia destruidora das hemacias.

O osmometro de PFEFFER e bem assim a cryoscopia permitem calcular directamente o numero das moleculas em solução.

Mas o primeiro destes methodos é extremamente delicado, e demanda grandes quantidades de liquido, o que difficulta ou impossibilita o seu emprego á determinação da tensão osmotica dos humores do organismo.

Resta a cryoscopia. É pela sua simplicidade e sufficiente precisão o methodo preferido pelo physiologista.

LESNÉ não justifica no seu trabalho a preferencia dada á cryoscopia; mas, como acabamos de vêr, facil é encontrar razões abonatorias da excellencia deste processo nas suas applicações biologicas em geral; nada diremos por emquanto do que pensamos sobre a sua applicação ao caso sujeito.

A cryoscopia permite apreciar rapidamente a concentração molecular dos humores do organismo.

As leis que regem a pressão osmotica e as da cryoscopia podem condensar-se em duas proposições geraes:

$\alpha$ . Duas soluções equimoleculares tem o mesmo  $\Delta$ ; duas soluções equimoleculares são isotonicas.

Portanto: duas soluções que têm o mesmo  $\Delta$  são isotonicas.

$\beta$ . Duas soluções não equimoleculares não têm o mesmo  $\Delta$  e não são isotonicas; a que encerra mais moleculas

tem um  $\Delta$  mais elevado, possui uma pressão osmótica mais forte, é hipertónica, e vice-versa.

A cryoscopia pôde, pois, servir para reconhecer as modalidades da pressão osmótica: isotonia, hipertonia, hypotonia.

Nos quadros seguintes condensamos, reduzindo-os ao essencial, os resultados das doze observações daquelle auctor:

Urinas normaes			
	Toxidez (l)		Toxidez
$\Delta = \begin{cases} -1,68 \\ -1,68 \end{cases}$	35	$\Delta = -0,59$	35,5
	35		72

Urinas patho'ojicas			
	Toxidez		Toxidez
$\Delta = \begin{cases} -0,76 \\ -1,28 \\ -1,32 \\ -1,16 \\ -0,86 \\ -1,79 \\ -1,85 \\ -2 \\ -1,12 \\ -0,70 \end{cases}$	88	$\Delta = -0,59$	98
	85		77
	56		44
	52		43
	72		125
	63		48
	33		51
	36		28,5
	46		98
	113		118

(1) Já noutra parte tivemos ensejo de mostrar os inconvenientes desta maneira de dizer; é entretanto a que LESNÉ emprega.



	Urina em natureza			Urina isotônica				
	Densidade	Valor de $\Delta$	Equivalente tóxico	Densidade	Valor de $\Delta$	Quantidade de urina contida na dose da mistura mortal para 1 kilo de coelho		
Urina normal	De homem	Exp. I	1021	-1,8	42	1005	-0,59	50
	De cão (passada por filtro de porcelana)	Exp. II	1021	-2,06	254	1007	-0,59	64
		Exp. III	1022	-1,72	244	—	-0,59	+126 ( $\alpha$ )
Urina pathologica	Ictericia chronica; insuficiencia hepatica	Exp. IV	1006	0,72	37	—	-0,59	74
		Exp. V	1017	-1,24	72	—	-0,59	76
	Gotta; nephrite intersticial	Exp. VI	1007,5	-0,77	118	—	-0,59	78
		Exp. VII	1010	0,91	136	—	-0,59	221

( $\alpha$ ) O animal não morreu com 369 c. c. de diluição por kilo do seu peso; nesta massa de liquido havia 126 c. c. de urina.

Os resultados destas experiencias são inquestionavelmente interessantissimos a multiplos respeitos; procuraremos fazer sobresair o valor dos ensinamentos que elles nos fornecem. É, como veremos, decisiva a sua importancia para a regulamentação da technica experimental nas investigações do poder toxico da urina. Um auctor recente (1) avançou a affirmação de que nas experiencias sobre toxidez os phenomenos physicos da osmose desempenham não só um papel preponderante, mas exclusivo. Tal asserção é, porém, formalmente desmentida pela variabilidade numerica representativa da toxidez das soluções isotonicas.

E sendo parcial, será porventura esse papel preponderante? Em tal caso deverá a toxidez estar em relação com o abaixamento do ponto de congelação. Ora as experiencias de BERNARD auctorisam-nos a uma conclusão contraria. Confrontando, na verdade, os coefficients toxicos (servindo-nos da linguagem, aliás incorrecta, daquelle auctor) indicados na 2.<sup>a</sup> columna do quadro immediato, deduzido do precedente, aos correlativos coefficients isotonicos, que se encontram na mesma linha da columna seguinte, desde logo se nota que uma urina não é tanto mais toxica quanto mais elevada é a sua concentração molecular, isto é quanto mais se afasta de  $-0,59$  o seu ponto  $\Delta$ :

Experiencias	Dóse mortal de urina para 1 kilo de coelho, expressa em c. c.	Valor de $\Delta$
IV	37	- 0,72
VI	118	- 0,77
VII	196	- 0,91
V	72	- 1,24
III	274	- 1,72
I	42	- 1,98
II	254	- 2,06

(1) HYMANS VAN DEN BERGH, loc. cit.

A corroborar e a completar a demonstração da influencia accessoria da tensão osmotica estão os Algarismos deste outro quadro, onde as experiencias se encontram dispostas por ordem decrescente do valor toxico: elle nos mostra que as urinas isotonicas tẽem uma toxidez proporcional á das urinas anisotonicas; uma urina hypertoxica persiste hypertoxica depois da correcção isotonica; e semelhantemente para as urinas hypotoxicas. E é isso unicamente o que importa.

Experiencias	Toxidez		Valor de $\Delta$
	Urina em natureza	Urina isotonica	
IV	37	44	— 0,72
I	42	50	— 1,98
V	72	76	— 1,24
VI	118	98	— 0,77
VII	196	221	— 0,91

Não incluimos neste quadro duas das experiencias de BERNARD anteriormente indicadas: a exp. II e a exp. III.

Em ambas estas experiencias a urina foi filtrada pela vela CHAMBERLAND e despojada assim duma parte da sua toxidez. A exp. III não figura no quadro, porque não póde ser interpretada devidamente: Bernard interrompeu a injecção antes da morte do animal.

A exp. II suggerẽ-nos considerações que desejamos deixar desde já consignadas. A urina era duma elevada concentração molecular ( $\Delta = -2,06$ ) e a dóse necessaria para produzir a morte de um kilo de animal foi de 254 c. e.; parece, pois, que os phenomenos de osmose tiveram um papel nullo. E, na verdade, depois da correcção isotonica, esta urina mata na razão de 236 c. e. por kilo, numero

que pouco differe do que havia sido obtido na experiencia com a urina em natureza; o que leva a crêr que a morte deve ser antes imputada á propria massa do liquido do que a qualquer qualidade do mesmo.

Mas o que convém especialmente notar é que o calculo da toxidez, feito neste caso como para as outras experiencias, entrando em linha de conta a diluição para ser obtida a isotonia, quer dizer, deduzindo do numero que representa a dóse mortal a quantidade de agua addicionada, dá um coefferiente de toxidez igual a 64, em vez de 254, que é o da mesma urina em natureza e notavelmente hypertonica!

Seríamos assim conduzidos a admittir que a urina isotonica é muito mais toxica que a urina não isotonica, o que CLAUDE e BALTHAZARD não deixarão certamente de confessar que é um erro.

Devemos pois concluir que o processo de correcção pela diluição vicia as experiencias em muito mais alto grau que os phenomenos devidos á anisotonia da urina.

Não aceitaremos que a urina diluida de maneira a ser tornada isotonica seja mais toxica que a urina em natureza, mas concluiremos que as causas de erro introduzidas nas experiencias, pelo methodo das diluições, podem levar a resultados absurdos.

LESNÉ obteve, como vimos, resultados identicos aos de BERNARD; por elles se vê egualmente que a diluição effectuada para tornar a urina isotonica com o sôro, introduz uma causa de erro no calculo da toxidez real:— uma causa de erro, cuja importancia sobreleva á da osmonocividade.

Pelo que respeita ás qualidades toxicas da urina, BERNARD notou, nas experiencias comparativas a que alludimos, que as mesmas manifestações symptomaticas se succediam pela mesma ordem e com uma regularidade perfeita nos animaes injectados com urina da mesma

proveniencia; sómente nos casos de redução á isotonia esses phenomenos appareciam com um atrazo proporcional á diluição da urina.

\*

Antes de proseguirmos, faremos notar que ha no trabalho de BERNARD uma passagem que merece ser rectificada. O auctor, depois de ter sido levado á conclusão de que «não ha relação entre o coefficiente toxico e o coefficiente isotónico duma urina», accrescenta: «o que é contrario á 3.<sup>a</sup> proposição de CLAUDE e BALTHAZARD» (1).

Na verdade, estes auctores affirmam que — em solução não isotónica, a toxidez verdadeira duma substancia augmenta com a falta de isotonia; e no mesmo trabalho em que se encontra esta proposição, os auctores definem toxidez verdadeira a toxidez chimica das substancias em dissolução na urina.

Uma approximação destas duas affirmações exprime realmente uma opinião opposta á que resulta das experiencias de BERNARD: estas demonstram, com effeito, que a toxidez da urina não está necessariamente em relação inversamente proporcional ao seu coefficiente isotónico. Mas que BERNARD attribue a CLAUDE e BALTHAZARD uma opinião que estes auctores não podem perfilhar, resalta á evidencia do simples facto delles se referirem a uma experiencia com uma urina que congelava a  $-0^{\circ},86$  e que matava na dóse de 17 c. c. por kilo de animal, muito mais toxica, consequentemente, que outra urina que tinha  $-1^{\circ},68$  para valor de  $\Delta$  e 42 c. c. para valor da toxia.

(1) Vid. pag. 61.

CLAUDE e BALTHAZARD não dizem que a toxidez global da urina, tal como é determinada pelo methodo de BOUCHARD, seja tanto maior quanto mais se afaste de  $-0^{\circ},59$  o seu ponto  $\Delta$ ; o que affirmam é que, á parte a acção physica nociva resultante da falta de isotonia (osmoticidade), uma mesma quantidade de substancia toxica exerce uma acção mais importante em solução anisotonica que em solução isotonica. «L'anisotonie de l'urine injectée a pour effet d'amener des échanges osmotiques qui favorisent la diffusion des poisons injectés et accroissent la rapidité de leur action». É a ideia expressa na 3.<sup>a</sup> proposição.

\*

Varios auctores, e entre elles principalmente CLAUDE e BALTHAZARD, disseram: tornemos a urina isotonica com o sangue do coelho, fazendo que ella congele a  $-0^{\circ},56$ , e teremos supprimido a osmonocividade.

Mas o numero que representa a tensão osmotica do sangue do coelho é fixo e invariavel?

Esta pergunta deve naturalmente ser formulada aos que entendem que a urina injectada nas experiencias de determinação do seu poder toxico, deve ter o mesmo ponto de congelação que o sôro de coelho normal.

Para aquelles auctores a invariabilidade deste numero não parece duvidosa, pois admittem que a concentração do sôro deste animal corresponde, como ficou dito, a um abaixamento de  $0^{\circ},56$  e do ponto de congelação da agua: « $0^{\circ},56$  é, na opinião de todos os auctores, o valor de  $\Delta$  do sôro do coelho». Esta affirmacção é menos exacta. O  $\Delta_{\sigma}$  tem sido determinado na serie animal por varios experimentadores; e pelos resultados de que temos conhecimento

vemos que o seu valor no coelho é expresso pelos numeros seguintes : (1).

WINTER.....	1 experiencia	:	-0,57
KORANYI.....	14 experiencias	:	-0,55 a -0,62
KORANYI e FISCH.....	9	>	-0,55 a -0,62
FISCH e MORIEZ.....	33	>	-0,54 a -0,67

Como é pois que CLAUDE e BALTHAZARD supõem que escolhendo um coelho ao acaso operam sobre um animal, cujo  $\Delta$  do sangue é egual a  $-0,56$ ? Aceitemos por hypotese que esse valor é de  $-0,67$ ; nas veias do animal será então injectado um liquido duma concentração inferior, de menos  $\frac{1}{6}$ , á do seu sangue.

LESNÉ e BOUSQUET tomaram para valor de  $\Delta$  nas suas experiencias o numero  $-0,59$ , que mais se approxima da média geral.

Não ha na realidade senão um meio de operar com rigor: é fazer a determinação do ponto de congelação para cada animal. Entretanto, se os auctores tivessem procedido assim, não deixariamos de lhe objectar que a extracção do sangue, na quantidade necessaria para a determinação do seu ponto cryoscopico, constitue um traumatismo equivalente a uma nova causa de erro.

A breve trecho, porém, CLAUDE e BALTHAZARD adoptaram uma nova maneira de proceder, que parece judiciosa: injectaram a mesma urina em graus diversos de concentração; o grau de concentração, correspondente ao minimo de nocividade global, foi considerado como o que supprimia a osmonocividade.

Desta fórmula procuraram os auctores responder á obje-

(1) *Presse médicale*, 1900, pag. 261.

ção de que se a urina isotónica com o sêro poupa o glóbulo rubro, pôde ir entretanto lesar physicamente outros elementos, porventura os mais diferenciados da economia, cujas lesões importem perturbações graves e cuja porosidade molecular é desconhecida. E não se diga que o sangue banhando estas cellulas é isotónico com o seu conteúdo; se assim fosse a vida não existiria, porque não haveria trocas entre o sangue e os tecidos. O que se pôde dizer é que as tensões osmoticas dos diversos tecidos oscillam em torno duma média, representada pela tensão osmotica do sangue; mas quando são injectadas substancias toxicas nas veias, difficil é dizer se a sua osmonocividade será minima quando as soluções injectadas foram isotonicas com o sangue, ou com um qualquer dos tecidos; é mesmo verosimil admittir que este minimo seja obtido no caso da solução ser isotónica com o tecido mais delicado.

Certos auctores foram assim levados a concluir que para a urina humana o ponto de congelação da diluição isotónica (a diluição isotónica sendo assimilhada á que corresponde ao minimo de toxidez global) era  $-0,55$ .

O facto de conhecermos experiencias de HALLION e CARRION, (que, acceitando este numero para  $\Delta_{\tau}$  do coelho, diluiam a urina até que ella apresentasse este ponto de congelação) nas quaes esta diluição comportava, pelo contrario, uma toxidez global exagerada em relação á da urina simples, levava-nos desde logo a não acceitar sem reserva, como geral, a conclusão de CLAUDE e BALTHAZARD.

Occorreu-nos procurar em differenças de technica a explicação desta divergencia. Seguimos, porém, um caminho mais seguro: analysando os trabalhos destes auctores, facil nos foi reconhecer que as suas proprias experiencias se não coadunavam com o gráu de generalidade com que formularam tal conclusão.

Sem allegarem razão alguma operam num conjunto de seis experiencias uma selecção das mais arbitrarías.

Os auctores fundam-se, com effeito, em quatro experiencias, nas quaes o ponto de congelação da diluição que tornava a urina menos offensiva era respectivamente: — 0,56; — 0,55; — 0,55; — 0,54. Não conhecemos pormenores das tres ultimas; mas na primeira memoria de CLAUDE e BALTHAZARD encontramos descriptas tres experiencias, uma das quaes forneceu o primeiro dos quatro algarismos citados, isto é — 0,56. Vamos resumi-la.

Trata-se duma urina que congelava a — 1°,30. A sua toxidez era de uma toxia por 40 c. c.

Progressivamente diluida, verificou-se experimentalmente que a addição de igual volume de agua eleva a dóse mortal da mistura a 100 c. c.

Nesta quantidade de liquido, que equivale a uma toxia, ha 50 c. c. de urina; portanto, 40 c. c. da urina que não diluida e congelando a — 1°,30 continham uma toxia, contêm apenas 0,8 quando a esta urina é addicionado o seu volume de agua.

Diluida com duas vezes o seu volume de agua, a dóse mortal por kilo ascende a 153 c. c. O numero de c. c. de urina primitiva contidos na dóse mortal da diluição é de 51. A toxidez correspondente a 40 c. c. de urina pura será  $\frac{40}{51} = 0,78$ .

Diluida com tres vezes o seu volume de agua a dóse mortal da mistura é, como ha pouco, igual a 153 c. c. Mas o numero de c. c. de urina primitiva que esta dóse contém é apenas 38, e portanto a toxidez correspondente a 40 c. c. da urina não diluida é 1°,05.

Effectuando estas e outras diluições com a mesma urina, os auctores verificam que a toxidez global dum volume determinado vae diminuindo a principio para augmentar em seguida. A toxidez verdadeira essa deve conservar-se

invariavel; e, para lhe determinarem o valor, procuraram o grau de diluição que annullava a osmonocividade.

Com os resultados das suas experiencias constroem uma curva. Numa linha vertical marcam um comprimento que representa uma toxia, quantidade de toxidez contida em 40 c. c. de urina não diluida; e, numa linha horizontal, comprimentos proporcionaes a 1, 2, 3...9, pois á urina ajuntaram successivamente 1, 2, 3...9 vezes o seu volume de agua. Sobre o eixo das abscissas levantam, nestes diferentes pontos, ordenadas, cujo comprimento representa a quantidade de toxidez correspondente ao volume da diluição que contém os 40 c. c. de urina primitiva, isto é, nos ensaios que transcrevemos: 0,8; 0,78; 1,05.

O ponto mais baixo desta curva deve ser aquelle em que a toxidez dos venenos contidos nos 40 c. c. de urina seja menor, quer dizer, aquelle em que a osmonocividade fôr nulla. Este ponto, ao qual corresponde a diluição isotonica, está, como o mostra o traçado da referida curva (1), comprehendido entre as diluições 1 e 2. Para o determinarem exactamente recorreram ao calculo e verificaram que neste caso a diluição isotonica é dada pela mistura de uma parte de urina para 1,32 de agua. Para esta diluição a toxidez dos venenos urinarios contidos em 40 c. c. de urina primitiva é de 0,76. Este valor deve representar a toxidez verdadeira.

Portanto, a quantidade de urina que encerra 1 toxia de toxidez global, seja 40 c. c., contém apenas 0,76 de toxidez verdadeira.

A differença :  $1 - 0,76 = 0,24$ , representa a quantidade de osmonocividade contida em 40 c. c. de urina não diluida. Assim 40 c. c. de urina, que matavam um kilo de animal pela somma da toxidez verdadeira e da

---

(1) *Journ. de Phys. et de Path. génér.*, 1900, n. 1, pag. 59.

osmonocividade, matariam sómente  $0^{\circ},760$  de coelho pela toxidez verdadeira.

Para determinarem o ponto de congelação da diluição isotónica, os auctores fazem o seguinte raciocínio que, se é simples, não deixa de ser, pelo motivo que dentro em breve exporemos, menos exacto: a urina primitiva congelava a  $-1^{\circ},30$ ; pela adição de 1,32 de agua para 1 de urina, obtém-se um volume total de 2,32 vezes o volume primitivo da urina; e, como o mesmo numero de moleculas se encontra dissolvido numa quantidade de agua 2,32 vezes maior, o ponto de congelação da diluição será 2,32 vezes menor, portanto  $\frac{1,30}{2,32} = 0^{\circ},56$ . Eis o numero encontrado para valor de  $\Delta$  da diluição isotónica nesta experiencia.

Em poucas palavras se póde resumir a maneira de proceder de CLAUDE e BALTHAZARD: injectam a um coelho urina em natureza e as suas diluições successivas; e a experiencia mostra-lhes que o volume da urina primitiva contido na dóse mortal vae a principio augmentando, diminuindo em seguida.

Por consequencia a venenosidade dum volume determinado de urina vae decrescendo a principio para crescer depois; ora, a nocividade chimica sendo constante, só a nocividade physica varía, annullando-se na isotonia. Logo, será isotónica a diluição que corresponder ao ponto em que a nocividade total cesse de crescer para começar a decrescer. Representando estas variações por uma curva, a isotonia corresponderá ao ponto mais baixo dessa curva. Determinada experimentalmente essa linha por um certo numero de pontos encontrados pela investigação directa da toxidez das diversas diluições da urina, o ponto mais baixo foi dado pelo calculo. E assim souberam os auctores que o ponto de congelação para a qual havia isotonia era, na experiencia descripta,  $0,55$ . Generalizando os re-

sultados de quatro experiencias deste theor, os auctores formularam este principio: «para supprimir a nocividade physica exercida pela urina em injeção intravenosa, é necessario dilui-la de tal maneira que a mistura congele a  $0^{\circ},56$ » (1).

Impugnamos tal conclusão.

A curva em questão só foi obtida sob a condição de ser desprezado um dos numeros experimentalmente obtidos e que tem como os outros direito a ser representado. Mas ha mais e ha peor: se construirmos as curvas correspondentes ás duas experiencias descriptas a par da precedente, obtemos não o numero  $-0,56$ , mas  $-0,48$  num caso, e  $-1,25$  no outro!

Esta flagrante discordancia diz tudo. É inutil insistir. Portanto e em conclusão: — CLAUDE e BALTHAZARD procedem duma maneira menos rigorosa quando, para tornarem a urina isotonica com o sangue do coelho, a diluem até que o seu ponto de congelação seja  $-0^{\circ},56$ , porquanto o  $\Delta$ , daquelle animal pôde ter um valor muito diverso,  $0,77$  por exemplo (FILTZ e MORIEZ); — CLAUDE e BALTHAZARD deduzem das suas experiencias uma conclusão menos bem fundada; o seu pequeno numero e a maneira por que foram conduzidas não auctorisam a admittir que uma urina que congela a  $-0^{\circ},55$  seja destituida de acção osmonociva.

Os experimentadores esqueceram justamente o que constitue a caracteristica differencial entre as substancias organicas e os saes mineraes, sob o ponto de vista da obediencia ás leis da osmose. As soluções salinas não seguem estas leis rigorosamente. O  $\Delta$  duma solução diluida de certos saes é mais baixo, mais longe de  $0^{\circ}$ , do que se

---

(1) *Soc. de Biologie*, 1900, pag. 525.

podia prever pelo calculo, partindo de  $\Delta$  duma solução concentrada. Parece, em summa, que na solução diluida ha mais moleculas que na solução concentrada. Para explicar este facto, SWANTE ARRHENIUS aventou a hypothese de que certas moleculas se dissociam espontaneamente nos seus iões. Á medida que se vae diluindo a solução vae augmentando o numero das moleculas assim transformadas e o de iões livres, particulas activas que retardam a congelação.

A molecula de NaCl, por exemplo, dissocia-se, segundo a concepção de ARRHENIUS, nos seus iões Na e Cl.

Ora os iões comportam-se como verdadeiras moleculas não dissociadas, e como o ponto de congelação, ou o que vale o mesmo, a tensão osmotica, é função do numero de moleculas, não de moleculas chimicas, mas de moleculas cryoscopicas, de monadas, segundo a expressão de RAOULT (*mollen* dos physiologistas allemães), abrangendo este termo todas as particulas physicas existentes no liquido, a diluição não deixa de influir sobre o ponto de congelação (1).

É o que a experiencia demonstra.

Não se póde portanto admittir que uma urina que congelava a  $-1,3$ , tenha, após a sua diluição com igual volume de agua, um valor de  $\Delta = 0,65$  ou igual a  $-0,13$  quando diluida com nove vezes o seu volume de agua.

Aquelles auctores, para tornarem a urina physicamente indifferente, isotonica com o sôro, para extinguirem a sua acção osmonociva, procedem duma maneira duplamente viciosa. Determinam o  $\Delta$  da urina e suppondo constante o  $\Delta_{\sigma}$  do coelho, calculam a quantidade de agua que é ne-

---

(1) Não desconhecemos que a theoria da ionisação dos saes em soluções diluidas tem sido muito combatida; ella constitue, porém, a melhor explicação dos factos observados.

cessario juntar-lhe para o effeito desejado. Assim, a urina que congela a  $-1,30$  receberá uma quantidade de agua indicada pelo calculo  $\frac{-1,30}{-0,56} = 2,32$ ; quer dizer, a 1 c. c. de urina ajuntar-se-á 1,32 de agua.

Para o sôro esta influencia da diluição é muito grande; é menos accentuada, posto que por vezes notavel, para a urina. Para o sôro, que ora nos não interessa, limitarnos-emos a citar uma das muitas observações comprovativas, de HAMBURGER:

Sôro não diluido. ....	$\Delta = -0,64$
Sôro diluido com cinco volumes de agua ...	$\Delta = -0,136$

Ora, partindo deste valor, o calculo daria para  $\Delta$  do sôro primitivo :  $-0,816$ .

A respeito da influencia da diluição sobre o  $\Delta$  da urina urina referiremos as observações seguintes:

	$\Delta$ observado	$\Delta$ calculado	Diferença
I			
Urina normal.....	0,875	—	—
1 de urina + $\frac{1}{2}$ de agua .....	0,61	0,583	0,027
1 " + 1 " .....	0,45	0,437	0,013
1 " + 2 " .....	0,31	0,291	0,019
1 " + 3 " .....	0,235	0,218	0,017
1 " + 4 " .....	0,19	0,175	0,015
II			
Urina normal.....	1,99	—	—
1 de urina + 1 de agua .....	1,04	0,995	0,045
1 " + 3 " .....	0,53	0,497	0,033
III			
Urina normal.....	1,73	—	—
1 de urina + 1 de agua .....	0,91	0,865	0,045
1 " + 2 " .....	0,66	0,643	0,017
1 " + 3 " .....	0,505	0,432	0,073
1 " + 4 " .....	0,21	0,173	0,037

Inversamente, a investigação do ponto cryoscopico mostra que a concentração diminue o numero dos iões livres e o abaixamento de  $\Delta$  não augmenta parallelamente.

Donde se infere que só experimentalmente e não pelo calculo, se poderá determinar a diluição isotonica (1).

(1) Aos iões dos saes parece caber o desempenho duma importante funcção reguladora nos organismos vivos.

ACHARD e LOEPER communicaram á Sociedade de Biologia de Paris, na sua sessão de 15 de junho do anno corrente (a), o resul-

(a) *C. R.*, n.º 2, 1901.

Para reduzir a urina a um gráu de concentração tal que o  $\Delta$  seja egual a  $-0,56$ , póde ser necessario ajuntar

tado das suas investigações emprehendidas no proposito de determinar a velocidade com que se effectuam as transmissões de substancias entre o sôro sanguineo e as diversas serosidades do organismo. Então foi a estes auctores dado observar o seguinte phenomeno, muito interessante, que se limitam a registrar sem procurar explica-lo: a ingestão de sal marinho determina ao cabo de certo tempo uma sensivel elevação da percentagem de chloreto de sodio do sôro e das serosidades (mais pronunciada e sobretudo mais duradoura nas serosidades), e entretanto o abaixamento cryoscopio destes liquidos augmenta muito pouco ou nada.

Citaremos alguns exemplos:

	$\Delta$	Chloretos (p. 1000)
Sangue:		
Antes da ingestão de NaCl.....	-0,52	7
Depois ".....	-0,52	7,75
Serosidade pleural:		
Antes da ingestão de NaCl.....	-0,46	7,80
Depois ".....	-0,46	8,50
Serosidade de ascite:		
Antes da ingestão de NaCl.....	-0,59	6,80
Depois ".....	-0,595	7,60
Liquido de cephalo-rachidiano:		
Antes da ingestão de NaCl.....	-0,65	6,10
Depois ".....	-0,65	6,80

Os trabalhos de MAILLARD (a) sobre a importancia physiologica da ionisação dos saes, permitem avertar uma explicação para aquelle facto. Sendo certo que o coefficiente de dissociação dos

(a) C. R. de la Soc. de Biologie, 1901, n.º 31.

uma quantidade de agua consideravel; e então, sobretudo se a urina além de hypertonica fôr hypotoxica, a massa liquida injectada produzirá accidentes de plethora no animal que serve de reagente physiologico, e a determinação da toxidez será impossivel.

CLAUDE e BALTHAZARD terão em casos taes de contentar-se com a toxidez global ou de recorrer ás suas fórmulas de correcção, cujo valor discutiremos em breve.

Se a urina fôr duma concentração inferior á do sangue, o valor de  $\Delta$  será tornado igual a  $-0,56$  mediante a addição de NaCl numa quantidade que será indicada pelo calculo.

Supponhamos, por exemplo, uma urina que congele a  $-0,46$ . A dóse de NaCl necessaria e sufficiente para pro-

---

saes dissolvidos se eleva quando a sua concentração diminue, e soffre um abaixamento quando a sua concentração augmenta, é licito pensar que o numero total das particulas dissolvidas, iões livres e moleculas integras, que concorrem conjuntamente para o estabelecimento da pressão osmotica (e por conseguinte, do abaixamento do ponto de congelação), deve variar muito menos que a quantidade bruta da materia existente nos liquidos do organismo.

A variabilidade do coefficiente de dissociação electrolytica, conforme á concentração, deve constituir um poderoso mecanismo regulador das pressões osmoticas, protegendo o organismo contra variações quantitativas muito pronunciadas de substancias normaes, ou mesmo contra a introdução de materiaes nocivos.

É obvio que este papel compensador será desempenhado mais efficaizmente pelos saes fortemente ionizados e susceptiveis de variações importantes no seu coefficiente de dissociação. O chloreto de sodio pertence a este numero.

A questão de saber a função dos saes mineraes, passivos na apparencia, e especialmente do chloreto de sodio, tem sido muito debatida entre os physiologistas. No papel regulador da tensão osmotica estará a sua solução, pelo menos parcial?

duzir um abaixamento de  $0^{\circ},11$  ( $56 - 45 = 11$ ) do seu ponto de congelação será dada pelo quociente  $\frac{40}{60} = 0^{\circ},18$ , pois que cada gramma deste sal em 100 grammas de agua congela a  $-0,60$ .

E a lei dos iões?

\*

Foi certamente o desejo de remover as já indicadas difficuldades praticas e os accidentes operatorios, que sobrevêm na avaliação do poder uro-toxico, quando seja necessario injectar uma quantidade de liquido superior a 200 c. c. por kilo de animal, o que não raro succede com o exposto methodo da diluição, — o que levou CLAUDE e BALTHAZARD a procurar outro meio de corrigir a osmonocividade; e as suas ultimas investigações levaram-os ao descobrimento duma fórmula de correção para as urinas anisotonicas.

A sua applicação exige apenas o conhecimento do valor da toxidez global e o de  $\Delta$ , tambem da urina em natureza. Para se obter a toxidez verdadeira T, ha a subtrahir da toxidez global U uma quantidade  $U - T$ :

$$U - T = I + K(\Delta - 0,56)U^2 \quad (1)$$

em que I representa a osmonocividade duma solução de sal marinho congelando a  $\Delta$  (ponto de congelação da urina) e K uma constante egual a 0,0696.

Supponhamos, por exemplo, uma urina que tenha por ponto cryoscopico  $-1^{\circ},72$  e que seja mortal para um kilo de coelho na dóse de 2 c. c. Sendo este o valor da toxia,

(1) *J. de Phys. et de Path. gén.*, 1900, n.º 1.

100 c. c. equivalem a 4<sup>t</sup>,75. A correcção, que para a hypothese figurada ( $\Delta = 1,72$ ) os auctores propõem, e que se encontra no quadro que organisaram com os valores calculados para todos os casos em que o  $\Delta$  esteja comprehendido entre  $-2^{\circ}$  e  $-0,56$ , é igual a  $0,44 + 0,0696 U^2$ , para 100 c. c., isto é:

$$\begin{aligned} 0,44 + 0,0696 \times (4,75)^2 &= 0,44 + 0,0696 \times 22,56 = \\ &= 0,44 + 1,57 = 2^t,01 \end{aligned}$$

Do numero de toxias (4,75) contidas em 100 c. c. de urina ha, pois, a deduzir um numero toxias igual 2,01. Portanto esta quantidade de urina contém 2<sup>t</sup>,74 daquillo que CLAUDE e BALTHAZARD denominam «toxicité vraie supposée mesurée à l'isotonie».

Para ajuizarmos do valor desta fórmula de correcção, o meio mais simples que se nos offerece é o de compararmos os resultados obtidos pela sua applicação a uma dada urina, com o valor da toxidez da mesma urina, determinado depois della haver sido tornada isotonica.

BOUSQUET determinou a toxidez de varias urinas com a sua concentração natural e depois da diluição isotonica com o sangue do coelho. A technica experimental que este auctor adoptou é precisamente a mesma de CLAUDE e BALTHAZARD. Por isso preferimos para o alludido confronto os seus resultados.

Citaremos duas experiencias apenas; as restantes levarnos-iam a identicas conclusões.

$\alpha$ ) A urina congela a  $-0^{\circ},98$  e é mortal na dósé de 54 c. c. por kilo de coelho.

Tornada isotonica, a dósé mortal eleva-se a 54 c. c. 100 c. c. da urina primitiva contém pois, 2<sup>t</sup>,17. É este o valor que na fórmula é designado pela letra U. A mesma quantidade de urina isotonica contém 1<sup>t</sup>,85, valor de T

na fórmula. A correcção achada experimentalmente será então igual a  $2^t,17 - 1^t,85 = 0^t,32$ .

Entremos agora com o numero 0,98 na taboa de correcção para procurarmos o valor de  $I + K(\Delta - 0,56) U^2$ . Ella nos diz que da toxidez de 100 c. c. duma urina anisotónica que tem aquelle ponto de congelação, ha a subtrahir num numero de toxias igual a  $0,09 + 0,025 U^2 = 0,09 = 0,11 = 0,20$

A correcção *calculada* será de

$$0^t,20.$$

$\beta$ ) Valor de  $\Delta$  da urina em natureza :  $-0,98$ . Valor da toxia : 54 c. c.

$$100^c.c. = 1^t,85$$

A mesma urina tornada isotónica : toxia igual a 84 c. c.,

$$100^c.c. = 1^t,19.$$

Correcção determinada experimentalmente:

$$1^t,85 - 1^t,19 = 0^t,66.$$

Correcção indicada por CLAUDE e BALTHAZARD no quadro:

$$0^t,17.$$

Isto quer simplesmente dizer, que calculando neste segundo caso a osmonocividade pela fórmula de CLAUDE e BALTHAZARD, se commette um erro superior a um terço da toxidez verdadeira.

A applicação das mathematicas a solução tam complexa dá os resultados que estamos vendo, o que não é para surprehender, porque não é possivel resolver equações sem se conhecer o numero exacto das incognitas e, perante

a complexidade e a variabilidade de composição de urina, não se poderá negar a falta desse conhecimento.

O que ahí fica mostra claramente o valor daquella fórmula para a correccção da osmonocividade duma mistura de venenos tam complexa como a urina.

De resto, tal fórmula foi deduzida da equação duma curva escoihida entre tres.

Esta selecção é perfeitamente arbitraria: «é a curva mais regular e a que passa por maior numero de pontos».

Havemos de convir que esta razão é discutivel.

As outras duas curvas differem notavelmente desta e não fornecem portanto os mesmos valores. Como pretender então applicar a fórmula tirada da primeira curva, construida para o caso duma determinada urina normal, a todas as urinas de que se queira conhecer a toxidez real? Tivessem mesmo os auctores obtido uma curva para cada doença, que nem assim ella nos poderia aproveitar. Elles proprios o demonstram, apresentando duas curvas, totalmente differentes, de typhosos.

Visto que a fórmula não serve, deveremos, sempre que possivel, tornar a urina isotonica com o sangue do animal reagente, de harmonia com as correccções que apresentamos á maneira de proceder de CLAUDE e BALTHAZARD, afim de evitarmos o *erro* devido á osmonocividade?

Esta pergunta poderá parecer inutil, pois já mostramos como o pretenso methodo de correccção por diluição pôde levar a resultados absurdos, como os que foram obtidos nas experiencias em que LESNÉ e BERNARD reconheceram um menor grau de nocividade, digamos assim, na urina com a sua concentração molecular natural, do que depois de tornada isotonica. Mas é justamente sobre esses resultados que é mister insistir; é para elles que vamos volver agora a attenção, procurando a sua interpretação genetica.

Para este fim constituem valioso subsidio as experiencias de BOSC e VEDEL sobre os effeitos physiologicos das soluções de urêa, e tambem ácerca da influencia da isotonia sobre a toxidez do sulfato de potassio numa mistura que realisa artificialmente um liquido urinario de composição conhecida assim como a acção dos componentes, e em que aquelle sal representa o conjuncto dos corpos verdadeiramente toxicos. A essas investigações nos vamos pois referir, posto que duma maneira rapida.

BOSC e VEDEL começaram por determinar a toxidez do sulfato de potassio em soluções de concentração variavel, e verificaram que havia um augmento progressivo do grau de toxidez a partir das soluções hypotonicas para as soluções isotonicas e hypertonicas, como se vê no pequeno quadro que segue:

Soluções de  $K_2SO_4$

Hypertonicas		Isotonicas		Hypotonicas	
$\Delta$	Toxidez por kilo	$\Delta$	Toxidez por kilo	$\Delta$	Toxidez por kilo
-1,10	0gr,11	-0,55	0gr,20	-0,27	0gr,37
		-0,55	0 ,18		
			M. : 0,19		

Praticando em seguida uma serie de experiencias com a urêa verificaram em primeiro logar, que uma solução equimolecular desta substancia na agua distillada (20 gr. por 1000) produz, como a propria agua distillada, lesões globulares, hematuria e um derrame sanguinolento do peritoneu. Eguamente dizem haver notado que o grau de toxidez desta solução era inferior ao da agua distillada, por isso que emquanto esta mata na dóse de 100 c. c. por

kilo de coelho, o valor da *toxia* daquella solução é de 182 c. c. «A urêa diminue a toxidez da agua distillada; não é, por consequencia, absolutamente certo que a urêa não participe de maneira alguma das propriedades dos corpos isotonicos» (1).

Se, porém, aquella mesma dóse de urêa fôr associada a uma solução isotonica de NaCl, a hematuria deixa de produzir-se e a solução persiste innócua: injectada na dóse de 1850 c. c. a um coelho de 2060 grammas (1850 gr. por kilo), a morte do animal só sobreveio 16 horas depois.

Parece portanto que *a*) a urêa não tem acção alguma nas soluções na agua distillada, dependendo as hematurias exclusivamente deste liquido, e que *b*) é possivel fazer passar pela circulação do animal, sem o matar, uma enorme quantidade de urêa, dando logar a crer que esta substancia é desprovida de toxidez e constituindo, na expressão de BOSC e VEDEL, um corpo *attenuante* (2).

---

(1) Os auctores não effectuaram, segundo cremos, injectões intravenosas de agua distillada, acceitando os dados das experiencias de BOUCHARD. Ora, como já tivemos ensejo de dizer, nem todos os experimentadores acceitam aquelle numero; alguns têm mesmo obtido resultados bastante discordantes. É crível que se BOSC e VEDEL tivessem effectuado experiencias comparativas com agua distillada e com a solução equimolecular de urêa, empregando rigorosamente a mesma technica, não tivessem encontrado aquella discordancia entre os valores das respectivas doses mortaes, se bem que ella póde ser dalguma maneira explicada pela acção diuretica propria á urêa. Pelas experiencias dos mesmos auctores se vê, com effeito, que antes do apparecimento da hematuria decorre um lapso de tempo durante o qual as urinas são claras e abundantes.

(2) Quando nos occuparmos das causas da toxidez urinaria, especialmente da determinação do valor toxico relativo dos seus componentes, voltaremos a referir-nos a este categoria de corpos, que BOSC e VEDEL denominam «attenuantes».

Tendo reconhecido por estas e outras experiencias que a uréa escapava ás leis da osmose, BOSC e VEDEL procuraram determinar o effeito da presença desta substancia sobre o grau de toxidez do sulfato de potassio a ella associado numa solução *isotonica*. Organisaram para isso uma *urina artificial*, da composição seguinte :

K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> .....	4 <sup>gr</sup> ,80
NaCl.....	7 <sup>gr</sup> ,39
Uréa.....	20 <sup>gr</sup>
Agua distillada.....	q. b. para 1000 c. c.

Esta solução tem para valor de  $\Delta$ : —1,12; portanto para reduzir a —0,56 o seu ponto de congelação, necessario se torna dilui-la proximamente com egual volume de agua. Esta solução, dita *isotonica*, corresponderá á fórmula :

K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> .....	2 <sup>gr</sup> ,69
NaCl.....	1 <sup>gr</sup> ,69
Uréa.....	10 <sup>gr</sup>
Agua distillada.....	q. b. para 1000 c. c.

Ora esta solução só é toxica para o coelho na dóse de 441 c. c. por kilo. A toxidez do sulfato de potassio é pois notavelmente falseada. Este sal nas suas soluções *isotonicas* é toxico na dóse de 0<sup>gr</sup>,19; sem embargo elle existe numa dóse cinco vezes superior na dóse mortal da *urina artificial*; por onde se vê quanto é defeituosa a pratica de reduzir á *isotonia* uma solução complexa, em cuja composição entra a uréa, quando se pretenda avaliar a sua toxidez.

Convém notar desde já que a mistura de dois saes, um muito toxico, como o sulfato de potassio, o outro de fraca toxidez, como o chloreto de sodio em solução *isotonica*, dá logar á diminuição de toxidez do sal toxico. Este facto, que foi estudado por BOSC e VEDEL, em numero-

sas experiencias, não explica todavia aquelle resultado: os citados eperimentadores observaram, com effeito, que a dóse de  $K_2SO_4$  existente na dóse mortal da mistura daquelles dois saes ( $\Delta = 0,56$ ) não excedia 0,48 (1).

BOSC e VEDEL, a despeito daquella phrase duvidosa relativamente á submissão da urêa ás leis da osmose, que que nos provocou as reflexões exaradas em nota á pag, 89. affirmam em mais duma passagem do seu longo trabalho que: «l'urée représente un corps ne participant pas à l'isotonie».

Assim é na verdade; e por isso a diluição daquella urina artificial (solução de urêa a 20 ‰;  $\Delta = -1^{\circ},12$ ) com egualvolume de agua, origina uma solução fortemente hypotonica, que congela a  $-0^{\circ},27$  (2). Com effeito, sendo egual a  $-0,57$  o  $\Delta$  da urêa em soluções daquella concentração molecular (RAOULT), teremos

$$\begin{aligned} (-1^{\circ},12) - (-0^{\circ},57) &= -0^{\circ},55 \\ 0^{\circ},55 : 2 &= -0,27 \end{aligned}$$

Muito mais importante é aquelle facto posto em evidencia nas experiencias de LESNÉ e BERNARD a que tam insistentemente temos alludido, e que não havia sido previsto: a diluição duma urina hypertonica a fim de a reduzir á isotonia nem sempre lhe confere um minimo de nocividade. A expliação deste facto, que encheu de surpresa os observadores, é-nos agora facil.

Sabendo-se que nem todos os corpos estão egualmente submettidos ás leis da osmose; e que a urêa se não comporta perante o globulo rubro como os saes da urina, por-

(1) Loc. cit., pag. 921.

(2) Já dissémos que o sulfato de potassio era menos toxico em soluções hypotonicas que em soluções isotonicas.

quanto as suas soluções, qualquer que seja a concentração molecular, actuam sobre as hemácias como a agua distillada — lembra naturalmente invocar a presença da urêa entre os componentes normaes da urina para explicar aquella á primeira vista tam surprehendente discordancia entre a previsão e o facto: a urea contribue para abaixar o ponto  $\Delta$ , mas as suas soluções provocam sempre a hematolyse.

Já em 1889 DE VRIES havia notado a permeabilidade da cellula vegetal para a urêa.

No mesmo anno MASSART (1), nas suas investigações sobre o tonotactismo, estabeleceu para um grande numero de corpos em solução, que a repulsão por elles exercida sobre as bacterias era função do numero de moleculas dissolvidas; o mesmo auctor, porém, verificou que a urêa fazia excepção. Em 1896 GRYS (2) foi mais além, mostrando que numa solução de urêa o globulo rubro se tumefaz, hemato lysando-se em seguida; que a addição de urêa a um soluto physiologico de NaCl onde se encontram globulos rubros, sem embargo de augmentar o numero das moleculas dissolvidas, não vae provocar alteração das hemácias (3). GRYS attribue este resultado ao facto de os globulos não serem semi-permeaveis ás soluções de urêa. Pouco tempo depois HELIN (4), num trabalho desenvolvido, confirmou as observações de GRYS.

Este auctor não especifica o sangue sobre que opera, mas como no decurso do seu trabalho emprega indiffe-

(1) *Arch. de Biologie*, tom. IX, pag. 515.

(2) *Arch. gesam. Physiol.*, t. LXIII, pag. 86.

(3) Phenomenos hemorrhagicos podem entretanto observar-se, quando a percentagem de urêa na solução isotonica de NaCl fór notavelmente elevada (200 p. 1000).

Vid. segunda parte.

(4) *Arch. gesam. Physiol.*, t. LXVIII, pag. 86.

rentemente o sangue de mamífero e de ave, a maior parte das vezes este último, as suas conclusões parecem abranger as duas espécies de sangue, entre as quaes o auctor não signala diferenças.

Ora, experiencias recentes de QUINTON (1) demonstram que a proposição de GRYNES — «sob o ponto de vista osmótico a molecula de urêa numa solução comporta-se como se não existisse» — só é exacta para as hemácias sem nucleo. Experimentando com as duas espécies de globulos reconheceu QUINTON que a molecula de urêa é capaz de fazer equilibrio ao globulo rubro nucleado, oppondo-se á saída da sua materia córante, embora não seja da mesma maneira que uma molecula salina, cuja acção é por assim dizer indefinida.

Em poucas palavras se pôde resumir a diferença, que em face das experiencias de QUINTON é necessario estabelecer entre as duas espécies de globulos rubros a respeito da osmose: — o globulo rubro sem nucleo não offerece resistencia alguma á penetração da urêa no seu protoplasma, é-lhe immediatamente permeavel; o globulo rubro nucleado resiste por algum tempo a esta penetração, á qual só cede a pouco e pouco; numa solução de urêa, pura, as hemácias desta especie ficam a principio intactas, mas vão-se alterando gradual e progressivamente, perdendo por fim a sua hemoglobina.

E a proposito notaremos que OVERTON (2) admite que as cellulas vegetaes apresentam esta mesma resistencia á penetração da urêa; MASSART faz a mesma nota para as bacterias que possuem nucleo. Sendo assim, vemos que, sob o ponto de visto da permeabilidade do protoplasma á molecula de urêa em solução, o globulo rubro anucleado

---

(1) *C. R. de l'Académie des Sciences*, 1901, t. LXXXII, pag. 347.

(2) Cit. por HEDIN, loc. cit.

se afasta por uma fôrma imprevisita do globulo com nucleo, para pelo contrario se approximar de elementos muito dissimilhantes, como a cellula vegetal e as bacterias.

Occorre, pois, naturalmente perguntar se a presença de nucleo, indice de vitalidade cellular, entrará em jogo neste phenomeno. A resistencia da cellula ás acções phisicas exteriores não derivará em parte da sua vitalidade? É esta uma hypothese que se nos afigura verosimil, visto como entre aquelles elementos a existencia de nucleo parece ser o unico character commum.

Operando sobre o vivo, QUINTON observou por sua vez phenomenos identicos aos já referidos a proposito das experiencias de BOSC e VEDEL, a saber: uma injeccão intravascular duma soluçãõ equimolecular de urêa na agua distillada não é isotonica com o sôro; provoca lesões globulares, hematurias e um derrame sanguinolento do peritoneu, tal como a agua distillada.

Se a urêa fôr addicionada a uma soluçãõ equimolecular de NaCl, os globulos rubros não serão lesados, dissolvidos, e a hematuria não apparecerá.

Em summa, a urêa, pelo menos perante os globulos dos mammiferos, escapa ás leis da osmose. Ora, no abaixamento do ponto de congelaçãõ duma urina a urêa é um é um factor importante, pois que em soluçãõ pura a 1 0/0 congela a  $-0,286$  (RAOULT); portanto, uma parte do  $\Delta$  da urina é devido ao abaixamento produzido por uma substancia que nas suas soluções se comporta, sob o ponto de vista osmotico, como se ahi não existisse. Os experimentadores não se tõem entretanto preocupado com este facto; mas elle é de per si sufficiente para nos fazer vêr que uma urina e um sôro que tiverem o mesmo  $\Delta$  não poderãõ ser isotonicos. Vamos mesmo mostrar como a diluiçãõ, longe de corrigir o erro devido á osmonocividade, pôde accentua-lo.

Seja por exemplo uma urina congelando a  $-1^{\circ},18$  (é o caso duma das experiencias já citadas de LESNÉ) e contendo 20 grammas de urêa por litro. Para a levar ao ponto de congelação do sôro de coelho é necessario juntar-lhe approximadamente o seu peso de agua; a mistura congela então a  $-0,59$  ( $\Delta$  do coelho segundo BERNARD e LESNÉ).

É pois isotonica, mas só na apparencia: sob o seu novo volume ficará contendo 10 gr. de urêa por litro, isto é uma quantidade de urêa que vale por 0,286 no abaixamento global do ponto de congelação; portanto, sob o ponto de vista da hematologyse, o numero cryoscopico que representa na realidade a tensão osmotica da mistura é  $(-0,59) - (-0,28) = -0,31$ . Donde se conclue que esta urina diluida, longe de ser isotonica, é hypotonica e por conseguinte hematologysante.

Poderá restar ainda alguma duvida de que a diluição seja uma correcção illusoria? (1).

Importa ainda notar que, com a sua concentração natural, a urina escolhida como exemplo, a despeito do seu valor de  $\Delta = -1,18$ , era quasi isotonica. Com effeito, as 20 grammas de urêa, que existiam por litro, equivaliam a  $0,57 = 0,286 \times 2$  no abaixamento global do ponto de congelação; e subtrahinde de  $-1,18$  este valor obtém-se  $-0,71$ , numero proximo de  $-0,59$ .

A diluição, effectuada com o proposito de tornar a urina isotonica com o sôro, veiu, pois, aggravar a differença de tensão osmotica preexistente.

E assim encontramos nós explicação para o facto, que tam extraordinario se nos afigurava, de LESNÉ, BERNARD (e ainda outros investigadores como HALLION e CARRION)

(1) QUINTON diz ter observado frequentes vezes hematurias no ccelho por effeito de injecções intra-venosas de urinas isotonicas.

haverem observado um augmento de toxidez consecutivamente á pratica da correcção por diluição; a urina, que suppunham isotonica, mostrara-se-lhes mais toxica que a urina bruta. É este augmento de toxidez, contrario a todas as previsões dos observadores, mas que é afinal susceptivel duma clara interpretação, foi por CLAUDE e BALTHAZARD attribuido a «*causas de erro nas experiencias*»...

### III. O poder uro-globulicida

BERNARD engana-se, quando, defendendo a pratica das injecções de urina em natureza para lhe determinar o seu poder toxico, vae até á affirmacão de que «o poder globulicida da urina não foi ainda devidamente constatado *in vitro* nem *in vivo*».

Sobre ser falsa, é esta affirmativa dalguma maneira contraria aos propositos do citado auctor, porquanto as propriedades hemolyticas da urina podem constituir uma nova prova do poder uro-toxico.

Normalmente e mesmo em numerosos estados morbidos a urina é hypertonica; o seu ponto de congelacão é muito elevado:  $\Delta = -1,40$ , em media, para urina normal, segundo CAMUS e PAGNIEZ (1).

Se misturarmos, a exemplo destes auctores, 1 centimetro cubico de urina com 20 millimetros cubicos de sangue, veremos os globulos rubros sedimentarem-se, sem perderem a sua hemoglobina. Mas é facil tambem a demonstracão experimental de que as urinas podem ser hemolysantes por simples acção osmonociva, quando fôr muito fraca a sua concentraçãõ molecular e consequentemente muito elevado o seu ponto de congelacão.

---

(1) *Journ. de Phys. et de Path. gen.*, 1901, n.º 4.

Assim é que a urina de doentes albuminuricos submetidos ao regimen lacteo rigoroso pode dissolver instantaneamente as hemacias. Estas urinas são muito pobres em chloretos; 2 a 3 grammas por litro.

Fazemos esta observação, porque na verdade não é da sua maior ou menor riqueza em urêa que dependem as propriedades globulicidas; estas subsistem com uma percentagem de urêa ainda superior a 30 gr. por litro; desapparecem, pelo contrario, quando a taxa dos chloretos attinge 7 ‰.

SABRAZEZ e FAUQUET (1) verificaram egualmente que a urina dum individuo normal, alimentado exclusivamente a leite por um periodo superior a 20 dias, dissolvia os globulos do sangue.

Pela suppressão brusca deste regimen e substituição pelo regimen ordinario, a urina perdeu em 24 horas esta propriedade. A percentagem dos chloretos, que era anteriormente de 1,95 gr., ascendeu, por effeito da alimentação mixta, a 8,95 gr., e o  $\Delta$ , de  $-0^{\circ},51$  desceu a  $-1^{\circ},14$ .

A urina das creanças de mamma comporta-se duma maneira analoga. Num caso que estes mesmos auctores referem, a percentagem des chloretos era de 0,93 gr. por litro e o ponto de congelação correspondia a  $-0^{\circ},19$ . A urina e bem assim o leite da ama não dissolviam os proprios globulos sanguineos, nem os da creança.

Trata-se, porém, nestes casos duma simples acção osmonociva e não duma acção globulicida verdadeira. E desde logo se antevê o interesse pratico de factos desta natureza, reveladores de que a alimentação exclusiva pelo leite, prolongada por espaço de algumas semanas, confere á urina a propriedade de dissolver os globulos rubros,—porquanto nos fornecem um meio de reconhecer se um

---

(1) *C. R. de la Soc.été de Biologie*, 1901, n.º 10.

individuo a quem foi prescripta a dieta lactea observa ou não rigorosamente este regimen.

Não se contesta, pois, que a urina humana pôde ser susceptivel de provocar a saída da hemoglobina dos globulos rubros. Mas sempre que se verificar este facto da diffusão da hemoglobina a causa residirá na tonicidade, na concentração molecular da urina, ou na sua produção poderá intervir algum factor doutra especie?

Sabe-se pelas leis da isotonia que a destruição dos globulos num liquido pôde reconhecer duas causas differentes:

1.<sup>a</sup> uma notavel hypotonia deste liquido em relação ao sôro, meio natural dos globulos; ou,

2.<sup>a</sup> sendo o liquido duma concentração molecular igual ou visinha da do sôro, a presença duma substancia toxica para o globulo, duma substancia globulicida.

A urina conterá alguma das substancias denominadas hematomolysantes?

Para o esclarecimento deste ponto é obvia a necessidade de nos collocarmos em condições especiaes; congelando a urina normal a  $-1^{\circ},40$ , os globulos collocados neste meio hypertonico estão protegidos por esta mesma hypertonia contra uma acção hemolysante muito pronunciada.

Vejam os pois, se pelo processo de HAMBURGER, que passamos a expôr, a urina normal, hypertonica, será globulicida para o coelho. As experiencias de CAMUS e PAGNIEZ não podem deixar a menor duvida a tal respeito. Eis a summula destas experiencias:

Num tubo com 5 c. c. duma solução de NaCl a  $0,66\%$  ou a  $0,70\%$ , na qual os globulos de coelho não soffrem alteração alguma, como o demonstrem os tubos testemunhas, é lançado um numero determinado de gottas de urina (de 1 a 10; em média 4 a 6); addiciona-se em seguida uma gotta de sangue de coelho, ou, de preferencia, uma gotta de emulsão de globulos previamente lavados numa solução chloretada sodica isotonica.

Esta mistura é levada á estufa, onde permanece por espaço de 1 a 2 horas, findo o qual é centrifugada.

Sendo a urina ensaiada desprovida de acção globulicida, os globulos accumulam-se no fundo do tubo e o liquido fica absolutamente incolor; se, pelo contrario, o liquido se apresenta córado, póde-se aquilatar o grau da destruição globular, ou, o que vale o mesmo, da intensidade de poder hemolytico, já pelo tom mais ou menos carregado do liquido, já pelo volume do deposito globular restante, que chega a desaparecer totalmente nos casos em que a acção globulicida é muito energica.

Operando como fica dito, foi dada por aquelles auctores a demonstração de que a urina humana normal é globulicida para o coelho.

É para notar que esta propriedade da urina parece estar em relação com o seu grau de acidez. Vê-se, effectivamente, pelas experiencias que CAMUS e PAGNIEZ relatam, que della é isenta a urina normal neutra ou levemente alcalina, tal como a que é emittida após as refeições; e semelhantemente a urina normal perde-a depois de neutralisada.

Resta pois saber se este poder hemolytante da urina normal deve ser attribuido ás proprias substancias que conferem á urina a sua reacção acida ou se é o resultado da acção exercida em meio acido por um dos componentes da urina, ou se na producção do phenomeno podem intervir factores duma e outra especie. A solução da questão não se afigura facil, visto o facto do desaparecimento da hemolyse consecutivamente á neutralisação pela soda, não nos auctorisar a crer que a primitiva acção globulicida deva ser attribuida á acidez, porquanto nada repugna admittir que a addição de soda a uma substancia hemolytante diversa dum acido possa supprimir a sua acção.

Vejamos como CAMUS e PAGNIEZ procuraram esclarecer este ponto.

A acidez da urina é devida mui principalmente aos phosphatos acidos e numa pequena parte aos acidos urico e hyppurico.

O phosphato acido de sodio, monobasico, numa solução chloretada sodica a 7‰ é globulicida na dóse de 0<sup>gr.</sup>,06‰; operando, porém, com uma solução salgada isotonica a 9,5‰, aquelles experimentadores verificaram que com as mesmas quantidades se não observa a menor diffusão de hemoglobina.

Parece pois que não poderá ser senão accessorio o papel do phosphato acido no phenomeno da hemolyse produzida pela urina.

Não foram feitas investigações do mesmo genero com o acido urico, falta esta que certamente encontra justificação plena na circumstancia de ser este acido duma fraca solubilidade.

A acção hemolysante do acido hyppurico parece consideravel; com effeito, tres gottas dum soluto a quente deste acido a 0,50‰ em 5 c. c. da solução salgada a 7‰ produzem uma acção globulicida total.

Os globulos humanos, mais resistentes que os do coelho, deixam tambem diffundir a sua hemoglobina em solução isotonica, por acção do acido hyppurico.

As tentativas de acidificação de urinas neutras ou alcalinas tanto com o phosphato acido de sodio como com o acido urico, mostraram que a obtenção de resultados positivos demandava a adjuncção destes corpos em quantidades que muito se afastavam das dóses physiologicas.

JEAN CAMUS e PAGNIEZ dizem ter conseguido tornar globulicida, mediante a addição de acido hyppurico na proporção de 1‰, uma urina fracamente alcalina e desprovida de acção hemolytica. Noutros casos, porém, esta

operação feita sobre urinas neutras ou levemente alcalinas á emissão ficou sem effeito (1).

Independentemente da acção globulicida devida á hypotonia e da que está em relação com a acidez normal póde a urina revelar propriedades globulicidas que sejam o resultado da actividade de substancias, já determinadas ou não, nella existentes?

Devemos pronunciar-nos pela affirmativa.

BARD refere o caso dum doente (nephrite chronica) cuja urina, neutra e congelando a  $-0^{\circ},54$ , dissolvia rapidamente os globulos rubros. «Ha, na verdade — dizem por sua vez CAMUS e PACNIEZ, algumas urinas pathologicas que, mesmo depois da sua neutralisação são susceptiveis de produzir a destruição globular; e, embora raras, existem tambem urinas neutras ou ligeiramente alcalinas, dotadas dum poder globulicida».

Eis dois exemplos, um de cada caso:

A. — Urina *alcalina* proveniente dum individuo affectado de nephrite chronica.

$$\Delta = -1^{\circ},14; \text{ NaCl} = 10^{\text{gr}},3^{\circ},00$$

A mistura de 5 c. c. de solução chloretada sodica e de  $0^{\text{cc}},3$  de urina com uma gotta de emulsão de globulos dá, depois de levada á estufa e centrifugada, uma globulolyse muito nitida.

B. — Urina acida dum pneumonico no periodo de defervescencia.

Observa-se uma grande diffusão com uma mistura de 5 c. c. de solução chloretada sodica,  $0^{\text{cc}},2$  de urina e uma gotta de emulsão de globulos de coelho.

A mesma urina depois de neutralisada pela soda dá ainda uma diffusão nitida numa mistura feita nas mesmas proporções.

---

(1) Talvez estes resultados negativos possam ser explicados pela fixação ou pela neutralisação do acido hyppurico pelas bases da urina.

A que será devida, nestas condições, a acção hemoly-  
sante da urina?

Aquelles auctores não o dizem, e tam facilmente se comprehende a difficuldade da resposta como que entre as numerosas substancias, que na urina podem passar no estado pathologico, algumas possam ser hemòlyszantes.

Não mencionam uma só urina icterica que fosse globulicida; e o facto é curioso, pois que a bilis tem uma acção globulicida bem conhecida. Talvez que as urinas ensaiadas, posto que ricas em pigmentos, fossem pobres em acidos biliares. Supponho não ter sido feita esta apreciação quantitativa.

Terão algum papel nessa acção as substancias córantes da urina? Parece ser este um ponto de facil esclarecimento. Os auctores dizem que a descórção pelo carvão animal fazia desaparecer o poder uro-globulicida. Qualquer que seja, porém, o grau de toxidez admittido para as materias córantes, os auctores não podem tirar daquelle facto uma conclusão segura, sobre se entre o descórimento duma urina, primitivamente globulicida, e a perda desta propriedade existirá uma relação de causalidade.

E isto por duas ordens de razões. Em primeiro lugar, o carvão animal retira da urina alguma coisa mais do que as suas materias córantes. Vê-lo-emos mais adiante.

Por outro lado, as urinas descóradas não são acidas. Será por este facto que ellas não serão globulicidas? (1).

---

(1) A acção de albumina no phenomeno da hemolyse é conhecida.

JULLIARD, a proposito dos seus estudos sobre a cryscopia e a hemolyse dos derrames das serosas articulares e vaginal, procurou determinar a parte que nos resultados devia ser attribuida á acção da albumina nos liquidos em questão.

A influencia desta substancia no abaixamento do ponto de congelção havia já sido objecto de investigações da parte de DRESER,

O que é irrecusavelmente exacto é que para a interpretação causal dos efeitos hemolyticos dalgumas urinas humanas não podemos invocar a falta de isotonia, mas deve, sim, ser incriminada a acção globulicida duma substancia componente, ainda não determinada. Em que embaraça, pois o poder globulicida — que para CASTELLINO

NERST, ALEXANDREW, SANABEJW, etc. Assim era já sabido, que uma solução de albumina a 100 por 1000 tem o mesmo ponto de congelação que, por exemplo, uma solução de uréa a 1 por 1000:  $\Delta = -0,032$ .

Era todavia de grande interesse o conhecimento preciso da maneira como a albumina em solução se comporta perante os globulos rubros, neste momento em que o estudo das substancias hemolysantes, das lysinas, veio complicar notavelmente a interpretação dos resultados fornecidos pelo methodo de HAMBURGER para a determinação da tonicidade dos liquidos pathologicos. Não é bastante ter-se posto em evidencia que a albumina provoca a saída dos globulos rubros mesmo em solução muito concentrada; é mister averiguar se o papel da albumina em solução no phenomeno da hemolyse, será exclusivamente dependente de tonicidade, do grau de concentração, ou se ella actuará á maneira das substancias ditas hemolysantes. É este um ponto que ainda não mereceu ser considerado pelos adeptos do methodo cryoscopico para a redução á isotonia dos liquidos organicos, cuja toxidez se pretende determinar, não obstante estes liquidos serem, em geral, muito ricos em albumina. Felizmente, porém para elles, JULLIARD verificou que os resultados fornecidos pela cryoscopia e pelo methodo hemolytico sobre a concentração duma solução de albumina são absolutamente comparaveis. Daqui resulta que a albumina em solução não tem nenhuma acção especifica sobre as hemacias, sobre as quaes não actua senão em razão da sua tonicidade. Confirmando anteriores investigações, reconheceu ainda JULLIARD que a albumina só duma maneira muito restricta é que contribue para abaixar o ponto de congelação duma solução; e mesmo em concentrações relativamente elevadas provoca a homolyse. O valor de  $\Delta$  duma solução de albumina a 1750 p. 1000 é igual a  $-0,56$  (JULLIARD (a)).

(a) *C. R. de la Societe de Biologie*, 1901, n.º 2.

é tudo na génese dos «pretensos effeitos toxicos» das injeções intra-venosas de urina — na determinação experimental do poder uro-toxico?

A acção globulicida devida á acidez não influe no resultado final; graças á hypertonia não deve mesmo manifestar-se ordinariamente. De resto, os auctores são accordes em admittir que a neutralisação duma urina não vae alterar o valor do seu coefficiente toxico.

Sobre o papel da osmonocividade não insistiremos mais. E quando, independentemente da falta de isotonia, uma urina revelar propriedades globulicidas? Em tal caso tambem não é mister acume de vista para se reconhecer que essa acção globulicida pertence á toxidez global da urina, é justamente a parte de toxidez que se exerce sobre o sangue do animal que soffre a injeção.

É como diziamos no começo deste paragrapho: as propriedades hemolysantes da urina constituem uma nova prova da sua toxidez.

Os casos de hemoglobinuria de origem urinaria provam que esta acção globulicida, toxica, da urina, tanto se manifesta *in vitro* como *in vivo*. O primeiro caso de hemoglobinuria por acção toxica da urina cremos ter sido observado por TUFFIER e FANQUET, que delle fizeram objecto duma communicação á Sociedade de Biologia de Paris numa das suas sessões do anno corrente (1). A urina do doente em questão hemolysava muito rapidamente as hemacias. Com effeito, fazendo a contagem dos elementos do sangue e servindo-se da urina como liquido conservador, TUFFIER e FANQUAT notaram que ao cabo de dez minutos o numero das hemacias («de hemacias fragmentadas ou estromas») não excedia 800:000 por millimetro cubico; esse numero ascendia a 3.441:000 em liquido

---

(1) *C. R. Soc. de Biol.*, n.º 30, 1901.

isotonico. Ha a notar neste caso a ausencia de hemoglobinemia, e o facto de a esterilisação no autoclave converter esta urina num meio desprovido de propriedades hemolyzantes, num meio conservador dos globulos. Nada nos dizem os auctores ácerca do valor de  $\Delta$  desta urina. É uma falta saliente nesta communicacção. Mais demonstrativo é o caso descripto por CAMUS e PAGNIEZ (1) na sessão de 23 de abril deste anno da Sociedade medica dos Hospitaes de Paris. Tratava-se dum nephritico, que emittia urinas rubras, que, no dia da sua analyse, congelavam a  $-0,54$  e não davam globulos pela centrifugação. O exame espectroscopico mostrou as duas riscas caracteristicas de oxyhemoglobina. O sôro deste doente obtido por picada do dedo polegar era normal e não córado; a urina em contacto com os globulos, num tubo collocado na estufa, dissolvia-os rapidamente. Os auctores não se limitam a indicar o valor de  $\Delta$ ; indicam tambem a percentagem de NaCl:  $4,7\%$ . E esta indicacção é precisa. Sabe-se que as hemacias normaes só começam a perder a sua hemoglobina em soluçao de chloreto de sodio que contêm  $0,44$  a  $0,48\%$  deste sal (reacção limite de HAMBURGER).

Admittindo que esta urina não fosse composta senão de NaCl e de urêa, não se deveria, pois, ter observado diffusão; mas além disso entravam na sua decomposiçao outras substancias, que contribuiam para abaixar o ponto de congelacção.

Eis ahi, pois, um caso de hemoglobinuria de origem urinaria. Em razao dos symptomas de nephrite chronica que os auctores nos descrevem, é bem de crêr que a origem do sangue seja renal; tal origem nada tem entretanto de necessaria e a hemorrhagia que, nestes casos, não é mais que o estado premonitorio da hemoglobinuria, facil-

---

(1) *Journ. de Phys. et de Path. gén.*, 1901, n.º 4.

mente se pôde dar em qualquer ponto do aparelho urinario; e uma hemorragia vesical poderá tanto como uma hemorragia renal ser seguida de destruição globular.

Estes casos não são talvez excepcionaes, o interesse que a sua novidade naturalmente desperta levou-nos a fazer a curta exposição que precede, aliás intimamente ligada ao assumpto que este capitulo versa.

Em conclusão: independentemente das acções devidas a fermentações secundarias, as urinas frescas, recentes, podem ser hemolysantes pela sua falta de isotenia, pela sua acidez e por substancias ainda indeterminadas. Esta acção globulicida pôde existir não só *in vitro* mas ainda no organismo, realisando, ao lado das hemoglobinurias de origem sanguinea ou de origem renal, um typo de hemoglobinuria de origem urinaria. Mas tal acção não deve, pelas razões já ditas, paralyzar-nos a acção pelo que respeita ás experiencias de toxidez.

#### IV. Objecções mais geraes

O methodo de investigação da toxidez urinaria por injecções intra-vasculares, introduzido na sciencia por FELTZ e RITTER em 1881, e desde 1893 successivamente aperfeiçoado por BOUCHARD, que o tornou fecundo em resultados, tem sempre encontrado contradictores.

Uma das primeiras objecções apresentadas foi a de que o simples augmento da tensão intra-vascular podia ser causa de morte.

A resposta é facil. Pôde a alludida hypertensão produzir este effeito nas experiencias em que se chega a triplicar a massa do sangue; mas isto prova precisamente que, quando um liquido não é toxico, é necessario, para provocar a morte por excesso de tensão vascular, injecta-lo em quantidades consideraveis. O que vale pois a

objecção perante o reduzido numero de centímetros cubicos que representam a uro-toxia normal de BOUCHARD, perante o facto de 40 c. c., em média, serem sufficientes para fazer succumbir um kilo de animal ?

Os adversarios do methodo não deixaram tambem de invocar um reflexo partido da endoveia ; mas se este mechanismo, que VULPIAN tanto receava quando a injeccção era praticada nas veias visinhas do coração (o que não é o caso da veia marginal da orelha do coelho), excepcionalmente se produz, não pôde passar despercebido ao experimentador, que é immediatamente advertido pelos symptomas apresentados pelo animal desde o começo da injeccção.

Uma objecção mais séria — a da inconstancia dos resultados, a principio formulada timidamente por um ou outro observador isolado, chegou a abalar convicções, revigorada como foi por successivas e numerosas experiencias, cujos resultados differiam dos alcançados pelos promotores e propugnadores do methodo.

Os diversos experimentadores, collocados em condições arbitrariamente escolhidas, obtinham resultados discordantes, variaveis com estas condições. Nem outra cousa devia ser esperada nem podia succeder. Os phenomenos biologicos, como os phenomenos physico-chimicos, só se reproduzem identicamente quando as condições experimentaes são exactamente as mesmas.

Desde que nesta ordem de experiencias se deixa subsistir, como condições differentes, um elemento apenas — a variavel resistencia dos animaes (e esta causa de erro torna-se minima e pôde ser desprezada, pelo menos na immensa maioria dos casos, sendo feita uma selecção conveniente dos animaes), os resultados são, como veremos, duma concordancia surprehendente.

Foi na Allemanha que as ideias de BOUCHARD sobre a toxidez urinaria começaram a ser acolhidas com reserva.

Ahi foi iniciada a verdadeira campanha, que tem proseguído sem interrupções, contra o emprego das injeções intravenosas. Ha pouco tempo ainda POSNER, no congresso de Munich de setembro de 1899 (1), e mais recentemente numa comunicação á Sociedade de medicina de Berlim (2), reeditou a longa serie de objecções ao methodo de BOUCHARD: — causas de erro provenientes da grande quantidade de liquido injectado nas veias do animal, das thromboses e embolias, da anisotonia, da variavel resistencia dos animaes, etc. Opina pela rejeição absoluta das injeções intra-vasculares; alem disso manifesta a sua preferencia pelos ratos brancos, em razão da pequena variabilidade do seu peso, que é ordinariamente de 20 grammas. Tendo investigado, pela injeção subcutanea nestes animaes, o grau de toxidez dos liquidos segundo o grau de concentração, é de parecer que, abstracção feita das perturbações geradas pela anisotonia, fica uma toxidez propria á urina, mas «os methodos em uso não permitem differença-la da osmonócividade» (3).

Sem querermos discutir agora, em todas as suas particularidades, taes experiencias, não deixaremos entretanto de exprimir a estranheza que nos causa o facto do seu auctor pretender apreciar a acção nociva por falta de isotonia, injectando liquido no tecido cellula, onde a absorção se realisa com uma lentidão que nos é vedado avaliar e onde o grau de concentração da solução injectada, qualquer que ella seja (natural ou artificial), é modificado pelas reacções dos tecidos ambientes.

As reflexões de POSNER, baseadas num methodo expe-

---

(1) *La medecine moderne*, 1899, n.º 18.

(2) *Journ. de Phys. et de Path. génér.*, 1900, n.º 1.

(3) *Ueber die Giftwirkung des normalen Harns*. Berl. Klin. Woch., 1900, pag. 75.

rimental que expõe a erros consideraveis, não devem occupar-nos por mais tempo.

GODART e SLOSSE impugnam o methodo de BOUCHARD, porque, tendo-o empregado nas suas investigações ácerca da influencia da thyroidectomia sobre a toxidez da urina, lhes não permittiu assignar um valor fixo ao equivalente uro-toxico, tal era a variabilidade e a discordancia dos numeros que obtinham.

LAULANIÉ e GLEY haviam anteriormente verificado não só que aquella toxidez augmenta posteriormente a ablação do corpo thyroide, mas ainda que a curva das suas variações seguia sensivelmente a dos accidentes consecutivos á operação; e bem assim que a hypertoxidez era sobretudo notavel no momento dos ataques epileptiformes e dos accessos de polypnea.

GODART e SLOSSE insistem particularmente sobre o facto, que julgam ter demonstrado pela injeccão intra-venosa de substancias toxicas, como a estrychnina, de que «não existe proporcionalidade alguma entre a dóse toxica e o peso do animal.» (1)

Duas palavras sobre as experiencias que servem de fundamento a esta proposição tão geral:

A quantidade de estrychnina, que GODART e SLOSSE verificaram ser susceptivel de matar um kilo de coelho, varia de 34 a 230 centesimas de milligrammas; oscilla na razão de 1 para 6,76.

MASOIN (2), repetindo estas experiencias com soluções do mesmo titulo de sulfato de strychnina, no laboratorio de physiologia da Universidade de Louvain, chegou a uma conclusão muito diversa. Todas as injeccões foram praticadas na veia crural. Não nos dizem, porém, aquelles in-

(1) *Journ. de med. de chir. et de pharm.*, Bruxelles, 1894.

(2) *Arch. de Phys.*, 1895, pag. 369.

vestigadores qual a velocidade adoptada. MASOIN injectava duma maneira uniforme e constante 7 c. c. por minuto, em animaes que se encontravam em identicas condições de peso e idade; mantidos em repouso, não lhes era ministrado alimento algum nas doze horas precedentes.

GODART e SLOSSE são mudos a respeito destas condições prévias.

Estes investigadores e aquelle encontraram para valor da quantidade de sal de estrychnina necessaria para matar um kilo de animal os numeros seguintes :

Experiencias de Godart e Slosse	Experiencias de Masoin
34 centesimas de milligramma	27 centesimas de milligramma
38 » » »	35 » » »
48 » » »	38 » » »
57 » » »	45 » » »
65 » » »	48 » » »
78 » » »	48 » » »
86 » » »	52 » » »
230 » » »	57 » » »

Os valores encontrados na 1.<sup>a</sup> serie de experiencias estão entre si como: 1; 1,11; 1,44; 1,67; 1,91; 2,52; 6,76.

Os de MASOIN oscillam entre limites mais estreitos: 1; 1,29; 1,40; 1,66; 1,77; 1,77; 1,92; 2,11.

Poder-se-á acaso aceitar, em face destes ultimos dados, que nenhuma proporcionalidade existe entre a dóse toxical e o peso do animal? Não admitte hesitações uma resposta negativa.

Confrontando os numeros das duas series parallelas do quadro precedente, depois de se ter notado a superioridade dos inscriptos na primeira columna, o que é vero-

simil attribuir a uma maior velocidade nas injeções, a presença no final do numero 230 não poupa uma surpresa.

A passagem brusca do numero 86 para aquelle, uma só vez obtido, leva á suspeita dalguma falta da experimentação, ou relativa ás más condições do animal.

Desnecessaria nos parece, porém, a insistencia sobre este ponto, não obstante a conclusão de GODART e SLOSSE ser de molde a auctorisar as mais graves consequencias sob o ponto de vista experimental e clinico. Aquella proposição tam absoluta e radicalmente formulada é insustentavel.

Não ha certamente uma proporcionalidade rigorosa entre a dóse toxica e o peso do animal.

Relativamente ao que se passa com o homem, ha susceptibilidades, como ha tolerancia para certas substancias medicamentosas. Mas taes variações individuaes, cuja existencia na especie humana é do dominio de todos, deverão encontrar-se em proporção tam consideravel e com igual frequencia nas especies animaes commumente empregadas nos laboratorios?

O genero de vida, os habitos, as doenças anteriores, etc. constituem factores duma importancia capital a este respeito.

Ora, GODART e SLOSSE não deixarão por certo de admittir de boamente que no coelho nada de semelhante se encontra, como não terão nenhuma razão séria para crer que animaes da mesma especie collocados nas mesmas condições não constituam reagentes sufficientemente comparaveis.

Relativamente á istrychnina, as predisposições individuaes do coelho parecem variar na relação do simples para o dobro, ou mais rigorosamente, na relação de 1 para 2,11 nas experiencias de MASOIN, e na relação de 1 para 2,52 nas de GODART e SLOSSE, feita a exclusão do numero 6,76, uma unica vez encontrado.

Compulsando os trabalhos dos mais abalisados experi-

mentadores, como os de GLEY e CAPITAN sobre a antipyrina, de RICHET e LANGLOIS sobre o chlorhydrato de cocaína, de ROGER e PINET sobre a estrychnina, e outros que por brevidade omittimos, em todos se nota que o coefficiente toxico duma substancia só é susceptivel de oscillações em limites assás proximos: o que prova a diminuta importancia das variações individuaes dos coelhos de laboratorio.

Em que peze a GODART e SLOSSE, taes resultados são de natureza a não permittir que alguém se arrogue o direito «à dénier toute valeur à la notion du coefficient toxique imaginé por BOUCHARD e aux investigations auxquelles elle sert de base.» (1)

De resto as arguições, assentes em factos negativos, que aquelles auctores dirigem ao methodo de BOUCHARD, cáem deante da consideração de que outros experimentadores, sem duvida alguma collocados em mais favoraveis condições de technica, obtiveram resultados positivos. GLEY MASOIN, CADEAC e GUINARD encontraram cada um de per si, isoladamente, um augmento da toxidez urinaria consecutivamente á thyroidectomia.

A coherencia dos resultados é o melhor criterio de valor dum processo experimental. Ora, o preconizado por BOUCHARD dá resultados coherentes, perfeitamente comparaveis, nas mãos dos que o empregam com as precauções devidas. Certo que a experiencia pode ser falseada por um accidente; mas este é em geral facilmente reconhecivel, quer pela sua natureza, por manifestações especiaes da parte do animal, quer pela circumstancia de conduzir a resultados, cujo absurdo se patenteie num confronto com factos já conhecidos.

E visto que é indispensavel para a proficuidade dos

---

(1) *Arch. de Phys.*, 1895, pag. 368.

resultados que o experimentador se colloque em condições sempre identicas duma technica racionalmente substituida, apuremos essas condições e estabeleçamos esta technica.

#### V. Technica da determinação do equivalente uro-toxico

A urina deve ser recolhida durante um periodo de 24 horas em frascos esterilizados e bem rolhados, no fundo dos quaes póde ser de conveniencia lançar alguns centigrammas de naphtol; este sal insolúvel não altera a toxidez e evita a fermentação ammoniacal.

A reacção da urina é sem influencia sobre o poder toxico; assim o demonstra a sensível concordancia dos resultados fornecidos por injeccões comparativas duma mesma urina, antes e depois de neutralizada a sua acidez natural por um soluto concentrado de soda, cujo equivalente alcalino haja sido previamente determinado.

Posto que se diga inoxia a substancia ajuntada na dóse em que é sufficiente, parece-nos preferível deixar acido um liquido que é normalmente acido; modificar-lhe no sentido indicado a sua reacção chimica é despoja-lo duma das suas propriedades fundamentaes.

«Por excesso de prudencia», BOUCHARD neutralisa a urina no momento de a ensaiar, e esta pratica é geralmente seguida.

Quasi todos os experimentadores aquecem a urina á temperatura ordinaria do animal que vae ser sacrificado; e procuram manter constante até final essa temperatura. Todavia BOUCHARD affirmou a nulla influencia de tal aquecimento; e este asserto tem recebido confirmações em grande numero. Entendemos portanto, que, no intuito de evitar complicações operatorias inuteis, a urina deve sof-

frer, como operação preliminar, apenas a filtração por papel (1).

Findo o nythemero, durante o qual é recolhida a urina, deve a experiencia ser feita sem tardança; o tempo é um grande factor de modificação dos liquidos organicos, ainda que, no nosso caso, a fermentaçãe ammoniacal não tenha podido produzir-se.

O aparelho primitivamente usado para as injeccões intra-vasculares de urina foi uma seringa. Actualmente, porém, quasi todos os experimentadores (2), seguindo o exemplo de BOUCHARD e seus discipulos, empregam o aparelho de ROGER, no qual o liquido é impellido pela força elastica do ar comprimido por intermedio duma pera de cautchu. A interposição dum gaz elastico e muito compressivel representa um progresso sobre a seringa, na qual a pressão se exerce directa e integralmente sobre os liquidos a injectar, que são por sua natureza muito pouco compressiveis. Esta pressão varia a cada instante e em proporções que podem ser notaveis, donde resultam velocidades de injeção differentes segundo o momento considerado; e estas variações são susceptiveis de viciar os resultados.

Foi o reconhecimento destes defeitos que incitou os experimentadores á busca dum aparelho que dêsse sob uma pressão constante uma velocidade de injeção sempre a mesma e mensuravel.

O siphão proposto por VOISIN e por muitos adoptado, é igualmente improprio, pela variabilidade da pressão, que diminue á medida que o liquido se vae escoando (e não

---

(1) Como a neutralisação e o aquecimento da urina originam a deposição de phosphatos, é obvia a necessidade de, quando se empregar a urina assim modificada, ser a filtração feita em ultimo logar.

(2) Ainda actualmente um ou outro auctor recorre a uma seringa graduada. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 1901, n.º 17.

se pôde pensar em restabelecer constantemente o mesmo nível superior sem grandes difficuldades experimentaes), e porque a velocidade da injeção fica desconhecida.

JOFFROY e SERVAUX, para darem uma solução mathematica áquelles desideratos, recorreram ao frasco de MARIOTTE, empregado nos laboratorios quando se pretende obter o escoamento dum liquido com uma velocidade constante. Esta velocidade pôde ser medida num momento qualquer pelo computo das bolhas de ar que entram no frasco durante um espaço de tempo determinado, um minuto por exemplo (1).

Notaram estes ultimos experimentadores que, quando se emprega o frasco de MARIOTTE, a velocidade com que se começa uma experiencia se não mantem em regra até final, sem embargo de ser constante a pressão no frasco com qualquer quantidade de liquido.

Passado algum tempo, e não raro muito rapidamente, a velocidade da injeção affrouxa, por vezes duma maneira consideravel, para entrar a restabelecer-se ao fim dum espaço de tempo maior ou menor e readquirir proxima-mente o primitivo valor.

JOFFROY e SERVAUX, desejando, como os seus predecessores, obter uma velocidade constante, procuravam compensar as variações de pressão que, já por excesso de liquido, já em consequencia de phenomenos vaso-motores impossiveis de evitar, se produziam no systema circulatorio do animal, collocando a differente altura o vaso de MARIOTTE, que tinham fixo a uma prancheta suspensa por um cordão que passava por uma roldana.

Desta arte conseguiam restabelecer a cada instante o excessó inicial da pressão do liquido em relação á pressão

---

(1) Para uma mesma velocidade de escoamento o numero de bolhas varia, mas muito pouco, com a altura do liquido no frasco.

sanguinea intra-venosa e, por consequencia, obter uma mesma velocidade de escoamento, medida pelo numero de bolhas de ar que entram no frasco.

Hoje, porém, subordinam-se inteiramente ás indicações que o seu «apparelho automatico» lhes fornece e julgam-se nas melhores condições experimentaes. Respeitam os affrouxamentos da injeção, especialmente attribuidos a vaso-constricções, que consideram como um effeito toxico, e repudiam abertamente a seringa e o aparelho de ROGER.

Felicitam-se por conseguirem obter com o seu aparelho uma noção exacta deste phenomeno (que aliás não passa despercebido a quem emprega o aparelho de ROGER, visto que este mesmo auctor diz «verificar-se em certos momentos a necessidade de empregar uma força consideravel para fazer penetrar o liquido»), e insurgem-se contra o emprego da seringa, porque usando della «o experimentador só se preoccupa com praticar a injeção com regularidade — e póde chegar a consegui-lo — sem que possa aperceber-se desta resistencia á injeção, devida ás causas mencionadas».

Certo é que se póde ter conhecimento do phenomeno e exteriorisa-lo duma maneira clara empregando a seringa, se ligarmos o corpo desta á canula por intermedio dum tubo de cautchu. Facil era preve-lo; mas KOHLARD, que aliás recommenda o vaso de MARIOTTE, diz-nos incidentemente, descrevendo antigas experiencias, que «em certos momentos a pressão no tubo elastico augmenta consideravelmente e o distende duma maneira notavel, qualquer que seja aliás a lentidão com que a injeção seja impellida; e se nelle existirem pontos fracos, produzem-se dilatações ampullares, por vezes mesmo rupturas».

Este phenomeno que se passa no tubo de cautchu, patenteia a vaso-constricção, contra a qual não se deve lutar, sob pena de se produzir a distensão exagerada ou mesmo a ruptura dos vasos menos resistentes, isto é, lesões que

nenhuma relação têm com a toxidez do liquido experimentado.

Não deixaremos entretanto de notar que o aparelho de JOFFROY e SERVAUX apresenta um grande inconveniente, derivado da graduação grosseira do frasco, unica que o seu grande diametro comporta. De tal facto resultam difficuldades praticas que têm procurado vencer e affirmam te-lo conseguido, mediante um processo de avaliação da quantidade de liquido injectado, que nós não parece muito pratico. É, com effeito, pelo numero de bolhas de ar entradas no frasco que terá de ser calculada a quantidade de liquido saído; a contra-prova consiste na determinação do augmento de peso do animal.

Ora, por um lado a contagem esculpulosa das bolhas de ar demanda uma vigilancia extraordinariamente attenta; por outro lado, facil é de ver que a contra-prova não é susceptivel de grande precisão, tanto pela circumstancia de não ser possivel entrar em linha de conta com a perda de peso causada pela evaporação pulmonar e pela salivacão, como em razão da difficuldade em recolher integralmente a urina emittida pelo animal e que deve ser pesada, como os mais *excreta*. A isto accresce que, se a experiencia fôr um pouco demorada, uma certa parte deste liquido póde evaporar-se; é ainda possivel que um pouco de sangue se derrame; em summa, uma differença dalgumas grammas póde escapar, o que não é sem importancia.

Para obterem o mesmo fim que JOFFROY e SERVAUX tinham em vista ao empregar o frasco de MARIOTTE, isto é, uma pressão de injectão constante, o que todos consideram como uma preciosa garantia de exactidão, GUINARD, HALLION (1), BERNARD e LESNÉ têm feito construir diversos aparelhos.

(1) *Arch. de Phys.*, 1896.

As nossas preferencias são para o de BERNARD, menos complicado que os outros e cujos resultados são excellentes. É fundamentalmente o apparelho de ROGER, mas de tal sorte disposto, que se pôde mais facilmente ler as pequenas quantidades de liquido, seguir o curso deste e calcular a sua velocidade e a pressão que o expulsa.

Como nas injeções intra-vasculares a rapidez de escoamentos do liquido depende, por uma parte, da pressão a que está submettido e por outra parte, da pressão existente no vaso do animal em que é injectado, segue-se que, embora persista constante o primeiro factor, dada a variabilidade do segundo, a velocidade de injeção não será uniforme.

Com o apparelho de BERNARD é facil, adoptando uma pressão sensivelmente constante, respeitar as variações que áquella velocidade imprimem as modificações vaso-motoras, que a propria injeção provoca. Pressão constante de injeção, mas não velocidade constante, eis o que se deve procurar conseguir, eis uma precaução ainda desprezada por alguns dos mais recentes auctores, LEVET por exemplo (1).

Esta velocidade deve ser pequena.

Em experiencias comparativas sobre a toxidez de varios liquidos, cujas toxias possuam muito desigual valor, será uma illusão suppôr que se opéra em condições semelhantes empregando uma velocidade sensivelmente constante, se essa velocidade fôr grande, porque então o organismo será muito mais intensamente influenciado pela differença na quantidade de substancias toxicas introduzidas com os diferentes liquidos no mesmo espaço de tempo.

Além de que, realizada aquella hypothese, se a urina fôr muito toxica, a dóse necessaria para produzir a morte pôde ser excedida com extrema facilidade.

(1) LEVET, *Des parentés morbides*, Paris, 1900.

A adopção duma velocidade pequena nestas investigações de uro-toxidez comporta as vantagens seguintes:

1.º — A ausencia de perturbações, sobretudo cardiacas e vasculares, que o ingresso muito brusco dum liquido estranho é capaz de occasionar. Podem taes perturbações não ser mortaes immediatamente, mas, introduzindo na experiencie factores estranhos, devem ser evitadas.

2.º A impregnação lenta e gradual do organismo, collocando o animal ao abrigo dos choques nervosos, consecutivos ao accesso subito duma substancia estranha aos grandes centros funcionaes.

3.º — O desenvolvimento progressivo dos symptomas — o que proporciona facilidades para a sua analyse — conduzindo quasi insensivelmente á morte, por uma acção tam completa quanto possivel sobre o organismo.

Mas entre as vantagens duma injeccão lenta não ha apenas a notar as que consistem em dar aos phenomenos toxicos uma preponderancia e por assim dizer uma maior pureza, supprimindo ou attenuando certas perturbações de ordem physica: é que o genero de intõxição pôde ser dependente da velocidade.

Como a urina é uma solução das mais complexas, supponhamos, para dar a maior clareza ao nosso pensamento, que injectavamos no coelho, tal como o podiamos fazer com urina, uma solução contendo duas substancias toxicas, uma das quaes fosse duma acção notavelmente mais lenta que a outra; e que nesta solução havia do veneno de acção rapida uma dóse dupla da necessaria e sufficiente para produzir a morte do animal, ou dóse toxica minima e, do veneno lento, cem vezes esta dóse. Injectemos a solução rapidamente: o animal morrerá quando tiver recebido sensivelmente a metade do soluto, isto é, uma quantidade necessaria e sufficiente do veneno rapido; succumbirá, com effeito, antes que o outro veneno tenha tido tempo para actuar num grau apreciavel.

Injectemos, pelo contrario, o liquido muito lentamente: dando ao veneno lento o tempo de que carece para entrar em acção, o animal succumbirá antes de ter recebido a mesma quantidade de soluto que na experiencia ha pouco figurada.

Portanto, a despeito de ser sempre igual a riqueza da solução em principios toxicos, a toxidez calculada nos dois casos póde differir notavelmente, sendo constantemente mais elevada no segundo.

Ora, a urina contem venenos de diversas especies, duma desigual promptidão nos seus effectos. Com uma injeccão rapida, que occasiona a morte nalguns minutos, é claro que os venenos de acção lenta, que não serão talvez os que menos interesse possam offerecer á nossa consideração, são privados de manifestarem a sua presença duma maneira sensivel.

Ainda que os ensaios comparativos com uma mesma urina injectada com grandes differenças de velocidade conduzissem a resultados sensivelmente concordantes, deveriamos optar pela velocidade lenta.

A razão é obvia; se a injeccão lenta tende pelo que acabamos de expôr, a elevar o valor do coefficiente toxico, concorre tambem para o diminuir: é que as perturbações de ordem mechanica provocadas pela irrupção relativamente brusca, no systema vascular, duma massa de urina relativamente grande, são diminuidas numa larga medida pela lentidão da penetração.

Claramente se vê que a suppressão destas perturbações deve preoccupar-nos quando pretendermos determinar o valor do poder toxico do liquido urinario.

Entretanto para a lentidão da injeccão ha evidentemente um limite, pois que a experiencia deve estar terminada antes que se tenha produzido uma eliminação ou uma transformação notavel das substancias toxicas, antes da defeza contra os principios toxicos ter tido tempo para se organizar e intervir utilmente.

A discordancia nos resultados das experiencias de determinação numerica da toxidez realizadas por auctores diversos, e até pelo mesmo experimentalador em successivos ensaios, pôde ser em parte a consequencia legitima e necessaria da differença na velocidade das injeccões. Taes variações têm pelo menos oscillado entre 1 c. c. por segundo (1) e 0,75 c. c. por minuto (2).

Por outro lado, a velocidade adoptada deve differir conforme ao pezo do animal sobre que se opera. Mantê-la constante para todos os casos ou, como tambem se tem feito, varia-la arbitrariamente e indifferentemente em qualquer sentido, não nos parece que seja pratica recommendavel.

Bem que os experimentadores aconselhem em regra, e fundadamente, a escolha de coelhos de 2 kilos, a verdade é que o pezo dos animaes empregados tem variado de 1 a 3 kilos. Ora, sendo a capacidade circulatoria variavel com esse pezo, não se pôde dizer que se observa uma perfeita identidade nas condições experimentaes, empregando a mesma velocidade de injeccão em animaes de pezo tão desigual.

A analyse de numerosas experiencias levou-nos á convicção de que a pressão a adoptar deve ser a que determina a velocidade media de 4 a 5 c. c. por minuto, a qual se deve deixar obedecer ás reacções vaso-motoras do animal.

Nesta ordem de experiencias o coelho é o animal preferido, porque apresenta vantagens sobre todos os outros utilizados em medicina experimental. É de facil acquisição. Resiste sufficientemente, sem ser demasiado insensivel aos

---

(1) CHARRIN, *Poisons de l'organisme*, pag. 53.

(2) QUINTON, *C. R. de la Soc. de Biol.*, 23 de junho de 1900.

efeitos das substancias a estudar. Apresenta na face dorsal do pavilhão da orelha uma veia saliente, facilmente acessivel, desprovida de valvulas, que se deixa penetrar em todo o seu comprimento por uma canula-agulha de Pravaz e se lança no tronco das veias auriculares, que a seu turno desagua na jugular externa.

Uma vez pesado, registadas as pulsações, cyclos respiratorios, temperatura, estado da pupilla e dos reflexos geraes e palpebraes, esvasiada a bexiga por pressão apropriada na região prevesical, cortados ou rapados os pellos que possam encobrir a veia marginal postero-externa, —é o animal fixo convenientemente. Nesta veia é em seguida ousadamente introduzida a agulha de PRAVAZ. A agitação em que o animal se debate ao ser amarrado, provocando uma vaso-dilatação das suas veias auriculares, favorece a introdução da agulha.

Quando esta pequena operação é seguida de completo exito pôde ver-se a urina correr na veia, e não se fórma a tumefacção de edema, que no caso contrario apparece. Quando a agulha em vez de penetrar na veia, passa ao lado, entra o animal de agitar-se immediatamente; a causa deste phenomeno anormal deve ser a dor provocada pela compressão dos filetes nervosos exercida pelo liquido injetado. Então a experiencia será recomeçada.

Se com o liquido for introduzido ar, o animal é acomettido de dispnea, de convulsões, e morre por embolia pulmonar; tambem em tal caso a experiencia não será valida.

A agulha pôde ser fixa a jusante por uma laqueação em massa, por uma pinça ou pelos proprios dedos.

Continuada interruptamente a injeção até ao momento da morte do animal, far-se-á seguidamente a autopsia, que no caso de revelar a par das lesões devidas ás injeções outras que sejam preexistentes annullará a experiencia.

Extincta a respiração, nota-se a quantidade da urina que realizou este effeito. Determinado assim o valor da uro-toxia, calcula-se o coefficiente uro-toxico, que é indispensavel para se estabelecer rigorosamente a relação entre a toxidez das urinas de individuos differentes.

Com effeito, tendo-se verificado que para matar 1 kilo de coelho são necessarios, por exemplo, 50 c. c. de urina dum individuo A e 100 c. c. de urina dum individuo B, poder-se-ia ser induzido a crêr na toxidez superior da urina deste ultimo. Tal conclusão não é entretanto legitima; para que nos dois casos a toxidez seja equivalente, é apenas necessario que A elimine em 24 horas uma quantidade de urina dupla de B.

Mais ainda. O facto de dois individuos emittirem num nyctemero a mesma quantidade de urina mortal na mesma dose para 1 kilo de animal, não se pôde necessariamente concluir que elles tenham o mesmo poder toxico, porque não fica excluida a intervenção possivel doutra causa de variação: o peso dos individuos. Se um delles com um peso metade menor fabrica a mesma quantidade de materia toxica que o outro, o seu poder toxico será duplo.

Assim o coefficiente toxico define-se — a quantidade de materia toxica, avaliada em uro-toxicas, que 1 kilo de individuo elimine em 24 horas.

Supponhamos que foram necessarios 100 c. c. duma urina para matar um coelho de 2 kilos; e que o individuo que a eliminou na dose de 1500 c. c. no espaço de 24 horas, pesava 60 kilos.

Se 100 c. c. de urina contêm a dose de principios toxicos sufficiente para matar um animal que pesa 2 kilos, 1 c. c. deve matar 2 centesimas de kilo e a totalidade do nyctemero,  $\frac{2}{100} \times 1500$  kilos de materia viva.

Ora esta quantidade de uro-toxias foi fornecida pelos 60 kilos do individuo supposto; a dose de toxicos urinaris

correspondente a cada kilo do seu peso deverá ser mortal para uma quantidade de materia viva 60 vezes menor, ou seja um numero de kilos igual a  $\frac{2 \times 1500}{100 \times 60}$ .

O coefficiente uro-toxico será pois neste caso 0,5, valor da relação indicada. Tal numero significa que o coefficiente toxico da urina desse individuo é igual a meia uro-toxia, ou que 1 kilo de individuo elimina pela urina, em 24 horas, materias toxicas numa dose mortal para 0<sup>k</sup>,500 do seu proprio organismo.

O valor do coefficiente uro-toxico normal não é o mesmo para todos os experimentadores. Esta variabilidade — mais uma vez o dizemos — reconhece essencialmente como causa as differenças na technica experimental. A igualdade nos resultados exige a adopção dum *modus faciendi* uniforme e immutavel.

Quando uma urina é submettida a successivas provas, subordinadas rigorosamente á mesma technica, os valores obtidos são quasi sempre eguaes ou muito proximos. Esta é que é a verdade irrecusavel. Exigir mais constancia nos resultados seria desconhecer a intervenção inevitavel de certas circumstancias, variaveis em todos os phenomenos biologicos.

A quem ainda objectasse que a toxidez para o coelho não é necessariamente proporcional á toxidez para o organismo humano, poder-se-ia responder que os dois valores variam em geral, segundo todas as probabilidades, no mesmo sentido; é além disso o caminho que nos resta a seguir, sendo embora para lamentar que as condições ideaes não sejam realisaveis.

PAVESI (1) admite que o coefficiente uro-toxico varia

---

(1) *Urina pneumonica*, 1898.