

SOBRE ESTRUCTURA DE COAGULOS

por

ANTONIO DE GREGORIO ROCASOLANO

Toda causa que perturba la estabilidad de los sistemas coloidales, es un agente de coagulación y puede ser o exterior al sistema, en cuyo caso las coagulaciones son ordinariamente rápidas, o causa que reside en el sistema mismo y modificando lentamente su estabilidad, separa la fase dispersa de su medio de dispersión.

A juicio nuestro, el fenómeno de la coagulación es tan general como se deduce de la afirmación anterior, pareciéndonos una inútil complicación introducida en el estudio de este fenómeno, el diferenciar como la mayoría de los autores hacen, hasta suponerlos fenómenos esencialmente distintos, los denominados precipitación de coloides, coagulación, gelatinización, etc.

Todo sistema coloidal es un sistema disperso en el que la fase dispersa se encuentra dividida en partículas cuyo diámetro está comprendido entre 0.1 y 0.001 de milésima de milímetro; cada una de estas partículas, es una unidad en el concepto físico-químico y se la denomina *micela*, estando formada por un sistema material bastante complejo, integrado por moléculas polimerizadas del cuerpo disperso, ordinariamente combinadas por adsorción con distintos iones y aun con moléculas del medio de dispersión. Esta partícula está provista de una carga

eléctrica, que desempeña un papel preponderante en la estabilidad del coloide, pues origina entre las micelas una verdadera repulsión electrostática, que se opone a la aglutinación de las partículas.

Puede establecerse el equilibrio de los sistemas coloidales por dos acciones antagónicas, que son: una análoga o idéntica a la tensión superficial, que tiende a la aglutinación de las partículas para disminuir su superficie, y la otra, la acción de la carga eléctrica que las partículas poseen, que procede, muy verosímilmente, de los iones con que las partículas por adsorción se combinan.

Cuando el sistema coloidal pierde sus condiciones de estabilidad, el coloide deja de presentar sus propiedades características y la fase dispersa se separa del medio de dispersión, constituyendo un coágulo. La estructura de los coágulos, variable según una porción de circunstancias, es el estudio realizado, del que vamos a dar cuenta en esta nota.

El concepto vulgar de coagulación, es el suponer que un sistema coagula, cuando por la acción de un agente capaz de producir este fenómeno, su masa antes transparente se torna opalina, o aparecen en ella copos o masas insolubilizadas en su medio de dispersión; es cierto que el fenómeno descrito es de coagulación, pero también lo es que a veces la coagulación no es visible a simple vista, porque el coágulo no tiene tamaño suficiente para llegar a ser visible para nosotros y en este caso ni se enturbia el líquido, ni mucho menos se forman copos; tal sucede al hervir algunos hidrosoles Bredig o dispersoides diluídos de materias albuminoideas, etc., y aun se da muy frecuente el caso, de que los coloides son aparentemente insensibles a las acciones iónicas, pero esto sólo debe achacarse a defectos de observación (1).

La observación ultramicroscópica define todos los casos

de coagulación: cuando las partículas coloidales pierden su estabilidad, se adhieren a las paredes de vidrio o cuarzo en que hayamos hecho la preparación y el movimiento browniano cesa para el coloide coagulado. Estos casos de coagulación son muy frecuentes, pero para nuestro objeto tienen ahora poco interés, porque los coágulos se reducen a micelas adheridas a la vasija que contiene el sistema o a pequeñas aglomeraciones micelares en suspensión en el líquido, de las que el estudio de su estructura interesa muy poco.

Refiriéndonos únicamente a los coágulos visibles a simple vista, cuya estructura puede ser observada con ayuda del microscopio, es muy racional admitir que su estructura sea granular, porque los cristaloides se difunden por los geles, casi tan rápidamente como en el agua. Zsigmondi ha investigado sobre geles de ácido silícico, de gelatina y de agar-agar (2), comprobando que cuando coagula una disolución coloidal ópticamente irresoluble, aparecen al principio pequeñas partículas que se reúnen gradualmente en copos y éstos tienen una estructura granosa de grano muy fino.

En la deshidratación de geles análogos a la gelatina, ha hecho notar Bemmelen (3) que al coagularse un hidrosol de ácido silícico, se forma una masa que por cada molécula-gramo de ácido contiene 330 de agua retenida mecánicamente por el gel, pues por comprensión y después por evaporación a presión normal, elimina más de cuatro quintos del agua retenida, resultando un gel que contiene seis moléculas de agua por cada una de ácido; si en estas condiciones se deseca el gel, en un espacio saturado de vapor de agua, sigue cediendo agua y el gel se enturbia. Zsigmondi interpreta estos hechos experimentales, calculando por la tensión del agua a presión constante, la capacidad de los espacios capilares, resultando ser de cinco millonésimas

de milímetro, es decir que deduce para el gel una estructura finísima.

En la formación de los geles admite Butschli (4) la formación de un tejido de materia que presenta estados intermedios entre el sólido y el líquido aprisionando entre sus mallas, medios de dispersión y le atribuye una estructura esponjosa, en la que cada alvéolo mide de 1 a 5 micras; así se comprende que el agua de imbibición puede ser substituída por otros líquidos, de lo que resulta la permeabilidad de los geles.

Tal como las citadas investigaciones plantean el asunto y nada hemos visto publicado en otra orientación, parece que la estructura de los geles está determinada sólo por el hecho de ser geles asignándoles una forma reticular granulosa.

Creemos que la estructura de los geles varía con una porción de circunstancias, entre las que hemos podido comprobar, la composición química del medio, sus propiedades químico-físicas, la temperatura a que el coágulo se obtenga, el tiempo invertido hasta la totalidad del fenómeno, y la concentración del sistema. El estudio de estas estructuras considerando las variables que citamos y aun otras que pueden estudiarse, tienen gran interés bajo muchos aspectos considerado: uno de ellos, que no es de poca importancia, se refiere a que muchos estudios histológicos se hacen observando estructuras de verdaderos coágulos obtenidos por la acción de fijadores y colorantes sobre el complejo coloide que constituye la materia viva. Es indudable, que el proceso mediante el cual la materia viva pierde su estado coloidal, es el tránsito entre la vida y la muerte, debiéndose tener en cuenta al observar geles o coágulos, que muy otra es la constitución del coloide de que proceden. Entre las acciones modificadoras de la estructura de los coágulos sería muy interesante estudiar las que

se refieren al caso de ser el coloide coagulado el complejo materia viva y los agentes de coagulación fijadores y colorantes; este es el caso más difícil de estudiar, hasta el que no hemos llegado; comenzamos por los coloides más sencillos y solamente a estos estudios, por decirlo así preliminares, se refiere esta nota.

En el estudio muy especializado que sobre el fenómeno de la coagulación estamos realizando, encontramos tal carácter de generalidad, que no vemos inconveniente en considerar la cristalización como un caso particular de la coagulación, en el que por razón de concentración, de espacio, de tiempo y de constitución molecular, las partículas se separan de su medio de dispersión, adoptando formas cristalinas; y aun vamos más lejos en nuestras afirmaciones, diciendo, no sólo como afirma Weimarn (6) que las micelas son núcleos cristalinos que se convierten en cristales cuando se las nutre convenientemente, sino que cuando los cuerpos cristalizan, lo hacen pasando previamente *en todos los casos*, por el estado coloidal; así hemos podido comprobarlo en nuestras recientes investigaciones.

Realizada la coagulación del coloide en condiciones de reposo y lentitud suficientes, más una conveniente dilución, puede observarse el tránsito de sistema coloide a cristalino, operando en cada caso de manera distinta, pues no puede darse todavía un método general que comprenda todos.

Entre los agentes de coagulación, el que más fácilmente produce coágulos de estructura cristalina hemos encontrado que es el campo eléctrico: en este caso, la coagulación se produce, porque por la acción del campo eléctrico, las micelas se orientan depositando su carga eléctrica en el electrodo de signo contrario (transporte eléctrico), perdiendo el coloide su estabilidad y precipitándose o

coagulando la fase sólida. Puede observarse muy fácilmente, así operamos; esta forma de coagulación, macroscópicamente, colocando el sistema coloidal en un vaso de vidrio e introduciendo en su masa dos láminas de platino o de oro, que son los electrodos, entre los cuales se establece una diferencia de potencial variable a voluntad del operador, y cuya influencia (que la tiene y no pequeña), en relación con la producción y estructura del coágulo, puede estudiarse.

Si el coloide coagulado poseía una concentración elevada, el coágulo tiene una estructura irregular como la que representan la fig. 1.^a y la fig. 2.^a, coágulos de platino obtenidos por coagulación eléctrica de un hidrosol Bredig; pero si se opera a débil concentración y se regulan los factores de la corriente, de modo que el coágulo se produzca muy lentamente, el coágulo depositado posee carácter cristalino: así obtuvimos cristales de platino (fig. 3.^a) y dendritas de plata (fig. 4.^a); de igual manera hemos obtenido cristalizados varios otros metales, reconociendo en todos los casos que citamos la cristalinidad, por medio del microscopio polarizante.

Estos casos de cristalización, con muchos otros que para el objeto de esta nota no precisa citar, demuestran contra ideas clásicas, que para cristalizar muchos cuerpos no es necesario ni disolverlos, ni fundirlos, ni volatilizarlos; basta dispersarlos hasta el grado coloidal y coagular el dispersoide o falsa disolución obtenida, de manera adecuada.

Cuando se trata de coloides reversibles o siempre que se quiera observar el fenómeno con mucho detalle, puede practicarse esta forma de coagulación, llenando con el coloide una cámara húmeda de las que se emplean en microbiología; en ella establecemos, por medio de unos hilos de platino, el campo eléctrico, y observando con

combinación óptica de pequeña amplificación, se sigue perfectamente la marcha de la formación del coágulo y se observa en qué condiciones aparece con estructura cristalina.

Operando la coagulación por acciones iónicas o por variación del medio de dispersión, también puede obtenerse coágulo cristalino o amorfo de un mismo sistema, según las condiciones de temperatura y concentración a que se opere. La edestina, una globulina que se aísla de los cañamones, forma un sistema coloidal cuando se dispersa en una solución acuosa de cloruro de sodio al 10 %; coagula este sistema y la edestina se separa de su medio de dispersión, variando éste por adición de agua; si operamos esta coagulación en frío, añadiendo bruscamente dos volúmenes de agua a uno de sistema coloidal, el coágulo que obtendremos (fig. 5.^a) adopta la estructura granular que tantas veces se ha observado; pero si se calienta separadamente en una estufa a 70° por una parte, 1 cc. de la dispersión de edestina y por otra 2 cc. de agua, mezclando después estos dos líquidos sin sacarlos de la estufa y dejando enfriar muy lentamente la mezcla, terminado el enfriamiento, por inmersión del tubo en hielo, el coágulo de edestina está formado por cristales de este albumoide (fig. 6.^a).

De modo análogo, el ácido acético coagula la ovoalbúmina formando un coágulo amorfo (fig. 7.^a); pero si se opera esta operación con detalles de técnica como los descritos por Bertrand (5), se obtienen cristales de ovoalbúmina (fig. 8.^a).

De estas observaciones resulta que la estructura del coágulo, puede ser tan distinta como supone el ser cristalino o amorfo para un mismo sistema coloidal, modificando algunas condiciones de la experiencia como factores de la corriente, concentración del coloide, temperatura, tiempo, concentración iónica, etc

Cuando la coagulación se produce por acciones iónicas, hasta macroscópicamente podemos darnos cuenta de la diferente estructura del coágulo, según la concentración iónica en presencia. Hidrosoles de gelatina al 1 %, coagulan por adición de disolución acuosa saturada de sulfato amónico, pero si la coagulación se produce por mezcla de volúmenes iguales de los dos sistemas, el coágulo es un tanto esponjoso y se reparte uniformemente en la masa líquida, mientras que si a un volumen del coloide añadimos dos, tres, cuatro o cinco volúmenes de la solución salina, el coágulo progresivamente se retrae, tanto más cuanto mayor es la concentración iónica en presencia, llegando a formar una masa apretada que flota en el líquido. Observados estos coágulos al ultramicroscopio, comienzan por ser masas granulosas, reticulares y terminan a la máxima concentración iónica, por ser masas compactas en apariencia, que en el campo del ultramicroscopio emiten una luz tan viva, que la observación se dificulta.

De estas observaciones y otras análogas se deduce que, cuando la coagulación es producida por una acción iónica, la estructura del coágulo está influenciada por la presión osmótica del medio en que se produce, aumentando la retracción o concentración del gel, con la presión osmótica del medio.

Algunas veces, entre el coloide que coagula y el electrolito, causa de la coagulación, se producen verdaderas acciones químicas, independientemente de las variaciones físicoquímicas del medio que determina la coagulación: en estos casos la estructura del coágulo, guardará evidentemente relación con la constitución química del coloide coagulado.

Comprobamos esta causa de variación de estructura del coágulo, operando con hidrosoles bastante concentra-

dos de diferentes materias albuminoideas y coagulando por medio del hidróxido de sodio y el sulfato de cobre, que producen la reacción del biuret con un precipitado de hidróxido cúprico que arrastra coagulado, parte del coloide en presencia, si la sosa y la sal cúprica se añaden en suficiente exceso; bastan a nuestro objeto para documentar estas ideas las figs. 9.^a, 10 y 11, que representan el coágulo obtenido partiendo respectivamente de un hidrosol de hemialbumosa, seroalbúmina y hemoglobulina.

Estas observaciones no bastan para pensar en que la estructura de los coágulos puede ser el principio de un método de análisis cualitativo; esto hoy no puede afirmarse, pero sí sirve para comprobar que el estudio de la estructura de los coágulos, no puede hacerse sin tener en cuenta las acciones químicas que entre los cuerpos en presencia puedan originarse.

En los hidrosoles de gelatina hemos encontrado una especial forma de coágulo, operando la coagulación en caliente, por acción iónica o por variación de medio de dispersión, que no hemos observado en otro hidrosol de constitución sencilla, pero que le hemos visto aparecer, observando el líquido cefalo-raquídeo, después de una inyección de las que producen analgesia.

Cuando se trata un hidrosol de gelatina al 0'50 %, por su volumen de disolución saturada de sulfato magnésico o de etanol, se producen abundantes copos de coágulo que, observados al ultramicroscopio, mejor con suficiente aumento ($\times 1000$) presentan una estructura granular de gránulos muy finos, cuyo aspecto ($\times 250$) se representa en las figs. 12 y 13. Así es el coágulo cuando se opera a la temperatura ordinaria y el fenómeno se produce bruscamente.

Si se operan estas coagulaciones en caliente y se enfría después el sistema con gran lentitud, el coágulo posee

una estructura muy particular. Colocamos en la estufa o en el baño de agua varios tubos que contienen un centímetro cúbico, por ejemplo, del hidrosol de gelatina al 0'5 % y en otros uno o dos centímetros cúbicos de etanol de 96° o de solución saturada de sulfato amónico: cuando la estufa o el baño de agua llegan a la temperatura de 70°, añado en los tubos de hidrosol de gelatina el alcohol o la solución salina, retiro poco a poco el fuego y así dejo que el enfriamiento sea muy lento.

Observo, con ayuda del ultramicroscopio, el contenido de estos tubos, desde el mismo momento que hago la mezcla del coloide con su respectivo coagulante: la primera preparación, en los dos casos, tiene el aspecto que la fig. 14 representa: el coágulo posee estructura no granosa sino alveolar, observado con grandes ampliaciones, y como se hace la preparación en el mismo momento de la mezcla, es claro que el enfriamiento es muy rápido.

Pasados 20 minutos después de mezclar el hidrosol con su coagulante, se observa un campo (fig. 15) formado por varios pequeños gránulos generalmente aislados.

Pasadas algunas horas después de hecha la mezcla, una nueva observación dió para los gránulos la forma de la fig. 16, en la que puede observarse como en otras intermedias, que no citamos, que los gránulos crecen en su medio de dispersión. La pequeña ampliación (+ 70) con que fueron hechas las observaciones citadas, no permiten observar la estructura elemental de estos gránulos, que se observa con mayor ampliación ($\times 400$) tal como representa la figura 17.

Haciendo llegar a la preparación que se observa, una pequeña gota de solución yodurada de yodo, destacan mejor los detalles de estructura, observándose formados los gránulos, por dos envoltentes de las que la exterior cuando aparece discontinua, no tarda en aparecer en el

mismo punto de discontinuidad un pequeño abultamiento que nunca hemos visto desprenderse del glóbulo, pero que aumenta o disminuye bruscamente de tamaño, por efecto indudable de variaciones de temperatura, a las que corresponden variaciones en la presión osmótica.

Pasados tres días, los glóbulos tienden a su aglomeración (fig. 18), disminuyen de volumen y en número, y pasado algún tiempo puede observarse la reversibilidad del sistema casi de un modo completo.

Hemos hecho una detallada documentación experimental sobre estas estructuras de coágulo, pero para dar idea del fenómeno, y para que quien quiera repita las experiencias y estudie la formación y crecimiento de estos coágulos, lo expuesto es suficiente.

Tratamos de observar venciendo como hemos podido las dificultades de técnica, de qué manera se forman esos gránulos, y aunque no hayamos podido hacer observaciones de suficiente duración, algo hemos podido deducir de nuestras observaciones. Substituimos la platina del microscopio por una chapa metálica taladrada para dar paso al condensador; con esta chapa como base, construimos una caja metálica, que servía de cámara de aire, y tenía en la parte superior un orificio por donde pasaba el objetivo del microscopio. La chapa metálica que hace de platina, se prolonga fuera del aparato unos 20 centímetros y a su extremo aplico una pequeña llama, que calienta la caja de aire hasta que el termómetro marca 75°; previamente se colocaron en el portaobjetos, dos gotas una de hidrosol de gelatina y otra de solución de sulfato amónico muy próximas; cuando la temperatura es la indicada, se reúnen las dos gotas y se observa. Los glóbulos aparecen muy pequeños, aumentan de tamaño y crecen porque se suman unos a otros. Cuando se produce el enfriamiento, el desarrollo de los gránulos es mucho más lento, quedando adhe-

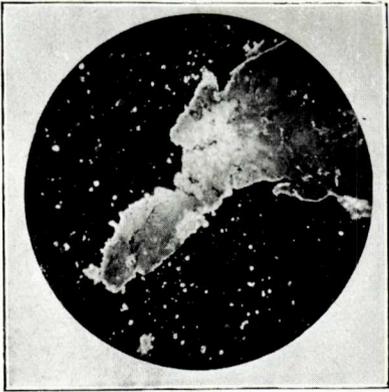


Fig. 1.^a



Fig. 2.^a



Fig. 3.^a

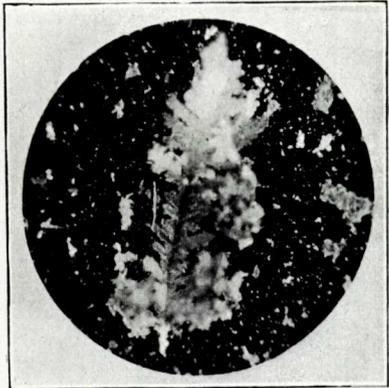


Fig. 4.^a

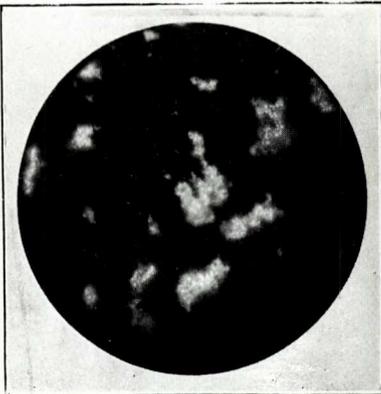


Fig. 5.^a

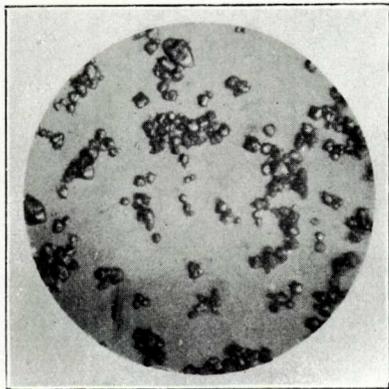


Fig. 6.^a

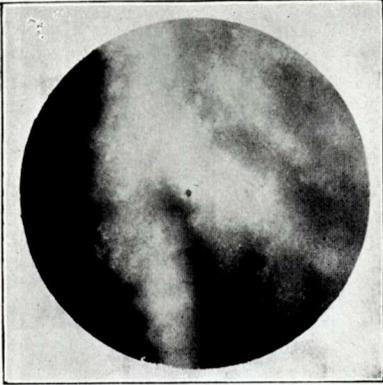


Fig. 13.^a

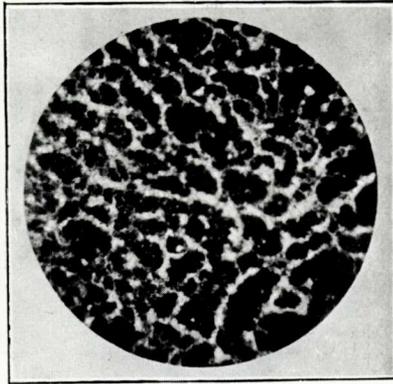


Fig. 14.^a

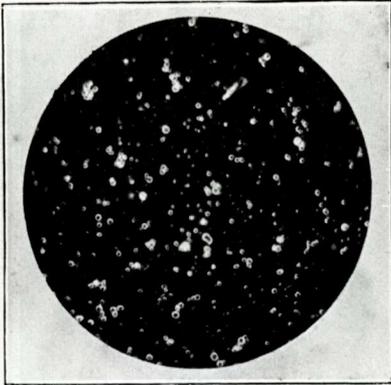


Fig. 15.^a

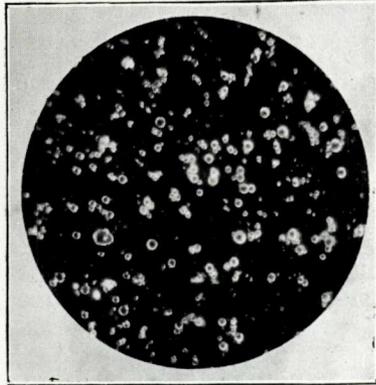


Fig. 16

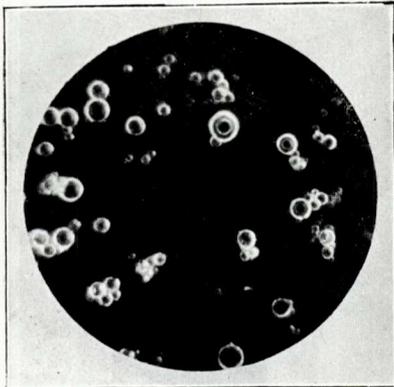


Fig. 17.^a

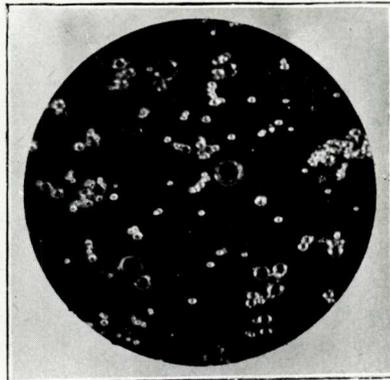


Fig. 18.^a

ridos unos a otros de tal modo que recuerdan las células agrupadas en sus diversas fases de multiplicación por gemación, pero en este caso de coagulación ocurren las cosas en orden inverso; un gránulo no produce otros, sino que varios se reúnen para formar uno y después por adherencia éstos se agrupan, nutriéndose con el compuesto de adsorción, que al formarse el coágulo se produce. Pensamos observando estos gránulos, si pudieran ser cristales líquidos, análogos a los estudiados por Lehmann (7) y con el microscopio polarizante, los observamos muchas veces y de modos muy variados, pero siempre dieron los caracteres de los cuerpos isotropos, y ninguno de los caracteres que observados con luz polarizada, presentan esos cristales, encontramos en los glóbulos; es indudable, que el carácter isotropo de estos coágulos hace más difícil interpretar su formación y propiedades.

Hemos querido demostrar con esta nota, que el estudio de la estructura de los coágulos es variable según varíen las condiciones en que el fenómeno de la coagulación se realice y es variable con la constitución química del sistema, cuando entre los cuerpos dispersos en presencia, puedan realizarse acciones químicas.

Precisa unificar los fenómenos de coagulación, pues no hay razón alguna para separarlos como ordinariamente se hace, ya que en todos los casos los fenómenos son fundamentalmente análogos; vemos tal grado de generalidad en nuestras investigaciones sobre la coagulación, que creemos ha de poder llegarse a demostrar que *la cristalización es un caso particular de la coagulación*, bien entendido que coagular, es el fenómeno por el cual un cuerpo disperso en estado coloidal se separa de su medio de dispersión.