

Réplica á los comentarios hechos al trabajo
de Houssay y Hug "La curarización
del "Leptodactylus ocellatus" (L.) Gir." (1)

POR EL

DR. B. A. HOUSSAY (2)

Profesor de Fisiología de la Facultad de Veterinaria de Buenos Aires
Profesor suplente de Fisiología de la Facultad de Medicina
de Buenos Aires
Jefe de la sección Patología del Instituto Bacteriológico del Departamento
Nacional de Higiene

Nuestros recientes trabajos (3) sobre la curarización de la rana común americana *Leptodactylus ocellatus* (L.) Gir., han dado lugar a publicaciones de dos autores que comentan o discuten nuestras conclusiones (4) (5).

La primera es de Lapique, autor de conocidos e importantes trabajos sobre esta substancia y de una teoría sobre la curarización que modifica la clásica de Vulpian. Opina

(1) Ver *La Semana Médica*, Septiembre 14 de 1916, p. 261.

(2) Hallándose ausente Hug me tomo la libertad de contestar para evitar demoras, por otra parte lo hago basándome en el estudio que hicimos juntos.

(3) Houssay B. A. y Hug E. Toxicidad del curare para la rana y sapo comunes del país y para el cobayo en *La Semana Médica*, 14 Septiembre de 1916, págs. 259-261.

Id. id.—La curarisation du «*Leptodactylus ocellatus*» (L.) Gir en *La Semana Médica*, 14 Septiembre de 1916, págs. 261-264.

Id., id.—La curarisation du «*Leptodactylus ocellatus*» (L.) Gir. *C. R. Soc. de Biologie*, Seance du 18 nov. 1916, t. LXXIX, núm. 18, p. 977.

(4) LAPICQUE L.—Observation sur la note de MM. B. A. Houssay e Hug relative á la curarisation de deux batraciens d'Amérique. *C. R. Soc. de Biologie*, 1916, t. LXXIX, p. 1017.

(5) CAMIS M.—Sobre la curarización del «*Leptodactylus ocellatus*» (L.) Gir. en *La Semana Médica*, Febrero 22 de 1917, p. 239.

Lapicque que el curare no paraliza la hipotética placa motriz (que no existe tal como se entendía en tiempos de Vulpian); hay curarización cuando el isocronismo del músculo o del nervio está alterado en un sentido u otro y desde el momento en que el heterocronismo alcanza cierto valor, la excitación no es transmitida más del nervio al músculo. El curare produciría un efecto directo sobre el músculo que consiste en una disminución de la velocidad en la excitabilidad (disminución de la cronaxia).

Como es constante en Europa que las ranas (*Rana esculenta* y *Rana fusca*) se curaricen más fácilmente que el sapo *Bufo vulgaris*, llama la atención a Lapicque la resistencia de *Leptodactylus ocellatus* a la curarización; "il doit intervenir ici quelque phenomene particulier qu'il serait très interessant de voir éclaircir par les auteurs". "Je ne connais rien de *Leptodactylus ocellatus* a ce point de vue (6). MM. Houssay et Hug. trouvent que pour cette espece la dose curarisante est beaucoup plus forte, environ 10 fois, que pour *Bufo marinus*. Faut-il induire de la que la chronaxie de cette grenouille est encore plus grande que celle de *B. marinus*? C'est invraisemblable. D'autant plus que, dans la note meme des auteurs, on trouve que, pour les systemes neuromusculaires isolés, la preparation de grenouille se curarise plus rapidement que celle du crapaud. Autrement dit, par ce procédé, la conclusion est inverse; le muscle de grenouille parait plus sensible au curare que le muscle du crapaud".

"Je serais tenté de croire que telle est la réalité, que *Leptodactylus ocellatus* possède la chronaxie generales des batraciens anoures et, corrélativement, a des muscles très sensibles au curare, plus sensibles que ceux de *Bufo marinus* qui se comporterait comme notre *Bufo vulgaris*. La resistance de *Leptodactylus ocellatus* vis a vis du curare en injection peut tenir a une particularité secondaire, telle qu'une difficulté d'absorption par arret précoce de la circulation. Mais les observations que je présente ainsi, loin

(6) Determinación de la cronaxia.

des faits et a la hate, n'ont d'interet que dans la mesure ou MM. Houssay et Hug leur feront l'honneur de les trouver utiles".

Estas observaciones muy atinadas de Lopicque se nos habían ocurrido ya, detalle más detalle menos, y tenemos planeada una investigación al respecto. Dejaremos por ahora constancia, sin embargo, de que en nuestra publicación de Buenos Aires manifestamos que no hay modificaciones importantes del corazón durante la curarización, pues la frecuencia de los latidos y su fuerza aparente no sufren alteraciones muy serias. En la nota sintética publicada en París no constaba ese dato. Para mayor abundamiento adjunto un cardiograma de rana hecho ininterrumpidamente durante 2 horas y minutos (fig. 1) curarizándose el animal. Si se inyectan dosis de curare muy elevadas, puede paralizarse el ventrículo cardíaco; pero estas dosis son superiores a las que bastan para curarizar.

La réplica de Camis contradice absolutamente a nuestras conclusiones, lo cual no es de extrañar ya que es autor de un largo trabajo en 53 páginas cuya base fundamental errónea es la creencia de que la rana "argentina" (1) *Leptodactylus ocellatus* no puede curarizarse (2).

Es necesario, para entablar la discusión, poner en su plano relativo a la cuestión fundamental que es el nudo de la discusión y relegar a un segundo término a otros puntos secundarios. A todos discutiré en el orden adecuado.

(1) *Leptodactylus ocellatus* No debe llamarse rana argentina, porque existe en toda la America del Sur y hasta en las Antillas. Como hay muchas ranas americanas seria mejor decir rana sudamericana de laboratorio, o rana común del país.

(2) CAMIS M.—*Sobre la resistencia del Leptodactylus ocellatus (rana argentina) hacia el curare y sobre otros puntos de la Fisiología general de los músculos*, REVISTA DE LA FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA (La Plata) t. XI, núm. 2, época II, 1916.

Id.—*Sulla resistenza del «Leptodactylus ocellatus (rana argentina) verso il curaro e sopra alcuni punti della Fisiologia generale del muscolo* «Archivio di Farmacologia Sperimentale e Scienze affini», 1916, t. XXI, p. 3.

Id.—*Sur la résistance au curare du «Leptodactylus ocellatus (rana argentina) et sur d'autres points de la physiologie générale des muscles* «Archives Italiennes de Biologie» 1916, LXVI, 17.

El reproche que nos hace Camis de haber omitido los datos bibliográficos de su trabajo no es exacto en lo que se refiere a nuestra publicación de París. Por otra parte copiamos textualmente sus conclusiones referentes al curare sin modificar ni aun las faltas notorias de lenguaje.

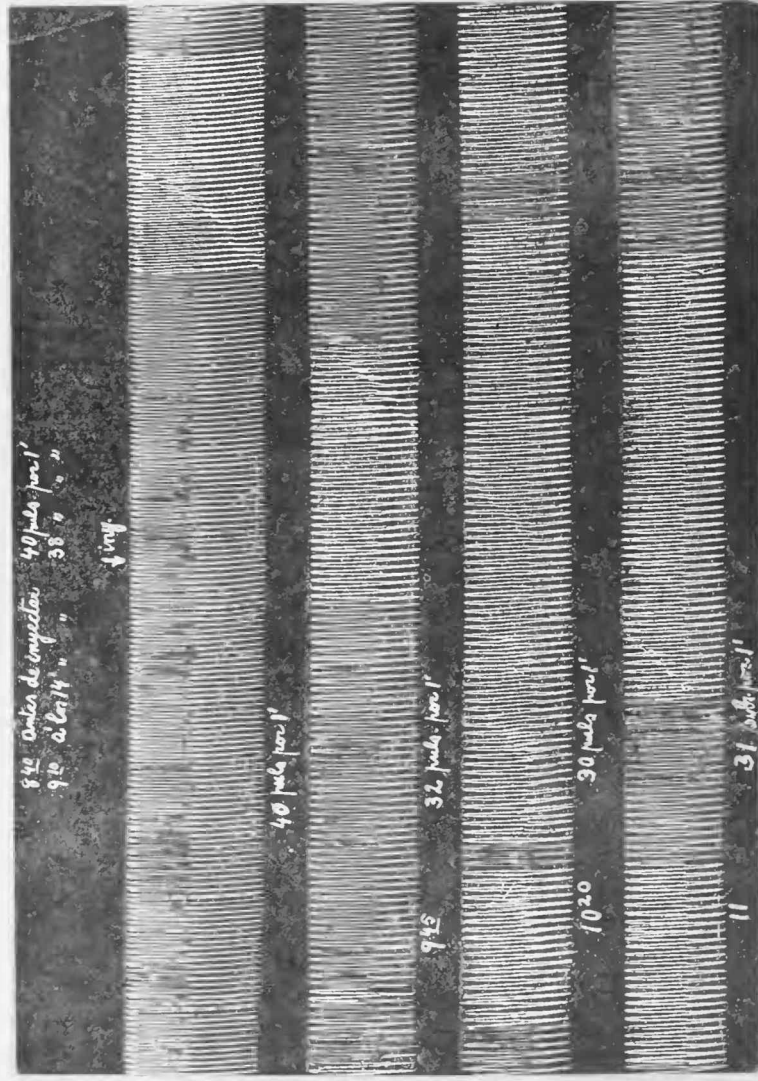


Figura 1.

FIG. 1. CARDIOGRAMA DURANTE LA CURARIZACION.

MÉTODO DE SUSPENSIÓN

Rana ♂, 115 gr. A las 8⁴⁵ a. m., inyección de 0.001 de curare n 1 en el saco linfático dorsal.

8 ⁴⁰	40	latidos por minuto	10 ²⁰	30	latidos por minuto
9 ¹⁰	30	" " "	10 ⁴⁵	30	" " "
9 ⁴⁰	32	" " "	10	31	" " "
10 ⁵	32	" " "	11 ²⁰	22	" " "

concluyendo por curarizar la rana.

NOTA.—Este curare era de los más activos. Resultados análogos dieron otros curares.

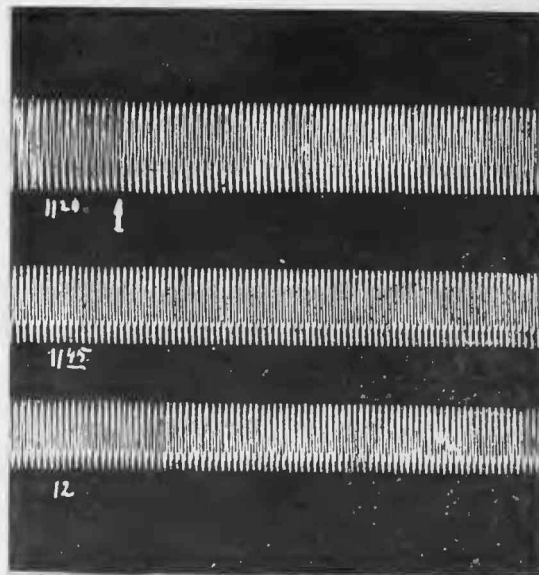
El punto esencial es que Camis afirma que no se consigue la curarización verdadera del *L. ocellatus* y nosotros aseguramos que puede obtenerse con toda seguridad empleando dosis suficientes de buen curare.

Sabido es que la acción del curare consiste en que siendo todavía excitable el músculo, el músculo no es excitable por intermedio del nervio. Pues bien, en nuestras ranas curarizadas el músculo se contrae al ser estimulado (conservación de la excitabilidad directa) mientras que excitando el nervio (1) no se contrae (abolición de la excitabilidad indirecta); sin embargo, el nervio no está paralizado, como lo demostramos con los experimentos de Cl. Bernard. Esta técnica es tan simple, es tan imposible equivocarse con ella, que no comprendemos como Camis puede haber discutido nuestra afirmación sin repetir nuestros experimentos con nuestros curares (de procedencia conocida, Amazonas) u otros buenos y empleando nuestras dosis. Tal hubiera sido la conducta más prudente, ya que nosotros discutíamos su trabajo experimentalmente, y es la que aconsejan las buenas tradiciones de la Fisiología. Por otra parte, adjuntábamos gráficos que no podían dejar dudas. En esta réplica agregamos otro (fig. 3).

(1) Aun con corrientes farádicas tan intensas que no las soportaba la lengua.

Hace ya algunos lustros que se curarizan ranas en el país por fisiólogos argentinos y extranjeros. Cuando era estudiante aprendí a hacerlo con los profesores Piñero y Señorans (de Fisiología y Toxicología), y cuando fui profesor lo enseñé con éxito como el experimento primero y

FIG. 2.—CARDIOGRAMA DURANTE LA CURARIZACION



MÉTODO DE SUSPENSIÓN

Rana 115 gramos. En la flecha se inyecta por la vena abdominal, 0.001 de curare n° 1 en 3 gotas de Ringer

elemental de Fisiología. Hay trabajos nacionales que mencionan el hecho.

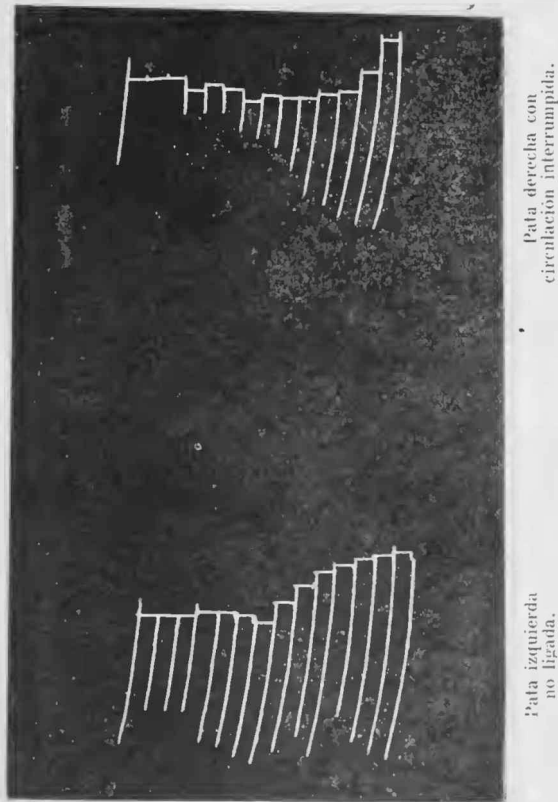
Sabíamos que la rana del país presentaba resistencia a la curarización, pero no se habían publicado determinaciones cuantitativas comparadas hasta la nuestra.

Puedo repetir que deben inyectársele dosis altas, más altas (al rededor de diez veces) que las que bastan para el sapo.

Estos experimentos podrán repetirse en todas partes y puedo enviar buen curare a quien desee comprobarlos.

FIG. 3. — EXPERIMENTO DE CL. BERNARD

Inyección de curare en el saco linfático dorsal de una rana cuya pata derecha ligada fuertemente, salvo el ciático, no recibe irrigación general y por lo tanto tampoco curare.



Rana \pm 100 gr. — Miograma de ambos gastrocnemios cargados con 10 gr. Excitaciones cada 10 minutos, corriente farádica (2 pilas Leclanche, bobina Gaiiffe, inducido hilo fino a 15 centímetros).

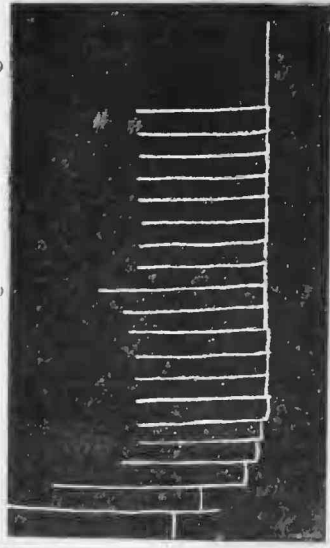
Primera contracción por excitación del ciático inmediatamente antes de inyectar 2 mg. 8 de curare nº 3 en el saco linfático dorsal.

Luego una excitación del ciático cada 10 minutos.

A la hora y 50 minutos, la pata no ligada está curarizada.

Al fin se excitan directamente a ambos gastrocnemios y hay contracción.

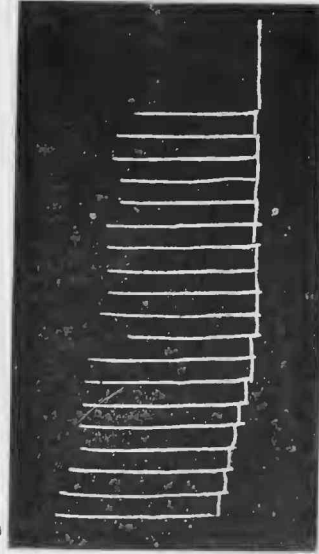
Figura 4.



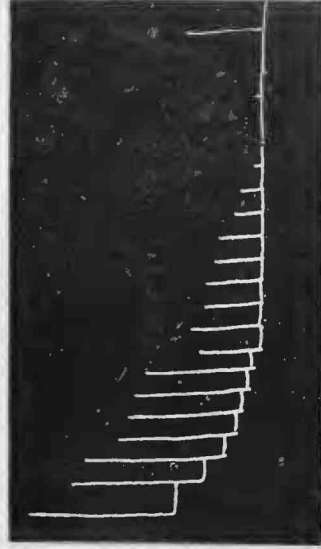
De sapo en solución fisiológica



De sapo en solución de curare nº 5 al 1



De rana en solución fisiológica



De rana en solución de curare nº 5 al 1 000

Tan notorio es este hecho, que juzgaríamos innecesario discutirlo si no fuera que mi distinguido colega, Dr. M. Camis, es un fisiólogo reputado y es titular de Fisiología de la Facultad de Veterinaria de La Plata. Su indiscutible autoridad hubiera influido en propagar el error en el país y en el extranjero.

FIG. 4. PREPARADOS NEUROMUSCULARES AISLADOS.

Los músculos puestos en un cilindro de vidrio vertical y colgados de la palanca inscriptora, están sumergidos, inclusive el nervio, en solución fisiológica pura o con curare, según el caso; cada 5 minutos se excita el ciático con una corriente farádica intensa; luego se desplaza el cilindro.

Mientras que en solución fisiológica permanecen iguales las contracciones y hay solamente una relajación de tono, en la solución de curare va disminuyendo hasta abolirse al fin la excitabilidad indirecta del músculo por intermedio del ciático, pero la excitación directa del músculo persiste, como se ve al final.

Otros experimentos demostraron que el nervio sumergido en curare no altera su excitabilidad.

Obsérvese que el músculo de rana, aunque era más grueso, se curarizó antes que el de sapo.

Deseo también sincerar del estigma de inexactitud que hubieran merecido, a ser cierto lo que afirma el profesor Camis, a todos los trabajos argentinos y los programas y demostraciones prácticas en que consta que se efectuó la curarización de *L. ocellatus*.

Una demostración nuestra importantísima, sobre la que Camis guarda silencio en su réglica, es que el músculo aislado de rana es algo más fácilmente curarizable que el músculo aislado de sapo (ver fig. 4). Camis no consiguió en ningún caso curarizar al músculo aislado de *L. ocellatus*.

Veamos ahora las demás cuestiones secundarias a que alude Camis en su trabajo.

Es muy importante la acción manifiesta del curare sobre el músculo por lo que resulta notoriamente disminuída

su excitabilidad eléctrica; tal cosa sucede marcadamente con *L. ocellatus*, y lo estudiaré en detalle a su tiempo. En esa alteración, bien conocida, se basa la teoría de la curarización de Lapicque. Puede comprobarse fácilmente con experimentos de Cl. Bernard o con músculos aislados.

Pero cuando un músculo responde a la excitación directa a los 20-25 cm. de separación de la bobina secundaria (corriente de dos pilas Leclanché o de acumulador, bobina de inducción Gaiffe, carrete secundario de hilo fino) y el nervio no responde acercando el inducido a 0, siendo la corriente tan intensa que no la soporta la lengua y es fuerte para los dedos humedecidos, no puede dudarse que hay curarización verdadera. Y tal ocurre con *L. ocellatus*.

Ha llegado el caso de explicar cómo Camis, experimentador avezado, pudo equivocarse tan completamente. Eso le ha ocurrido por haber empleado curares demasiado débiles.

Acostumbrado a trabajar con ranas europeas, para las que bastan dosis aproximadamente tres veces menores que para el sapo europeo *Bufo vulgaris*, al querer curarizar *L. ocellatus* y no conseguirlo hizo contrapruebas con nuestro sapo *Bufo marinus* y pudo curarizarlo. Ahora bien, nosotros hemos demostrado que este animal se curariza con dosis diez veces menores que las que se necesitan para *L. ocellatus*, y, por lo tanto, un curare débil puede ser bastante activo para ese sapo y no para esa rana.

Justo es decir que como Camis elevó entonces la dosis de curare para *L. ocellatus*, no alcanzando a curarizarla, era bastante fácil que pensara que esta rana era incurarizable. Para constatar si los curares que empleó eran verdaderamente activos los probó también en conejos, en la rana de zarzal (*Hyla raddiana*) y en perros; pero salvo para un experimento en conejo en que ocurrió la muerte (1), en los demás que ha hecho en perros y conejos se contenta con decir que la dosis era paralizante; tal denominación no es precisa y permite un amplio margen a la apreciación subjetiva del experimentador.

(1) Más exacto hubiera sido producir su curarización.

Se comprende entonces como Camis se equivocó, lo que no le hubiera sucedido si hubiese consultado previamente a cualquier profesor de Fisiología argentina, cosa que debió hacer, a mi juicio, en homenaje a que todos afirmaban que la curarización es posible.

Comparando las dosis empleadas se verá que el curare que empleó Camis era malo. En efecto, debió emplear dosis enormes para el sapo y fracasó en la rana aun con dosis excesivamente altas.

SEGUN CAMIS

<i>Sapo</i>	} miligramos	5.0	} paralizantes.
		4.54	
		3.9	
<i>Leptodactylus</i>	} miligramos	10.0	} no paralizantes.
		13.0	
		23.5	
		12.5	

SEGUN HOUSSAY Y HUG

Dosis tóxica o curarizantes (resumen)

Curare	<i>L. ocellatus</i> rana (dosis curariz.) para 100 grs.	<i>Bufo marinus</i> sapo (dosis curariz.) para 100 grs.	Cobayo (dosis mortal para 1000 grs.)
D	3 mgr. 00	0 mgr. 300	1 mgr. 78
Nº. 1	0 » 60	0 » 058	1 » 12
Nº. 2	1 » 51	0 » 119	0 » 90
Nº. 3	2 » 80	0 » 250	2 » 30
Nº. 5	0 » 46	0 » 068	0 » 36
H	2 » 00	0 » 465	1 » 70

Debo manifestar que con un curare común de Merck (es de esa marca uno de los tres que empleó Camis ⁽²⁾)

(2) Mientras que nosotros empleamos curares genuinos de Amazonas, Camis empleo curares de tres casas europeas (uno de Merck, otro de Baird y Tatlok de Londres y otro de Grüber, que existía en una farmacia de La Plata desde hacia muchos años), y es sabido que muchos curares son falsificados y débiles.

no obtuvimos resultado, y dijimos: "habiendo desechado un curare de Merck por su exigua actividad; en efecto, fué indispensable inyectar 5 gotas de una solución al 5 para curarizar un sapo; 16 gotas de la misma solución (medio centímetro cúbico) no curarizaron a una rana, si bien ésta murió a los días con signos evidentes de parálisis". Podemos agregar que tampoco lo conseguimos más tarde con un centímetro cúbico.

Camis insiste mucho en que coincidimos en que la curarización de *L. ocellatus* es lenta y que esta rana una vez curarizada muere fatalmente más tarde (salvo excepción) mientras que la rana europea y el sapo americano se reponen completamente después de haber sido curarizados (1); pero rechazo esta coincidencia aparente en mérito a que dicho autor mató a *L. ocellatus* sin poder curarizarla nunca y yo conseguí hacerlo. La explicación de esta muerte reside en que *L. ocellatus* necesitó dosis diez veces mayores que el *Bufo marinus*, y como supuso con razón el mismo Camis (p. 80), "Podría ser que la droga envenenara al animal por otras sustancias contenidas en ella, como es conocido, y que en las grandes dosis usadas y siendo el principio específico ineficaz, tuviesen acción preponderante" (2). La muerte se produce después de muchas horas por paro cardíaco o desecación de la piel.

Hemos demostrado que: "Los sapos mueren también si reciben la dosis necesaria para curarizar las ranas". "Bastantes ranas han muerto con dosis que no alcanzaron a curarizar". Los curares malos como el de Merck mataron a las ranas sin curarizarlas.

Puede leerse en Meyer-Gottlieb (3) hablando de las ranas europeas "Soltanto dosi assai maggiori di quella pie-

(1) Recordar que la rana europea y el sapo nuestro se curarizan con dosis pequeñísimas de curare. En invierno nuestra rana vuelve de la curarización si se mantiene humedecida con algodones mojados.

(2) La composición del curare es muy inconstante. Böhm, por ejemplo, comprobó la existencia en proporciones variables de *curina* tóxica y no curarizante y de *curarina* que curariza, etc.

(3) MEYER-GOTTLIEB *Farmacologia sperimentale* (traducción italiana de G. Frantali) 1915, pág. 5.

namente activa—circa 30 volte tanto—riescono a uscìre le rane . . .”

Sin negar la influencia de la intoxicación muscular hemos creído que la parálisis que produce el curare antes de curarizar o cuando no curariza, depende de una acción sobre el sistema nervioso central y dimos pruebas en apoyo de esta opinión. Con inyección venosa esta parálisis es rapidísima, precedida a veces de excitación, y la rana queda hipotónica, con miosis y retracción de los globos oculares. Estos mismos fenómenos de hipotonía los observamos muchas veces en patas excluidas de la circulación general por ligadura de sus vasos. No debe Camis discutir esta constatación nuestra sin repetir los experimentos.

No es el caso de plantear de nuevo todos los problemas fundamentales de la curarización por lo que pondré punto final a la discusión propiamente dicha.

Pero antes debo salvar un golpe de efecto final de la réplica de Camis que, habilmente presentado, parece en realidad que anulara nuestro trabajo. Dice que nuestras determinaciones posológicas fueron hechas con ranas y sapos colocados 15 a 20 minutos a 27°, sabiéndose que a esa temperatura mueren los animales.

Nosotros dijimos: “Durante el invierno (1) y al estar sapos y ranas aletargados por el frío, puedan estos animales, sin ninguna causa patológica, estar inmovilizados. Para no confundir la paresia causada por el frío con la que produce el curare, así como para facilitar una más rápida absorción del mismo mediante una circulación más activa, colocábamos estos animales en agua a la temperatura del cuerpo humano, 15 o 20 minutos antes de empezar el experimento”.

Ahora bien, hemos hecho docenas de experimentos en cada época y siempre conseguimos la curarización, variando más con la época el tiempo que tardaba en producirse que la dosis necesaria para ello. No podía objetar nada

(1) «Hemos trabajado en verano, otoño e invierno». (Esta nota figura en nuestro trabajo).

Camis a nuestros experimentos del verano y otoño y parte de los invierno, aunque sobre esto calla, dejando entender que todos fueron hechos con animales calentados. Pero es el caso que tampoco hubo en ningún experimento la falta incriminada y agradezco al Prof. Camis que me da la ocasión de explicar una técnica corriente en nuestros Laboratorios, tan usual que no creía necesario explicarla en detalle, por lo que mi descripción ha resultado indistintamente confusa. En invierno echamos agua a una temperatura que no pase de 37° en cristalizadores de vidrio frío, luego ponemos las ranas; la temperatura del agua está entonces entre 15 y 20° y se mantiene así vertiendo de vez en cuando más agua tibia a 37°; esto lo hacemos 15 a 20 minutos antes de trabajar, con lo que los animales adquieren vivacidad y los latidos cardíacos mejoran mucho.

Que las ranas se inmovilizan por el calor lo explicamos anualmente y lo hacemos en clases prácticas de contención. Es un experimento demasiado vulgar para que haya quien lo ignore.

Con esto daremos punto final a esta discusión, en la que en rigor no estábamos obligados a contestar, ya que Camis no traía ninguna prueba experimental, pero creímos deber replicar en mérito al reconocido prestigio del distinguido profesor de fisiología.

Queda en pie las conclusiones de nuestros dos trabajos.

CONCLUSIONES DEL TRABAJO "TOXICIDAD
DEL CURARE PARA LA RANA
Y SAPO COMUNES DEL PAIS Y PARA EL COBAYO"

Hemos investigado comparativamente las dosis curarizantes de seis curares verdaderos para la rana (*Leptodactylus ocellatus* (L.) Gir.) y el sapo (*Bufo marinus* (L.) Schneid.) y la dosis mortal para el cobayo.

a) El sapo es sumamente sensible, por lo cual resulta

ser el animal de elección para todos los experimentos clásicos de la curarización.

b) La rana es mucho más resistente, necesitándose para curarizarla, dosis aproximadamente diez veces mayores que las del sapo.

c) De la parálisis el sapo pasa rápidamente a la curarización, mientras que con la rana transcurre un período largo entre su parálisis y su curarización.

d) Las ranas mueren con las dosis curarizantes, mientras que el sapo recupera casi siempre sus funciones normales. Los sapos mueren también si reciben la dosis necesaria para curarizar las ranas.

e) La curarización del sapo se produce en general más rápidamente.

CONCLUSIONES DEL TRABAJO
"LA CURARIZACION DEL LEPTODACTYLUS
OCELLATUS (L.) GIR."

a) El *Leptodactylus ocellatus* (L.) Gir., es perfectamente curarizable siempre que se empleen curares activos. Con curares de acción débil puede no tenerse éxito.

b) Este animal presenta una resistencia relativa a la curarización, y necesita dosis de tóxico aproximadamente diez veces mayores que el sapo.

c) Los sistemas neuromusculares aislados de ranas y sapos se curarizan perfectamente dejándolos sumergidos en soluciones de curare. Sin embargo, y esto parece paradójal, es la regla, que se curarice antes el preparado neuromuscular de rana, a pesar de ser más grueso el músculo. Esto depende probablemente de que es más fácilmente impregnado o penetrado que el de sapo (1).

d) La inyección venosa de curare produce una parálisis inmediata, pero el tiempo en que ocurre la curarización

(1) Mejoramente comprobamos que por perfusión de las patas posteriores con soluciones de curare se observa la resistencia mayor de la rana.

se acorta poco y la dosis necesaria es la misma que por vía subcutánea.

c) Esta parálisis inicial depende de una acción sobre el sistema nervioso central. Haciendo el experimento de C. Bernard, exclusión de la irrigación de la partes posteriores, respetando los ciáticos e inyectando el curare por vía endovenosa, se observa inmediatamente hipotonía y paresia de esas patas.

f) Sumergiendo los nervios ciáticos en las soluciones de curare que curarizan al preparado neuromuscular aislado, no se observa ninguna modificación de su excitabilidad. Luego el nervio es respetado.

g) Con la inyección endovenosa de curare no hay modificaciones importantes del corazón.