

15/10
Octubre de 1934

ANALES

DE LA

ASOCIACIÓN DE QUÍMICA Y FARMACIA

DEL URUGUAY

SUMARIO

	<u>Págs.</u>
ERNESTO R. JULIÁ: Sobre « Anticuerpos »	113
ERNESTO R. JULIÁ: Observaciones sobre la amilasa circulante.	133
WASHINGTON AYALA BONILLA: El examen del sedimento urinario en las nefrosis lipóidicas . . .	167
Análisis de revistas	174
Notas	175
Memoria correspondiente al período Marzo 1933 - Marzo 1934:	179

Toda la correspondencia debe ser dirigida a la Asociación de Química y Farmacia del Uruguay, calle Ejido, 1589.— Montevideo.

MONTEVIDEO
Imprenta Artística, de Dornaleche Hnos.
Calle Cerro Largo, 783-785

1934

ANALES DE LA ASOCIACIÓN
DE
QUÍMICA Y FARMACIA DEL URUGUAY

SECCIÓN CIENTÍFICA

Sobre « Anticuerpos »

Por el doctor ERNESTO R. JULIÁ

QUÍMICO DEL INSTITUTO DE FISIOLÓGIA DE LA FACULTAD DE MEDICINA

Fijación del complemento.—Reacción de Bordet y Gengou

(Continuación)

Indudablemente la fijación del complemento es uno de los fenómenos de la inmunología, que despierta más vivo interés. Y lo despierta sobre todo por las aplicaciones diagnósticas de que es susceptible. Hay que tener presente que una serie de efectos séricos notables, tales como la bacteriolisis, la hemolisis, la opsonificación están bajo su dependencia.

La reacción de fijación del complemento fué descubierta por Bordet y Gengou y reposa sobre los hechos siguientes:

Cuando se inmuniza a un animal por medio de un antígeno, se constata generalmente que los anticuerpos contenidos en el suero del animal inmunizado, puestos en presencia del antígeno correspondiente, confieren a éste una afinidad muy marcada por la alexina.

Los anticuerpos o sensibilizatrices, deben, por lo tanto, unirse previamente al antígeno, para que éste a su vez manifieste avidez por la alexina. Si en una mezcla de antígeno e inmunsuero previamente calentado a 55°, se introduce una cantidad discreta de alexina, bajo la forma de sue-

ro normal fresco, ésta es absorbida o fijada por el antígeno sensibilizado, de tal manera que se vuelve desde ya incapaz de ejercer acción sobre los elementos lisables, aun cuando estén éstos fuertemente sensibilizados. Indudablemente que si la cantidad de alexina puesta en presencia del antígeno y del inmsuero es muy fuerte con relación a estas dos piezas del sistema, la fijación será sólo parcial, puesto que la capacidad de absorción del antígeno sensibilizado es limitada. El amboceptor y el complemento no pueden unirse entre sí antes de la fijación del amboceptor con el antígeno.

El complejo antígeno amboceptor, es decir, el antígeno sensibilizado, se une a la alexina, cualquiera que sea el origen de ésta; es decir, que el complemento carece de especificidad.

De lo expuesto resulta lo siguiente: 1.º La fijación del complemento prueba la existencia de una unión específica entre un antígeno y un anticuerpo, pues el complemento no puede fijarse más que a un antígeno específicamente sensibilizado.

2.º La presencia o ausencia de complemento libre, puede ser puesta de manifiesto por medio de un sistema hemolítico incompleto, es decir, por medio de glóbulos rojos sensibilizados, con suero hemolítico específico y despojado del complemento por el calor a 55º.

Si existe complemento libre, los glóbulos sensibilizados serán hemolisados; al contrario, la falta de hemolisis denuncia la ausencia del complemento que ha sido fijado por el complejo amboceptor + antígeno.

Por consiguiente, de esta manera, siendo dado un antígeno conocido, puede reconocerse la presencia del anticuerpo específico: inversamente, siendo dado un amboceptor conocido, puede denunciarse la presencia del antígeno correspondiente.

Los glóbulos rojos no obran más que como reactivos indicadores de la presencia o ausencia de complemento libre; así, por ejemplo, si se mezcla en proporciones convenientes bacillus tíficos, suero antitífico calentado a 55º y complemento fresco, y se coloca en la estufa a 37º, el complemento será fijado por los bacillus tíficos sensibilizados. Ahora bien: si se agregan glóbulos rojos de carnero sensibilizados con suero anti-carnero calentado a 55º, la hemo-

lisis no se produce por falta de complemento. Pero si la mezcla primitiva hubiese estado constituida por los bacilos tíficos y un suero no específico, el complemento no hubiera sido fijado y quedaría disponible para ejercer su acción lítica sobre los glóbulos rojos sensibilizados.

La reacción de fijación de la alexina permite, por lo tanto, determinar la naturaleza de una infección bacteriana de la misma manera que la reacción de aglutinación, sobre la cual tiene la ventaja de una sensibilidad mayor y la de una aplicación más general. En un principio se utilizaban únicamente antígenos celulares, tales como las bacterias; pero luego se reconoció que esta reacción, que depende de un principio general, se produce tan bien con un antígeno disuelto como con un antígeno celular.

La gran utilidad de la reacción de fijación del complemento, consiste en que ella se verifica aún en aquellos casos en que la acción de la alexina no es suficientemente agresiva como para determinar la destrucción de los antígenos sensibilizados; siendo entonces patentizada su fijación por el reactivo indicador constituido por el sistema hemolítico incompleto. Otras de las ventajas de la reacción de Bordet y Gengou, deriva de la posibilidad de determinar la presencia de los tejidos, de gérmenes específicos que todavía no han podido ser cultivados. "Esta reacción, al poner de manifiesto una sensibilizatriz específica, permite constatar si un organismo está o ha estado recientemente en lucha con agentes cuya presencia no es posible reconocer directamente. De esta manera ha sido factible constatar en los tejidos de los sujetos atacados de escarlatina, la presencia de un "virus", antes que este agente causal haya sido cultivado". Wassermann aplicó la reacción de Bordet y Gengou al diagnóstico de la sífilis, usando como antígeno extracto de hígado de heredo-sifilítico, rico en espiroquetas; buscó por este medio poner de manifiesto los amboceptores específicos que debían encontrarse en la sangre de los sífilíticos. Pronto se reconoció que la reacción de Wassermann no era una reacción de fijación típica, como se había pensado al principio; en efecto, es posible reemplazar el antígeno sífilítico por diversos extractos preparados con tejidos desprovistos de espiroquetas.

La especificidad de la reacción de fijación proviene del hecho de la intervención de un amboceptor específico. Cuando penetran en los organismos antígenos complejos, éstos pudiendo contener varios cuerpos que obren como antígenos, determinan la formación de otras tantas sensibilizadoras específicas. De modo que en una reacción de fijación verificada con éstos inmundos, la alexina actúa sobre receptores cuyo rol no es equivalente.

Mecanismo de la reacción de fijación

Parece que las reacciones de aglutinación, precipitación y fijación del complemento, están bajo la dependencia de los mismos anticuerpos: las diferencias acusadas en estas tres reacciones dependerían únicamente del mecanismo utilizado para poner en evidencia el conflicto del antígeno con el anticuerpo específico. Según Gay, el precipitado formado por la acción de un inmundos sobre el antígeno soluble correspondiente, contiene el anticuerpo fijador de complemento, es decir, la sensibilizadora. Como indudablemente este precipitado contiene también la precipitina, se ha llegado a pensar que los anticuerpos no son más que una sola substancia. Es cierto que con algunos inmundos, una de las reacciones puede ser mucho más acusada que la otra y hasta producirse únicamente una de ellas (la de fijación), pero Dean resta importancia a este hecho, aduciendo que precisamente las condiciones más favorables a la producción de una de las reacciones, son, por lo general, desfavorables a la otra. Según Bordet, se trata, tanto en el caso de la precipitación como en el de la fijación de complemento, de un cambio operado en las propiedades de adhesión molecular, que tiene por efecto perturbar las relaciones de contacto de los elementos, ya sea con el líquido ambiente, ya sea con la alexina que él contiene.

Teoría de Ehrlich

Ehrlich y Morgenroth consideran el mecanismo de la fijación del complemento de la siguiente manera: para estos autores el amboceptor se colocaría realmente entre el antígeno y el complemento, es decir, que su molécula estaría munida de dos grupos distintos e independientes, uno

que se une al elemento impresionado (antígeno) y que recibe el nombre de citofilo, y el otro que se combina con el complemento y que se denomina "grupo complementófilo". Por lo tanto, el amboceptor captaría al complemento en virtud de su afinidad propia: él serviría de intermediario entre el antígeno y el complemento; no existiendo entre estos dos últimos cuerpos relaciones inmediatas. Las afinidades del amboceptor, por una parte hacia el antígeno y por otra hacia el complemento, dependerían de agrupaciones atómicas especiales, es decir, serían de orden puramente químico. Para Ehrlich, toda manifestación de la acción de un anticuerpo encuentra su explicación en la existencia de un grupo atómico presente en el amboceptor y encargado de producir el fenómeno determinado. Así, en el caso de la aglutinación, el anticuerpo en juego tendría dos grupos: uno combinable al microbio o a la célula, el otro, no combinable, sino funcional, regiría la aglutinación. En el caso de la precipitación específica, ocurriría lo mismo: existirían en el anticuerpo dos agrupaciones distintas, determinando una de ellas la combinación con el antígeno, y la otra asegurando la precipitación.

Ehrlich no entra a considerar la participación que tendrían en los fenómenos de aglutinación, precipitación y fijación del complemento, las cualidades propias del antígeno. Bordet impugna decididamente estas teorías de Ehrlich, que él considera en desacuerdo con una serie de hechos experimentales y piensa que ellas conducen a dos concepciones erróneas: la primera de estas concepciones, sería la que admite que las distintas modalidades de la actividad de los anticuerpos depende exclusivamente de las cualidades de estos anticuerpos, sin que intervengan para nada las aptitudes del antígeno; la segunda sería la que supone diferencias moleculares muy marcadas en la estructura de los anticuerpos, según la manera como ellos manifiesten su acción.

Sostiene Bordet que aun cuando deben existir anticuerpos diferentes, dado que ellos dirigen su afinidad específica a antígenos variados, en realidad los efectos producidos (aglutinación, precipitación, sensibilización), deben sus rasgos característicos a la naturaleza del antígeno impresionado. Además aduce Bordet, que para admitir la existencia del grupo complementófilo, habría que demostrar,

aunque no fuese más que con un solo ejemplo, que la sensibilizadora es susceptible de manifestar, en ausencia del antígeno, alguna afinidad perceptible por la alexina. Jamás ha sido posible sorprender esta afinidad: siempre es absolutamente necesaria la colaboración del antígeno para la fijación de la alexina, siempre es indispensable la constitución previa del complejo absorbente, antígeno + sensibilizadora.

Bordet entiende demostrar sus puntos de vista sobre esta cuestión, con sus experiencias realizadas en 1901 y que consisten en lo siguiente: Mezclar a suero aléxico fresco, dos sensibilizadoras diferentes, tales como los sueros (previamente calentados a 56°) de dos animales inmunizados, uno de ellos contra los glóbulos de conejo y el otro contra los glóbulos de pollo. Si en realidad las dos sensibilizadoras estuvieran unidas de su grupo complementófilo, la alexina se repartiría entre las dos sensibilizadoras, poniendo a disposición de los glóbulos ulteriormente adicionados, el agente lítico de que se han apoderado. De manera que si se adiciona glóbulos de conejo, éstos no podrán disponer más que de la alexina fijada por su sensibilizadora específica, quedando el resto de la alexina reservada por la otra sensibilizadora, para actuar sobre glóbulos de pollo. La experiencia destruye estas deducciones teóricas, a las que conduce la noción del grupo complementófilo. Si se agrega a la mezcla glóbulos de conejo, éstos agotan la totalidad de la alexina: los glóbulos de pollo agregados ulteriormente, quedan intactos. Si se invierte el orden de la adición de los glóbulos, ocurre el mismo fenómeno: siempre los glóbulos incorporados en segundo término, conservan su integridad.

La alexina, por lo tanto, no se uniría a ninguna de las sensibilizadoras en ausencia de los antígenos y estaría pronta para fijarse sobre el primer complejo sensibilizadora + antígeno, que se constituyera en el sistema. Muchas son las objeciones que Bordet hace a la teoría de Ehrlich, sobre la existencia del grupo complementófilo, y muchas son también las razones que aduce para combatirla.

Cita en apoyo de su tesis, la experiencia de Muir, según la cual, glóbulos sensibilizados y saturados de alexina, (por consiguiente hemolizados y reducidos al estroma), pueden perder ulteriormente, por difusión, una parte de la

sensibilizatriz de la que estaban cargados, y conservando, sin embargo, íntegramente el complemento. Aún más: en tales condiciones pierden tanta sensibilizatriz como en el caso de que no hubieran absorbido complemento. Esto conduce a pensar, tanto a Muir como a Bordet, que no es precisamente la sensibilizatriz el intermediario en la unión de la alexina con los glóbulos, puesto que si fuera así, éstos no podrían dejar escapar la sensibilizatriz sin perder por ese mismo hecho la substancia aléxica.

En lo que se refiere a las antisensibilizatrices, que, como se sabe, son capaces de realizar una verdadera desensibilización de los glóbulos, los cuales pierden correlativamente el poder de fijar la alexina, que les había conferido la sensibilizatriz, Ehrlich y Sach interpretan el hecho, diciendo que la antisensibilizatriz satura el grupo complementófilo de la sensibilizatriz ya fijada por los glóbulos. Si en realidad las cosas pasaran así, una misma antisensibilizatriz sería capaz de anular los efectos de todas las sensibilizatrices, ya que el grupo complementófilo sería igual en todas las sensibilizatrices; pero los hechos se encargan de destruir la hipótesis de Ehrlich y Sach, desde el momento que las antisensibilizatrices son específicas con relación a la especie animal: el suero de cobayo inmunizado contra el suero de conejo, neutraliza exclusivamente las sensibilizatrices provenientes del conejo. Bordet afirma rotundamente que en ausencia del antígeno, la independencia de la sensibilizatriz y la alexina es absoluta. Recuerda el hecho de que en el edema obtenido por compresión venosa, se encuentra la sensibilizatriz, al paso que la alexina no pasa al edema. Se apoya también en las experiencias de filtración "in vitro" realizadas por Steinhardt, Frouin, Muir y Browning, según las cuales la sensibilizatriz atraviesa las bujías de porcelana con mucha más facilidad que la alexina, ya que la filtración se haga por separado, como en el caso de estar las dos substancias mezcladas.

Cita las observaciones de Landsteiner y Jagie sobre la acción de las soluciones coloidales de ácido silícico sobre los glóbulos: el ácido silícico en estas condiciones aglutina los glóbulos rojos, y si se adiciona a la mezcla suero fresco, se produce la hemolisis, comportándose, por lo tanto, este ácido, como una aglutinina y una sensibilizatriz. Los glóbulos silicicados pueden, de la misma manera que

los glóbulos sensibilizados, servir de reactivo para denunciar la presencia de la alexina. Estos hechos no podrían ser interpretados, según la hipótesis de Ehrlich, sino a condición de admitir en el ácido silícico un grupo citófilo y un grupo complementófilo y hasta un grupo funcional aglutinante.

Teoría de la adsorción de Bordet

Bordet emite la opinión que la fijación de la alexina no es una verdadera reacción química, regida por la ley de las proporciones definidas, sino un fenómeno de adsorción comparable al depósito de un color sobre un objeto sumergido en un baño, o a la captación de fermentos o toxinas por precipitados o materias pulverulentas diversas, tales como el negro animal; también encuentra comparable la fijación del complemento a los fenómenos de agregación mutua de las partículas de dos coloides que se mezclan. Según esta concepción, la sensibilizatriz al modificar las propiedades de contacto del antígeno, haría nacer la afinidad de adsorción hacia la alexina, de la misma manera que la aglutinina perturbando las relaciones de adhesión con el líquido, crea la floculabilidad.

La avidez del antígeno por la alexina, es tanto mayor cuanto más fuerte es su sensibilización.

La temperatura óptima para la fijación de la alexina es la de 37°, pero si la sensibilización ha sido enérgica, puede efectuarse a temperaturas más bajas y hasta a 0°. Aún con el antígeno convenientemente sensibilizado, la adsorción necesita cierto tiempo para efectuarse en forma completa; y en el caso de lisis, la adsorción puede continuar aún después de que aquélla se halla efectuado. Los glóbulos rojos fuertemente sensibilizados, pueden adsorver cantidades superiores de alexina que las necesarias para la hemólisis. Es a propósito de esto que Bordet, en 1903, ha establecido experiencias de comparación con los fenómenos de tintura. Si se sumerge en un cierto volumen de una solución diluída de materia colorante una hoja de papel de filtro suficientemente grande, ésta adsorverá la solución, tiñéndose uniformemente. Si se hace adsorver sucesivamente, esa misma solución por fragmentos de papel de filtro, cuyo conjunto represente exactamente el tamaño de la

primera hoja, se observa que los primeros fragmentos de papel de filtro introducidos, toman un tinte subido y agotan de tal manera la materia colorante del baño, que no queda más para las últimas porciones de papel, permaneciendo éstas de color blanco.

En el primer caso, el color se reparte uniformemente, mientras que en el segundo, la distribución se hace en forma poco equitativa.

De la misma manera, la alexina es capaz de hemolizar una cantidad mayor de glóbulos sensibilizados, cuando éstos son adicionados de una sola vez, que cuando son incorporados a la alexina en forma fraccionada y a intervalos largos. En el primer caso se reparte uniformemente en toda la masa de glóbulos, bastando la fracción que corresponde a cada glóbulo, para determinar su lisis; en el segundo, adsorviendo las primeras fracciones una cantidad de alexina superior a la necesaria, pronto agotan el líquido ambiente de esta substancia, no quedando, por lo tanto, más agente lítico para las fracciones subsiguientes.

La alexina tiene tendencia bien manifiesta a condensarse sobre los materiales que presentan a su respecto, afinidades de contacto. Esta afinidad depende más de las cualidades físicas que de la naturaleza química de los cuerpos en presencia. Considerada la fijación de la alexina como un fenómeno de adsorción, debe pensarse que el estado físico del antígeno debe representar un rol importante en esta adsorción.

Surge la comprobación de este aserto, del estudio del modo de obrar de los sueros precipitantes sobre su antígeno correspondiente. Se obtienen complejos diversamente constituídos, según las proporciones relativas de los dos reactivos puestos en presencia; estos complejos no son igualmente aptos para precipitarse, ni presentan la misma avidez por la alexina.

En presencia de un exceso de antígeno, la adición de cantidades relativamente pequeñas de precipitinas, no producen precipitados. Cuando se mezcla en proporciones convenientes, antígeno y precipitina, se forma un precipitado, que puede redisolverse más o menos completamente por la adición de un exceso de antígeno.

En los dos casos, el antígeno y el anticuerpo están unidos a pesar de la ausencia de precipitado; y los líquidos

claros son igualmente capaces de fijar la alexina. Las proporciones de antígeno y anticuerpo necesarias para la producción de la cantidad máxima de precipitado, no representan las proporciones óptimas para la fijación del complemento. Cuando se hallan realizadas las condiciones cuantitativas favorables para la producción del precipitado, el proceso de agregación de las partículas se verifica activamente y el floculado se separa rápidamente. Si la cantidad de antígeno es relativamente pequeña, la precipitación es más lenta y menos completa; el precipitado formado está constituido por partículas extremadamente pequeñas y presentan una superficie considerablemente más grande que el precipitado grosero que se forma en las condiciones óptimas de precipitación. Estas son precisamente las condiciones más favorables para la adsorción del complemento; hay una relación directa entre la superficie de las partículas del precipitado y la cantidad de alexina fijada. Variando las proporciones de un antígeno y del antisuero correspondiente, se pueden obtener mezclas en las que puede haber precipitación, sin fijación de complemento o fijación del complemento sin precipitación visible. Esta divergencia en los resultados no es debida a la existencia de dos anticuerpos diferentes: las precipitinas y los amboceptores. Las dos formas de reacción responden a dos fases diferentes de un mismo proceso. La precipitación constituye la última faz de un fenómeno cuyo grado inicial puede ser puesto en evidencia por la fijación del complemento. (El complemento es fijado casi enteramente por las primeras fracciones de precipitado formadas en el líquido ambiente). Este modo de ver, se aparta algo de la concepción de Zinsser, que considera la precipitación como un hecho secundario de naturaleza coloidal, coincidiendo o no, con la faz óptima para la reacción de fijación y dependiente de condiciones fortuitas que pueden favorecer o no, la producción de la floculación.

Física - Química de la reacción de fijación

Uno de los factores que intervienen en la reacción de fijación, es el pH del medio. Según sus variaciones, el complejo antígeno + amboceptor, será más o menos rever-

sible. Parece demostrado por Coulter (1) que la unión del amboceptor hemolítico y el glóbulo rojo, está condicionada por el punto isoeléctrico de las globulinas del suero que contiene el amboceptor.

El punto isoeléctrico correspondería a pH 5,2-5,4.

Según la concentración en hidrogeniones, la adición de electrolitos tendrá o no, influencia. Así, si el pH es de 5,3, que es la concentración en que se produce el máximo de combinación, la incorporación de electrolitos no tiene ninguna influencia. En concentraciones superiores o inferiores a pH 5,3, los electrolitos actúan favoreciendo la unión del antígeno y el anticuerpo. Puede decirse entonces que los electrolitos disminuyen la disociación del complejo antígeno + anticuerpo en las concentraciones que no correspondan al punto isoeléctrico. Daremos aquí la opinión de Coulter sobre el particular: esta opinión la sacamos de los "Aspectos químicos de la inmunidad", de G. Wells:

"Los electrolitos anfóteros, a los cuales los anticuerpos se relacionan por sus propiedades eléctricas (Michaelis y Davidson, Landsteiner y Paulli), deben su carga eléctrica a la ionización. Del lado alcalino del punto isoeléctrico ellos se ionizan como ácidos, y del lado ácido se ionizan como bases: La ionización es mínima en el punto isoeléctrico. Es evidente que la unión de la sensibilizatriz y de las células depende estrechamente de la ionización del anticuerpo. Las curvas que representan la fracción de sensibilizatriz libre en los medios desprovistos de sal, concuerdan con las curvas dadas por Sorensen, para representar el grado de ionización de un electrolito anfótero. La fracción ionizada de la sensibilizatriz, corresponde como anión y como catión a la fracción no combinada con las células: se puede deducir que las células no se combinan más que con las moléculas no disociadas de sensibilizatriz". Hetch C. considera al complemento, como una propiedad resultante de una mezcla de coloides y electrolitos en el agua; propiedad que dependería de factores tales como la tensión superficial, viscosidad, conductibilidad y dispersión: la función complemento no se manifestaría más que para ciertas dimensiones de las partículas coloidales y en presencia de electrolitos.

(1) Jour. Gen. Physiol., 1921, pág. 517.

Fenómeno de Neisser - Wochsberg (desviación del complemento) (1)

No es raro encontrar en algunas publicaciones la expresión "desviación del complemento", para designar el hecho de la fijación del complemento, creando de esta manera cierta confusión en la terminología de este asunto. La desviación del complemento se refiere al fenómeno de Neisser - Wochsberg (1901), que consiste en lo siguiente: cuando se agrega a una mezcla constituida por bacterias y una cantidad suficiente de alexina, cantidades crecientes de amboceptor específico, el poder bacteriolítico aumenta con la concentración en anticuerpo hasta cierto límite, por arriba del cual ese poder bacteriolítico disminuye y luego desaparece.

Dicho de otra manera: cuando en un sistema citolítico existe un exceso de amboceptor, en presencia de una cantidad de antígeno y de complemento, éste no manifiesta por lo general ninguna actividad: la citolisis no se produce.

Neisser y Wochsberg explican el fenómeno de la desaparición del poder bactericida, es decir, de la anulación del complemento, conforme a la teoría de Ehrlich. Entienden que el amboceptor no unido a las bacterias, atrae, en virtud de sus grupos complementófilos, a la mayor parte de la alexina.

Esta concepción no es admitida: ya ha sido demostrado por Bordet que no existe afinidad directa entre el amboceptor y la alexina.

Según Gay, el complemento sería "desviado", es decir, absorbido por el precipitado formado en la mezcla de suero y antígeno.

Thjotta admite la formación, durante la inmunización, de anticuerpos inhibidores específicos, capaces de combinarse con el antígeno disuelto, para formar complejos moleculares presentando tendencia marcada a adsorber el complemento. Otros investigadores rechazan la hipótesis de formación de esos anticuerpos anticomplementarios, entre ellos Pandit, quien atribuye la "desviación" del complemento a una disociación del complejo antígeno + amboceptor, operada por el exceso de amboceptor. Según él,

(1) *Zeit. Immunitat*, 1923, pág. 321.

el complemento está libre en el curso del fenómeno de Neisser - Wochsberg: no estaría fijado, sino desviado.

Las particularidades del fenómeno descrito han recibido de parte de Schlenmme una interesante interpretación. Las experiencias hechas por él, lo conducen a pensar en la acción de anticuerpos antilipóidicos, de la misma manera que en la de los anticuerpos antiproteicos. El autor extrae de los bacilos típicos (por intermedio del alcohol y el éter), lípidos que pone en contacto con suero antitífico; constata entonces que el poder bacteriolítico desciende considerablemente, en tanto que el fenómeno de Neisser - Wochsberg no es influenciado. Deduce entonces que solamente los antiproteicos intervienen en el fenómeno en cuestión.

En realidad, el fenómeno que nos ocupa parece depender de reacciones inhibitoras de "Zona" bien conocidas en la química coloidal.

Suero - diagnóstico de la sífilis. — Reacción de Wassermann

Lejos está de nuestra mente el penetrar en el estudio detallado de la suero - reacción de la sífilis, y esto es en atención a dos razones: 1.º Porque al ocuparnos de los fenómenos séricos de inmunidad, sólo hemos tenido el propósito de referirnos a los grandes hechos que forman la esencia de estos procesos, y 2.º, porque la suero - reacción de la sífilis, considerada en su faz original, más las innumerables modificaciones e interpretaciones de que ha sido objeto, constituyen un capítulo especializado, donde la fecundidad de capacidades científicas ha vertido un caudal enorme de conocimientos, cuya descripción sería imposible hacer en nuestro modesto trabajo.

Sin embargo, dada la importancia excepcional del asunto, no podemos pasar sin dedicarle algunas líneas, tanto más cuanto que las múltiples técnicas que se emplean para establecer la existencia de la infección sífilítica, han permitido constatar hechos que tienen atingencia con los grandes problemas fundamentales de la inmunidad.

Wassermann, Neisser y Bruck (en 1906) fueron los primeros en aplicar los principios de la reacción de fijación al suero - diagnóstico de la sífilis. Habiendo constatado para otros casos que los extractos de las culturas bacterianas

podían servir de antígenos, de la misma manera que los cultivos, Wassermann y Bruck, dada la imposibilidad de obtención de cultivos de *Treponema*, pensaron que debían dirigirse a los extractos acuosos de órganos sifilíticos. Es así que emplearon los extractos acuosos de hígado de heredo-sifilítico, donde existe en abundancia el *treponema*.

Estos extractos hepáticos, empleados como antígenos, proporcionaron reacciones de fijación específicas con los sueros de individuos sifilíticos, al paso que con los sueros de sujetos sanos o atacados de otras enfermedades, la reacción en la gran mayoría de los casos era negativa. De ahí que ella fuera considerada como una reacción de fijación típica. El virus extraído de órganos sifilíticos, constituía la materia antigénica que se unía al anticuerpo existente en el suero de los atacados de sífilis, determinando la formación del complejo, que a su vez fijaba el complemento.

Las observaciones que se hicieron ulteriormente sobre este particular, probaron que la significación que se le acordaba al mecanismo de la reacción de Wassermann, no era exacta. En efecto, no tardó en comprobarse que los extractos de órganos normales daban, al unirse con el suero de los sifilíticos, reacciones específicas tan netas como aquellas obtenidas cuando se opera con extracto de órganos sifilíticos. Levaditi y Marie fueron los primeros en observar este resultado, al realizar reacciones con extractos acuosos de órganos normales en el líquido céfalo-raquídeo de los paralíticos. Reconocieron también que era necesario utilizar concentraciones mayores del extracto, cuando éstos provenían de órganos normales. Landsteiner, Porges, Levaditi, Yamanouchi, Muller y Potzi constataron que las sustancias activas de los órganos eran solubles en el alcohol; de manera que los extractos alcohólicos de casi todos los órganos pueden reemplazar al antígeno sifilítico, mostrándose particularmente activos los obtenidos con corazón de buey.

Más tarde, cuando Noguchi consiguió cultivar el *treponema* y se tuvo de esta manera oportunidad de realizar la reacción de fijación directamente con el agente específico de la sífilis, se advirtió que los extractos de este microbio no manifestaban ninguna actividad antigénica frente a los sueros sifilíticos humanos. Es así que sueros provenientes de sujetos seguramente sifilíticos y que daban reac-

ción de Wassermann fuertemente positiva con los otros antígenos, suministraban reacciones negativas cuando se empleaba el extracto de treponemas.

La comprobación de estos hechos vino a demostrar en forma evidente que la reacción de Wassermann, siendo un testigo casi específico de la infección sifilítica, no es una reacción de fijación verdadera, a pesar de ser puesta en evidencia, como en el caso de la reacción típica, por un sistema hemolítico incompleto. Las reacciones negativas de los sueros sifilíticos, con los extractos de treponema, vinieron a desautorizar la existencia de un amboceptor específico. Sin embargo, se ha conservado la designación de antígeno, para los extractos que actúan sobre los sueros sifilíticos, porque técnicamente la reacción se efectúa como si se tratase en realidad de un antígeno inmuno-específico.

Estos antígenos empleados en la reacción de Wassermann, no son, como en el caso de la reacción de Bordet y Gengou, proteínas específicas, sino que están constituidos por mezclas complejas de lipoides extraños al agente de la sífilis y extraídos de órganos variados.

Entre estos lipoides figura en primer término la lecitina, que debe estar acompañada de una pequeña cantidad de colessterina, sin la cual el antígeno es inactivo. La colessterina pura está desprovista de condiciones antigénicas, pero la incorporación de esta substancia a las mezclas lipoidicas, acentúa su actividad. La lecitina pura tampoco es activa; según Mac - Lean, las propiedades de las soluciones lipoidicas deben atribuirse a diversos cuerpos difíciles de separar de la lecitina.

Para Klein y Fraenkel, la parte activa del antígeno preparado con corazón de buey, es una mezcla de lecitina, colessterina y una débil cantidad de una substancia tipo jabón, análoga a la jecorina.

Los antígenos más activos están constituidos por la fracción no soluble en la acetona, de los tejidos lipoidicos.

A pesar de dar reacciones específicas con los sueros sifilíticos, ellos no son antígenos verdaderos; estas mezclas lipoidicas, inyectadas a animales, jamás desarrollan anticuerpos de fijación.

Estos antígenos son empleados en las reacciones al estado de suspensiones coloidales en soluciones saladas; las dimensiones de las partículas en suspensión, decretan

el grado de actividad. Esta actividad tiene entonces relación con la extensión superficial del coloide.

Según Epstein y Paul, el antígeno lipóidico debe consistir en una mezcla de partículas, cuyas dimensiones varíen entre las de una suspensión grosera y una dispersión coloidal verdadera, presentando un estado de poca estabilidad, aparentemente esencial para sus efectos.

Se procura determinar cuáles son las agrupaciones atómicas, que en estos lipoides tienen el privilegio de obrar como antígenos receptores. Partiendo del hecho de que la fracción soluble en el alcohol de diferentes extractos hepáticos, es más o menos proporcional a su poder de fijación del yodo, Noguchi y Bronfembrenner, creen que los ácidos grasos no saturados, desempeñan un rol importante en la reacción.

La saturación de los lipoides, por el H, no los priva de su valor antigénico, lo que demuestra que este valor, no es función de los átomos de carbono no saturados.

En el suero de los sifilíticos existen sustancias que unidas a los lipoides tienen la facultad de absorber la alexina. Está reconocido que estos cuerpos están íntimamente ligados a la fracción fácilmente precipitable de las globulinas, cuya proporción está manifiestamente aumentada en la sangre y líquido céfalo-raquídeo de los sifilíticos (Landsteiner y Muller, Gross y Volk, Levi, Bauer e Hirsch). Es en las globulinas donde más se acusa el aumento.

Cuando se provoca la precipitación de las globulinas de los sueros sifilíticos, ya sea sometiendo a la dialisis estos sueros o haciendo pasar una corriente de anhídrido carbónico, el agente activo acompaña al precipitado, mientras que las albúminas quedan inactivas. Según Stern, una parte solamente de la fracción globulina es activa.

Durante el tratamiento anti-sifilítico, el tenor en globulinas en la sangre va disminuyendo, observándose que la disminución es paralela a la caída de la intensidad de la reacción de Wassermann de la misma sangre.

Muchos son los autores que confirman la intervención de las globulinas, en las propiedades que adquieren tanto la sangre como el líquido céfalo-raquídeo de los sifilíticos. Neumann y Hektoen han establecido perfectamente que en la sífilis, el líquido céfalo-raquídeo presenta un aumento

característico de las globulinas, análogo al del suero. Herold ha localizado también el elemento activo del líquido céfalo-raquídeo, en la fracción euglobulina.

Friedmann atribuye la reacción de Wassermann a las globulinas o más bien a un compuesto jabón-globulina. Es también muy tenida en cuenta la opinión de Frossmann, según la cual, el agente activo del suero, no es simplemente una globulina, sino un lipóide asociado a la globulina y precipitado con ella. Schmidt atribuye la reacción a las propiedades físico-químicas de las globulinas del suero sífilítico, que según él, poseen por los coloides del antígeno, una afinidad más grande que las globulinas normales; en el suero normal, esta afinidad estaría contrariada por las albúminas, que se encuentran disminuídas en la sífilis.

La substancia activa de los sueros sífilíticos, parece estar constituída por un coloide emulsoide hidrófilo, mientras que el antígeno se comporta como un coloide suspensoide, cuya fase dispersa es sólida.

Vamos a citar otras opiniones, que si bien no se refieren directamente a la intervención de las globulinas en la reacción, vienen en forma indirecta a apoyar su probable participación.

Según Bauer y Skutezky, los sueros de los sífilíticos contienen mayor cantidad de lipoides que los normales, pero no encuentran paralelismo entre esta riqueza y la intensidad de la reacción producida por estos sueros. Weston ha estudiado la influencia que podía tener en la reacción de Wassermann, la cantidad de colesteroína existente en el suero, y ha encontrado que no hay ninguna correlación entre estos dos hechos.

Fhankenthal ha reconocido que la mayor parte de los lipoides contenidos en los sueros sífilíticos, acompañan a la fracción albúmina, mientras que en los sueros normales estos lipoides son precipitados con las globulinas.

Estas observaciones demuestran la poca probabilidad que tienen los lipoides de la sangre, de constituir de por sí la causa eficiente de la reacción, no restándole por lo tanto a las globulinas los derechos de ser ellas las responsables del fenómeno. Imposible nos es referirnos aquí a todas las opiniones vertidas sobre la naturaleza de la substancia, que en la reacción de Wassermann obra como am-

boceptor; pero haciendo un resumen de las hipótesis consideradas como más probables, y poniendo el asunto al día, diremos:

1.º Que la reacción de Wassermann no es una reacción de fijación típica.

2.º Que los antígenos empleados son mezclas lipóidicas no específicas, en las cuales figura en primer término la lecitina, acompañada de pequeñas fracciones de colesteroína. Estos antígenos son solamente antígenos receptores, puesto que inyectados son incapaces de determinar la formación de anticuerpos.

3.º No se ha podido reconocer en el suero de los sífilíticos, ningún amboceptor específico. La reacción es determinada probablemente por las globulinas, que han sufrido modificaciones cualitativas y cuantitativas. Estas globulinas cuyo tenor está aumentado, presentan una disminución en su estabilidad, y por lo tanto flocculan fácilmente bajo la influencia de ligeros cambios físico-químicos del medio; y por esta razón ellas favorecen la flocculación de las suspensiones coloidales de los lipoides, utilizadas como antígenos; los agregados coloidales que resultan tienen la propiedad de adsorber la alexina.

De modo, entonces, que la desaparición del complemento, en la reacción de Wassermann positiva, obedece a la adsorción de este elemento por el complejo globulina + lipoides constituidos en el sistema.

Jacobsthal apoya esta hipótesis invocando el hecho de que cuando se examina al ultramicroscopio la mezcla de antígeno y suero sífilítico, se aprecia la presencia de precipitados, aun cuando no se produzca ninguna flocculación visible a simple vista.

Parece que en la sífilis una modificación específica, aunque de carácter desconocido, sorprende a las globulinas del suero y les asigna el poder de formar precipitado y adsorber la alexina.

También se piensa que los factores físicos intervienen en alto grado en la reacción. Ocurre aquí, como en las otras reacciones coloidales, que la presencia de los electrolitos juega un rol importante. Es interesante conocer la opinión de Zinsser sobre el mecanismo de la reacción, opinión que tratamos de traducir en pocas frases.

Zinsser opina de la misma manera que Jacobsthal y Bruck, en el sentido de que el complemento es adsorbido por un precipitado formado por la unión de los lipoides del antígeno con las sustancias activas de los sueros sifilíticos.

Partiendo del hecho de que este precipitado se forma más rápidamente en la heladera que en la estufa, opina que la fijación del complemento es de naturaleza física y no producto de reacción química. En cuanto al origen del precipitado, tiene sus reservas sobre si esta formación responde al aumento de globulinas o a un cambio físico del suero sifilítico. En lo que se refiere a las suspensiones lipóidicas utilizadas como antígeno, sostiene que deben sus propiedades particulares a un estado de dispersión determinante de condiciones de tensión superficial, difícil de ser obtenida con otros coloides. El valor antigénico depende entonces del estado físico, y secundariamente, de la naturaleza química de la materia dispersada.

Otras sero - reacciones de la sífilis

Si bien es cierto que no ha sido posible descubrir ningún anticuerpo específico en el suero de los sifilíticos, es evidente que este suero presenta particularidades de orden físico y químico, que se traducen por la manera de comportarse frente a ciertos reactivos.

De ahí que se hayan creado innumerables sero-reacciones, muchas de las cuales, a pesar de tener valor desde el punto de vista diagnóstico, no atestiguan el desarrollo de ningún proceso de inmunidad (dentro del concepto que se tiene de estos fenómenos).

Entre las propiedades físico-químicas que presentan los sueros sifilíticos, mencionaremos los siguientes:

La globulina es precipitada más fácilmente por el sulfato de amoníaco (Hesler Mac Donagh).

Según Holken, el aumento de euglobulina en estos sueros, le comunica mayor viscosidad.

Bruck encuentra que cuando se tratan los sueros sifilíticos por el ácido nítrico, se produce un precipitado más abundante, que cuando se trata de sueros normales. Ese precipitado sería además muy viscoso. De la misma manera, el cloruro de platino determina con los sueros sifilíticos un precipitado voluminoso (Brown y Iyengar).

Pero el carácter más útil que presentan los sueros sifilíticos, es el de flocular por adición de ciertas suspensiones coloidales, que no precipitan el suero normal (Vernes).

Las técnicas que para el suero-diagnóstico de la sífilis han sido propuestas posteriormente a la original de Wassermann, pueden reunirse en dos grandes grupos:

1.º técnicas, que empleando el mismo principio que la reacción de Wassermann, sólo implican modificaciones a ésta.

2.º técnicas basadas en principios distintos de la reacción de Wassermann.

En el primer grupo las modificaciones son llevadas principalmente sobre la constitución del antígeno. (Técnicas de Wassermann y Lange, Latapie, Noguchi, Bordet, Ruelens, Renaux y Nouge - Sach, Desmoulière, Porges y Meier, Sachs y Rondoni, Douris y Beck, Sciarra, Ninni y Molinari, Frankel y Much, etc.

En otras, se observa, no solamente la calidad de la reacción, sino que se hace apreciaciones cuantitativas (Neisser, Bruck y Schucht, Citron, Sormani, Boas y Thomsen, Madsen, Vernes, etc.).

En fin, en otras técnicas se aportan modificaciones: sobre cantidades de reactivos, sobre la naturaleza de la hemolisina empleada en la reacción, sobre la temperatura, tiempo, etc. (Bauer, Calmette y Massol, Calmette - Boquet y Nègre, Weimberg, Lewy, Jacobsthal, Lerede, Rubinstein, Hecht, Mutermilch, Bruck, Behrmann y Rosenberg, Ronchese, Kafka.

En el segundo grupo entran las reacciones llamadas de floculación (Klausner, Porges - Hermann - Perutz, Fernet y Scherecevsy, Vernes Sachs - Georgi, Sach Klopstok y Oaschi, Meinike, Kann.

(Continuará).