REAL ACADEMIA DE MEDICINA DE BARCELONA

NATURALEZA Y SIGNIFICADO BIOQUIMICO DE LA RESPUESTA EN ANTICUERPOS

DISCURSO

LEIDO POR EL ACADEMICO ELECTO

DR. D. JORGE GRAS RIERA

EL DIA 12 DE FEBRERO DE 1961

EN EL ACTO DE SU RECEPCION

Y

CONTESTACION

DEL ACADEMICO NUMERARIO

DR. D. CARLOS SOLER DOPFF

BARCELONA

1961

NATURALEZA Y SIGNIFICADO BIOQUIMICO DE LA RESPUESTA EN ANTICUERPOS

REAL ACADEMIA DE MEDICINA DE BARCELONA

NATURALEZA Y SIGNIFICADO BIOQUIMICO DE LA RESPUESTA EN ANTICUERPOS

DISCURSO

LEIDO POR EL ACADEMICO ELECTO

DR. D. JORGE GRAS RIERA

EL DIA 12 DE FEBRERO DE 1961

EN EL ACTO DE SU RECEPCION

Y

CONTESTACION

DEL ACADEMICO NUMERARIO

DR. D. CARLOS SOLER DOPFF

BARCELONA

1961

Publicado por Editorial JIMS

Depósito Legal: B. 1727-1961

EXCMO. SR. PRESIDENTE,
DIGNÍSIMAS AUTORIDADES,
MUY ILUSTRES SRES. ACADÉMICOS,
SEÑORAS, SEÑORES:

Acabo de trasponer el umbral de esta Real Academia de Medicina, para tomar parte en uno de los actos más solemnes en la vida de la misma, el de ingreso de un nuevo académico y, precisamente, como protagonista. No es ninguna imagen retórica si les digo que el primer sorprendido soy yo mismo, sorpresa que se inició cuando, dignos representantes de esta docta corporación, me notificaron que habían decidido proponerme como miembro de la misma, honor que yo creía estar muy lejos de merecer.

Considero pues, mi primer deber, presentaros la expresión de mi más sincera gratitud, por haberme acogido entre vosotros de una manera tan afectuosa y unánime y daros las máximas seguridades de que si en ello ha pesado más vuestra benevolencia que mis méritos, procuraré de ahora en adelante hacerme digno, en todos sentidos, del honor y responsabilidad que representa ser miembro de tan alta Corporación.

Es pues, con temor y con alegría, como me presento aquí, para desarrollar lo que ha de ser mi primer acto como académico. Hay siempre, en estos momentos, la nota triste que representa un relevo. Aún más, cuando este relevo es el de un Maestro, no sólo en ciencias humanas, sino también divinas, el Rvdo. Padre J. Pujiula,

que de seguro nos contempla ahora desde un lugar mucho más alto y definitivo que el sillón que nosotros vamos a ocupar.

Nacido en Besalú, pronto hará un centenar de años, y de familia modesta, le obliga esta circunstancia a entrar a trabajar, a los siete años, en una fábrica. Trabajando en ella, se salva de una violenta explosión, circunstancia que fue causa del cierre de la misma y de que el Padre Pujiula dejara el trabajo para iniciar, a los 10 años, el estudio de las primeras letras. Llamado por su vocación al sacerdocio, ingresa a los 14 años en el Seminario de Gerona, y de él al noviciado de la Compañía de Jesús en Veruela, en el que tiene por compañero al Padre Vitoria.

Ya en la Compañía, profundiza sus estudios de Teología y Filosofía conjuntamente con los de Historia Natural, con la firme idea, que mantiene constantemente a lo largo de su vida, que un conocimiento profundo de la Biología no puede alejarnos nunca de la Verdad Absoluta.

Precisamente por considerarlo particularmente interesante en este sentido, inicia con gran vigor el estudio de la Embriología, ciencia naciente por aquel entonces. Los primeros pasos los da con el Prof. Heider en Innsbruck, para después especializarse profundamente en la misma con el Prof. Rabl de Viena. Vuelto a España, fundó, en el mismo edificio del Instituto Químico del Ebro, dirigido por el P. Vitoria, el Instituto Biológico, siendo ambos trasladados en 1916 a Sarriá.

Es en el ámbito del Instituto Biológico de Sarriá donde la labor del Padre Pujiula da sus frutos más sazonados, consigue su máxima irradiación y su labor de Maestro se exterioriza al máximo. Son numerosos los médicos, farmacéuticos y naturalistas que fueron sus discípulos y que, buena prueba de la labor del Maestro,

han sido después, ellos mismos, brillantes profesores e investigadores. Es en el campo de la Embriología donde esta irradiación se demuestra más palpablemente y en la que con todo honor ostenta el título de iniciador y abanderado de dicha rama de la ciencia biológica, en nuestra Patria.

Su labor investigadora se ha traducido en numerosos trabajos publicados en las revistas de ciencias naturales de nuestra Patria y también del extranjero. La expresión más completa de la misma la tenemos en sus diversos libros, de los que descuellan la «Citología», publicada en 1918; su «Histología, fisiología y anatomía microscópica humana y animal con indicaciones patológicas», que vio la luz en 1934, y, finalmente, su obra más representativa, la «Embriología del hombre y demás vertebrados», publicada en 1942.

* * *

Es regla que impone la costumbre y la tradición, que en estos momentos se rinda tributo de gratitud a los maestros que más han contribuido a nuestra formación. Habiendo querido los azares de la vida que el que os dirige la palabra sea médico y farmacéutico, es natural que la lista de maestros que han ido iluminando su espíritu sea muy numerosa, llena de destacadas personalidades, y en la que se hace difícil la selección y es más difícil aún rendirles homenaje en forma completa.

Por ello quiero limitarme a aquellos que han influido quizá más en determinar mi ulterior camino, tanto en la fase académica como ya, usando palabra de moda, en la de postgraduado. Son éstos, el Doctor Miguel Barrera, el Doctor Pedro González, el Profesor J. Mª de Loureiro, el Prof. Ecker y el Prof. A. Pedro-Pons.

Al lado del Dr. Barrera, ya fallecido, Doctor en Ciencias Químicas y auxiliar del Prof. Banús, seguimos prácticamente toda nuestra carrera de Farmacia, y en su laboratorio dimos los primeros pasos y aprendimos análisis químico de su maravilloso sentido de la intuición química. El Dr. Pedro González, que fue Director del Laboratorio Municipal durante muchos años, y miembro de esta Real Academia, nos inició en Inmunología, y tanta impresión nos causó, que los problemas de la inmunología teórica han sido siempre, para nosotros, temas preferidos, como lo demostraremos precisamente hoy con el que les presentamos.

El Prof. J. Mª de Loureiro estuvo tan sólo unos días entre nosotros, pero nos impresionó por su claridad de visión y objetividad. Toda ciencia en avance necesita la elaboración de hipótesis, que partiendo y explicando los hechos de experiencia conocidos, los unifique en una visión de conjunto, se remonte más allá de ellos mismos, sirva para plantear nuevas experiencias y nos conduzca al hallazgo de hechos nuevos. Estábamos entonces en el planteamiento de una hipótesis que, a nuestro juicio, explicaba múltiples hechos de la fisiopatología de las proteínas plasmáticas. Con gran afabilidad, el Prof. Loureiro accedió a la discusión de la misma. Al final nos dijo que, realmente, nuestra hipótesis estaba bien formulada, pero que, en su mayor parte, estaba basada en razones analógicas. Consideramos aún totalmente válida dicha hipótesis en su fondo, pero, no obstante, la observación de Loureiro nos produjo un impacto profundo. ¿No estamos quizá más aficionados al excesivo razonamiento por el razonamiento, a este fácil ejercicio mental, que a la lenta, pesada y aburrida demostración objetiva, con hechos, de nuestros razonamientos? ¿No es éste, quizá, uno de los defectos de nuestra ciencia?

Imprescindible también para la utilización práctica, y para el avance de cualquier disciplina científica, es el conocimiento de los datos aportados por otros investigadores. Este conocimiento comporta otro problema, que es el de su correcta valoración. Estábamos tratando con el Prof. Ecker sobre un tema de inmunología y le indicábamos tener conocimiento de unas observaciones un tanto curiosas y que considerábamos podría ser interesante comprobar. Ecker se extrañó mucho, y nos dijo: «esto debe proceder de tal», indicando una revista bastante difundida; cuando comprobamos la cita y se confirmó esta procedencia, dejó de interesarse por la citada observación. Esta pequeña anécdota nos confirmó en la idea, que ya había nacido en nosotros por generación espontánea del extraordinario valor que tiene la rigurosa y crítica apreciación de los trabajos existentes en la literatura, y que es mejor leer pocos buenos que muchos malos. ¿No es, también, bastante frecuente entre nosotros, citar y valorar igualmente el trabajo objetivo y meticuloso de un buen conocedor de determinado tema que otro superficial y carente de base objetiva?

Otra necesidad ineludible en el estado actual de la medicina, tanto científica como práctica, es el trabajo en equipo. Para que éste tenga, por lo menos, cierta cohesión, se requiere, no tan sólo que las unidades componentes sean del más alto peso específico, sino que exista una con suficiente personalidad para estar al frente del mismo. Cuanto mejores sean las unidades integrantes, más alta ha de ser la personalidad del director del equipo. Éste es, creemos, uno de los mejores elogios y una de las mejores y más fructíferas enseñanzas que debemos a nuestro Maestro el Prof. A. Pedro-Pons, digno Presidente de esta Real Academia. Todos nosotros estamos convencidos que su Escuela es una de las mejores de nuestra Patria y de más alto presti-

gio. No es muy frecuente el ejemplo que nos da, de estímulo constante, no poner nunca dificultades y de aceptar a su alrededor representantes de entre los mejores de cada especialidad, de las múltiples en que se divide la medicina actual. Este hecho, de poderse rodear y atraer individualidades con personalidad propia, es precisamente la mejor demostración de su alta personalidad, humana y científica.

En toda labor influyen, en gran proporción, los medios de que se dispone para poderla desarrollar. En este aspecto hemos sido especialmente afortunados de estar al frente de una de las Secciones del Departamento de Investigación del Hospital Municipal de Infecciosos, creado después de una sugerencia del Profesor Nauck de Hamburgo, y gracias a la iniciativa y clara visión que de las necesidades de la medicina moderna tiene el Dr. Luis Trías de Bes. Pecaríamos también de injustos si no reconociésemos la decisiva ayuda que a su creación prestó el entonces Teniente de Alcalde de Higiene y Sanidad, Dr. D. Lorenzo García Tornel, y el decidido, firme y efectivo apoyo que al mismo presta el actual titular de esta Tenencia de Alcaldía, Dr. A. Grau de Grau.

La gran mayoría de nuestros trabajos han podido ser llevados a cabo gracias a esta circunstancia de disponer de dicho Departamento de Investigación, y más que por el aspecto material que ello representa, por la ayuda, nunca fría, sino siempre calurosa y afectiva, que todos nuestros colaboradores nos prestan. Reciban en este momento el testimonio de nuestra más sincera gratitud.

* * *

Es obligación ineludible exponer ante ustedes un tema científico, obligación que comporta, como primera eventualidad, la de escogerlo. No resultaría oportu-

no decidirse por uno muy concreto y que requiriese una adecuada profundización, sino que parece mejor desarrollar uno de carácter más amplio, que pueda interesar no tan sólo al médico, sino también al biólogo y que pueda ser tratado en líneas más generales. Dentro de los que nuestras posibilidades hacían factibles, nos hemos decidido por el de la «Naturaleza y significado bioquímico de la respuesta en anticuerpos».

Ha contribuido mucho en nuestra decisión, no tan sólo el ser un tema predilecto para nosotros, sino también por el hecho de tener ya una gloriosa tradición en esta Academia. El problema de la defensa antiinfecciosa y su consecuencia, la inmunidad, era tema preferido de Turró y fue motivo del discurso de ingreso del Dr. P. González, titulado «Mecanismos nutritivos en la inmunidad», en el que sigue el camino de las ideas de Turró y también del de P. Domingo sobre «Els elements d'acciò específica en la inmunitat adquirida». En ambos se trata la inmunidad en un sentido amplio, mientras que nosotros circunscribimos mucho el tema al tratar únicamente de la naturaleza y significado bioquímico de los anticuerpos.

Decimos bioquímico, porque es en términos bioquímicos como en la actualidad se expresan los fenómenos biológicos, y no creemos exagerar si decimos que la bioquímica es el lenguaje en que se expresa la biología de nuestros días. Donde hasta hace bien poco el histólogo sólo veía simplemente un gránulo citoplásmico, el bioquímico ve y estudia un mundo de enzimas dispuestos y ordenados en una serie determinada, para la realización de una cadena de reacciones químicas de importancia fundamental. Es totalmente innecesario extendernos en demostrar la importancia de la bioquímica, y quizá lo único que podemos hacer es lamentar el poco desarrollo que tiene en nuestro país, probablemente debido al escaso interés que se

muestra y el desconocimiento que se tiene, salvo honrosas excepciones, de lo que es la verdadera investigación básica. La utilidad práctica inmediata hace olvidar que en la investigación de temas fundamentales, por ultrateóricos que parezcan, se encuentra el germen de las realidades prácticas del mañana, que es ley del progreso, superen a las de hoy.

Tenemos, del tema que vamos a desarrollar, una concepción personal en sentido teórico, concepción que nos ha servido para elaborar y obtener datos experimentales sobre determinados aspectos del mismo. Por esto, con su benevolencia, vamos a empezar por exponer los datos objetivos conocidos que nos llevaron a nuestra concepción y seguidamente comprobar cómo ésta se adapta a los hechos fundamentales de la fisiopatología de los anticuerpos y cómo nos ha llevado al conocimiento de otros, para presentar, finalmente, una síntesis acerca de la naturaleza y significado bioquímico de los anticuerpos.

NATURALEZA Y SIGNIFICADO BIOQUIMICO DE LA RESPUESTA EN ANTICUERPOS

Al iniciarse los estudios acerca de la inmunidad, se fueron descubriendo propiedades características de los sueros de los animales afectos de enfermedades infecciosas, frente a los correspondientes gérmenes causales. NUTTALL, en 1888, comprobó la propiedad *bactericida* de la sangre frente a determinados gérmenes, propiedad que desaparecía calentando a 55°. En 1889-1893, BUCHNER demostró que esta acción correspondía al suero y no a las células y que actuaba no tan sólo frente a gérmenes, sino también frente a determinados hematíes, dándole a la substancia responsable de esta propiedad el nombre de *alexina,* más conocida en la actualidad por el de *complemento,* nombre debido a EHRLICH.

CHARRIN y ROGER, en 1889, demostraron que el suero de los individuos vacunados posee la propiedad de aglutinar al correspondiente microbio. Al año siguiente, BEHRING y KITASATO demuestran la acción *antitóxica* del suero de los animales inmunizados contra el bacilo diftérico o tetánico. En 1897, KRAUS comprobó que el suero de un animal inyectado con un determinado germen, posee la capacidad de dar un *precipitado* en los filtrados de cultivos del mismo.

Predominando por aquel entonces como idea primordial en estos fenómenos la de la defensa antiinfecciosa, se denominaron a las substancias existentes en el suero, responsables de estas propiedades, con los

nombres de *antitoxinas, aglutininas, precipitinas, bacteriolisinas,* etc., considerándolas dotadas de por sí y de manera intrínseca, de dichas propiedades.

No obstante, ya hemos visto que el poder bactericida o de lisis se ejerce también frente a células no dotadas de poder infectante, como son los glóbulos rojos, hecho extensamente estudiado por BORDET. Igualmente se demostró que el poder precipitante se presenta en los sueros de los animales cuando son inyectados con proteínas de otras especies; desde entonces sabemos que los antígenos por excelencia son las proteínas de especie heteróloga, aunque también pueden actuar como antígenos hidratos de carbono de alto peso y asimetría molecular. Estas substancias, que administradas por vía parenteral a un animal de distinta especie, dan lugar a la aparición de otras con capacidad específica de reacción frente a las mismas, se denominan de una manera general como *antígenos,* y las resultantes de su inyección, *anticuerpos.*

Estos anticuerpos se presentan después de la inyección parenteral de substancias sin ninguna capacidad infectante, y aún hay más, ya que conocemos, desde las investigaciones de RICHET y PORTIER, que en determinados casos y circunstancias pueden dar lugar a que una substancia antigénica, no infectiva ni tóxica de por sí, resulte, en una segunda inyección, letal de manera fulminante; nos referimos al fenómeno de la *anafilaxia* y a su pariente la *alergia.*

¿Cuál es, pues, el significado y naturaleza de estos anticuerpos, que se originan por la administración parenteral de macromoléculas heterólogas, relacionadas o no con fenómenos antiinfecciosos y que incluso a veces conducen a reacciones catastróficas? Analicemos su naturaleza química y sus características funcionales, para ver si podemos llegar a una conclusión, o aproximación, a su posible significado en sentido bioquímico.

NATURALEZA QUÍMICA DE LOS ANTICUERPOS

En cuanto a su naturaleza química, se vio, desde los primeros trabajos sobre este aspecto del problema, que existía un completo paralelismo entre las propiedades fisicoquímicas de los anticuerpos y las de las proteínas plasmáticas, más concretamente las globulinas, y que no había manera de separar dichos anticuerpos de las propias globulinas, de tal forma que se imponía la conclusión de que los anticuerpos eran globulinas plasmáticas o, por lo menos, un grupo prostético de las mismas. La naturaleza globulínica de los anticuerpos fue rubricada, en 1941, por NORTHROP, al conseguir la obtención en forma cristalizada de la antitoxina diftérica, con todas las características de una proteína homogénea y con un peso molecular de 90 500. Por las técnicas electroforéticas se ha comprobado que la mayoría de anticuerpos son globulinas gamma o beta.

Se ha señalado, en el caso del hombre, que algunos anticuerpos naturales de grupo, anticuerpos en fenómenos alérgicos y algunos anticuerpos bloqueantes, corresponderían a globulinas beta, y la inmensa mayoría, a globulinas gamma. Personalmente, con ESCRIU, hemos comprobado que los anticuerpos anti-Eberth H y anti-Eberth O, isoanticuerpos de grupo A y B, procedentes de sujetos estimulados, anticuerpos Wassermann, antiestreptolisina y el factor Waaler-Rose, se recuperan en forma prácticamente total en la fracción de globulina gamma hiposulfito. Si se comportan como globulinas gamma o beta, pueden, por su peso molecular, corresponder o no a macrocomponentes, es decir, a globulinas con una constante de sedimentación de 19 S o de 7 S. Los anticuerpos antipolisacáridos de grupo sanguíneo son macrocomponentes. Este tipo de anticuerpos se formaría frente a hematíes y bacterias com-

pletas, especialmente en las primeras fases de una inmunización, pero no frente a proteínas aisladas (KUNKEL). En este momento, no interesa una amplia discusión de este problema, sino, simplemente, la conclusión de que en cuanto a su naturaleza química *todos los anticuerpos son globulinas, es decir, proteínas de peso molecular bastante elevado.*

CARACTERÍSTICA FUNCIONAL INTRÍNSECA FUNDAMENTAL DE LOS ANTICUERPOS

Examinemos ahora el aspecto de las características funcionales de los anticuerpos para ver, si en este sentido, podemos llegar también a una conclusión general importante. Lo primero que debemos comprobar es si está realmente justificado separar funcionalmente cada uno de estos anticuerpos, es decir, si efectivamente la propiedad de aglutinar es una característica específica y exclusiva de las aglutininas, la de precipitar de las precipitinas, y la antitóxica de las antitoxinas, o bien si estos fenómenos son secundarios a la fijación de un anticuerpo sobre su correspondiente antígeno, en determinadas condiciones.

Se consideró, por muchos años, que el sistema toxina-antitoxina presentaba particularidades especiales dentro de los anticuerpos. La primera particularidad que se le atribuía era la de no dar lugar a una precipitación, hasta que, en 1922, RAMON comprobó que en estos sistemas se produce realmente una precipitación cuando las proporciones de los dos elementos guardan una determinada proporción. En 1927, DEAN comprobó que el complejo toxina-antitoxina, como los otros sistemas antígeno-anticuerpo, fijaba el complemento. Se seguía considerando una particularidad del sistema toxina-antitoxina el hecho de presentar una zona de

inhibición con exceso de anticuerpo, hecho que se ha demostrado que se presenta en todos los sistemas proteína-antiproteína obtenidos en el caballo por vía subcutánea, condiciones en las que se obtienen corrientemente las antitoxinas. Por lo tanto, se acepta en la actualidad que el sistema toxina-antitoxina no puede considerarse diferente de los sistemas proteína-antiproteína en general.

Veamos ahora si, a consecuencia de esta unión de la toxina con su antitoxina, la primera queda auténticamente neutralizada o no. Se sabe, desde CALMETTE, en 1895, que de una mezcla no tóxica de toxina y antitoxina se puede recuperar la primera, con plena capacidad tóxica, por simple calentamiento de 70 a 80°, hecho confirmado desde entonces y que puede reproducirse por otros métodos. BORDET expresa la acción de la antitoxina sobre la toxina con las siguientes palabras: «la antitoxina no destruye propiamente hablando a la toxina. Se une a ella, la engloba, y esta fijación es suficiente, si la antitoxina interviene a dosis bastante elevadas, para hacer desaparecer totalmente o en gran parte las propiedades nocivas de las que el antígeno está dotado». O sea que, en realidad, la antitoxina no produce una auténtica neutralización de la toxina, sino que, al unirse con la misma forma complejos que, de una manera indirecta, no tienen acción tóxica *in vivo*.

Visto que la propiedad antitóxica no es una característica especial y auténtica de las antitoxinas, veamos lo que ocurre con las propiedades precipitantes y aglutinantes de las llamadas «precipitinas y aglutininas». En 1927-1928, JONES comprobó que si se absorbe suero de buey a una determinada bacteria, éstas *se aglutinan* frente a un antisuero *precipitante del suero de buey*. Demostró también la aglutinación de una proteína absorbida a colodión, al hacer actuar sobre la misma su correspondiente precipitina. Otro ejemplo

lo tenemos en lo que ocurre con el antisuero antineumococo, que *aglutina* al correspondiente neumococo, pero produce la *precipitación* del polisacárido específico aislado de la cápsula del mismo. En este sentido funcional no hay, pues, ninguna diferencia entre aglutinina y precipitina, ya que la misma globulina anticuerpo puede actuar de una u otra manera, según la forma en que se encuentre su correspondiente antígeno. Si éste se encuentra formando parte de un germen o de una célula, se presentará la aglutinación (en medio electrolítico conveniente), pero si se encuentra en solución, actuará, también en las condiciones oportunas, produciendo una precipitación.

De aquí que se ha llegado a la conclusión de que cualquier anticuerpo «polivalente», específico para determinado antígeno, puede manifestarse funcionalmente en una u otra forma (aglutinación, precipitación) según la situación del antígeno (forme o en solución) y la forma en que se lleve a cabo la correspondiente reacción antígeno-anticuerpo; secundariamente, y de una manera general, toda reacción antígeno-anticuerpo puede fijar complemento.

Hemos visto, pues, que la acción precipitante o aglutinante no es una propiedad específica de determinado tipo de anticuerpo, sino que depende de las condiciones en que se encuentre el antígeno. Se conocen incluso anticuerpos que, sean las que sean las condiciones electrolíticas del medio, *son incapaces de aglutinar o de precipitar a su correspondiente antígeno y que están dotados, únicamente, de la propiedad de unirse específicamente con el mismo*. Los primeros que comprobaron la existencia de este tipo de anticuerpos fueron HEIDELBERGER y KENDALL, en 1935, estudiando el sistema albúmina de huevo antialbúmina de huevo. A este anticuerpo le denominaron anticuerpo residual o univalente. Al unirse con el antígeno, bloquea los grupos

específicos de éste, impidiendo la ulterior unión sobre el mismo de anticuerpos polivalentes, por lo que también se llaman anticuerpos inhibentes o bloqueantes. Desde el descubrimiento de anticuerpos en el sistema Rh por WIENER, en 1944, y posteriormente en el sistema ABO y en sueros antibacterianos, este tipo de anticuerpos ha adquirido una gran importancia. Nos interesa únicamente destacar, en este momento, la existencia de anticuerpos incapaces de dar lugar a una aglutinación o precipitación y dotados únicamente de la propiedad de fijarse específicamente al correspondiente antígeno.

En síntesis, podemos señalar, que en el aspecto funcional, ni la propiedad antitóxica, ni la aglutinante, ni la precipitante son características intrínsecas funcionales de un anticuerpo, sino que son efectos que se presentan secundariamente a la unión del antígeno con el anticuerpo en determinadas condiciones, pero que ninguna de ellas es esencial para que un anticuerpo sea o no sea anticuerpo. En este aspecto, la *única característica fundamental intrínseca e imprescindible para que podamos calificar a una globulina como globulina anticuerpo, es la de que se una específicamente con su correspondiente antígeno.*

CONSECUENCIAS DE LA UNIÓN ANTÍGENO-ANTICUERPO SOBRE EL PROPIO ANTÍGENO

Es interesante comprobar en este punto si el anticuerpo produce alguna acción determinada sobre el correspondiente antígeno. Ya hemos visto que la acción antitóxica no es en realidad una tal acción antitóxica. Se ha estudiado la acción de los anticuerpos anti O y H de la *Salmonella enteritidis* y los anticuerpos antihematíes de rata, de paloma y de pato, sobre el consu-

mo de oxígeno de estas células, comprobando que por la acción de estos anticuerpos específicos no se produce ninguna inhibición en cuanto a su consumo de oxígeno. Más recientemente se han obtenido resultados iguales con el bacilo de Eberth y los neumococos y también con diversas especies de salmonelas. Resultados equiparables se han comprobado por lo que respecta a la acción del anticuerpo específico sobre la reproducción bacteriana *(in vitro)*. Estudiando la capacidad germinativa determinada por la cantidad de microorganismos desarrollados a las 24 horas de incubación, no se ha registrado ninguna disminución de la misma en presencia de los antisueros anti O y anti H de la *Salmonella enteritidis*.

Una modificación que se ha descrito, consecutiva a la acción del correspondiente anticuerpo sobre el germen, son cambios en la estructura antigénica del mismo. Tanto en los neumococos como en los neumobacilos, es fácil obtener formas no específicas, no capsuladas, o sea formas «rugosas», adicionando al medio de cultivo el correspondiente antisuero. Esta variación lisa-rugosa se ha obtenido también en las salmonelas, así como cepas desprovistas de flagelos por cultivo de las mismas en presencia de los anticuerpos antisomáticos o antiflagelares respectivamente. Este cambio es específico y corresponde a la inhibición en la formación de un determinado antígeno. Sin embargo, esto no implica forzosamente una acción directa del anticuerpo sobre el antígeno, sino que puede explicarse, similarmente a lo que ocurre con la unión del anticuerpo a la toxina, en el sentido de que la unión antígeno-anticuerpo inhibe la inducción que conduce, en el metabolismo celular, a la producción del correspondiente antígeno, ya que en todos estos casos lo que ocurre es un fallo en la producción celular del correspondiente antígeno.

Igualmente puede interpretarse por mecanismo indirecto la pérdida de la movilidad que se produce en las salmonelas por su unión con el anticuerpo anti H y también la hinchazón de la cápsula del neumococo por el anticuerpo antipolisacárido específico, ya que esta acción puede explicarse por variaciones en la hidrofilia del complejo antígeno-anticuerpo, sin presuponer forzosamente una acción sobre el polisacárido específico. Todas estas acciones son en realidad sobre el germen o célula, en la que se encuentra el antígeno específico y *no se ha descrito ninguna modificación química inducida por el anticuerpo sobre su correspondiente antígeno. Si a la presencia del anticuerpo se añade la de complemento o de determinadas células, entonces sí que se produce una acción lítica total y enérgica sobre determinadas células o gérmenes, o bien modificaciones en el consumo de oxígeno.* O sea, que para que se presente una acción de este tipo es necesaria la presencia de otro factor sobre el complejo antígeno-anticuerpo.

En síntesis, podemos llegar, pues, a la conclusión de que las características intrínsecas y fundamentales de los anticuerpos son:

a) *Ser de naturaleza globulínica, o sea proteica;*
b) *unirse específicamente con el antígeno, y*
c) *que la unión del anticuerpo con su correspondiente antígeno no da lugar a ninguna modificación intrínseca del mismo.*

Debemos comprobar ahora cuáles son las substancias biológicas que tienen, como propiedades fundamentales, estas tres características que hemos descrito como intrínsecas de los anticuerpos y sin las cuales una substancia no puede ser calificada como de tal. Sin embargo, expondremos previamente una síntesis sobre las teorías formuladas para explicar la naturaleza biológica de los anticuerpos.

TEORÍAS ACERCA DE LA NATURALEZA BIOLÓGICA DE LOS ANTICUERPOS

Basados en este hecho de que los anticuerpos reaccionan con los antígenos, o partes de ellos (haptenos), con un elevado grado de especificidad, especificidad perfectamente comparable a la que existe entre los enzimas y sus substratos, los inmunólogos habían llamado la atención, ya desde el principio de estos estudios, sobre la analogía existente entre las reacciones inmunológicas y las enzimáticas. El propio EHRLICH, al describir la unión entre la toxina y su correspondiente anticuerpo, señaló que el poder de unión debe depender de un grupo atómico específico de la toxina con una relación de máxima especificidad sobre grupos definidos atómicos de la antitoxina, de manera que se unan rápidamente entre sí, «como una cerradura y su llave», imagen tomada de la de FISCHER cuando describe la acción de los enzimas específicos. Ha podido demostrarse que los anticuerpos llegan a distinguir las diferencias estructurales entre las moléculas de hexosa, como las de glucosa y galactosa, y las diferencias entre los alfa y beta glucósidos, de tal manera que la similitud entre la especificidad de estas reacciones antígeno-anticuerpo y la de los correspondientes enzimas sobre sus substratos específicos, es perfecta.

La identificación entre los fenómenos de la defensa antibacteriana y los mecanismos fermentativos de la digestión de las substancias ingresadas en nuestro organismo es ya una idea sustentada por GONZÁLEZ (1922) en su discurso de ingreso a esta Real Academia, concepto que expresa de la siguiente forma: «Cuanto más y mejor nos penetramos de la naturaleza de los anticuerpos y de los mecanismos de su acción sobre las

bacterias, más nos persuadimos de que el organismo se comporta con ellas tal como se comporta con toda clase de materia extraña, potencialmente alimenticia, ingresada por la vía parenteral, y más nos persuadimos también de que no existe una defensa especial contra las bacterias, sino una defensa más general contra las irrupciones de la materia extraña, como ha dicho TURRÓ. Desde este nuevo punto de vista la investigación es guiada por la intuición de que la digestión parenteral de los granos de almidón o de una albúmina animal o vegetal y el metabolismo de una y otra substancia, constituye en el fondo un problema idéntico al que proponemos resolver al estudiar la digestión de las bacterias y el destino ulterior del material que con ellas fue inyectado al organismo.»

En 1938, MARRACK insistió especialmente acerca de las relaciones inmunológicas y las enzimáticas, señalando que, de una manera general, se equipara el anticuerpo al enzima y al antígeno como su substrato, aunque indica que quizá podría ser más correcto considerar a los antígenos, cuya acción es producir algún cambio en los anticuerpos, cambio que origina su insolubilidad, como análogos a los enzimas. Sin embargo, esto último, como acabamos de ver, es discutible, y así, SEVAG insiste precisamente en el hecho de que la neutralización de las propiedades tóxicas de las toxinas y venenos no es un proceso de destrucción, sino de bloqueo, de los grupos activos, de la misma manera que un inhibidor bloquea los grupos enzimáticamente activos de un enzima, y que el anticuerpo no produce ningún cambio químico sobre el antígeno. Para SEVAG, la comparación entre los sistemas enzimáticos y los inmunológicos debería hacerse en el sentido de que los antígenos son enzimas que catalizan la síntesis de globulinas, en cuyo caso las globulinas formadas corresponderían a productos de la reacción, con especificidad

para el enzima que ha catalizado su producción. El substrato de estos enzimas-antígeno serían los factores globulínicos, entendiendo por éstos un grupo de aminoácidos o polipéptidos a partir de los cuales se produce la molécula de globulina. Similarmente, la acción catalítica específica de un enzima sobre su substracto puede producir productos finales de la reacción con afinidad inhibitoria específica para el propio enzima.

Señala SEVAG (1951) que la idea de MARRACK de «que la acción de los antígenos sobre los anticuerpos es la de producir algún cambio en los mismos, cambio que da lugar a su insolubilidad, corresponde a una propiedad secundaria y fisicoquímica del complejo antígeno-anticuerpo, más bien que a un cambio producido en la molécula del anticuerpo». Vemos, pues, que al establecer una analogía entre las reacciones antígeno-anticuerpo y las de enzima substrato, para poder hacer equivalente el anticuerpo a un enzima se presenta la dificultad de que el anticuerpo no posee ninguna acción de modificación intrínseca del antígeno, que sería el substrato, sino que todas las reacciones que se presentan después de la unión antígeno-anticuerpo deben considerarse como secundarias e indirectas. La misma dificultad se presenta si asimilamos el antígeno a un enzima. En el caso de la hipótesis de SEVAG, de asimilar el antígeno a un enzima catalizador del sistema formador de globulina, y a las globulinas anticuerpo como productos derivados de dicha acción e inhibidores del propio enzima, se presenta la dificultad de que la acción inhibitoria de los productos de una reacción enzimática sólo se ha comprobado en reacciones de tipo desintegrativo y no de tipo sintético, como sería el caso de la formación de las globulinas anticuerpo según esta hipótesis.

BURNET y FENNER (1949) concibieron el sistema formador de anticuerpos de la siguiente forma: Existe

un mecanismo fisiológico a través de las células del sistema reticuloendotelial, al que se suman probablemente una variedad de otras células mesenquimales relativamente indiferenciadas, como los linfocitos y las células plasmáticas, relacionado con la desintegración y retirada de células lesionadas o envejecidas, propias o extrañas, estas últimas predominantemente microorganismos. El material propio sería manipulado con sistemas enzimáticos apropiados sin involucrar cambios en el estado existente. El material orgánico extraño sería manipulado por las mismas células y procesos, pero en algún punto del mecanismo se produciría una modificación para permitir que, por ejemplo, lo que es efectivo para manipular el polisacárido de un grupo sanguíneo pueda manipular un polisacárido bacteriano. Se produce un enzima de adaptación apropiado, el cual poseería la necesaria configuración para su absorción efectiva al substrato no familiar.

Los autores señalaban que, aunque no se puede llevar la analogía entre estos procesos y los de formación de enzimas de adaptación al extremo, es, no obstante, la analogía más próxima que puede establecerse. El anticuerpo circulante lo consideraban como una réplica parcial del sistema enzimático intracelular, en el sentido de llevar el molde de adsorción específicamente modificado del enzima, pero faltándole tanto la actividad enzimática como tal, como la capacidad de autoduplicarse.

Muy recientemente, BURNET (1959) modifica su hipótesis, substituyéndola por una teoría de selección clonal. En la actualidad se acepta que no puede producirse un enzima de adaptación si no está genéticamente determinado en la célula. Por ello, BURNET, modificando la teoría de la selección globulínica de JERNE, supone que el antígeno da lugar a la selección de una célula mesenquimal capaz de producir ya, ge-

néticamente, una globulina específicamente relacionada con el antígeno. El desarrollo de esta célula se incrementa, dando lugar a un clono celular, capaz de producir globulinas con capacidad específica de unión con el antígeno. Con esta teoría se explicaría la génesis de globulinas anticuerpo, pero sin que, en nuestra opinión, quede muy claro el significado biológico o bioquímico de estas globulinas anticuerpo, a más de requerir la preexistencia en un momento determinado de una célula mesenquimal capaz de producir una globulina de acción específica contra prácticamente todos los posibles antígenos naturales y artificiales.

Con esta teoría, BURNET explica el hecho clave y básico que debe resolver toda teoría inmunológica de la existencia de un mecanismo o dispositivo capaz de diferenciar los antígenos homólogos de los heterólogos, de la siguiente forma. En la vida embrionaria, al ponerse en contacto los antígenos homólogos con las células de este sistema capaces de formar globulinas afines a los mismos, se unirían a ellas y por un efecto citotóxico, no claramente explicable, se eliminarían dichas células. De esta forma, y de no ocurrir una mutación celular apta (LEDERBERG), no se formarían los autoanticuerpos. De ser cierta esta hipótesis, debería también intervenir en la explicación de los fenómenos de tolerancia inmunológica, que después consideraremos.

LA POSIBLE IDENTIFICACIÓN DE LOS ANTICUERPOS COMO APOENZIMAS

En la actualidad se acepta que los enzimas son de naturaleza proteica. Algunos de ellos son proteínas conjugadas, es decir, proteínas unidas a otro cuerpo químico, denominado grupo prostético. Como ejemplos

de éstas tenemos a los citocromos, catalasas y peroxidasas, en las que el grupo prostético es una ferroporfirina. En estos casos la acción de la porción proteica y del grupo prostético es siempre conjunta sobre el substrato. Existe otro grupo de enzimas que, para ejercer su acción, necesitan la presencia de otro grupo orgánico, no proteico, y separable de las mismas por diálisis. Esta substancia puede estar más o menos unida a la proteína enzima, o incluso encontrarse en el medio y unirse únicamente con el enzima en el momento en que éste se une específicamente con su substrato. A estas substancias se las denomina *coenzimas*.

Al primer grupo de enzimas, que no requieren para su acción la colaboración de un grupo independiente de ellas mismas, se les denomina *holoenzimas*, y al segundo grupo, es decir, a las que requieren la colaboración de un coenzima, *apoenzimas*. Un ejemplo de sistemas con apoenzima y coenzima lo tenemos en las dehidrogenasas anaerobias. Éstas utilizan el coenzima I o difosfopiridín nucleótido, o el coenzima II, que es el trifosfopiridín nucleótido. En este caso la misión del coenzima es la de aceptar dos átomos de hidrógeno del substrato, activado por el correspondiente apoenzima. Varias dehidrogenasas pueden utilizar el mismo coenzima, pero, en la inmensa mayoría de casos, cada dehidrogenasa es específica para su substrato. De una manera general, podemos sintetizar diciendo que los apoenzimas tienen especificidad de substrato y que, por tanto, se unen específicamente con el mismo, pero para que se produzca la acción enzimática es necesaria la colaboración del coenzima, que tiene especificidad de acción, pero no de substrato, ni tampoco de apoenzima.

Vemos, pues, que aquellas características que hemos considerado *intrínsecamente fundamentales de los anticuerpos*, es decir, *ser de naturaleza proteica*,

unirse específicamente con el antígeno y requerir la colaboración de otra substancia o sistemas para ejercer una acción sobre el mismo, son precisamente las características de los apoenzimas. Por lo tanto, bajo un punto de vista bioquímico, pueden equipararse las globulinas anticuerpo como apoenzimas.

Con esta idea postulamos (1956) la existencia de un sistema celular capaz de sintetizar estos anticuerpos-apoenzimas, que correspondería, fundamentalmente, a las células del sistema reticuloendotelial, con su paso a células plasmáticas. Este sistema sería el encargado de metabolizar substratos macromoleculares llegados por vía parenteral, mediante la síntesis de estos apoenzimas anticuerpo, que actúan en colaboración con sistemas coenzimáticos intra o extracelulares; se trataría, en este último caso, del complemento. Entre estos substratos tendríamos a los de los propios hematíes. La diferencia entre éstos, que normalmente no dan lugar a la aparición de anticuerpos circulantes, y los substratos macromoleculares que actúan habitualmente como antígenos radicaría en dos puntos: *a)* que los primeros entrarían ya en contacto con este sistema formador de los apoenzimas-anticuerpos durante la vida embrionaria, y *b)* que están siempre circulando en cantidad por la sangre.

Para explicarnos estos hechos postulamos también la existencia de un equilibrio entre antígeno y apoenzimas-anticuerpos circulantes, en el sentido de que cuando los primeros se encuentran circulantes de una manera constante y en cantidad, lo que equivale a decir que producen un estímulo antigénico constante, no habría liberación de los segundos al torrente circulatorio, sin prejuzgar, de momento, a través de qué mecanismo, en el nivel celular, esto se produciría.

Hemos visto ya que esta hipótesis de los anticuerpos como apoenzimas concuerda perfectamente con las

propiedades intrínsecas fundamentales de las globulinas anticuerpo. Debemos ver ahora si, conjuntamente con su postulado accesorio, nos permite también explicarnos hechos fundamentales de la génesis y metabolismo de los anticuerpos.

Uno de estos hechos es el fenómeno observado desde hace muy pocos años, de que si un animal entra en contacto con un determinado antígeno durante su vida embrionaria, tiene después en la adulta escasa o nula capacidad de formación de anticuerpos frente al mismo, fenómeno que se conoce con el nombre de «tolerancia inmunológica».

Otro hecho que debemos discutir en relación con nuestra hipótesis es el de que una dosis única excesiva de antígeno confiere, al animal al que le ha sido inyectada, una incapacidad para la formación de anticuerpos que dura muchos meses, fenómeno denominado «parálisis inmunológica». Similar a éste es el fenómeno estudiado personalmente de la «inhibición de anticuerpos circulantes por hiperinmunización», fenómeno que aparece a pesar de utilizar para esta hiperinmunización dosis de antígeno óptimas en sentido cuantitativo y de ritmo de administración.

Otro hecho capital en inmunología es el problema de porqué un animal responde dando lugar a la formación de anticuerpos frente a una determinada proteína de otra especie y no responde, o sólo en casos especiales, a la inyección de una proteína de su misma especie o de él mismo; es decir, la existencia de un dispositivo capaz de diferenciar los antígenos homólogos de los heterólogos. Si nuestra hipótesis permite explicar este hecho, será un dato muy importante a su favor.

Aunque de una manera más accidental, creemos también interesante examinar el fenómeno de la hipoalbuminemia en la inmunización. Como datos importantes en relación con la hipótesis planteada expondre-

mos los datos actuales que se conocen en favor de la acción enzimática del complemento y los menos abundantes y menos claros acerca la posible acción del anticuerpo sobre el catabolismo intracelular del antígeno.

Hecha esta breve revisión de estos puntos fundamentales, presentaremos finalmente una síntesis de nuestra hipótesis valorándola en relación con su concordancia con todos estos datos experimentales conocidos y su utilidad en la explicación teórica de los mismos.

EL FENÓMENO DE LA TOLERANCIA INMUNOLÓGICA

El primer fenómeno de gran importancia en inmunología que debemos discutir es el de la tolerancia inmunológica. En 1945, OWEN hizo una curiosa observación de uno de los llamados experimentos de la naturaleza. Estudiando la frecuencia de aparición de grupos sanguíneos en el ganado vacuno en relación a la frecuencia de gemelos idénticos, observó en un par de gemelos que habían tenido diferente padre, que cada uno de ellos presentaba en su sangre y en proporciones casi iguales, hematíes correspondientes a su propio genotipo y glóbulos rojos correspondientes al genotipo de su gemelo. O sea, que poseían en su sangre hematíes heterólogos perfectamente tolerados sin que se presentase ninguna reacción inmunitaria y sin que hubiesen perdido sus características antigénicas. Se trataba, por tanto, de la implantación en cada uno de ellos de tejido hematopoyético correspondiente al otro, lo cual puede explicarse por la circulación cruzada que presentan los terneros gemelos en su vida embrionaria, implantación que iba acompañada de una perfecta tolerancia inmunológica. En 1953, DUNSFORD y colaboradores hicieron una observación por completo simi-

lar en la especie humana. Estudiaron una mujer que tenía en su circulación hematíes que descendían de su cogemelo, el cual había muerto de niño, pero del que fue posible determinar su grupo sanguíno casi por completo, a través de los estudios de los descendientes de sus propias células que sobrevivían en la circulación de su hermana más de veinte años después de su muerte.

Después de la observación de OWEN, se han obtenido brillantes resultados experimentales consiguiéndose la implantación y perfecta tolerancia de los homoinjertos. Se observó que los gemelos en el ganado vacuno aceptan comúnmente injertos de piel de sus cogemelos y después se consiguió la implantación y persistencia de homoinjertos en ratones y gallinas cuando éstas habían recibido durante su vida embrionaria células vivas de la cepa dadora del homoinjerto.

BILLINGHAM, BRENT y MEDAWAR demostraron, en 1953, que la inyección de sangre total, órganos hematopoyéticos, células renales, etc., de ratones de una cepa a embriones de otra, da lugar a que estos últimos acepten durante su vida adulta los injertos procedentes de aquélla, mientras que si estos injertos se hacen de un animal adulto a otro, es decir, sin previa inyección durante el período embrionario, los injertos no prenden y son eliminados. Observaciones similares se han hecho en gallinas, mediante la técnica de la parabiosis, ideada por HASEG. Consiste en establecer un puente circulatorio entre vasos de la corioalantoides de ambos huevos, puesto de manifiesto a través de una ventana practicada en la cáscara. De esta forma es posible que una gallina de raza Leghorn blanca acepte perfectamente un trasplante de piel de una gallina de raza Rhode Island roja, con el resultado de que en medio del plumaje blanco de la primera aparezca un islote de plumas rojas.

Resultados parecidos se han conseguido en relación a la implantación de tumores. KOPROWSKI ha conseguido la implantación en una cepa de ratones de un tumor correspondiente a otra y al cual se muestra refractaria normalmente, inyectando durante la vida embrionaria células de dicho tumor a la cepa resistente; si se implanta después el mismo, cuando el animal llega a su estado adulto, el tumor prende perfectamente. En otros casos se presentan mayores dificultades para conseguir esta tolerancia inmunológica, y resulta especialmente difícil de obtener entre individuos de distinta especie.

A partir de estos trabajos, *el fenómeno de la tolerancia inmunológica se define como el establecimiento y persistencia de trasplantes tisulares, conseguido por la introducción de células vivas de tejido homólogo en el embrión o en el recién nacido.* En la tolerancia inmunológica así definida se trata de la implantación, en forma persistente, de células vivas de un individuo a otro de su misma especie, lo que da lugar a que las células de este individuo no desencadenen una respuesta inmunológica. Aunque en los factores determinantes de la tolerancia o no, frente a un trasplante, intervengan otros factores aparte de los de la aparición de anticuerpos circulantes, ha podido demostrarse que este fenómeno no se debe a una modificación antigénica del trasplante y que éste sigue siendo sensible a la aparición de anticuerpos circulantes.

Con células no vivas, por ejemplo hematíes, se han obtenido resultados similares pero más irregulares e inconstantes, lo que ha ocurrido también en el caso de la inyección de virus o bacterias. Por ello tiene un particular interés el estudio de lo que ocurre con la inyección de un antígeno soluble, cuando éste se inyecta en el período embrionario o en el período inmediatamente postnatal, sobre la ulterior formación de anti-

cuerpos frente al mismo. HANAN y OYAMA, en 1954, hicieron la observación de que, si se inyecta seroalbúmina bovina a conejas en gestación y en algunos de los recién nacidos, tres veces por semana durante tres meses y medio, los conejos así tratados, una vez adultos, no son capaces de desarrollar anticuerpos frente a la seroalbúmina bovina. En 1955, DIXON y MAURER inyectaron plasma humano y albúmina de buey a conejos adultos normales, conejos adultos previamente irradiados y conejos recién nacidos, en dosis de 10 c. c. por kilo de peso para el primero y de 10 c. c. por kilo de peso de una solución al 5 % para la albúmina de buey. Las inyecciones las practicaron seis veces por semana durante un período de unos cincuenta días para los animales adultos y de cien días para los recién nacidos. Estos animales presentaban un período en el cual eran incapaces de formar anticuerpos frente a estos antígenos, período que era muchísimo más prolongado en los animales recién nacidos, después en los previamente irradiados y de mucha menor duración en los adultos normales.

En el mismo año 1955, CINADER y DUBERT publicaron resultados similares obtenidos en conejos, inyectados poco después del nacimiento y hasta los 19 días de vida, con albúmina humana. Ninguno de los conejos era capaz de formar anticuerpos frente a dicha albúmina en su vida adulta, controlada por técnicas de precipitación, de difusión en agar y de aglutinación con hematíes tratados por tanino. Estos mismos animales inyectados con azoalbúmina humana, son capaces de dar lugar a una respuesta de anticuerpos, anticuerpos que están dirigidos contra el grupo copulado y sin presentar ninguna especificidad frente a la albúmina aislada.

Personalmente (1957), estudiamos este fenómeno en el conejo frente al suero de caballo, comprobando

que la diferencia global de animales no formadores de anticuerpos observada en el lote que tuvo contacto prenatal con el antígeno, comparativamente al lote que no tuvo este contacto prenatal, no fue muy significativa. Por ello, apuntábamos que en la explicación del fenómeno de la no formación de anticuerpos en animales inyectados con un antígeno soluble durante su vida prenatal o en el período postnatal, podía intervenir un factor de dosis o de persistencia del estímulo antigénico, ya que nuestras dosis eran inferiores a las de los autores anteriores. En el trabajo que acabamos de resumir, de DIXON y MAURER, se observa cómo en el lote de los animales recién nacidos, en los que se comprueba con mayor claridad la no formación ulterior de anticuerpos, han sido inyectados un período de tiempo doble del de los animales adultos normales.

Más recientemente (1957), WOLFE y colaboradores estudiando el efecto de inyecciones masivas de seroalbúmina bovina en gallinas en el momento de salir del huevo, sobre la ulterior producción de anticuerpos, señalan que el efecto inhibidor puede ser debido a una dosis excesiva. FRIEDMAN y GABY (1960), trabajando también en gallinas con *Shigella paradysenteriae* llegan igualmente a la conclusión de la influencia de la concentración del antígeno en la aparición del fenómeno ya que la no respuesta máxima se obtiene con la máxima concentración de antígeno. TURPIN y colaboradores (1959), han descrito un nuevo caso de quimera hematológica en un par de gemelos dizigotos, que desapareció al sexto mes. Este caso nos demuestra la posibilidad de la temporalidad del fenómeno y, *en síntesis, puede señalarse que la tolerancia inmunológica se presenta de una manera totalmente persistente cuando se ha logrado la implantación definitiva del tejido homólogo, que ha llegado en contacto del animal receptor durante su período embrionario* y que *si esto no se*

consigue no aparece el fenómeno de la tolerancia inmunológica. Frente a antígenos solubles la aparición de este fenómeno es muy inconstante y es probable que en su determinismo intervenga fundamentalmente, como habíamos señalado, el hecho de una dosis excesiva de antígeno o de una excesiva persistencia del estímulo antigénico, posibilidad que entra de lleno en nuestro postulado posible equilibrio entre antígeno circulante y anticuerpo intracelular.

Según nuestro punto de vista, la aparición del fenómeno de la tolerancia inmunológica puede explicarse por el hecho de que la implantación de células vivas heterólogas, introducidas durante la vida embrionaria, está favorecida por la no formación de anticuerpos en el embrión, hecho de acuerdo con su no formación de globulina gamma y quizá, también, por factores no inmunológicos. Si esta implantación se produce en forma definitiva, es decir, que el tejido heterólogo prolifere normal e indefinidamente en su huésped, se presenta entonces la circunstancia de que el antígeno heterólogo mantiene su estímulo en forma constante e intensa, como ocurre normalmente para los homólogos, en cuyo caso no hay anticuerpos circulantes y se presenta el fenómeno de la tolerancia inmunológica. Esto es lo que se produciría, en condiciones óptimas, en el caso de los tejidos hematopoyéticos y si ello no ocurre, no se observa dicho fenómeno. De aquí que no se observe con los antígenos disueltos, ya que, en ellos, se presenta únicamente de una manera transitoria el hiperestímulo antigénico.

Esto nos conduce, como de la mano, al examen de los otros dos fenómenos que hemos indicado debíamos discutir, el de la parálisis inmunológica y la inhibición de anticuerpos circulantes por hiperinmunización, fenómenos en los cuales la persistencia del estímulo an-

tigénico ha de tener un papel primordial. Las posibles explicaciones de la tolerancia inmunológica a nivel celular las esbozamos después de examinar el último de estos dos fenómenos.

EL FENÓMENO DE LA PARÁLISIS INMUNOLÓGICA

En 1926, FELTON hizo la observación de que la inyección, a un ratón blanco, de 0,5 mg. de polisacárido específico daba lugar a que, seis semanas después, el animal fuese incapaz de responder con la formación de anticuerpos frente a una dosis inmunizante de vacuna neumocócica. Un estudio posterior de este fenómeno, al que denominó «parálisis inmunológica», ha sido llevado a cabo recientemente (1955) por el propio FELTON y otros investigadores, estando en la actualidad perfectamente confirmado y demostrada, además, su estricta especificidad. FELTON y colaboradores han demostrado que se necesita una cantidad diferente de polisacárido para conseguir este fenómeno, según se trate del tipo I o de los tipos II y III. Es específica para los tres tipos y persiste por lo menos durante quince meses con los I o III y por dieciocho con el tipo II. Comprueban que la inyección diaria de una dosis más pequeña, pero que en el curso de unos 10 días llegue a la dosis total paralizante, da lugar al mismo fenómeno.

Se conocía clásicamente en inmunología que la inyección de un estímulo antigénico único daba lugar a la aparición de anticuerpos circulantes aproximadamente de los 3 a 5 días del mismo. Si se esperaba a que estos anticuerpos circulantes estuviesen en cantidad mínima y se hacía un nuevo estímulo antigénico, se obtenía una nueva subida del título de anticuerpos circulantes, que era más rápida y más intensa que la primera, especialmente con los antígenos solubles. Estos

fenómenos se conocían como respuesta primaria y respuesta secundaria a un mismo antígeno.

Si se estudia la curva de desaparición del antígeno circulante inyectado, se observa que presenta una primera fase de descenso más o menos lento, seguida de otra, en la que éste es mucho más rápido, y después de ésta, en el momento de desaparición del antígeno circulante, se inicia la aparición y ascenso de la curva de anticuerpos. Esto se explica considerando que la primera fase de desaparición lenta del antígeno es debida a la catabolización normal del mismo, mientras que la segunda fase de desaparición rápida sería producida por la unión de este antígeno con el anticuerpo y subsiguiente desaparición rápida de la circulación del complejo antígeno-anticuerpo formado, no apareciendo anticuerpo circulante detectable hasta la total desaparición del antígeno.

El fenómeno de la parálisis inmunológica de FELTON puede interpretarse perfectamente en este sentido, ya que ha podido demostrarse la persistencia del polisacárido inyectado un año después de la misma.

INHIBICIÓN DE ANTICUERPOS CIRCULANTES POR HIPERINMUNIZACIÓN

Hemos expuesto antes que, en nuestra hipótesis acerca de la naturaleza apoenzimática de las globulinas anticuerpo, postulábamos la existencia de un equilibrio entre antígeno y anticuerpo circulante, considerando que cuando éste estuviese circulante de una manera constante no habría liberación extracelular de apoenzimas-anticuerpos. Esto podría explicar la diferencia entre un antígeno propiamente dicho y una proteína homóloga que aparentemente no actúa como tal.

Pensamos sería interesante investigar si podía conseguirse mediante un estímulo óptimo, en sentido cuantitativo y de ritmo de administración, llegar a un estado de no aparición de anticuerpo circulante.

Esta posibilidad la comprobamos en el sistema globulina gamma humana antiglobulina gamma de conejo, en 1956, denominando al fenómeno «inhibición de anticuerpos circulantes por hiperinmunización». El estudio de los anticuerpos lo practicamos por el método de doble difusión en placas de agar de Ouchterlony. Para comprobar que este hecho no fuesè debido al sistema o a las metódicas utilizadas, lo hemos confirmado posteriormente, también en el conejo, frente a hematíes humanos del grupo 0, suspensión de *Brucella abortus* 19 y suero de caballo, es decir con antígenos particulados y una mezcla de antígenos en solución. Con estos distintos antígenos se ha confirmado el hecho de que se produce una elevación acentuada del título de anticuerpos circulantes, pero que éste desciende de una manera bastante rápida a pesar de persistir el estímulo antígeno en dosis óptimas de ritmo y cantidad. Se llega a un nivel bajo de anticuerpos distinto para los diversos animales, nivel que puede considerarse, como primera posibilidad, dependiente de un equilibrio biológico entre estímulo y respuesta.

De momento no parece que pueda atribuirse simplemente al hecho de que el antígeno circulante fije al anticuerpo y el complejo antígeno-anticuerpo formado sea eliminado de la circulación, como antes hemos expuesto y que explica la curva de desaparición del antígeno frente a un solo estímulo antigénico, así como, posiblemente, el fenómeno de la parálisis inmunológica de FELTON. Si ésta fuese la explicación, una vez establecido un nivel de equilibrio, el aumento de dosis debería conducir a un descenso del título de anticuerpos circulantes, lo que hemos visto que no ocurre. En

los conejos inyectados en los que se controló la influencia del aumento de dosis, una vez conseguida la fase de equilibrio, no se observaron diferencias valorables en la curva de anticuerpos y si acaso, más bien en el sentido de un ascenso. Por ello nos parece que la explicación de este fenómeno no puede buscarse simplemente en el hecho de un exceso de antígeno circulante. En experiencias de inminente publicación creemos haber demostrado que la caída de anticuerpos circulantes, que se presenta después del título máximo que se obtiene en la hiperinmunización es por completo independiente de que se cese en el estímulo antigénico, se prosiga igual o se triplique éste. Esta comprobación nos da posibilidades de estudio experimental que nos parecen de un gran interés para la explicación de estos fenómenos.

Nuestra primera publicación sobre este fenómeno fue en el año 1956, y posteriormente hemos tenido conocimiento del trabajo de STERZL, publicado en el mismo año, realizado en ratas, conejos y cobayos con *Salmonella schottmuelleri*, en el que observan el mismo fenómeno llegando a la desaparición total de anticuerpos aglutinantes circulantes, desaparición que no iba acompañada de un aumento en el título de anticuerpos incompletos. Poco después, tuvimos también conocimiento de los trabajos de ZDRODOWSKI, en Rusia, al publicar una revisión de los mismos en 1957. Ambos autores describen los mismos resultados obtenidos personalmente, con una intensidad aún más grande, quizá debido a llevar a cabo la estimulación antigénica diariamente, mientras que en nuestros animales hemos mantenido un intervalo de 48 a 72 horas entre cada dosis de antígeno. HARD, en 1959, ha demostrado también que por la repetida inyección local en la oreja de conejos de seroalbúmina de buey se produce un descenso en el título de anticuerpos circulantes precipi-

tantes, si se prolonga por mucho tiempo dicha inyección.

La existencia de este fenómeno nos parece perfectamente bien establecida, aunque es preciso estudiar más profundamente el efecto del cese del estímulo antigénico o de su incremento, tanto en el momento de la mayor producción de anticuerpos como en el momento de la estabilización del título de anticuerpos circulantes. De momento, en relación a nuestra hipótesis, podemos señalar que, aunque posteriormente se demuestre su inexactitud, desde ahora ha sido ya fructífera para nosotros al conducirnos a la comprobación de este hecho de la inhibición de anticuerpos circulantes por hiperinmunización.

Creemos que el conocimiento y profundización de este fenómeno tendrá un indudable interés teórico en el conocimiento de los mecanismos de formación de anticuerpos, contribuirá seguramente a la explicación de la tolerancia inmunológica, de las desensibilizaciones obtenidas en clínica humana, de tipo alérgico o no, como algún caso especial descrito, por ejemplo el de LEVY y MAYER, de desaparición espontánea de anticuerpos anti Rh, cuya existencia había sido repetidamente comprobada, en el curso de un embarazo heterólogo.

Este hecho de la inhibición de anticuerpos circulantes por hiperinmunización, que está de acuerdo con nuestro repetido postulado del equilibrio entre antígeno circulante y apoenzima-anticuerpo intracelular, puede tener interés en la explicación del porqué una substancia actúa o no como antígeno en el sentido clásico de formación de anticuerpos circulantes y en la aparición de autoanticuerpos, por lo que vamos a detenernos brevemente en su consideración.

EL EQUILIBRIO ENTRE ANTÍGENO CIRCULANTE, O HIPERESTÍMULO ANTIGÉNICO, Y APOENZIMA-ANTICUERPO INTRACELULAR, Y LA APARICIÓN DE AUTOANTICUERPOS

En la inmunología clásica, era un concepto aceptado el de que un organismo determinado no formaba anticuerpos contra sus propios antígenos. Esto implicaba postular la existencia de un mecanismo encargado de la diferenciación entre substancias homólogas y heterólogas, que son las habitualmente antigénicas. Aunque existían observaciones aisladas de la existencia de autoanticuerpos o la posibilidad de su obtención frente a determinadas substancias orgánicas, como la proteína del propio cristalino, o las espermáticas, es hasta hace pocos años que se acepta plenamente la existencia, en diversos procesos patológicos, de autoanticuerpos, es decir anticuerpos dirigidos contra substancias del propio organismo. Un ejemplo definido de este tipo de procesos es el de las enfermedades hemolíticas adquiridas por autoanticuerpos. En determinados casos, cabría la explicación de que al producirse una modificación patológica de determinado tejido, sus substancias integrantes, en especial las proteínas, adquiriesen características anómalas que harían que actuasen como proteínas heterólogas desencadenando la formación de anticuerpos. No obstante, esta explicación no es válida de una manera general, y en particular, para el caso de las anemias hemolíticas que hemos citado. Se ha pensado en la posibilidad de que una determinada substancia, acoplada patológicamente a otra orgánica normal, diese lugar a que ésta adquiriese carácter antigénico, o también que el sistema formador de globulinas anticuerpo diese lugar, de una manera más o menos casual, o como respuesta a antígenos con

reaccionabilidad cruzada, a la formación de globulinas con características de anticuerpo frente a determinados antígenos del propio organismo. La demostración objetiva de estas posibilidades no se ha conseguido hasta ahora.

Se ha pensado que el hecho de que una substancia entre en contacto con el sistema formador de anticuerpos durante la vida embrionaria da lugar a que este sistema no forme anticuerpos frente al mismo, como ocurre frente a los hematíes normales del propio sujeto. Hemos visto cómo, para que se establezca el fenómeno de la tolerancia inmunológica de una manera definitiva, es necesaria la implantación del tejido heterólogo, y que si ésta no se consigue, no se produce de manera permanente dicho fenómeno. En los antígenos solubles este fenómeno es mucho más difícil de conseguir y no se consigue nunca de manera permanente. Hemos visto también, cómo en el mismo interviene, con gran probabilidad, el hecho de una dosis crecida de antígeno, en sentido cuantitativo o de hiperestimulación repetida.

Por lo tanto, cabe pensar, como postulamos en nuestra hipótesis, en la existencia de un equilibrio entre antígeno circulante y apoenzima-anticuerpo intracelular, en el sentido de que cuando existe antígeno circulante, de una manera constante y en cantidad, no hay aparición de apoenzima-anticuerpo circulante. De esta forma los apoenzimas anticuerpos frente a los hematíes normales se encontrarían siempre intracelulares e intervendrían en la catabolización de los antígenos de los hematíes, una vez transcurrido su tiempo de vida normal. Cuando se puede conseguir experimentalmente esta persistencia del antígeno circulante, se conseguiría también la no aparición de apoenzimas anticuerpos circulantes. De esta forma no hay necesidad de postular la existencia de un mecanismo que diferencie las

proteínas o los polisacáridos homólogos de los heterólogos, y las enfermedades por autoanticuerpos, especialmente en las de tipo hemolítico, en las que no ha podido demostrarse ninguna alteración del antígeno, podrían interpretarse simplemente como una rotura patológica de este equilibrio, con liberación a la circulación de estos apoenzimas anticuerpo, que normalmente sólo están intracelulares. En este aspecto, pues, nuestra hipótesis resuelve una dificultad con la que deben enfrentarse todas las que se plantean para la resolución del mecanismo y significado de la formación de los anticuerpos.

* * *

La explicación de la inhibición de anticuerpos circulantes, en este caso de la hiperestimulación prolongada, en el de la parálisis inmunológica por una dosis única o, incluso, en el de la tolerancia inmunológica desarrollada en el período embrionario o inmediatamente postnatal, es difícil al nivel celular; probablemente no será posible hasta que conozcamos mejor los mecanismos íntimos que regulan la síntesis de proteínas, y en este caso concreto, de las globulinas anticuerpo.

En todos ellos parece señalarse la importancia decisiva de la dosis excesiva de antígeno, en el sentido puramente masivo o de repetición muy persistente del estímulo antigénico. En la tolerancia inmunológica hemos visto cómo es decisiva la consecución, aprovechando las circunstancias especiales de inmadurez inmunológica del embrión o del animal recién nacido, de la implantación del tejido homólogo, lo que representa naturalmente la persistencia del antígeno y del estímulo antigénico; si ésta no se consigue o es transitoria, la tolerancia inmunológica tampoco se consigue o bien es

poco duradera. De aquí también que sea más difícil de obtener, o muy transitoria, con antígenos celulares no vivos, con los que no pueden implantarse en el huésped, o con antígenos solubles.

En la parálisis inmunológica conseguida por dosis masiva única o en pocas fracciones del antígeno, especialmente polisacáridos, la relación entre parálisis y dosis masiva es muy directa y ha podido demostrarse también la persistencia del antígeno polisacárido durante prácticamente el tiempo que dura la parálisis. La explicación de que el anticuerpo, a medida que se forma, se une con el antígeno y no aparece en la circulación, es muy sugestiva en este caso.

En la inhibición de anticuerpos circulantes por hiperinmunización prolongada con dosis pequeñas, es decir con dosis óptimas en sentido cuantitativo y de ritmo de administración, aunque naturalmente consecutiva a esta repetición del estímulo antigénico, la explicación de que sea efecto directo de un exceso de antígeno, como ya hemos visto no aparece tan evidente.

Esta posible relación entre retención de antígeno y supresión de la respuesta inmunológica ha sido estudiada por HIRAT y colaboradores (1960) en gallinas a las que inyectan seroalbúmina de buey marcada con S^{35}. Inyectan tres lotes de gallinas recién nacidas con 20, 60 y 180 mg. de la albúmina marcada y a los 61 días comprueban que en toda la gallina queda aproximadamente un 0,3 % de la cantidad inyectada, o sea unas 68, 204 y 613 gammas de antígeno. Aunque la inhibición inmunológica sea más intensa cuanto más intensa sea la dosis de antígeno, no parece debida a la «absorción» del anticuerpo formado por el antígeno retenido. La cantidad retenida es muy pequeña, y además, si se compara con la dosis de estímulo de albúmina que se da a los 45 días, que es de 20 mg., para comprobar el estado de inhibición inmunológica, resulta que en

este momento la cantidad de antígeno es prácticamente igual en los tres lotes y, no obstante, la respuesta es diferente y proporcional a la cantidad inicial. FRIEDMAN y GABY, en sus experiencias ya citadas, en las que señalan la importancia de la concentración del antígeno, no consiguen demostrar la presencia del mismo en la fase de ausencia de la respuesta inmunológica, aunque indican que puede encontrarse en cantidades no apreciables pero efectivas.

Otro punto importante es el de si se trata simplemente de una no aparición de anticuerpos circulantes, o bien de una verdadera supresión de la formación de los mismos en las células pertinentes. SERCARZ y COONS (1959) no han conseguido demostrar, por método fluorométrico, la existencia de anticuerpos celulares en las células del bazo de animales con parálisis inmunológica, mientras que en los animales controles se corresponden con los circulantes. Sin embargo, este resultado también podría ser debido a que estos anticuerpos no estuviesen, por múltiples motivos, en estado de reaccionabilidad y por ello no fuesen detectables.

Hemos indicado cómo BURNET explica la tolerancia inmunológica y la no formación de anticuerpos frente a los antígenos isólogos, considerando que las células genéticamente dispuestas, según su teoría de la selección clonal, a sintetizar globulina anticuerpo frente a un determinado antígeno, cuando se encuentran en presencia de suficiente cantidad de dicho antígeno, la unión del mismo con su anticuerpo conduce a la muerte de las células, y de aquí que, al desaparecer este clono celular, no pueda seguir formándose anticuerpo contra dicho antígeno.

CRAMPTON, FRANKEL y RODEHEAVER (1959) aceptan una explicación similar al señalar que la tolerancia inmunológica sería debida a la formación celular de anticuerpos en presencia de una determinada concen-

tración de antígeno, dando lugar a una reacción antígeno-anticuerpo, las consecuencias de la cual, liberación o activación de enzimas proteolíticos, darían lugar a la destrucción de la célula. Según dichos autores, esto también explicaría la no formación de anticuerpos frente a los antígenos del propio individuo y la posible aparición de autoanticuerpos en caso que, por una circunstancia especial, alguna de estas células sobreviviese a pesar del exceso de antígeno. Esto presupondría que normalmente células del sistema formador de anticuerpos, un clono por lo menos dentro de las mismas, se forman y destruyen constantemente. Para explicar los casos de tolerancia transitoria debería también pensarse en una explicación similar, o bien que por mutación se inicia un nuevo clono formador del correspondiente anticuerpo.

También puede suponerse, especialmente dentro de las teorías inductivas, que por un mecanismo no conocido la persistencia intracelular del antígeno da lugar a una inhibición de la formación o liberación del correspondiente anticuerpo de su complejo formador (aminoácidos activados-ácido nucleico-antígeno). Dentro de esta posibilidad parecería más fácil de explicar la relación, más o menos directa, entre dosis o persistencia del estímulo antigénico e inhibición de la respuesta inmunológica, así como la posible transitoriedad de esta inhibición.

En síntesis, puede señalarse, que aunque parece clara la existencia de este equilibrio entre antígeno circulante o hiperestímulo antigénico y no aparición de anticuerpos circulantes, desconocemos totalmente el mecanismo a nivel celular a que se debe y que es probable que debamos esperar a un conocimiento más profundo de los mecanismos genéticos y sintetizantes que regulan la formación de las globulinas, para podérnoslo explicar.

EL FENÓMENO DE LA HIPOALBUMINEMIA EN LA INMUNIZACIÓN

Vamos a detenernos, brevemente, en un hecho que ha llamado la atención desde los primeros estudios acerca de la variación del proteinograma en la inmunización experimental, y es el de que, concomitantemente a la variación de las fracciones globulínicas, se presenta una hipoalbuminemia. A pesar de que los anticuerpos son en su mayoría, como hemos visto, globulinas gamma, no existe paralelismo entre las variaciones cuantitativas de éstas y la aparición de anticuerpos. En procesos patológicos como los plasmocitomas, en los que hay una hiperproducción de globulina gamma patológica, la formación de anticuerpos es muy defectuosa. Incluso en algunos trabajos experimentales parece señalarse una relación entre el grado de hipoalbuminemia y la hipoformación de anticuerpos.

De una manera general toda causa de disproteinemia da lugar a una hipoalbuminemia, de tal forma que del estudio de 357 sueros patológicos (1954) llegamos a establecer la siguiente correlación matemática entre las variaciones de la albúmina y las de la globulina gamma, expresadas en concentración molar

$$\log. \frac{1}{[A]} + \log. \frac{1}{[\gamma]} = 7{,}36^{+0{,}9}_{-0{,}5}$$

Igualmente pudimos señalar el hecho, que aún no había sido descrito, de que no existen en sentido fisicoquímico, es decir, en concentraciones molares, las hiperproteinemias. Todos estos hechos sugieren una posible interdependencia genética entre albúmina y globulinas gamma, que en este caso concreto que esta-

mos estudiando de los apoenzimas-anticuerpo, puede hacer postular la formación de los mismos a partir de la molécula de albúmina por polimerización biológica de la misma o por utilización de sus materiales de degradación para la ulterior síntesis de las globulinas anticuerpo, bajo la influencia del estímulo antigénico. Esto explicaría la hipoalbuminemia observada en las inmunizaciones, la malformación de anticuerpos en la hipoalbuminemia y la posibilidad de que todas las globulinas gamma, o prácticamente todas, representasen la respuesta a uno u otro estímulo antigénico.

Esta explicación parece corroborada en el hecho demostrado recientemente por GUSTAFFSSON y LAURELL (1958) de que las ratas crecidas en ambientes y condiciones totalmente estériles, presentan un proteinograma caracterizado por una gran disminución de la globulina gamma. De acuerdo con esta hipótesis que sugerimos, cabría suponer que los animales estériles, con esta concentración tan pequeña de globulina gamma, tuviesen una concentración superior de albúmina que los controles. Esto es precisamente lo que ocurre, aunque la diferencia sea pequeña y, como señalan los propios autores, poco significativa. Este hecho se observa más clara y significativamente en el trabajo de WOSTMANN y GORDON (1960), quienes inyectan, a ratas crecidas en ambiente estéril, una suspensión de contenido intestinal de ratas desarrolladas en condiciones habituales. Paralelamente al ascenso de la globulina gamma, que pasa de 1,75 a 3,60 g. ‰ en 4 semanas, la albúmina desciende de 50,98 a 43,07 g. ‰, valores casi iguales a los de las ratas criadas en ambiente ordinario.

POSIBLE ACCIÓN ENZIMÁTICA DEL COMPLEMENTO

Pasamos ahora al estudio de un punto de extraordinario interés en favor de nuestra hipótesis de la equiparación de los anticuerpos como apoenzimas, y que es un dato objetivo directo existente en su favor. Nos referimos a los datos existentes acerca de la probable acción enzimática del complemento.

Al exponer las consecuencias de la unión antígeno-anticuerpos sobre el propio antígeno, hemos señalado que si a esta unión se añade la presencia de complemento o de determinadas células, entonces sí que se produce una acción lítica total y enérgica sobre determinadas células o gérmenes, o bien modificaciones en el consumo de oxígeno.

En estos últimos años se ha estudiado extensamente el mecanismo de la acción del complemento. MAYER y LEVINE (1954) han dedicado numerosos trabajos a este problema, llegando a la conclusión de que la acción del complemento en la hemolisis de los hematíes sensibilizados por su correspondiente anticuerpo, se desarrolla en tres estadios. En el primero de ellos, estos hematíes sensibilizados reaccionan, con los componentes C'_{1-4}, en presencia de calcio, formándose un complejo que reacciona entonces con C'_2, en presencia de magnesio. Después reacciona sobre este nuevo complejo el componente C'_3, dando lugar a una célula activada o lesionada, que entra en la última fase, en la que se libera la hemoglobina y queda el estroma del hematíe.

LEPOW y PILLEMER (1954-1955), estudiando la inactivación del complemento en los agregados de antígeno y anticuerpo, señalaron también que la inactivación del complemento transcurriría por lo menos en dos

estadios distintos, el primero de los cuales no requeriría calcio y el segundo sería potenciado por su presencia. El primer estadio correspondería a la reacción entre el complejo antígeno-anticuerpo y el C'_1, dando lugar a un agregado activo que reaccionaría entonces con el C'_2 y C'_4. Estos dos estadios estarían de acuerdo con su hipótesis de que el C'_1 puede ser un proenzima y que su activación por el complejo antígeno-anticuerpo daría lugar a la inactivación de C'_2 y C'_4.

A una conclusión similar se ha llegado por CUSHMAN, BECKER y WIRTZ (1957), quienes demuestran que el primer componente del complemento, o sea C'_1, es una proesterasa activada durante el curso de la hemolisis inmune, la cual, cuando es activada, es capaz de hidrolizar el éster metílico de la para-tolueno-sulfonil-1, *l*-arginina. Ampliando estas observaciones, sugieren la hipótesis de que varios o todos los componentes del complemento son enzimas proteolíticos que pueden ser inhibidos, como han demostrado experimentalmente, por compuestos de grupos tiólicos, aminoácidos básicos y péptidos que contienen aminoácidos aromáticos.

Ha podido demostrarse también que se produce una inhibición de la hemolisis inmunológica por los productos de la reacción del mismo, especialmente los estromas.

Todos estos hechos son *datos muy demostrativos en favor de la acción enzimática del complemento. Si para que esta reacción se produzca es necesaria la presencia de una globulina anticuerpo, con especificidad para el substrato y que a su vez activa la acción del complemento, la analogía entre las globulinas anticuerpo y un apoenzima parece pues muy razonable.*

ACCIÓN DEL ANTICUERPO SOBRE LA CATABOLIZACIÓN DEL ANTÍGENO

Si la hipótesis que hemos planteado es verdadera, debe producirse una catabolización más rápida del antígeno, en presencia de su anticuerpo específico, en la célula del sistema formador de anticuerpos; apenas hay trabajos en este sentido, aunque existan gran número de ellos que demuestran la rápida desaparición del antígeno circulante en presencia del correspondiente anticuerpo. Muy recientemente, SORKIN y BOYDEN (1959) han comprobado que cuando se incuban células de exudado de cobayo en presencia de albúmina humana *in vitro*, conjuntamente con suero normal de cobayo o de conejo, se cataboliza una cantidad mínima de esta albúmina, en contraste con lo que ocurre si esta incubación se hace con suero de conejo antialbúmina humana, que produce un extraordinario incremento en la catabolización del antígeno, catabolización que no se presenta en ausencia de células. Sin embargo, los autores explican este hecho como debido a que la presencia del anticuerpo produce una rápida fagocitosis del antígeno con la subsiguiente catabolización intracelular del mismo, más que como consecuencia de una acción catalítica del anticuerpo sobre la hidrólisis enzimática intracelular del antígeno. Éste es un punto importantísimo y que requiere nuevos datos experimentales para su clara elucidación.

La posible relación entre fenómenos inmunológicos y proteolíticos había sido señalada hace tiempo en relación a los mecanismos anafilácticos, y en este aspecto son especialmente demostrativos los resultados de UNGAR (1947), quien pudo demostrar, *in vitro*, que la adición de antígeno (albúmina de huevo) a tejidos de cobayo previamente sensibilizados, 19 a 45 días antes

(sino ya no se observa), da lugar a la liberación de una proteasa. El exceso de antígeno inhibe la liberación de esta proteasa, posiblemente debido, sugiere UNGAR, al efecto antiproteasa de la albúmina de huevo. La explicación de este fenómeno es seguramente compleja, pero no deja de ser sugestiva.

La posibilidad de que la unión antígeno-anticuerpo provoque modificaciones estructurales en la molécula ha sido también sugerida, como por ejemplo en el caso de la observación de ROBERT y GRABAR (1957), quienes comprueban la aparición de grupos tiólicos titulables en el complejo y no en los reactivos aislados; esta acción estaría de acuerdo con las ideas actuales sobre el mecanismo de la activación, que un enzima o apoenzima, ejerce sobre el correspondiente substrato, aunque en esta observación los autores creen que los grupos liberados corresponden al anticuerpo.

SIGNIFICADO BIOQUÍMICO DE LA RESPUESTA EN ANTICUERPOS

Llegados a este punto podemos establecer ya una síntesis acerca del significado bioquímico de la respuesta en anticuerpos y de la valoración de nuestra hipótesis, que es la que nos parece la explica mejor bajo un punto de vista bioquímico.

El organismo dispone de un sistema, el S. R. E. en líneas amplias, dispuesto para la metabolización de substratos macromoleculares que entran por una vía distinta a la habitual vía digestiva, o para la metabolización de substratos de este tipo que se encuentran normalmente en circulación.

Para ello sintetiza las globulinas anticuerpo, que según nuestra hipótesis son apoenzimas; apoenzimas que, en colaboración con sistemas coenzimáticos, extra

e intracelulares, metabolizarían a dichos substratos. El sistema coenzimático extracelular es el complemento. Postulamos además la existencia de un equilibrio entre antígeno circulante, o hiperestímulo antigénico, y apoenzimas intracelulares, en el sentido de que cuando aquél se encuentra en cantidad y de una manera constante en la circulación, no habría liberación de apoenzimas anticuerpos a la misma. La postulación de esta hipótesis no prejuzga naturalmente la disposición, a nivel molecular, del sistema enzimático a través del cual se ejerce esta acción apoenzimática, los mecanismos de síntesis de los mismos ni los factores que determinan la activación o inhibición de esta síntesis o que regulan la liberación extracelular de estas globulinas-apoenzimas.

Si valoramos críticamente esta hipótesis bajo un punto de vista bioquímico, vemos cómo la naturaleza apoenzimática de las globulinas anticuerpo *concuerda perfectamente con las propiedades intrínsecas fundamentales de los anticuerpos, que son: ser de naturaleza proteica, unirse específicamente con el antígeno y no producir dicha unión ninguna modificación en el mismo, si no es con la colaboración del complemento o de sistemas celulares*. Acabamos de exponer cómo, en estos últimos años, se van acumulando datos en favor de la acción enzimática del complemento, y ya que ésta requiere la unión específica del anticuerpo con su antígeno, la asimilación del anticuerpo a un apoenzima es perfectamente correcta.

Hemos visto también cómo el postulado equilibrio entre estímulo antigénico y anticuerpo circulante nos explica perfectamente el fenómeno de la tolerancia inmunológica, recientemente descubierto y de tanto interés, y cómo nos ha llevado además a comprobar personalmente la existencia del fenómeno de la inhibición de anticuerpos circulantes por hiperinmunización; fe-

nómeno que después hemos visto había sido observado, casi simultáneamente o un poco antes, por otros autores.

Este fenómeno adquiere un particular relieve, porque, a través del mismo, podríamos explicarnos el mecanismo de las desensibilizaciones y los raros casos de desaparición brusca de la sensibilización por incompatibilidad feto-materna. Igualmente podemos explicarnos por el mismo lo que resulta una dificultad para la mayoría de hipótesis desarrolladas con vistas a explicar los mecanismos de génesis de los anticuerpos. Éstas requieren postular la existencia de un mecanismo que diferencie los antígenos homólogos de los heterólogos, mientras que en la nuestra no es necesario, ya que según ella no existirían anticuerpos circulantes cuando el estímulo antigénico es constante, que es lo que ocurre con los antígenos homólogos. De esta forma explica también la posible aparición de anticuerpos frente a antígenos homólogos, o sea de autoanticuerpos, cuando este equilibrio se altera en condiciones patológicas y sin necesidad de presuponer una alteración del antígeno homólogo, alteración hasta ahora no demostrada.

La función de este sistema formador de apoenzimas anticuerpo estaría orientada a la metabolización de substratos macromoleculares circulantes en los líquidos extracelulares y su papel en sentido inmunológico de defensa antiinfecciosa es un fenómeno sobreañadido y que depende de múltiples circunstancias y del valor del correspondiente antígeno en la patogenia del proceso infeccioso. La interpretación en este sentido del significado de la respuesta en anticuerpo creemos que, además de concordar con los datos bioquímicos, adquiere gran plenitud biológica, muy superior a la interpretación sugerida por otros autores, de que los anticuerpos servirían, únicamente, de agentes

para la rápida retirada de los antígenos de la circulación.

Nuestra hipótesis cumple de momento las condiciones que deben requerirse a toda hipótesis, de considerar y explicar los datos objetivos ya conocidos, haber conducido a la comprobación de hechos nuevos y servir para posibilitar nuevos caminos experimentales. Su total aceptación dependerá del mejor conocimiento de la posible acción del anticuerpo sobre el catabolismo intracelular del antígeno.

Siempre, en el progreso constante de cualquier disciplina científica, debemos estar dispuestos a que nuevos hechos nos hagan modificar nuestros puntos de vista; esperemos que si esto ocurre nuestra hipótesis haya sido, por lo menos, la máxima aproximación posible, en estos momentos, a la verdad.

BIBLIOGRAFIA

BECKER, E. L.: Concerning the mechanism of complement action. III. The properties of activated first component of Guinea pig complement. *J. Immunol.*, 82: 43, 51, 1959.

BILLINGHAM, R. E., y BRENT, L.: Further attempts to transfer transplantation immunity by means of serum. *Brit. J. Exp. Path.*, 37: 566, 569, 1956.

BOOTH, P. B.; PLAUT, G.; JAMES, J. D.; IKIN, E. W.; MOORES, PH.; SANGER, R., y RACE, R. R.: Blood chimerism in a pair of twins. *Brit. Med. J.*, 1: 1.456, 1.458, 1957.

BORDET, J.: *Traité de l'Immunité dans les Maladies Infectieuses.* Masson et Cie., París, 1939.

BURNET, F. M.: The theories of antibody production. En *Immunity and virus infection.* Ed. por A. Naggar. John Wiley, Sons, New York, 1959.

BURNET, F. M., y FENNER, R.: *Production of antibodies,* 2.ª ed. MacMillan, Melbourne, 1949.

CINADER, B., y DUBERT, J. M.: Acquired immune tolerance to human albumin and the response to subsequent injections of diazo human albumin. *Brit. J. Exp. Med.*, 36: 515, 529, 1955.

CINADER, B., y PEARCE, J. H.: The specificity of acquired immunological tolerance to azo proteins. *Brit. J. Exp. Path.*, 38: 8, 29, 1958.

CRAMPTON, CH. F.; FRANKEL, F. R., y RODEHEAVER, J. L.: Mechanism of Immunological unresponsiveness. *Nature*, 184: 873, 875, 1959.

CUSHMANN, W. F.; BECKER, E. L., y WIRTZ, G.: Concerning the mechanism of complement action. III. Inhibitors of complement activity. *J. Immunol.*, 79: 80, 83, 1957.

DAUSSET, J.: Le problème des auto-anticorps. *Rev. Franç. Et. Clin. Biol.*, 8: 825, 828, 1958.

DIMOPOULLOS, G. T., y FELLOWES, O. N.: Electrophoretic composition and antibody studies of anti-foot-and-mouth disease guinea pig serum. *J. Immunol.*, 81: 199, 203, 1958.

DIXON, F. J.: The metabolism of antigen and antibody. *J. Allerg.*, 25: 487, 503, 1954.

DIXON, F. J., y MAURER, P.: Immunologic unresponsiveness induced by protein antigens. *J. Exp. Med.*, 101: 245, 257, 1955.

DUNSFORD, J.; BOWLEY, C. C.; HUTCHINSON, A. M.; THOMPSON, J. S.; SANGER, R., y RACE, R. R.: A human blood group chimera. *Brit. Med. J.*, 2: 81, 1953.

ESCRIU, J. M.ª, y GRAS, J.: Recuperación de globulinas anticuerpos en globulina gamma-hiposulfito. *Rev. Esp. Fisiol.*, 15: 279, 284, 1959.

FELTON, H. D.; KAUFFMANN, G.; PRESCOTT, B., y OTTINGER, B.: Studies on the mechanism of the immunological paralysis induced in mice by pneumococcal polysaccharides. *J. Immunol.*, 74: 7, 26, 1955.

FRIEDMAN, H., y GABY, W. L.: Immunologic unresponsiveness to shigella antigens in chickens. *J. Immunol.*, 84: 441, 448, 1960.

GONZÁLEZ, P.: Mecanismos nutritivos de la inmunidad. *Disc. Ingreso R. Acad. Medicina.* Barcelona, 1922.

GRAS, J.: Einfluss des pränatalen Kontaktes mit einem Antigen auf die Bildung von Antikörpern. *Z. Tropenmed. Parasit.*, 8: 117, 127, 1957.

GRAS, J.: Inhibición de anticuerpos circulantes en los sistemas proteína-antiproteína por hiperinmunización. *Rev. Esp. Fisiol.*, 12: 251, 258, 1956.

GRAS, J.: Le phénomène de l'inhibition d'anticorps circulants par hyper-immunisation. *Rev. Immunol. Therap. Antimicrob.*, 24: 354, 366, 1960.

GRAS, J.: *Proteínas plasmáticas.* Ed. Jims, Barcelona, 1956.

GRAS, J.; TORRAS, V., y SALAZAR, M.: A study of the correlation between albumin and γ globulin in human sera. *Plasma*, 2: 297, 309, 1954.

GUSTAFSSON, B. E., y LAURELL, C. B.: Gamma globulins in germ-free rats. *J. Exp. Med.*, 108: 251, 258, 1958.

HANAN, R., y OYAMA, J.: Inhibition of antibody formation in mature rabbits by contact with the antigen at an early age. *J. Immunol.*, 73: 49, 53, 1954.

HARD, S.: The decrease in the concentration of precipitating antibodies in rabbits after long-term oral antigen administration. *Act. Allergol.*, 13: 1, 7, 1959.

HEIDELBERGER, M.: Antiproteins in horse sera. II. Antibodies to pneumococcus nucleoprotein and their reaction with antigen. *J. Exp. Med.*, 86: 77, 81, 1947.

HEIDELBERGER, M., y KENDALL, F. E.: A quantitative Theory of the precipitin reaction. III. The reaction between crystalline egg albumin and its homologous antibody. *J. Exp. Med.*, 62: 697, 1935.

HIRATA, A. A.; GARVEY, J. S., y CAMPBELL, D. H.: Retention of antigen in tissues of serologically suppressed chickens. *J. Immunol.*, 84: 576, 581, 1960.

JONES, E. E.: Agglutination by precipitin. *J. Exp. Med.*, 48: 183, 1928.

KALLOS, P.: Beiträge zur Immunobiologie der Tuberkulose. Monographie aus dem *Wenner-Gren Institut für Experimentelle Biologie*, der Universität Stockholm. Ab. Hasse W. Tullbergs. Stockholm, 1941.

KOPROWSKI, H.: Immunologic tolerance in tumor transplant. *Fed. Proceed.*, 16: 592, 602, 1957.

KUNKEL, H. G.: Macroglobulins and high molecular weight antibodies. En *The plasma proteins.* Ed. por F. W. Putnam. Acad. Press. New York, 1960.

LEON, M. A.: Kinetics of human complement. II. Separation of the reaction between human complement and sensitized cells into two steps. *J. Immunol.*, 76: 428, 432, 1956.

LEPOW, I. H., y PILLEMER, L.: Studies on the mechanism of inactivation of human complement by plasmin and by antigen-antibody aggregates. II. Demonstration of two distinct reaction stages in complement fixation. *J. Immunol.*, 75: 63, 70, 1955.

LEPOW, I. H.; WURZ, L.; RATNOFF, O. D., y PILLEMER, L.: Studies on the mechanism of human complement inactivation by plasmin and by antigen-antibody aggregates. I. The requirement for a factor resembling C'_1 and the role of Ca^{++}. *J. Immunol.*, 73: 146, 158, 1954.

LEVINE, L., y MAYER, M. M.: Kinetic studies on immune hemolysis. V. Formation of the complex EAC'$_{1}$ and its reaction with C'$^{1, 2}$. *J. Immunol.*, 73: 426, 434, 1954.

LEVINE, L.; MAYER, M. M., y RAPP, H. J.: Kinetic studies on immune hemolysis. VI. Resolution of the C' reaction step into two successive processes involving C'$_{2}$ and C'$_{3}$. *J. Immunol.*, 73: 435, 442, 1954.

LEWI, S., y MAYER, M.: Disparition spontanée des anticorps anti Rh au cours d'une grossesse hétérologue. *Presse Méd.*, 65: 926, 927, 1957.

MCDUFFIE, F. C.; KABAT, E. A.; ALLEN, P. Z., y WILLIAMS, C. A.: An immunochemical study of the relationship of human blood group isoantibodies to γ_1, γ_2-globulins. *J. Immunol.*, 81: 48, 64, 1958.

MACHEBOEUF, M.: Conceptions modernes sur la structure des anticorps. *Exp. Ann. Bioch. Med.*, 8: 245, 1948.

MARRACK, J. R.: The chemistry of antigens and antibodies. *Med. Res. Council*, London, 1938.

MAYER, M. M., y LEVINE, L.: Kinetic studies on immune hemolysis. III. Description of a terminal process which follows the Ca^{++} and Mg^{++} reaction steps in the action of complement on sensitized erythrocytes. *J. Immunol.*, 72: 511, 515, 1954.

MAYER, M. M., y LEVINE, L.: Kinetic studies on immune hemolysis. IV. Rate determination of the Mg^{++} and terminal reaction steps. *J. Immunol.*, 72: 516, 529, 1954.

MAYER, M. M.; LEVINE, L.; RAPP, H. J., y MARUCCI, A. A.: Kinetic studies on immune hemolysis. VII. Decay of EAC'$_{1, 4, 2}$ fixation of C'$_{3}$ and other factors influencing the hemolytic action of complement. *J. Immunol.*, 73: 443, 454, 1954.

MORGAN, P.; WATSON, D. W., y CROMARTIE, W. J.: Type-specificity of «Immunological Paralysis» induced in mice with pneumococcal type II polysacharide. *J. Bact.*, 65: 224, 225, 1953.

NAGINGTON, J.: The bactericidal action of typhoid antibody. *Brit. J. Exp. Path.*, 37: 385, 396, 1956.

NAGINGTON, J.: The sensitivity of Salmonella typhi to the bactericidal action of antibody. *Brit. J. Exp. Path.*, 37: 397, 405, 1956.

OWEN, R. D.: Immunologic tolerance. *Fed. Proceed.*, 16: 581, 591, 1956.

PORTER, R. R.: γ-globulin and antibodies. En *The plasma proteins*. Ed. por F. W. Putnam. Acad. Press. New York, 1960.

RAMON, G.: Le phénomène et la réaction de floculation dans les mélanges de toxine et d'antitoxine. Applications. *Rev. Immunol. Therap. Antimicrob.*, 20: 289, 316, 1956.

ROBERT, B., y GRABAR, P.: Dosage des groupements thiol proteiques dans les reactions immunochimiques. *Ann. Inst. Past.*, 92: 56, 61, 1957.

SERCARZ, E., y COONS, A. H.: Specific inhibition of antibody formation during immunological paralysis and unresponsiveness. *Nature*, 184: 1.080-1.082, 1959.

SEVAG, M. G.: *Immune Catalysis*, 2.ª ed. Charles C. Thomas, Springfield, Illinois, 1951.

SEVAG, M. G., y MILLER, R. E.: Studies on the effect of immune reactions on the metabolism of bacteria. I. Methods and results with Eberthella typhosa. *J. Bact.*, 55: 381, 1948.

SORKIN, E., y BOYDEN, S. V.: Studies on the fate of antigens in vitro. I. The effect of specific antibody on the fate of I^{131} trace labelled human serum albumin in vitro in the presence of guinea pig monocytes. *J. Immunol.*, 82: 332, 339, 1959.

STARK, O. K.: Studies on pneumococcal polysaccharide. II. Mechanism involved in production of «Immunological paralysis» by type I pneumococcal polysaccharide. *J. Immunol.*, 74: 130, 133, 1955.

STELOS, P.: Electrophoretic and ultracentrifugal studies of rabbit hemolysins. *J. Immunol.*, 77: 396, 404, 1956.

STELOS, P., y TALMAGE, D. W.: The separation by starch electrophoresis of two antibodies to sheep red cells differing in hemolytic efficiency. *J. Infect. Dis.*, 100: 126, 135, 1957.

STERZL, J.: Long term immunization. I. Decrease of antibody by everyday immunization. *Excerpt. Med. Sect. IV*, 9: 595, 1956.

STEVENS, K. M.; PIETRYK, H. C., y CIMINERA, J. L.: Acquired immunological tolerance to a protein antigen in chickens. *Brit. J. Exp. Path.*, 38: 1, 7, 1958.

TREFFERS, H. P.; HEIDELBERGER, M., y FREUND, J.: Antiproteins in horse sera. III. Antibodies to rabbit serum albumin and their reaction with antigen. *J. Exp. Med.*, 86: 83, 1947.

TREFFERS, H. P.; HEIDELBERGER, M., y FREUND, J.: Antiproteins in horse sera. IV. Antibodies to rabbit serum globulin and their interaction with antigen. *J. Exp. Med.*, 86: 97, 1947.

TURPIN, R.; SALMON, CH., y CRUVEILLER, J.: A propos des chimères humaines. Présence temporaire d'une double population d'hématies chez l'un des jumeaux d'un couple dizygote. *Rev. Franç. Et. Clin. Biol.*, 4: 809, 811, 1959.

UNGAR, G.: Release of proteolytic enzyme in anaphylactic and peptone shock in vitro. *Lancet*, 1: 708, 710, 1947.

WALTER, H., y ZIPPER, H.: The metabolism of some antigen-antibody complexes in the rabbit. *J. Immunol.*, 82: 12, 18, 1959.

WEIGLE, W. O.: Elimination of antigen-antibody complexes from sera of rabbits. *J. Immunol.*, 81: 204, 213, 1958.

WOLFE, H. R.; TEMPELIS, C.; MUELLER, A., y REIBEL, S.: Precipitin production in chickens. XVII. The effect of massive injections of bovine serum albumin at hatching on subsequent antibody production. *J. Immunol.*, 79: 147, 153, 1957.

WOSTMANN, B. S., y GORDON, H. A.: Electrophoretic studies on the serum protein pathern of the germ free rat and its change upon exposene to a conventional bacterial flora. *J. Immunol.*, 84: 27, 31, 1960.

ZDRODOWSKI, P.: Essai d'analyse physiologique de quelques processus infectieux et immunologiques. *Rev. Immunol. Ther. antimicrob.*, 21: 341, 355, 1957.

DISCURSO DE CONTESTACION DEL
ACADEMICO NUMERARIO

DR. D. CARLOS SOLER DOPFF

EXCMO. SR. PRESIDENTE,
DIGNÍSIMAS AUTORIDADES,
MUY ILUSTRES SRES. ACADÉMICOS,
SEÑORAS, SEÑORES:

En la entrada de un nuevo Académico se refleja uno de los actos más trascendentales de la vida misma: la persistencia del ser como entidad vital y la continua renovación de sus elementos que integran la entidad, lo que sucede tanto en las individualidades vivientes con sus elementos químicos o celulares como en las agrupaciones colectivas con los propios individuos que las componen.

Nuestra entidad académica no escapa a esta ley que es cumplida —como no puede menos de ser— dándole un sello propio. Los agregados que cumplen simplemente la ley biológica natural han de aceptar sus nuevos elementos sin participación voluntaria en la elección de los mismos y, por lo tanto, sin responsabilidad —en el terreno del mecanismo vital— en cuanto al futuro de su evolución. *Ceterum censeo,* el porvenir de la Academia depende estrictamente del uso que se haga de la superior facultad de elegir los elementos que la componen y la responsabilidad de la misma se exterioriza en el acierto con que sabe renovarse atrayendo hacia sí a los mejores.

Esta premisa acaba de cumplirse. En el campo de las ciencias fisicoquímicas el nombre de GRAS ha conseguido el merecido prestigio a que conduce el trabajo

constante realizado en un terreno difícil y poco accesible a la comprensión general, por lo menos, de sus dificultades. Es en los campos difíciles de la investigación —o simplemente del trabajo diario— donde pueden crearse falsas famas cultivadas por una hábil disimulación de los huecos de información o de conocimiento, suplidos por el enclaustramiento o la reserva sibilina en las respuestas dadas a las interrogaciones dirigidas por los deseosos de saber.

Siempre nos ha parecido mejor preguntar lo que no se sabe o no se entiende que hacerse el entendido y persistir ignorando lo que conviene saber; y para penetrar —el no iniciado— en la esencia de los conocimientos expuestos por GRAS, hay que preguntar mucho, sabiendo que él mismo, que constituye la antítesis del frívolo pseudocientífico, no nos ha de regatear la respuesta.

Nos parece una buena piedra de toque para aquilatar estos valores apreciar la medida en que los conocimientos atribuidos a cada persona son exteriorizados en el trillado campo de las publicaciones, y complementariamente, el juicio merecido por tales publicaciones a los demás autores de crédito reconocido, y el interés por aquéllas, revelado, por ejemplo, por las peticiones de envío de separatas de los trabajos. Pasando de la generalización al dato concreto, solamente conocido por quienes han convivido con GRAS en su propio ambiente de trabajo, digamos que sus trabajos bioquímicos publicados indistintamente en Alemania, Francia, Italia, aparte de nuestro país, son motivo de constantes peticiones procedentes de los más diversos centros científicos mundiales. Otro tanto puede decirse de la petición de aclaraciones prácticas en cuanto a las técnicas empleadas por él, sin silenciar la anécdota de haber instruido a un médico de un país centroeuropeo saturado de técnica, de tránsito en Barcelona,

en busca de sol y de tipismo, en la realización práctica de la electroforesis sobre papel, en un tiempo en que ésta no era practicada más que en contadísimos laboratorios europeos.

Estos hechos, un poco marginales a la totalidad de las razones que han llevado al recién ingresado a su sillón académico, matizan la severidad de una evaluación de méritos y explican mejor la personalidad del nuevo Académico que las relaciones bibliográficas de trabajos y la escueta valoración de las actividades científicas, por cierto nada escasas y que merecen ser conocidas.

Más de 30 trabajos originales, entre los que predominan los de orden preferentemente técnico, sin faltar entre ellos los relativos a investigaciones correlacionadas con la clínica y los dedicados a la fisicoquímica de determinados agentes patógenos, han aparecido, como ya se ha indicado, en distintas publicaciones nacionales y extranjeras, y han sido presentados en distintos Congresos a los que ha asistido, aparte de haber desarrollado una ponencia oficial en el primer Congreso Nacional de Medicina Interna (Madrid, 1953).

A esto ha de sumarse de modo destacado la aparición en 1956 de la primera edición de su libro *Proteínas plasmáticas* (la segunda edición se está imprimiendo) y la publicación actualísima (1961) de su obra *Fundamentos de Bioquímica Médica.*

Escribir un libro representa, para el autor, mostrarse a través de sus páginas, exponiendo a la avidez del lector un contenido en el que se han vertido no sólo los conocimientos, sino el espíritu del que lo escribió. Puede decirse que en el libro de GRAS, una de sus obras más sólidas, se ha realizado este hecho y, lo que vale más, se ha mostrado tal cual es. La aceptación de que ha sido objeto la obra confirma todo cuanto va dicho sobre el autor.

Ahora bien, la personalidad de los hombres de ciencia está representada tanto, o más, por los frutos de los trabajos que ofrecen en sus publicaciones espontáneas como por las solicitaciones que se les dirigen para colaborar en actos determinados; así, nuestro Académico ha acudido a invitaciones oficiales hechas en 1958 por las Facultades de Ciencias Médicas de Córdoba y de Rosario, en la República Argentina, y por la Asociación Bioquímica Argentina y la Facultad de Medicina de la Universidad de Buenos Aires, donde ha expuesto en symposiums y conferencias sus trabajos y puntos de vista sobre diferentes aspectos de lo que ha sido el eje de sus investigaciones, las proteínas plasmáticas.

Entre los escalones que lo han llevado al grado preeminente que actualmente ocupa en estas esferas de las ciencias biológicas, están sus dos doctorados en Medicina y Farmacia y la labor realizada como Jefe de la Sección de Bioquímica de la Clínica Médica A de la Facultad de Medicina de la Universidad de Barcelona y en su cargo análogo del Hospital Municipal de Infecciosos de Barcelona, así como sus trabajos en el Laboratorio de Investigación Bioquímica del Doctor Ch. Wunderly de la Clínica Universitaria del Profesor Löffler, en Zürich.

Hemos citado la oferta sistemática de los propios conocimientos, reflejada en las publicaciones, en cuyo destino no se sabe siempre con certeza hasta qué grado son aprovechados. Lo que sí es seguro es cómo se aprovecha la semilla sembrada, por los asistentes que constantemente acuden a su laboratorio, lo que sólo ocurre en los lugares en que se sabe ha de haber fruto para recoger.

* * *

El nombre de «contestación» dado al parlamento que —según el rito académico— sigue a un discurso de entrada, invita a sujetarse a ciertas pautas, no definidas pero reguladas por el criterio del disertante. En este caso, esto nos ha inducido a proceder como un conversador que responde, de un tirón, a las sugerencias que ha despertado la expresión de determinados conceptos, emitidos por el recipiendario, que han provocado en la mente del oyente comentarios, fruto, unas veces, de situaciones vividas, otras, de conocimientos anteriores, y otras, del propio criterio.

La expresión conjunta del tema que acaba de ser expuesto responde, en cierta manera, a la pregunta que tácitamente debe hacer el médico ante todo enfermo en cuyo organismo evoluciona un proceso infeccioso: además de los síntomas captados por la exploración clínica, además de las manifestaciones externas de la enfermedad, unas veces escasas y solapadas, otras ruidosas y dramáticas, ¿qué fenómenos interiores están ocurriendo y se encuentran en el origen de aquellas manifestaciones que han estado apareciendo desde que la enfermedad existe?

Cierto que el clínico recibe informaciones que contestan, también en parte, a esta interrogación y que consisten en datos concernientes a la calidad y número de elementos formes de la sangre y de otros humores y tejidos, a la composición química de las mismas substancias e incluso a la calidad, intensidad y distribución de las cargas eléctricas que acompañan a ciertos fenómenos propios de los procesos que queremos desentrañar.

Pero, en definitiva, la mayoría de estos datos son el resultado de fenómenos íntimos cuya esencia nos falta conocer.

Las consideraciones relativas a estos hechos nos conducen a referirnos a la situación creada por las re-

laciones entre el investigador y los clínicos que reclaman el auxilio de la información biológica proporcionada por el analista.

Pero antes de adentrarnos en la exposición de este punto de vista, queremos insistir en algo que se ha dicho muchas veces y que reafirma la intención con que se han escrito estos párrafos, que no es otra que la de reclamar un mayor nexo de relación y base de comprensión entre el que investiga y el que aplica los resultados de la investigación.

La Medicina, como un sector de la Ciencia biológica, tiene una finalidad real, curar las enfermedades. Ha sido y sigue siendo, en buena parte, una actividad empírica. Durante siglos ha obedecido, pragmáticamente, las doctrinas de algunas cabezas visibles, que dictaron leyes, en su mayor parte terapéuticas. Cuando estas leyes emanaron de figuras preclaras de la historia médica —los teorizantes e investigadores de su época—, los aplicadores de aquellos principios al enfermo hicieron un positivo bien a sus pacientes; cuando dominaron los doctrinalismos equivocados, el nivel de la Medicina descendió proporcionalmente al predominio ejercido por aquellos doctrinarismos sobre la interpretación real de los hechos.

Existe un tipo de investigación especulativa que sólo se concibe en el campo de la biología pura. En el terreno de la Medicina, ciencia aplicada, toda investigación ha de tener entre sus fines poner en manos del médico que contacta con el paciente los mejores medios para preservar o recuperar la salud.

De la aproximación entre el investigador y el clínico —que, como decíamos, también investiga a su modo— han de resultar beneficios proporcionales a la compenetración que exista entre ambos. Los hechos vividos tienen un contenido afectivo del que carecen las relaciones literarias o las informaciones históricas.

La comprensión de un hecho clínico del que se conocen los fundamentos y que nos ha llevado a asomarnos al microscopio, a presenciar un fenómeno de lisis o a comprobar una lesión anatómica, queda muy facilitada por esta toma de contacto con la realidad objetiva de los hechos.

Esta necesidad de comprensión tiene su mayor significado ante los procesos inmunológicos y, puntualizando más, en relación con la actitud del médico en una de sus actividades de gran trascendencia higiénica: la práctica de las inmunizaciones.

Existen aún procesos infecciosos ante los cuales la única actitud razonable es la inmunización contra los mismos, sea porque no tienen terapéutica específica, lo que hace que el pronóstico no sea influenciable más que en medida incierta con la terapéutica sintomática, como ocurre en la poliomielitis anterior aguda, o porque, si existe aquella terapéutica específica, ésta resulta difícil, cara y no siempre eficaz, como ocurre en el tétanos.

La defensa individual contra las infecciones tiene su mecanismo más relevante y más seguro en la aparición, espontánea o provocada, de una inmunidad suficientemente acusada para impedir la implantación o, cuando menos, el desarrollo de los gérmenes provocadores de la infección.

Esta inmunidad, debida unas veces a la presencia de microcontagios subintrantes o al estadio refractorio remanente después de la infección aparente, puede, como es harto sabido, ser provocada artificialmente mediante las prácticas vacunales. Lo que no es tan sabido es el mecanismo interior desencadenado por la vacunación para conseguir la aparición de la inmunidad.

Y esto trasciende a la realidad de la práctica médica y repercute en la eficacia de la misma.

No puede desaprovecharse esta ocasión para insistir, una vez más, en la gran conveniencia de que siempre que resulte oportuno se den pautas orientadoras en los casos en que la opinión médica no pueda, por falta de una experiencia anterior, o por dificultades de precisiones informativas de primera mano, adoptar la actitud conveniente tanto en lo que respecta a su propio proceder como al emitir opinión al ser consultada.

La alusión a las inmunizaciones contra la poliomielitis y el tétanos no han sido hechas al azar, sino por haber planteado, y plantear aún, situaciones que quisiéramos ver borradas del panorama médico.

La falta de una visión clara y suficientemente difundida del mecanismo de inmunización antitetánica ha creado y sigue creando confusiones entre la inmunización activa y la pasiva. Con respecto a esta última existe en realidad un hecho, no lo suficientemente conocido, de la disminución progresiva de la eficacia de la administración sucesiva de antitoxina tetánica que repercute, no solamente en lo que ocurre cuando se emplea la profilaxis pasiva en ocasiones distintas y alejadas, en que la sensibilización provocada por las dosis anteriores produce una eliminación acelerada de las nuevas cantidades llegadas al organismo posteriormente, sino en la misma antitoxinoterapia de los casos de tétanos clínicamente declarado.

Este hecho representa una actitud del organismo para librarse de elementos que no actúan precisamente como antígenos, pero que no resultan integrables en la estructura bioquímica del individuo, aunque en un momento dado tienden a su conservación como ente viviente actuando de anticuerpos pasivamente incorporados a la sangre con finalidad terapéutica.

El conocimiento de este fenómeno ha de tener su repercusión en la actitud del clínico, guiando la pauta

de administración de antitoxina e, indudablemente, la ha tenido dando lugar a la recomendación de la dosis única inicial de antitoxina fijando —apriorísticamente— aquella que ha de ser suficiente para neutralizar la cantidad de toxina que puede liberarse en el curso de una infección.

En otra ocasión hemos comentado esta actitud estimándola errónea porque presupone un conocimiento —que no se tiene— de la capacidad toxigénica del foco tetanígeno en cada caso, sobre todo cuando no se procede a la exéresis del mismo, como ocurre en muchos casos, unas veces por imposibilidad de hacerlo y otras por desconocimiento de las ventajas que reporta dicha exéresis. A ello atribuíamos entonces, y seguimos creyéndolo ahora, la mejoría obtenida en el pronóstico de la infección tetánica empleando dosis elevadas y sostenidas de la misma, asociadas, claro está, a los tratamientos coadyuvantes más eficaces de que se puede disponer en todo momento. Con tales dosis elevadas se persigue el propósito no solamente de neutralizar una toxina producida a dosis también sostenidas o crecientes, sino intentar conseguir un balance entre el fenómeno de la eliminación progresiva de la albúmina extraña y la sucesiva incorporación de la misma a la sangre circulante.

Este modo de ver vale para una vez, cuando se ha iniciado el tratamiento de un caso agudo, pero no es prácticamente aplicable a las sucesivas inmunizaciones pasivas reclamadas por nuevos traumatismos en casos posteriores, y por ello queremos ocuparnos de otro punto de vista relativo a la administración del antígeno vacunante, en la que encontraremos más puntos de contacto con las aseveraciones de GRAS en relación con la tolerancia y la parálisis inmunológica, ya que éstas influyen tanto en la cronología como en la dosificación de los antígenos vacunales.

Nuestra Medicina de hoy, aunque no pueda despojarse del empirismo nosológico que la ha llevado a su encumbramiento técnico, necesita matizarse del suficiente racionalismo cartesiano que contrapese la experiencia por la experiencia misma y dé un tono de humanidad a los descubrimientos que, en fin de cuentas, van destinados a la salvaguardia del hombre sano y al mejoramiento de éste cuando enferma.

Volvemos, pues, a la necesidad del contacto suficiente entre el que especula y el que aplica para que aquél pueda aprovechar plenamente los resultados de la aplicación de sus especulaciones y el segundo se libre de ser un mero aplicador de conocimientos prefabricados.

Algo de esto ocurre cuando llega a manos del médico una pauta de inmunización. Repitamos que las inmunizaciones preventivas constituyen una de las armas más eficaces de que dispone la Medicina profiláctica. Y añadamos que son, a su vez, una de las prácticas que, en general, admite con menos entusiasmo —valga el eufemismo— el conjunto de seres que necesitan ser inmunizados. Y ocurren dos hechos: de una parte, para que ciertas inmunizaciones alcancen un nivel de efectividad que trascienda estadísticamente en una apreciable disminución de la morbilidad, han de abarcar un porcentaje crecido de población; de otra parte, conseguir que llegue a este porcentaje de población el beneficio de la inmunización exige un esfuerzo y un nivel de organización del que no siempre puede disponerse.

He aquí, pues, un escollo. Pero hay un tercer hecho que es tal vez el factor más determinante de que el plan de inmunización tenga éxito o fracase: que los técnicos creadores del plan y los que intervienen directamente en su realización posean el convencimiento y el entusiasmo suficientes para desear verlo realizado.

Este convencimiento y este entusiasmo no pueden conseguirse sin poseer un conocimiento básico de la esencia teórica del mecanismo desencadenante de la inmunidad que conduce a trabajar con la confianza de hacer obra útil. Vale decir que en las grandes campañas colectivas de vacunación bien conseguidas, esta comunidad de intereses técnicos y humanos ha sido una premisa necesaria y lograda.

Algo distinto ocurre cuando el problema se minimiza en cantidad, y nos encontramos ante una situación en la que ha de fiarse en la labor persuasiva personal de cada médico para difundir, en mancha de aceite, las inmunizaciones individuales hasta alcanzar un umbral deseable. La falta individual de aquel conocimiento que lleva a la convicción, retrasa lamentablemente tanto la creación de la masa inmune que amortigüe eficazmente las posibilidades de difusión del hecho epidémico, como la creación del hecho aislado que podrá conducir a la catástrofe individual por falta de una decidida labor persuasiva que rompa con la indiferencia o la hostilidad.

O, lo que es más lamentable, que esta falta de convencimiento, o quizá de conocimiento, lleve a expresar vacilaciones o simplemente a aconsejar la abstención ante la pregunta curiosa o angustiada del paciente que solicita un parecer que cree autorizado.

Por nuestra parte hemos aprovechado cuantas ocasiones han sido propicias —ésta comprendida— para establecer este nexo entre los términos de la ecuación inmunizadora, procurando llevar el convencimiento del porqué y el cómo de ciertas inmunizaciones, a fin de aminorar los daños de futuras invasiones infecciosas.

Cuando nos hallamos ante el cuadro clínico de un tétanos en pleno curso o de una forma respiratoria de una poliomielitis, el espíritu se rebela al pensar que una y otro hubieran podido ser evitados si el paciente

hubiera adquirido a su debido tiempo la noción de la evitabilidad de su mal, y nos resistimos a creer que no se benefició de una información solicitada y no contestada con acierto.

Tomando como ejemplo la inmunización antitetánica, es cierto que la comprensión del porqué de la necesidad de adoptar un espaciamiento y una dosificación precisa de las diferentes cantidades de toxoide administrado requiere un conocimiento de lo que está ocurriendo en el medio interno de la persona en vías de inmunización sin que llegue a nosotros —en esta vacunación menos aún que en las demás similares— ninguna manifestación externa reaccional importante o apreciable.

Para la extensión de este conocimiento han ido apareciendo en diferentes ocasiones trabajos de síntesis que puntualizan el estado actual de la cuestión. Por nuestra parte, insistimos, hemos procurado contribuir a ello con la palabra hablada y con la letra escrita. Vale decir que esta cuestión ha llegado ahora a una madurez que ha ido adquiriéndose a partir de la enorme experiencia de la última guerra mundial y que no hay que relatar ahora.

Lo que sí, tal vez, vale la pena es señalar los aspectos fundamentales en que ha cristalizado la teoría y la práctica de la mentada vacunación, claramente sintetizadas hace pocos meses por G. EDSALL, a las que haremos referencia luego.

La inmunidad contra la infección tetánica sólo se manifiesta autóctonamente en los primeros meses de la vida, cuando la madre ha sido debidamente inmunizada durante el embarazo. Dado lo poco frecuente de este hecho y su carácter pasajero, ha de considerarse como receptiva y expuesta a la contaminación tetánica a cualquier persona afecta de una lesión que puede servir de puerta de entrada; cuando la lesión existe, y

dada la incertidumbre de la efectividad de la infección —la repartición del germen es ubicua—, el lesionado es siempre tributario de la inmunización recurriendo a su forma activa cuanto más frecuentes sean las posibilidades de lesionarse y cuanto más sospechoso sea el medio en que desenvuelve su actividad.

La profilaxis contra el tétanos tiene por objeto transferir a la sangre o provocar en la misma la presencia de anticuerpos defensivos a un título suficiente para impedir la aparición clínica de la enfermedad.

Lo primero constituye la inmunización pasiva, gracias a la inyección de antitoxina en cantidad suficiente; lo segundo, en su forma activa, corriendo a cargo del organismo objeto de la vacunación la producción de anticuerpos provocada por el antígeno vacunante. En determinadas circunstancias se acude a ambos procedimientos.

La protección pasiva es rápida, pero transitoria. La presencia de antitoxina —anticuerpo neutralizante de la toxina— puede descubrirse en la sangre circulante al cabo de pocos minutos de la inyección, alcanza un aumento rápido que se mantiene 2 ó 3 días y generalmente desaparece en 10 o más días según la dosis administrada, dependiente de la reactividad del paciente, o sea de la capacidad de su organismo para desembarazarse de la inmunoglobulina (heteróloga) del caballo, vehiculadora del elemento inmunitario.

Transcurrido este tiempo, el organismo vuelve a ser receptivo para la infección y, además, es posible que haya adquirido una sensibilidad más o menos acusada para el suero del caballo o sus fracciones, que será revelada en forma tal vez grave, en las sucesivas inoculaciones de aquél, ya que se habrán formado los correspondientes anticuerpos contra el suero inyectado (antitetánico o cualquier otro), lo que, por otra parte, acelera su eliminación.

En la inmunización activa se procede a la inyección del toxoide tetánico —toxina inactivada por el calor y el formol, según la técnica de RAMON—, que actúa como antígeno estimulando al organismo vacunado a la formación de sus propios anticuerpos defensivos, los cuales siendo autólogos u homólogos serán retenidos durante un tiempo mucho mayor, durante el cual irán produciéndose nuevos anticuerpos; esta producción puede ser realizada y aumentada mediante la subsiguiente inyección de toxoide cuando las circunstancias lo aconsejan. Debe tenerse en cuenta que en la vacunación básica o inicial no se aprecia la rapidez en la aparición de anticuerpos antitóxicos circulantes como en la inyección de antitoxina, tardándose en alcanzar un título válido varias semanas, y, por lo tanto, la inmunización activa no permite obtener una protección primaria inmediata.

La ventajosa rapidez en la protección conferida por la antitoxina procedente del suero de caballo está, pues, contrapesada: *a)* por su carácter pasajero; *b)* las tendencias a las reacciones anafilácticas determinadas por el propio suero; *c)* la destrucción acelerada de la antitoxina inyectada; *d)* su falibilidad parcial, ya que no proporciona una garantía completa de protección en todos los casos en que se administra; *e)* no protege contra multitud de traumatismos mínimos o ignorados que no llegan a ser vistos por el médico, y *f)* a igualdad de concentración, los anticuerpos conferidos pasivamente son considerados de menor eficacia que los generados mediante la inmunización activa.

Aunque la inmunización activa esté exenta de estos inconvenientes, plantea una serie de cuestiones que tienen su adecuada contestación y que resumimos a continuación:

1. La inmunización activa contra el tétanos puede ser practicada indistintamente con toxoide simple o

bien con el mismo precipitado (entre nosotros se emplea el precipitado por el alumbre). En Pediatría también se emplea, conjuntamente con el toxoide diftérico, la vacuna antipertussis y más recientemente con los antígenos poliomielíticos. En el adulto es aconsejable asociarlo a la vacuna antitífica.

2. Como que la inmunización con toxoide tetánico está virtualmente exenta de efectos secundarios, y dado que el tétanos puede ser padecido por todo ser humano, nada se opone a procurar la difusión universal de dicha inmunización. En todo caso debe insistirse en la vacunación de las personas o grupos de ellas especialmente expuestos a las contaminaciones repetidas y especialmente en aquellas que han sido inyectadas previamente con antitoxina y las que tienen tendencia a la alergia. Como que la infección tetánica no confiere inmunidad, también son tributarios de la vacunación los que han padecido tétanos.

3. La vacunación antitetánica tiene en su favor el más alto grado de efectividad que puede conseguirse con tal técnica preventiva, como lo demuestra el análisis comparativo entre grandes masas humanas vacunadas o no, compuestas por millones de soldados en la última guerra mundial. Un examen detenido de algunos pretendidos fracasos los reduce a un mínimo, inferior a cualquier otro riesgo inherente a cualquiera otra actividad llevada a cabo en el campo de la medicina, con tal de que la vacunación se haya ajustado a las normas correctas establecidas.

4. Para que la inmunización pueda considerarse efectiva, se estima que ha de provocar la aparición de antitoxina circulante, de modo que alcance un nivel comprendido entre 0,1 y 0,01 unidad por c. c. de suero. Cifras aún menores se han mostrado también eficaces.

5. Con respecto a estos niveles ocurre lo siguiente. La vacunación básica consiste en una primera in-

yección de 1 c. c. de toxoide o anatoxina que provoca una aparición de anticuerpos inmunizantes (antitoxina) insignificante. Al administrar la segunda dosis (igual a la primera), al cabo de un mes, el nivel de antitoxina se eleva hasta 0,5 unidad, que luego va descendiendo lentamente, aunque manteniéndose en límites eficaces durante más de un año. Con una tercera dosis de refuerzo dada al cabo de un año de la anterior puede conseguirse una elevación del título de antitoxina de 10 unidades por c. c., que si bien vuelve a descender, mantiene un nivel eficaz durante varios años. Estas tres dosis constituyen la verdadera vacunación básica, que se realiza preferentemente con toxoide precipitado.

6. Para la prevención del tétanos neonatorum es conveniente vacunar a la madre durante el embarazo. Como que esto puede interferir la eficacia de la vacunación del recién nacido practicada precozmente (debido a una forma de parálisis inmunológica), es aconsejable, en tales casos, diferir la vacunación del niño hasta transcurridos de tres a seis meses o administrar una dosis suplementaria de vacuna para completar la inmunización básica.

7. Aunque la experiencia ha enseñado que en el plazo transcurrido entre las dos primeras dosis de vacuna y la tercera administrada al cabo de un año la inmunidad conferida por las dos primeras da una protección apreciable, en casos de especial importancia puede anticiparse la tercera dosis.

Si importancia práctica tiene la traducción a los hechos de las investigaciones dirigidas al comportamiento de los anticuerpos en la inmunización antitetánica, que, al fin y al cabo, previene una infección que, aunque aleatoria, tiene su tratamiento específico, mayor la tiene aún el mismo hecho en relación con la vacunación contra la poliomielitis, cuya única defensa

específica contra su agresión se cifra en la provocación, en el individuo, de la formación de anticuerpos defensivos mediante la inoculación de virus muertos o de virus vivos atenuados, en forma premunitiva.

Aunque la inmunización activa contra la poliomielitis con virus muertos difiere substancialmente de la practicada con toxoide o anatoxina de Ramon por tratarse no de una vacunación con toxina sino con virus inactivado, existe alguna similitud entre ambas técnicas por intervenir en la inactivación el formol, tanto en el toxoide como en la vacuna americana de tipo Salk; pero la similitud máxima se encuentra en el ritmo de administración del antígeno vacunante y probablemente también en el ritmo de producción de los anticuerpos inmunizantes, aunque existen diferencias que es conveniente notar. En efecto, los resultados serológicos entre ambas vacunaciones dependen de que en la vacunación con toxoide lo que se pretende es conseguir que la toxina producida sea neutralizada por los anticuerpos circulantes provocados por la reacción de la vacuna antes de su destino final en los tejidos afines. En este caso la medida de los anticuerpos circulantes nos da la medida del estado refractario del organismo vacunado. En la vacunación contra la poliomielitis, en la que lo que se procura es impedir la localización del virus en el sistema nervioso y su multiplicación en la neurona, es posible que esto llegue a realizarse con cierta independencia cuantitativa y cronológica de la aparición de anticuerpos circulantes.

Repetimos que el ritmo de la vacunación y su efecto inmunizante es comparable entre ambas técnicas con tal que se consideren solamente sujetos que no han tenido experiencia inmunológica anterior, considerando como tal la infección espontánea sobrepasada. Otro elemento de juicio que entra en estas comparaciones es el tratarse en la poliomielitis de vacunas polivalentes que

obligan a considerar separadamente la respuesta a cada uno de los virus que la integran.

En las vacunas polivalentes con virus muerto, tipo Salk, cuya eficacia ha sido ya estadísticamente reconocida, la incógnita que subsiste es la duración de la inmunidad conferida por la dosis de la vacunación básica y la oportunidad de dar una cuarta inyección. El propio Salk ha estudiado esta duración del efecto producido por 3 inyecciones iniciales de vacuna, empleando como criterio de la inmunidad el título de anticuerpos hallados en la sangre de un grupo de niños vacunados, en diversos intervalos, superiores en conjunto a los 4 años de duración: hay un primer ascenso que sigue a la vacunación, otra elevación secundaria después de la inyección de refuerzo y una declinación gradual que continúa hasta una estabilización en meseta, existiendo una relación entre la efectividad de la respuesta inicial y la eficacia de las inyecciones de refuerzo. En el aspecto inmunológico el mismo Salk estima que con las 3 dosis de una vacuna de potencia reconocida, administrada con el ritmo conveniente, se consigue un estado inmunitario, cuya duración definitiva no puede aún establecerse con seguridad, dado el tiempo limitado transcurrido desde la implantación de este tipo de vacuna.

Si esta consideración se lleva desde el terreno de la inmunología al de la protección pública de la salud, habrá que pensar que hay un buen contingente de población que no sólo no ha recibido las correspondientes 3 dosis de vacuna sino ni siquiera una sola, de modo que es un bizantinismo técnico ocuparse de la conveniencia de dar una cuarta dosis. En cambio, para el médico que ejerce privadamente la profesión, y al que le incumbe proteger debidamente al paciente que está a su cuidado, y con respecto al que se le consulta qué conducta debe seguirse, ya no sobre el número de inyec-

ciones de vacuna sino sobre la conveniencia de la inmunización misma, si carece de suficiente experiencia propia para formar juicio, o de los elementos de información suficientes para emitir una opinión particular, resulta correcto ofrecer a su paciente la gran probabilidad de protección representada por el 90 % o más que proporcionará una vacunación bien efectuada, en la cual no hay inconveniente comprender una cuarta dosis, recordando que el 10 % aproximado de sujetos escapan a la protección inicial y que pueden beneficiarse como recomienda hacerlo SALK, creador de este tipo de vacuna, de esta inyección complementaria o de refuerzo.

Aunque el poder protector de la vacuna a la que vamos a aludir, parece no tener necesariamente que coincidir con una fuerte respuesta serológica inmunitaria del vacunado, bastando albergar los virus en el tracto intestinal (SABIN, 1959), en estas fechas sería inadecuado citar la provocación de las defensas antipoliomielíticas con vacunas muertas, sin valorar la tendencia creciente al empleo de vacunas con virus vivo atenuado, cuyo uso cuenta ya con amplia realización práctica. A ésta no se ha llegado por caminos fáciles, como da a entender H. KOPROWSKI al emplear ironía y humor en su reciente revisión histórica del desarrollo de las vacunas con virus vivo en la poliomielitis.

El estado actual sintetizado de esta cuestión viene expresado en los siguientes párrafos: 1.°, hay que conseguir una atenuación de la virulencia de los virus antes de su empleo en el hombre, de modo que esta atenuación implique por una parte pérdida del neurotropismo y, por otra, resulte estable e inocua tanto para el vacunado como para sus contactos inmediatos y la comunidad de que forma parte; 2.°, se espera que al igual que las demás vacunas vivas (antiamarílica, antivariólica), deje una inmunidad duradera, y que resulte fácil

y económica su administración oral, en la que se emplea una cantidad menor de virus que en las demás formas; y 3.°, con ella se persigue la exclusión definitiva de los virus virulentos que serían así substituidos por las cepas atenuadas avirulentas en virtud de fenómenos de interferencia.

Parece ser que la simultaneidad de vacunaciones con vacuna muerta y con vacuna viva no provoca interferencias mutuas, lo que sugiere su posible uso combinado.

Los primeros ensayos para lograr en el hombre una inmunización simultánea para más de un tipo de poliovirus, administrados por vía oral (virus vivos atenuados), se deben a KOPROWSKI (1955) y KOPROWSKI, NORTON, JERVIS, NELSON, CHAWICK, NELSEN y MEYER (1956), quienes llegaron a resultados negativos por observar una interferencia que conducía a que uno de los virus administrados no proliferara. Los resultados de los estudios de SABIN (1956) no fueron concluyentes, pues mientras en unas experiencias parecía presentarse la interferencia, en otras se multiplicaban los tres virus administrados y se lograba una respuesta serológica también para los tres tipos. Los autores rusos SMORODINTSEV y colaboradores (1959), trabajando con las cepas de SABIN, que administraron en forma de vacuna trivalente a 29 niños, encontraron «un aumento de los anticuerpos para los tres tipos de virus».

Los trabajos fundamentales en este sentido son los de COX, CABASSO, MARKHAM, MOSES, MOYER, ROCA-GARCÍA y RUEGSEGGER (1959), quienes utilizan una vacuna de virus vivos atenuados, trivalente, que administran por vía oral a 474 personas y en las que se logra una conversión serológica (paso de no poseer anticuerpos antipoliomielíticos a poseerlos a títulos del ¼ o superiores) del 88 %. Siguen a este trabajo otros muy detallados, dirigidos por COX, en los que se confirman y am-

plían los resultados anteriores y se precisan multitud de detalles en relación con la edad del vacunado, paso de los anticuerpos inducidos de la madre al feto, etc. Los resultados de estos ensayos se consideran tan satisfactorios que se decide ensayar la vacuna trivalente en gran escala, lo que se ha efectuado simultáneamente en diversas partes del mundo. El mayor ensayo se ha efectuado en Florida (Estados Unidos) en donde en el plazo de dos meses han sido vacunadas más de medio millón de personas. La vacuna ha sido bien tolerada, sin haberse observado accidentes vacunales. No se han publicado aún los resultados serológicos detallados ni la influencia de la campaña sobre la incidencia de la poliomielitis en la región.

Un ensayo con la misma vacuna se está realizando en Barcelona bajo la dirección de Foz, en donde desde el mes de octubre de 1959 hasta la actualidad (mayo de 1960) se han efectuado unas 2 400 vacunaciones, sin ningún accidente imputable a la vacuna. En la experiencia de Barcelona se estudia la respuesta en anticuerpos antipoliomielíticos, para cada uno de los tres tipos de virus, de la mitad de los vacunados aproximadamente. Los datos disponibles correspondientes a 140 vacunados muestran una conversión serológica del 74 %, algo menor a la obtenida por Cox. Hay que esperar a poseer la totalidad de los datos para su valoración definitiva.

La multiplicidad de las inmunizaciones provocadas que merecen ser tenidas en cuenta, se ha visto, pues, aumentada con la introducción en los calendarios de vacunaciones adoptados en diversos países, con la incorporación de la vacuna antipoliomielítica que figura ya invariablemente en todos ellos.

Una importante discusión de las bases en que se funda la cronología de dichos calendarios acaba de ser realizada en el seminario organizado por el «Centre In-

ternational de l'Enfance» presidido por R. DEBRE en París y publicada en la «Rev. D'Immunol.», enero-marzo 1960.

Como siempre que se interroga el comportamiento de los fenómenos naturales, y sobre todo cuando éstos están relacionados con los procesos biológicos, un hallazgo o quizá la simple observación de un fenómeno que estamos estudiando, nos hace ver mil nuevos caminos en cuyo final campean nuevas interrogaciones o nuevos problemas «aún» no resueltos. Esto ocurre porque en los fenómenos naturales —y entre ellos en los biológicos— nada anda suelto y la total interdependencia nos guía, desde cualquier punto que analicemos, a la constelación de hechos que están en más próxima relación con lo observado.

Los hechos relacionados con la defensa inmunitaria ante las infecciones, señalan caminos que enlazan con la defensa contra las variaciones de la estructura bioquímica del ser vivo, inducida por la llegada de substancias extrañas, y esto nos lleva de la mano a recordar que ninguno de los hechos apreciados o en estudio tiene lugar sin una íntima dependencia de todo el territorio natural en que se desarrolla, en nuestro caso la totalidad de la persona humana que delega en unas proteínas, que actúan como anticuerpos, una parte de la lucha establecida para la conservación no sólo de la supervivencia, sino de su estructura bioquímica total que da el tono de su personalidad.

Por todo ello, la investigación plantea a menudo la necesidad de profundizar en el detalle, de adoptar una actitud analítica que abre al investigador caminos que conducen a amplios parajes ricos en realidades complejas que parecen gozar de personalidad propia y que sin embargo forman parte de un complejo superior, la unidad orgánico-funcional del individuo. Los fenómenos que investigamos en Medicina, aun cuando puedan

ocurrir «in vitro» no son en modo alguno desligables del orden superior que rige y armoniza las funciones del ser vivo considerado como una unidad. La investigación posee tanto más sentido para la Medicina cuanto más tenga en cuenta el investigador los nexos del fenómeno estudiado con la totalidad del organismo en que el fenómeno tiene lugar.

La respuesta inmunológica manifestada por la presencia de anticuerpos circulantes es un fenómeno que tiene lugar frente a unas circunstancias determinadas en un individuo determinado y en un momento determinado de su vida. Conservando iguales todos los factores, pero variando la edad del huésped en que la respuesta inmunológica tiene lugar, ya no obtenemos los mismos resultados; no obstante no podemos estar demasiado seguros de que, aunque diferente, la respuesta no sea siempre la más conveniente para el huésped.

Damos a los anticuerpos un sentido defensivo y los medimos analíticamente en función de su capacidad de aglutinar, precipitar, etc., al antígeno correspondiente o sintéticamente por su capacidad de neutralizar el poder agresivo de dicho antígeno. Aunque hay buenos ejemplos de que muchas veces el poder protectivo de un anticuerpo es paralelo a sus manifestaciones «*in vitro*» —por ejemplo, PITTMAN, en 1943, encontró una estricta correlación entre el contenido en precipitinas tipo-específicas de un suero entimeningocócico y su poder protector para el ratón—, en clínica no siempre es evidente dicha correlación. Ello nos lleva a comentar el caso de los individuos incapaces de formar anticuerpos circulantes por hipogammaglobulinemias constitucionales o incluso agammaglobulinemias: pues bien, algunos de estos individuos son objeto de infecciones repetidas y graves mientras en otros la incidencia de enfermedades como parotiditis, varicela, polio y sarampión es normal y su curso no difiere del que se