

SOBRE

LAS

LISINAS I PRECIPITINAS

DEL

SUERO ANTI-HEMÁTICO

Museo Nacional de Medicina

WWW.MUSEOMEDICINA.CL

Nuevo método biológico de reconocimiento i diferenciación
de sangres, albúminas i carnes

MEMORIA DE PRUEBA

PARA OPTAR AL GRADO DE LICENCIADO EN LA FACULTAD DE MEDICINA
I FARMACIA DE LA UNIVERSIDAD DE CHILE

presentada por

ALFREDO COMMENTZ

Museo Nacional de Medicina

WWW.MUSEOMEDICINA.CL

(PUBLICADO EN LA "REVISTA CHILENA DE HIJIEÑO")

SANTIAGO DE CHILE

IMPRENTA CERVANTES

BANDERA, 50

1902

Museo Nacional de Medicina

WWW.MUSEOMEDICINA.CL



S O B R E

L A S

LISINAS I PRECIPITINAS

D E L

SUERO ANTI-HEMÁTICO



Museo Nacional de Medicina

WWW.MUSEOMEDICINA.CL

Nuevo método biológico de reconocimiento i diferenciacion
de sangres, albúminas i carnes

MEMORIA DE PRUEBA

PARA OPTAR AL GRADO DE LICENCIADO EN LA FACULTAD DE MEDICINA
I FARMACIA DE LA UNIVERSIDAD DE CHILE

presentada por

ALFREDO COMMENTZ



Museo Nacional de Medicina

WWW.MUSEOMEDICINA.CL

SANTIAGO DE CHILE

IMPRENTA CERVANTES

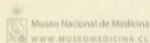
BANDERA, 50

1902



Museo Nacional de Medicina

WWW.MUSEOMEDICINA.CL

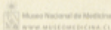


SOBRE LAS LISINAS I PRECIPITINAS DEL SUERO

INTIERNÁTICO

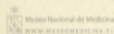
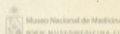
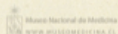


Museo Nacional de Medicina
A mis distinguidos profesores doctores
WWW.MUSEOMEDICINA.CL



Alejandro del Río i Mamerto Cádiz

que me han auxiliado con su valioso curso.

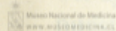


INTRODUCCION

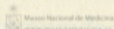
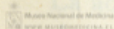
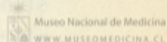
EL AUTOR.



Museo Nacional de Medicina
WWW.MUSEOMEDICINA.CL



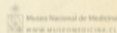
HONORABLE COMISION:
La defensa natural del organismo
feodoroa está constituida por una serie de sustancias orgánicas
lípidos, quinoides i hicas relacionadas con la naturaleza misma
del agente nocivo. Insistir en todas ellas, no aljaría mucho
de tiempo, de manera que nos ocuparemos solamente
aquellas tendencias que tienen su campo de acción biológica
en los jugos circulantes de la economía i en especial en la sangre.



...ación de la ... contra infecciones e intoxi-
... un hecho demostrado clínica i experimentalmente.
Trata de estudiar en este trabajo la naturaleza misma de la
inmunidad i las funciones que de ella resultan.



Museo Nacional de Medicina
WWW.MUSEOMEDICINA.CL



SOBRE LAS LISINAS I PRECIPITINAS DEL SUERO

ANTIHEMÁTICO

Museo Nacional de Medicina

WWW.MUSEOMEDICINA.CL



NUEVO MÉTODO BIOLÓGICO DE RECONOCIMIENTO I DIFERENCIACION DE SANGRES
ALBÚMINAS I CARNES

POR

ALFREDO COMMENTZ

Ayudante de la Sección de Seroterapia del Instituto de Higiene i de la clase de Higiene de la
Escuela de Medicina

INTRODUCCION

HONORABLE COMISION:

La defensa natural del organismo contra los venenos i las infecciones está constituida por una serie de manifestaciones biológicas, químicas i físicas relacionadas con la naturaleza misma del agente nocivo. Insistir en todas ellas, nos alejaria mucho de nuestro tema, de manera que nos ocuparemos solamente de aquellos fenómenos que tienen su campo de accion biológica en los jugos circulantes de la economía i en especial en la sangre.

La adquisicion de la inmunidad contra infecciones e intoxicaciones es un hecho demostrado clínica i experimentalmente. Trataré de estudiar en este trabajo la naturaleza misma de la inmunidad i los fenómenos que de ella resultan.

Existe un vínculo estrecho entre las funciones vitales de las



Museo Nacional de Medicina

WWW.MUSEOMEDICINA.CL

I

células del organismo i los cuerpos productores de la inmunidad en forma que se puede estimar como afinidad química específica. El organismo en su defensa contra agentes exteriores se encarga de abrir la lucha contra ellos mediante fuerzas latentes que le son innatas i que se desplegan en forma de sustancias sensibilizables a medida que se ejerce una excitación de la nutrición celular. El resultado de la exacerbación de los medios naturales de defensa es la formación de nuevos cuerpos ajenos al organismo normal llamados anti-cuerpos. Llegado este proceso biológico a su término, entran en acción fenómenos químicos i mecánicos que obran sobre los agentes exteriores gracias a afinidades bien determinadas de las que se vale el organismo para contrarrestar la acción nociva de los venenos i de los microbios.

La inmunidad está representada por estos dos factores que constituyen actualmente la teoría célula-humoral.

¿Qué rol se atribuye a la sangre en la cual vamos a estudiar los fenómenos de inmunización?

Así como en el estado normal ella provee a la economía de los materiales de nutrición trasportándolos del punto de recepción al de elaboración i utilización, así también en los estados anormales desempeña el mismo papel: ciertas sustancias introducidas en el organismo animal son llevadas por ella al contacto de las células donde por excitación determinan la formación de los cuerpos inmunizantes. Estos productos pasan paulatinamente a la sangre, la cual les sirve de vehículo i campo de acción para la realización de las reacciones que nosotros podemos observar igualmente fuera del organismo bajo el microscopio o en el tubo de ensaye.

Los agentes utilizables para establecer una inmunidad pueden ser de diversa naturaleza. Podemos valernos o bien de elementos figurados como células, bacterios, glóbulos rojos, o bien de substractos al estado de soluciones, como por ejemplo, ciertas clases de albúminas i toxinas.

Después de estudiar la reacción del organismo sobre los elementos celulares i haber reconocido la acción manifiestamente destructiva i disolvente del suero de los animales inmunizados, nos cabrá estudiar un nuevo fenómeno observado simultánea-





mente por UHLENHUTH, WASSERMANN i SCHÜTZE i que consiste en la precipitacion determinada por un suero anti-hemático en una solucion sanguínea de la misma especie animal que ha servido para la inmunizacion.

PRIMERA PARTE

LAS LISINAS

A. Aglutininas i lisinas bacterianas



Museo Nacional de Medicina

Los estudios de L. BORDET sobre los fenómenos de aglutinacion i destruccion de los bacterios, publicados en Junio del año 1895 se reducen a lo siguiente:

1. El suero de animales vacunados contra el bacterio del cólera da lugar a fenómenos mui marcados, cuando se le mezcla con un cultivo de bacterios diluido en caldo o en solucion fisiológica de cloruro de sodio.

Con una dosis pequeña se observa primeramente la inmovilizacion de los microbios i su reunion en grupos (aglutinacion). Cuando el suero ha sido recién estraido i agregado en dosis mas considerables a la emulsion de bacterios, la accion sobre los microbios se hace mas acentuada. Los vibriones aglomerados al principio se trasforman luego en gránulos (accion isó-jena) idénticos a los que PFEIFFER ha podido observar en la cavidad peritoneal de cuyes inunizados con cultivos de vibriones i que METCHNIKOFF ha podido producir *in vitro* mezclando una emulsion de bacterios con una pequeña cantidad de suero activo preventivo o con el exudado peritoneal que contiene leucocitos.

2. El suero activo calentado a 55° pierde la propiedad de trasformar los bacterios en gránulos, pero conserva su accion aglutinante sobre los bacterios.

El poder de aglutinacion de los bacterios es una propiedad especial del suero preventivo i puede manifestarse aun mas en un suero préviamente desprovisto de su accion bactericida.

FRAENKEL i SOBERNHHEIM tambien habian demostrado que



Museo Nacional de Medicina
WWW.MUSEOMEDICINA.CL

el suero del cólera calentado a $55^{\circ} C$ pierde su poder bactericida pero conserva su acción preventiva i aglutinante.

3. Cuando al cólera-suero lijaramente calentado i desprovisto por consiguiente de su poder bactericida, se agrega suero fresco de un animal normal (1), se restituye en el suero preventivo la integridad de su poder bactericida o bien la facultad de producir gránulos. El suero de un animal normal no tiene por sí mismo sinó un poder microbicida insignificante.

Se deduce de esto que existen dos sustancias constituyentes poderosas que aisladamente son poco o nada bactericidas i que asociadas, al contrario, obran sobre los bacterios con gran energía. El suero fresco devuelve al suero preventivo lo que el calor le ha hecho perder i él mismo es incapaz de restituírle la acción bactericida cuando ha sido espuesto préviamente a una temperatura de $55^{\circ} C$.

BORDET concluye de estos hechos que el poder microbicida del cólera-suero es debido a la acción combinada sobre el microorganismo de dos sustancias bien distintas; la primera perteneciente en propiedad al suero de los organismos inmunizados, de un carácter de especificidad capaz de obrar en dosis mui pequeña, provocando los fenómenos de aglutinación (el desmon de LONDON), la segunda destructible por el calor, propia de animales normales, no específica por sí misma i que manifiesta poderosamente su energía al frente de bacterios que han sido puestos al mismo tiempo en contacto con la materia específica propia de los sueros inmunizantes (alexinas).

Sobre los fenómenos de aglutinación se han suscitado las mas variadas opiniones que han sido objeto de teorías interesantes.

TEORIAS SOBRE EL MECANISMO DE LA AGLUTINACION

1) Teoría de GRUBER.

GRUBER fué el primero que descubrió la propiedad aglutinante de los bacterios (1896). Segun él la aglutinación altera la

(1) Llamamos animal normal a aquel que no ha sido jamas sometido a inyecciones de ninguna especie con objetos experimentales.





estructura del elemento organizado, atribuyendo este fenómeno a la modificación de la membrana esterna del micro-organismo, la cual se hincha, se hace viscosa i produce de esta manera la adhesión de los bacterios entre sí i su reunión en grupos.

Esta teoría, que no esplica la aglutinación de partículas inorgánicas, es contraria al fenómeno de aglutinación de precipitados químicos que se producen en el seno de un líquido.

2) *Teoría de BORDET i PFEIFFER.*

BORDET opina que el suero obra sobre los microbios cambiando las relaciones de atracción molecular entre los bacterios i el líquido ambiente. Las aglutininas específicas, según él, obran en dos sentidos sobre los microbios. En el primer tiempo del fenómeno, que es de naturaleza biológica, la acción de la aglutinación tiende a inmovilizar los microbios. En el segundo tiempo toman participación únicamente las leyes físicas; los microbios se aglomeran según leyes aplicables igualmente a partículas de estructura no organizada, sufriendo cambios de atracción molecular.

3) *Teoría de KRAUS.*

Esta teoría se funda en la formación de precipitados específicos. Cuando se mezcla suero de animales vacunados contra el bacterio del cólera, con un cultivo filtrado de este bacterio, se produce en el seno del líquido un precipitado de naturaleza química que se aglomera en grumos al cabo de cierto tiempo. Este hecho contradice claramente la hipótesis de GRUBER, que reconoce por única causa de la aglutinación la modificación de la estructura del microbio. KRAUS demuestra así que se pueden obtener fenómenos de precipitación grumosa en líquidos que no contienen elementos organizados, sino solamente productos de desorganización microbiana.

4) *Teoría de NICOLLE.*

NICOLLE reúne las experiencias de KRAUS con la teoría de GRUBER. Según él, la aglutinación consiste en una coagulación i coalición de las capas externas de los microbios aglutinables bajo la influencia del suero activo.



B. Hemoaglutininas i hemolisinas

Los estudios preliminares sobre los fenómenos de aglutinacion i destruccion de los bacterios nos han conducido a la solucion i esplicacion de los fenómenos de aglutinacion que se observan en los glóbulos rojos, estableciéndose un verdadero paralelismo entre el estudio del suero antimicrobiano i el suero antihemático en razon de las analogías que existen entre la accion de un suero activo sobre los microbios i la accion del suero antihemático sobre los glóbulos rojos. La historia del suero antihemático está basada sobre la del cólera-suero.

Los primeros datos sobre fenómenos hemolíticos, que nos han sido suministrados del siglo XVII, no revisten un carácter científico sino puramente práctico. DENISEN en 1667 fué el primero que efectuó la trasfusión de sangre del animal al hombre; pero estas primeras tentativas de trasfusión sanguínea tenían un resultado mediocre, de manera que luego despues este medio de curar la anemia declinó considerablemente en la terapéutica. Despues de entrar en el dominio de las investigaciones experimentales por LANDOIS i PONFICK, la trasfusión adquirió un interes verdaderamente científico, pero fué abandonada por completo en sus indicaciones terapéuticas.

BORDET i despues EHRLICH i MORGENROTH habian comprobado que el suero normal de un animal posee a veces en alto grado la propiedad de aglutinar los glóbulos rojos de la sangre de un animal de especie diferente. Demostraron, por ejemplo, que el suero de gallina aglutina los glóbulos rojos de la rata i del conejo.

BUCHNER mas tarde demostró que un suero determinado tiene a veces la propiedad de destruir los hematies de otras especies, haciendo difundir la materia colorante hemática en el líquido.

En vista de esta accion antagonica de los glóbulos rojos de una especie al frente de los de otra especie, se comprende fácilmente la razon porque la trasfusión de sangre de un animal a otro heterojéneo sea soportada en tan malas condiciones sobre todo cuando los animales presentan en la escala zoológica una distancia considerable.





En los estudios sobre estos fenómenos aglutinantes i hemolíticos fisiológicos se ha ocupado estensamente LONDON de San Petersburgo i de ellos han nacido todas las experiencias efectuadas con las hemolisinas artificiales obtenidas por la inmunización de un organismo contra sangre de distinta naturaleza. En realidad estas hemolisinas artificiales no constituyen sino un estado de exaltación de las hemolisinas fisiológicas normales, haciéndose una diferencia entre ellas solamente en el sentido cuantitativo.

Para no estendernos demasiado en esta materia pasaremos inmediatamente a disertar sobre las hemolisinas artificiales.

BORDET revela una série de hechos importantes confirmados por experiencias efectuadas bajo la dirección de METCHNIKOFF en el Instituto Pasteur en el año 1898.

Él inyectó en el peritoneo de un cui cinco o seis veces repetidas 10c.³ de sangre de conejo defibrinada. Después de este tratamiento les retiró la sangre i en el suero de ésta hizo los reconocimientos siguientes:

- 1.) El suero activo puesto en contacto con sangre defibrinada de conejo, aglutina los glóbulos rojos con gran energía.
- 2.) Los glóbulos aglutinados primero por el suero activo presentan en seguida fenómenos de destrucción rápida, la mezcla se hace trasparente, clara i roja al cabo de 2 o 3 minutos. Al microscopio ya no se ven en el líquido sino los estromas de los glóbulos que están mas o menos transformados, muy transparentes, desprovistos de núcleo i difícilmente visibles.
- 3.) El suero activo calentado a 55 grados durante una media hora, pierde su propiedad de destruir los glóbulos del conejo, pero conserva su poder aglutinante.

4.) Si a una mezcla de suero activo previamente calentado a 55°C i de sangre defibrinada de conejo, se agrega una cierta cantidad de suero fresco de cui normal que no haya recibido ninguna inyección, se hacen reaparecer en su integridad en el seno del líquido emulsionado los fenómenos de destrucción. La mezcla se hace trasparente i roja al cabo de algunos minutos.

5.) Si es cierto que el suero activo de cui pierde por el calentamiento a 55°C su propiedad destructiva, no por eso la sangre defibrinada de conejo mezclada al suero calentado queda del



todo intacta. Se verifica una destruccion de hematies lenta i parcial pero suficiente para comunicar al líquido un tinte rojizo. Esto se debe a que la sangre defibrinada contiene tambien una cierta cantidad de sustancias provistas de poder destructivo, llamadas alexinas, las cuales obran sobre los glóbulos del mismo animal cuando éstas son impresionadas por la sustancia aglutinante del suero activo

La proporcion de alexina contenida en la sangre normal defibrinada no es suficiente para destruir la enormidad de glóbulos rojos presentes i por eso es que la destruccion es lenta i parcial.

6.) Los fenómenos de aglutinacion i destruccion (disolucion) mencionados no se producen cuando en lugar de emplear el suero de cui tratado por inyecciones repetidas de sangre defibrinada de conejo, se sirve de suero de cui normal. Este no es sino débilmente aglutinante para los glóbulos rojos de conejo, i la accion destructiva sobre estos mismos elementos puede considerarse nula por falta de la sustancia activa del suero inmunizado.

7.) Cuando se inyecta en la cavidad peritoneal de uno de los cuyes inmunizados una cierta cantidad (v. g. 2-3 c³ de sangre defibrinada de conejo, los glóbulos introducidos en la cavidad peritoneal se destruyen rápidamente. Al cabo de diez minutos el líquido que se retira de la cavidad peritoneal por puncion, es rojo i trasparente.

8.) Si se inyecta en la cavidad peritoneal de un cui normal sangre de conejo adicionada de una pequeña cantidad de suero activo préviamente calentado a 55°C, el mismo fenómeno de destruccion de los glóbulos se produce, debido esto a que el suero normal del cui restituye al suero activo calentado su poder destructivo.

9.) El suero activo está dotado de una gran enerjía al frente de los glóbulos rojos del conejo, del cual éste se deriva, de manera que es verdaderamente tóxico para dicho animal. Inyectado este suero activo en la vena de la oreja, mata a la dosis de 2 a 3 c.³

BORDET en sus estudios ha llegado a las conclusiones siguientes:



1.) El suero de animales tratados por sangre defibrinada proveniente de un animal de especie diferente manifiesta propiedades activas que consisten en la aglutinacion i disolucion de los glóbulos rojos idénticos a los que se han inyectado.

2.) La accion disolvente del suero activo sobre los glóbulos rojos es debida a la presencia de dos sustancias; una perteneciente en propiedad al suero activo, la sustancia sensibilizadora (el desmon de LONDON), (1) la otra (alexina) se encuentra tanto en el suero normal como en el activo. Estas cualidades se acercan estrechamente a las que se han podido reconocer en el cólera-suero.

3.) La inyeccion de un suero antihemático a un animal normal de la misma especie de la que ha provenido el suero activo provoca en este animal la aparicion de un poder globulicida de suero que aparece gracias al encuentro en el organismo de la materia sensibilizadora propia del suero activo con la alexina que este organismo posee ántes de toda intervencion.

4.) Las sustancias antihemáticas especificas resisten a una temperatura de 55.º Ellas se fijan enérgicamente sobre los glóbulos rojos que se impresionan de manera que bajo este punto de vista hai tambien una analogía completa con los microbios.

5.) El suero antihemático presenta tambien una toxicidad bien manifiesta.

El hecho que mas nos interesa en los estudios de BORDET es el que la vacunacion de un animal contra sangre de un animal de especie diferente, produce anticuerpos análogos a los producidos en la vacunacion antimicrobiana i los cuales traducen su accion en forma de aglutininas i lisinas especificas.

En el capítulo anterior nos ocupamos de los fenómenos aglutinantes de los bacterias, que presentan una analogía completa con los producidos por el glóbulo rojo; por consiguiente, no nos detendremos mas en ellos. Siendo la accion hemolítica el último término de la inmunizacion antihemática, nos dedicaremos a esponer las diversas teorías sobre el modo de formacion i accion de las hemolisinas.

(1) La nomenclatura varia considerablemente segun los autores. Véase páj. 11.



Formacion de la hemolisina

Teoría de EHRlich.

Segun EHRlich existe una afinidad química entre la sustancia que da nacimiento a la lisina específica i la lisina misma, hecho que se puede aplicar a todas las bacteriolisinas i citolisinas estudiadas hasta hoy.

Segun EHRlich los glóbulos rojos de un animal contienen una cantidad de grupos moleculares dispuestos de cierta manera i dotados de una afinidad química considerable por ciertos grupos moleculares existentes en la sangre de otros animales. Representa el estos grupos moleculares como cadenas diferentes, compuesta cada una de moléculas parecidas de un carácter individual propio dependiente de las células de las cuales son el producto de secrecion. De tiempo en tiempo se desprenden de la célula i pasan a la sangre. Si encuentran grupos moleculares de una afinidad química correspondiente, se combinan con ellas i las neutralizan. Esto en cuanto se refiere a la inmunidad natural. Tratándose de la inmunidad artificial EHRlich la considera como la anterior pero en estado de exaltacion.

Las sustancias introducidas en el organismo de un animal conducen ciertos grupos moleculares (toxinas) que le son nocivas i que tienen una afinidad con ciertos grupos moleculares (antitoxinas) del organismo que se va a inmunizar. Se forma una combinacion química. Las toxinas quedan fijadas i se hacen inofensivas.

El organismo privado de las moléculas antitóxicas se dedica entónces al proceso de rejeneracion i este proceso es llevado mas allá de lo que las circunstancias lo exigen con el objeto de conservar la supremacía sobre los antagonistas. Resulta la produccion creciente de un exceso de antitoxina que pasa continuamente a la sangre.

En la inmunizacion antihemática la antitoxina queda representada por la hemolisina (antihemina).

Teoría de BUCHNER.

BUCHNER supone que los glóbulos rojos introducidos en un organismo extraño, sufren una desagregacion i que ciertos pro-



ductos de esta desagregacion quedan retenidos por el organismo i se hacen inofensivos para ser utilizados en la produccion del anticuerpo. Establecido así el parentesco entre este anticuerpo i los glóbulos rojos correspondientes segun BUCHNER, puede ejercerse entre estos cuerpos una atraccion recíproca.

Esta teoría que se ha formulado sin hechos experimentales no nos explica en absoluto el orijen de las hemolisinas naturales.

M. LONDON fundándose en una série de esperiencias atribuye un rol importante en la elaboracion de la hemolisina al bazo. En cuatro cuyes, en los cuales hizo la esplenectomía, no ha podido comprobar, despues de un tratamiento antihemático, los menores indicios de hemolisina artificial.

Como anteriormente hemos dicho, el proceso de inmunizacion está caracterizado por dos tiempos: uno es dependiente de un proceso biológico que se encarga de la formacion de la hemolisina; el otro, en que entran en accion procesos químicos i mecánicos, nos representa el modo de accion de la hemolisina sobre los glóbulos rojos interpretado diversamente segun los autores.

Modo de accion de la hemolisina

Teoria de EHRlich i MORGENROTH.

Estos autores declaran que las partes constitutivas de la hemolisina entran en combinacion con aquellas moléculas de los glóbulos rojos con las cuales tienen cierta afinidad. El desmon solo o *zwischenkörper* (cuerpo intermediario o inmune) entra en combinacion con aquellas moléculas; en cuanto a la alexina, que designan con el nombre de cuerpo complementario o adimento, ella se combina solo con el desmon i por intermedio de este último se efectúa la accion de la alexina sobre los glóbulos rojos.

La alexina, el desmon i cierta parte de las moléculas de los glóbulos rojos forman en conjunto una combinacion química que da nacimiento a un cuarto cuerpo. Las relaciones recíprocas que existen entre las diversas partes del glóbulo rojo, quedan interrumpidas i el glóbulo se destruye.



Teoría de BORDET.

BORDET, como hemos visto anteriormente, piensa de otro modo. En el proceso hemolítico el rol de la alexina no es igual al del desmon. Para él no es el desmon sino la alexina la que entra en combinación directa con los glóbulos rojos. El desmon obra como sustancia sensibilizadora, preparando los glóbulos rojos para que sean destruidos por la alexina.

LONDON, en su contribución al estudio de las hemolisinas, resume las opiniones sobre la formación i el modo de acción de las hemolisinas a lo siguiente:

La hemolisina artificial es el resultado de la reacción del organismo bajo la inyección del estroma de los glóbulos rojos de un animal extraño. Los hechos conocidos hasta hoy no nos permiten decir con certeza cuál es el mecanismo en la producción de la hemolisina artificial. Ni la teoría de EHRLICH, según la cual la hemolisina sería el producto de la secreción de los glóbulos rojos del animal inmunizado, ni la teoría de BUCHNER según la cual la hemolisina forma parte de la sangre inyectada, han podido pretender una aceptación universal. Parece más aceptable admitir la hipótesis de atribuir el desmon artificial a un estado de modificación del desmon fisiológico bajo la acción de las inyecciones sanguíneas en una forma desconocida hasta ahora.

Por lo que respecta al modo de acción de la hemolisina LONDON admite que ella tiene por base al antagonismo unilateral de dos principios activos de la hemolisina: El desmon aglutina los glóbulos rojos, mientras que la alexina los desaglutina hasta producir su destrucción completa.

Especificidad del suero antihemático

Todos los autores que se han ocupado de los fenómenos hemolíticos están de acuerdo en aceptar que la hemolisina artificial posee una afinidad electiva para la especie de glóbulos rojos que han servido para obtener la inmunidad.

Las experiencias han demostrado, por ejemplo, que la inyección de sangre de conejo a un animal da al suero de este animal la





facultad de aglutinar i disolver solamente los glóbulos rojos del conejo, miéntras que los glóbulos rojos de otros animales permanecen indiferentes al contacto con el suero activo.

Las esperiencias han demostrado igualmente que se pueden obtener simultáneamente en un animal diferentes hemolisinas específicas, inyectando a un animal diferentes clases de sangre heterojéneas.

Se ha discutido mucho si el organismo responde a la inmunizacion antihemática múltiple con la formacion de una hemolisina capaz de disolver diferentes especies de glóbulos o bien si para cada especie sanguínea elabora una hemolisina especial. G. M. MALKOFF de San Petersburgo ha contestado a esta pregunta estableciendo la especificidad en la accion aglutinante del suero sanguíneo de la cabra sobre la sangre de paloma, de conejo i de hombre i ha llegado a las conclusiones siguientes:

1) La propiedad aglutinante del suero de la sangre se deriva de una sustancia determinada, la aglutinina. La aglutinacion se debe a una reaccion precisa de dos sustancias sujetas a afinidades químicas bien determinadas.

2) La aglutinina tiene una afinidad específica con el elemento morfolójico, del cual determina la aglutinacion i ella no puede ser ligada sino por este mismo elemento.

3) En un suero normal que aglutina simultáneamente diferentes células, existe una variedad de aglutininas específicas igual a las especies de células aglutinables por el suero.

SEGUNDA PARTE

Las Precipitinas

BORDET fué el primero que llamó la atencion hácia las sustancias antialbuminoideas que se forman en el suero de animales sometidos a un proceso de inmunizacion contra la leche i describió precipitinas específicas, capaces de producir en el tubo de ensaye una precipitacion de la caseina de la leche.

WASSERMANN, posteriormente, hizo valer este método biológico para la diferenciacion de albúminas provenientes de distintas clases de leches. Pudo comprobar que todo animal posee



en su leche toxalbuminas que presentan caracteres de naturaleza específica para la especie correspondiente.

El conejo, por ejemplo, tratado por inyecciones subcutáneas de leche de vaca responde a esta inmunización con la formación de anticuerpos que precipitan únicamente la caseína de la leche de vaca i no la caseína de otras especies de leche.

Estas esperiencias se comprobaron despues con otras clases de leche, de manera que este medio de reconocimiento i diferenciación de las leches encontró una aceptación amplia.

Nacieron de aquél un sinnúmero de otros trabajos que tenían por objeto aplicar este método para la diferenciación de otras sustancias albuminoideas, entre los cuales citaremos uno muy importante de UHLENHUTH sobre el reconocimiento de la albúmina de huevos. Nos limitamos a esponer los resultados de sus esperiencias:

1) Inyectando en el peritoneo de un conejo o administrándole por la vía digestiva albúmina de huevo de gallina, se forman en el suero del conejo coagulinas capaces de precipitar una solución de albúmina de huevo de gallina o de paloma.

2) El suero de un conejo inmunizado por inyecciones intraperitoneales de albúmina de huevo de paloma contiene sustancias que producen un precipitado en soluciones de albúmina de huevo de paloma o gallina.

3) La reacción del suero de estos conejos se produce solamente con las albúminas ovulares i no con albúminas de otra naturaleza.

4) Esta reacción supera en sensibilidad a todas las reacciones químicas i servirá probablemente para la diferenciación de las distintas sustancias albuminoideas.

5) El suero activo resiste a un calentamiento de 60° durante una hora, sin perder sus cualidades coagulantes.

La misma naturaleza específica de las precipitinas que nacen por inmunización en un animal ha sido comprobada en otras sustancias albuminoideas. En primer lugar por MYERS que obtuvo precipitinas específicas derivadas de serum globulina de cordero, i despues por WITTE que las obtuvo de peptonas.





Las precipitinas del suero antihemático

Tomando como punto de partida las experiencias ántes citadas, UHLENHUTH i al mismo tiempo WASSERMANN i SCHÜTZE emprendieron nuevos estudios con el fin de proponer un nuevo método para diferenciar en asuntos médico-legales sangre humana de sangre de animales.

LADISLAUS DEUTSCH ya habia insinuado en el Congreso Médico de Paris (9 de Agosto de 1900) la idea de emplear el suero hemolítico para el diagnóstico médico-legal de la sangre de los distintos animales, pero esta comunicacion no nos interesa, puesto que el método investigador propuesto por DEUTSCH se refiere a las aglutininas i lisinas, que solo tienen aplicacion práctica en aquellos casos reducidos en que los elementos morfolójicos del glóbulo rojo estan todavía intactos, pero no en aquellos otros en que ha habido una alteracion estructural de los mismos glóbulos.

Es necesario saber que en los fenómenos de precipitacion no toma parte activa el glóbulo rojo, como trataremos de demostrarlo por algunas experiencias.

Las primeras investigaciones sobre las propiedades precipitantes del suero antihemático fueron efectuadas por el doctor UHLENHUTH bajo la direccion del profesor LOEFFLER i publicadas a principios del año 1901.

Este autor hizo primero una série de experiencias con sangre de ternero, inyectando a un conejo con intervalos de 6-8 dias 10 c³ de sangre defibrinada de ternero hasta obtener despues de 5 inyecciones un suero activo. En seguida preparó una série de soluciones sanguíneas al 1 x 100 de 18 animales distintos. A 2 c³ de cada una de estas soluciones agregaba 6-8 gotas del suero activo del conejo inmunizado. Al cabo de poco tiempo se produjo en el tubo que contenia la solución sanguínea de ternero un enturbiamiento manifiesto del líquido, mientras que todas las demas muestras de sangre quedaban completamente transparentes. El suero normal de conejo no producía enturbiamiento en ninguno de los 18 tubos. Demostrada la especificidad de la reaccion en la sangre de ternero, UHLEN-



HUTH ensayó el suero de un conejo tratado con inyecciones de sangre humana, obteniendo los mismos resultados con la sangre de hombre al frente de todas las demás soluciones sanguíneas. Solo para la sangre humana la reacción era específica. La reacción es muy sensible, de manera que bastan indicios de sangre para poder designar su procedencia.

Al mismo tiempo apareció la publicación de WASSERMANN i SCHÜTZE sobre la aplicación del suero antihemático para diferenciar la sangre humana de la sangre de animales.

En una comunicación hecha en Francia a la «Société de médecine legal» en Abril de 1901 OGIER anunció que había experimentado el método de WASSERMANN i SCHÜTZE i que efectivamente era posible diferenciar la sangre de hombre de la de los animales.

El profesor R. STERN de Breslau comprobó en seguida que la reacción no es bien específica. La sangre de varias clases de monos disuelta en solución fisiológica de cloruro de sodio produce un enturbiamiento ligero pero bien perceptible cuando se la trata con el suero antihemático específico para la sangre humana. También pudo comprobar que el poder reaccionante del antiserum es tanto mayor cuanto más tiempo ha estado sometido el conejo a la preparación previa. STERN consiguió obtener la reacción en soluciones sanguíneas al 1×5000 .

UHLENHUTH continuó sus estudios en gran número de muestras de sangre en estado de putrefacción, siempre con el mismo resultado positivo.

El Dr. E. ZIEMKE, de Berlín, experimentó con el suero de 2 conejos, de los cuales uno se sometió durante más tiempo a la preparación previa que el otro. Las reacciones se hicieron en soluciones sanguíneas al 1×10 de solución fisiológica de cloruro de sodio (0,75 por ciento) o de soda al 0,1 por ciento.

Los resultados obtenidos por ZIEMKE en un material abundante i variado son muy satisfactorios. Investigó la sangre humana en estado fresco i desecada en forma de manchas sobre jénero, sobre instrumentos quirúrgicos, madera, vidrio, papel, etc., i en la tierra. Con el suero más fuerte tuvo solamente una experiencia frustrada en una sangre conservada durante 18 años sobre un jénero. La reacción era muy fugaz.



La intensidad de la reacción estaba en relación inversa con la edad de la sangre.

Todos los trabajos efectuados hasta entonces demostraron de una manera evidente la utilidad médico-legal que podía prestar este método de investigación. Para formarse un juicio cabal sobre su valor práctico, UHLENHUTH ensayó una serie de muestras enviadas por el Juez del Crimen. La procedencia de la sangre en el juicio correspondiente no daba lugar a dudas pero no fué puesta en conocimiento del experimentador con el objeto de comprobar posteriormente la exactitud del diagnóstico. En todos los casos pudo pronunciarse el experimentador si se trataba de sangre humana o no, sin errar una sola vez. UHLENHUTH mismo trató después de determinar directamente la especie de sangre animal, mientras que antes se contentaba con reconocer la sangre de animal por esclusión. Esto puede servir como una advertencia importante en el curso de una investigación jurídica cuando no se trata de sangre humana o cuando el delincuente haya cubierto una mancha de sangre humana con sangre de animales con el fin de ocultar el crimen o de desviarlo hacia otro punto. UHLENHUTH preparó entonces una serie de sueros antihemáticos específicos para sangres de animales i los resultados fueron los siguientes:

- 1). El suero de conejos inmunizados con sangre de cerdo produce solamente en la solución de sangre de cerdo un precipitado abundante, pero con menor intensidad en la sangre de jabalí montes (1).
- 2). El suero de conejos inmunizados con sangre de caballo produce un precipitado abundante solamente en la solución de sangre de caballo i con menor intensidad en la del asno.
- 3). El suero de conejos inmunizados con sangre de zorro produce un precipitado abundante solamente en la solución de sangre de zorro i con menor intensidad en la de perro.
- 4). El suero de conejo inmunizado con sangre de puerco-espín

(1) Para comprobar las diversas experiencias le servían las soluciones de sangre de los animales siguientes: Ternero, caballo, asno, cordero, cabra, cerdo, gallina, murciélago, paloma, pato, ganzo, lechuza, corneja, chincol, conejo, cui, rata, raton, puerco-espín, perro, zorro, gato i ciervo.



produce un precipitado abundante solamente en la solución de sangre de puerco-espín.

5). El suero de conejo inmunizado con sangre de gato produce un precipitado abundante solamente en la solución de sangre de gato.

6). El suero de conejo inmunizado con sangre de cordero produce un precipitado abundante solamente en la solución de sangre de cordero pero con menor intensidad en la de cabra i una reacción débil en la de ternero.

7). El suero de conejo inmunizado con sangre de ternero produce un precipitado abundante solamente en la solución sanguínea de ternero, con menor intensidad en la de cabra i cordero.

De todas estas experiencias se deduce que el parentesco de distintos animales puede demostrarse *ad oculos* en el tubo de ensaye. Anteriormente ya se habian demostrado las relaciones consanguíneas que unen al hombre con el mono.

Todas las observaciones se manifiestan con mayor claridad cuando el suero con el cual se opera tiene un equivalente de inmunización poderoso. Se comprueba entónces que el suero de conejo inoculado, por ejemplo con sangre de cordero, produce un precipitado mui abundante en la sangre de cordero, ménos abundante en la de cabra i mas débil aun en la de ternero. Esto significa que el ternero en sus relaciones consanguíneas no se acerca tanto al cordero como a la cabra.

Cuando el suero no es mui poderoso, sucede que la reacción con la sangre de ternero ya no se produce en el caso antes citado.

UHLENHUTH recomienda que el suero que se emplee con fines jurídicos debe producir con una solución sanguínea en proporción de 1×40 una reacción momentánea o a lo ménos debe provocar al cabo de 1 minuto un enturbiamiento bien manifiesto.

Finalmente, debemos mencionar otra aplicación práctica del suero antihemático.

UHLENHUTH, tratando de investigar si era posible diferenciar por este método las distintas carnes de animales, llegó a la conclusión, que efectivamente el uso del suero antihemático





permite reconocer la especie de carne correspondiente al animal que ha suministrado la sangre para obtener la inmunidad antihemática. Un conejo inmunizado con sangre de chancho suministra un suero que precipita solamente el extracto de carne de chancho. Este procedimiento de diferenciación de las carnes tiene una aplicación práctica de mucha importancia. Referen que en el Japon las carnes se espenden en trocitos mui pequeños, de manera que esa condicion no permite reconocer su naturaleza, i por otra parte, facilita el ocultamiento de una falsificación de carne de animal vacuno con carne de caballo, de perro o gato, etc. La aplicación de este método investigatorio se estiende tambien a los productos de la carne como el charqui, jamones i salchichas siempre que no se hallen sometidos a la coccion.



Precipitinas antialbuminoideas

Despues de haber comprobado que el organismo animal colocado en estado de defensa contra sustancias albuminoideas naturales como las de la sangre, leche, orina, etc. reacciona contra ellas formando en su suero cuerpos antialbuminoideos, se trató de investigar su comportamiento al frente de sustancias albuminoideas que por procesos químico-físicos hubieran cambiado su constitucion molecular primitiva. Con este objeto WASSERMANN i SCHÜTZE se sirvieron de sustancias protéicas, estraidas por procedimientos químicos de los tejidos normales de animales i vejetales.

Inyectando estos extractos albuminoideos de una manera conveniente a los animales, estos producian en el seno de su suero precipitinas que guardaban un carácter de especificidad únicamente para la sustancia prima empleada en la inmunización, como lo comprobaron con las siguientes reacciones:

1). Las albúminas musculares estraidas del músculo del hombre fueron administradas a un conejo por inyecciones intravenosas i subcutáneas: el suero de este conejo producía despues de la inmunización, en la solución de albúminas musculares idénticas en pocos minutos un enturbiamiento que se completaba al cabo de media hora; lo contrario sucedia en el



siero normal de conejo que no alteraba en absoluto la solución albuminosa. El mismo suero tratado con orina albuminosa o con soluciones sanguíneas de hombre o de cui, no determinaba en estos líquidos precipitación alguna.

Se ve que el organismo animal inmunizado contra albúminas musculares al estado de producto químico, responde con la producción de anticuerpos que precipitan únicamente la sustancia empleada en la inmunización.

Se explica fácilmente que la inmunización pierda su especificidad genérica cuando se trata de otras albúminas provenientes del hombre. Las sustancias protéicas que se destinan a la inmunización han perdido sus propiedades biológicas a causa de los procedimientos químicos a que se someten para extraerlas.

2). SCHÜTZE cita experiencias efectuadas con albúminas vegetales provenientes del roborat (1). El suero de conejos tratados con estos extractos albuminoideos vegetales tenía la propiedad de formar un precipitado instantáneo i abundante en las soluciones de esta clase de albúminas vegetales. El mismo suero se mostró completamente inactivo en soluciones de albúmina muscular como igualmente lo era el suero antialbuminoso del músculo en las soluciones de albúminas vegetales.

Se deduce de aquí que es posible diferenciar netamente la albúmina animal (del músculo) de la albúmina vegetal (de roborat) i que debe existir una diferencia en la estructura molecular de estas dos sustancias albuminoideas, opinión que ya había sido emitida por UHLENHUTH en sus experiencias con albúminas fisiológicas ovulares.

EXPERIENCIAS

SERUM A.

Preveniente de un conejo tratado con inyecciones intraperitoneales de sangre placentaria humana defibrinada. Se hicieron siete inyecciones de 8c³ de sangre cada 5 días.

El suero que se estrajo el tercer día, después de la última inyección no tenía un poder de precipitación considerable, de

(1) Albúmina pura de cereales.





manera que prescindimos de los resultados obtenidos en las experiencias con él practicadas.

SERUM B.

Proveniente de un conejo tratado con inyecciones intraperitoneales de sangre placentaria humana defibrinada.

Las inyecciones se repitieron ocho veces cada tres dias en cantidad de 14c³ por término medio. Tres dias despues de la última inyeccion se estrajo el suero del conejo i con él se hicieron las siguientes esperiencias:

Esperiencia 1

Sangre placentaria humana desecada en el vacío sobre un vidrio de reloj i conservada durante 3 meses.

Una pequeña parte se disolvió en una solución fisiológica de cloruro de sodio (0,7%).

2c³ de la solución clara i filtrada se trataron con 8 gotas del suero activo, dando una precipitación al cabo de 5 minutos. El precipitado se completó dentro de media hora i se condensó en pequeños grumos. Al dia siguiente se encontró en el fondo del tubo un sedimento blanquizco i encima un líquido mas o menos trasparente.

El suero normal de conejo no produjo ninguna reacción precipitante.

Esperiencia 2

Sangre placentaria humana conservada durante 3 meses en tierra de jardin.

Modus operandi i resultado como en la esperiencia 1.

Esperiencia 3

Sangre placentaria humana conservada sobre papel de filtro durante 3 meses.

Modus operandi i resultados como en la esperiencia 1.



Esperiencia 4

Sangre humana recojida de ganglios supurados del cuello conservada durante 3 meses i en estado de putrefaccion.

Modus operandi como en la esperiencia 1. La precipitacion era ménos intensa pero bien perceptible.

Esperiencia 5

Orina albuminosa de nefrítico diluida en 3 partes de solucion fisiológica de cloruro de sodio. Tratada con el suero activo dió al cabo de 15 minutos un ligero enturbiamiento.

Esperiencia 6

Líquido exudativo estraído por puncion de un quiste del ovario. Diluido por mitad con solucion fisiológica de cloruro de sodio, dió con el suero activo un ligero enturbiamiento al cabo de 10 minutos.

Esperiencia 7

Sangre placentaria humana defibrinada diluida en solucion fisiológica de cloruro de sodio.

Despues de haberse sedimentado los glóbulos rojos se decantó el líquido claro e incoloro i éste se trató en proporcion conveniente con el suero activo. Al cabo de pocos minutos se produjo el enturbiamiento característico en la solucion de suero sanguíneo.

El precipitado se condensó en grumos dentro de 10 minutos i al día siguiente se le encontró sedimentado en el fondo del tubo.

Esperiencia 8

Sangre placentaria defibrinada diluida en solucion fisiológica de cloruro de sodio.

La emulsion de los glóbulos rojos se trató con el suero activo: Primeramente se observó una aglomeracion de los glóbulos ro-



jos (fenómeno de aglutinacion), en seguida estos grumos se sedimentaron en el fondo del vaso i luego despues se disolvieron paulatinamente en el líquido hasta obtener al cabo de 10 minutos una solucion roja de los glóbulos rojos. La trasparencia del líquido no era absoluta, debido esto al precipitado que secundariamente se habia formado por la presencia del suero sanguíneo i que al dia siguiente se encontró sedimentado en el fondo del vaso en las mismas condiciones que el precipitado en la experiencia 7.

Experiencia 9

Museo Nacional de Medicina

Sangre de cordero defibrinada i diluida en solucion fisiológica de cloruro de sodio.

Experiencia efectuada como en 7, pero con resultado negativo: La solucion del suero sanguíneo de cordero no sufrió alteracion ninguna bajo la influencia del suero activo B.

Experiencia 10

Sangre de cordero defibrinada i diluida en solucion fisiológica de cloruro de sodio.

Experiencia efectuada como en 8, pero con resultados negativos. No hubo aglutinacion ni disolucion de los glóbulos rojos. Al dia siguiente los glóbulos rojos estaban sedimentados en el fondo i el líquido de la superficie estaba completamente claro i trasparente.

Experiencia 11

Suero de sangre de chanco, resultado negativo, como experiencia 9.

Experiencia 12

Sangre de chanco diluida, resultado negativo, como en experiencia 10.

SERUM C.

Conejo tratado con inyecciones intraperitoneales de suero de buci.

Museo Nacional de Medicina

WWW.MUSEOMEDICINA.CL

Para obtener el suero puro se procedió de la manera siguiente:

Se recibió directamente la sangre en un tubo esterilizado despues de haber dejado pasar una cierta cantidad por la herida que se infirió al animal para sacrificarlo. Dos horas despues se desprendió el coágulo sanguíneo de las paredes del tubo por medio de un hilo grueso de platino i por movimientos de rotacion del tubo. Al dia siguiente el suero sanguíneo claro i trasparente nadaba sobre el coágulo.

Se inyectaron al conejo 100-120c³ por inyecciones de 20-25c³ repetidas día de por medio. El tercer dia despues de la última inyeccion se estrajo la sangre del conejo i se separó su suero.

En estas condiciones la extraccion de la sangre no se efectúa con todos los cuidados de asepsia porque ha estado en contacto con la herida de la piel. Sin embargo, las inyecciones han sido mui bien soportadas como lo manifestaba el estado jeneral del conejo durante su vida i a la autopsia el estado normal del peritoneo. La recepcion de la sangre en esas condiciones no ofrece pues tanto peligro de infecciones como podria creerse *a priori*. En cuatro siembras hechas con la sangre en caldo de cultivo se observó una sola vez el desarrollo del bacillum subtile que por demas no tiene accion patojénica sobre el conejo.

Esperiencia 13

Suero normal de buei diluido en solucion fisiológica de cloruro de sodio tratado con el suero activo C en proporcion de 3 c³ por 6 gotas de suero activo, dió un precipitado abundante que luego despues se condensó en grumos i se sedimentó al dia siguiente.

La intensidad de la reaccion es comparable a la precipitacion que se obtiene por una orina albuminosa de 1-2^o/₁₀₀ de albúmina bajo la accion del calor.

Esperiencia 14

Suero normal de caballo diluido con su volúmen de solucion fisiológica de cloruro de sodio.

Museo Nacional de Medicina
WWW.MUSEOMEDICINA.CL





3 c³ de esta solución tratados con 6 gotas del suero activo *C* no dieron lugar a ningún cambio en la transparencia del líquido, la cual se conservó hasta el día siguiente.

Experiencia 15

Sangre defibrinada de buei diluida en 100 partes de su volumen de solución fisiológica de cloruro de sodio.

6 c³ de esta emulsión sanguínea se repartieron por partes iguales en dos tubos de ensaye *a* i *b*. Al tubo *a* se agregaron 6 gotas del suero activo *C*. Este no produjo ni aglutinación ni disolución de los glóbulos rojos, los cuales se sedimentaron igualmente en ambos tubos. Al día siguiente se observaron los sedimentos de los tubos *a* i *b*. El del tubo *a*, que era más abundante que aquel del tubo *b*, estaba cubierto por una película fina de precipitado blanco; encima el líquido estaba ligeramente turbio i en las paredes del tubo se veían adheridos algunos grumos blancos del precipitado. El líquido conservó hasta 4 días después los mismos caracteres a pesar de haber ajitado diariamente la emulsión sanguínea. No hubo disolución de la hemoglobina.

El sedimento en el tubo *C*, menos abundante al día siguiente, no presentó la película fina de precipitado. El líquido que sobrenadaba estaba completamente transparente, pero en su parte inferior teñido de rojo, debido esto a la difusión de la hemoglobina en la solución fisiológica de cloruro de sodio, hecho que normalmente se verifica. La coloración del líquido aumentaba cada día más a medida que se ajitaba el tubo.

Bajo el microscopio se observó que los glóbulos rojos del tubo *b* estaban algo más alterados en su forma que los glóbulos del tubo *a* que se encontraban bajo la influencia del suero activo, i entre estos últimos se distinguían claramente los precipitados microscópicos en forma de pequeñas granulaciones incoloras fuertemente refrinjentes.

DISCUSIONES

Las experiencias 7 i 8 nos demuestran que la inmunización antihemática da lugar a dos clases de manifestaciones químico-



biológicas: unas con efectos hemolíticos i otras con efectos precipitantes. Para poder apreciar bien estos fenómenos manifiestamente contrarios por su accion es preciso considerar aisladamente el elemento morfológico que se trata de disolver i el elemento soluble no figurado, que se trata de precipitar.

NOLF ha demostrado experimentalmente que la accion hemolítica no se debe al suero sanguíneo ni a la hemoglobina sino al elemento figurado del glóbulo rojo, es decir, al estroma. NOLF inyectó a un conejo estromas de glóbulos rojos bien lavados i desprovistos de su materia colorante i a otro conejo la hemoglobina de esos mismos glóbulos i obtuvo la hemolisina solamente en el conejo inoculado con los estromas. La accion citolítica (1) ha sido estudiada comparativamente en otros elementos celulares. Asi, por ejemplo, observó MOXTER una accion espermolítica en el suero de conejos inmunizados contra espermatozoides de buci. VAN DUNGERN a su vez observó lisis específicas para células vibrátiles, METCHNIKOFF para leucocitos i LINDERMANN para células del epitelio renal.

¿Qué relaciones guardan los fenómenos hemolíticos con los fenómenos precipitantes?

Parece que en las primeras esperiencias sobre las hemolisinas ha pasado completamente desapercibido el fenómeno de precipitacion, bien porque los autores no habian tomado en cuenta la transparencia relativa de las soluciones de glóbulos rojos o bien porque el suero activo no habia adquirido las unidades inmunizantes necesarias para los efectos de la precipitacion.

Vemos nacer en el suero de un animal inmunizado contra sangre humana defibrinada simultáneamente una propiedad hemolítica i una propiedad precipitante (esperiencia 8). La accion hemolítica se desarrolla a espensas del estroma del glóbulo rojo i la accion precipitante a espensas del suero sanguíneo, considerado como líquido albuminoso. La analogía que presentan estos precipitados con los obtenidos por las sustancias albuminoideas nos inducen a atribuir esta precipitacion a las sustancias protéicas que circulan en el suero sanguíneo i que se componen de serumalbúmina, paraglobulina, albuminatos, etc., influenciadas

(1) Τὸ κύτος corpúsculo; λύειν, disolver.





por ciertas sustancias antialbuminoideas que nacen en el suero de un animal heterojéneo inmunizado contra esas mismas albúminas. Esta propiedad precipitante posee una especificidad jenerica idéntica a la que se ha observado en las hemolisinas. El suero antihemático del hombre, por ejemplo, produce un enturbiamiento en el suero del hombre i al mismo tiempo con menor intensidad en diluciones de esperma, de esputos purulentos tuberculosos, de líquido hidrocélico i ascítico, de exudado pleurítico, de orina albuminosa del hombre, pero no en líquidos albuminosos de otros animales. Estos hechos demuestran que la reaccion en jeneral es específica para las sustancias albuminoideas provenientes del hombre.

Hemos tratado de hacer resaltar el carácter independiente que guardan las precipitinas al frente de las hemolisinas.

NOLF pudo comprobar que el rol principal en los procesos hemolíticos corresponde al estroma del glóbulo rojo. Por mi parte, yo he inoculado un conejo con suero sanguíneo de animal vacuno, desprovisto en absoluto de glóbulos rojos. El suero activo de este conejo me dió un precipitado abundante solo con la solución de suero de animal vacuno (esperiencia 13-15) i no poseia propiedades aglutinantes ni hemolíticas. Mas bien parece existir un antagonismo entre las propiedades hemolíticas i precipitantes, porque este suero activo manifiesta una acción conservadora sobre el glóbulo rojo, dejando indemne su estroma e impidiendo la difusión de la hematina en el líquido ambiente.

Posiblemente se efectúa bajo la acción de este suero una alteración de la estructura del glóbulo rojo por coagulación de las capas exteriores, de manera a formar una capa protectora que dificulta el pasaje de la hematina al líquido que tiene en suspensión los glóbulos. (acción citofiláctica). (1)

Deducimos de todos los hechos anteriormente espuestos que los fenómenos de precipitación observados en el suero antihemático son debidos a afinidades químicas entre sustancias proteicas i cuerpos antialbuminoideos correspondientes desconocidos hasta hoi, (probablemente enzimas o diastasas). Estas nacen por la excitación i modificación de la nutrición celular

(*) ΤΟ ΚΥΤΟΣ, corpúsculo; φυλάττει precaver, encerrar.



bajo la influencia de toxalbuminas fisiológicas de un animal heterojéneo. Las experiencias efectuadas hasta hoy nos permiten decir únicamente que son fenómenos producidos artificialmente sin poder deducir de aquí la existencia de precipitinas fisiológicas, al contrario de lo que sucede con las hemolisinas fisiológicas conocidas ya. Durante el corto tiempo que se conocen las precipitinas no se ha podido investigar el origen ni el modo de formación de ellas i tampoco los autores se han pronunciado sobre su naturaleza.

A la misma acción específica i jenerica de las antialbúminas debe atribuirse la reacción obtenida por el suero antihemático en soluciones de albúminas musculares de un animal. Siendo esta albúmina iso-jenética a la del suero sanguíneo i de constitución molecular isomera, la reacción conservará el carácter jenerico pero no se producirá con la misma intensidad como si se tratara el suero antihemático con el mismo suero que ha servido para la inmunización. Para obtener un suero llevado a su grado mas alto de especificidad convendría inmunizar el animal con las mismas albúminas musculares estraidas por medios mecánicos (de expresión) i nó por medios químicos.

La aplicación práctica de la acción precipitante del suero antihemático i antialbuminoso (antisarcoplasmático) reviste una importancia capital.

a) El reconocimiento de una especie sanguínea estaba ántes reducido al exámen microscópico i solo el esperimntador muy habituado estaba en condiciones de poder apreciar la morfología de los distintos glóbulos rojos, siempre que éstos se encuentren intactos i bien conservados.

La propiedad hemolítica del suero antihemático facilitó despues el reconocimiento de una muestra de sangre por la reacción característica perceptible a simple vista en el tubo de ensaye, pero que igualmente se aplica solo en aquellos casos en que los estromas de los glóbulos rojos estan todavia conservados.

Por el descubrimiento de UHLENHUTH i WASSERMANN i SCHÜTZE hemos quedado en situacion de poder determinar la especie sanguínea de cualquier muestra de sangre, aun cuando ya no exista el elemento morfológico o cuando éste se haya alterado por agentes físicos o meteorológicos.



b) La aplicacion práctica de las precipitinas específicas para la diferenciacion de distintas clases de carnes puede constituir en nuestro pais un medio precioso de investigacion, habiéndose entregado actualmente la carne de caballo al espendio libre i tratándose de la falsificacion del charqui de buei por el de caballo. Hasta ahora esta diferenciacion se verificaba por medio de la reaccion glicojénica determinada por el yodo en la carne de caballo.

Hemos tenido ocasion de hacer esta reaccion repetidas veces, pero los resultados no eran mui satisfactorios i la reaccion colorimétrica falla en algunos casos cuando la carne ha sido conservada durante mucho tiempo, o se encuentra desecada al estado de charqui. El suero antihemático i mejor aun el suero activo derivado de albúminas sarcoplasmáticas quizás podrá subsanar todos los inconvenientes de la reaccion química.

Nos proponemos continuar mas tarde las esperiencias en este sentido.

c) Por lo que respecta al valor aplicativo del suero antialbuminoso para la diferenciacion de la naturaleza química de las albúminas, debe dejarse para estudios mas concienzudos que imponen necesariamente una experimentacion detallada en las mas variadas condiciones. Posiblemente se llegará a obtener resultados científicos como los que se pueden aprovechar con el suero antihemático i antialbuminoso en las investigaciones médico-legales i de inspeccion de carnes.

d) Iguales esperanzas podemos abrigar de las cualidades precipitantes del suero antihemático a favor de las aplicaciones terapéuticas a que podria dar lugar.

Conclusiones

1) La propiedad hemolítica del suero antihemático se deriva de la inmunizacion con estromas de glóbulos rojos i puede aplicarse para el diagnóstico diferencial i médico-legal de distintas clases de sangre, cuando los glóbulos rojos estan frescos, intactos i aptos para ser emulsionados.

2) La propiedad precipitante del suero antihemático se deriva de la inmunizacion con las albúminas del suero de la sangre.



3) Las precipitinas así obtenidas dan la reacción específica con las albúminas isómeras a las que se han empleado para las inyecciones en el animal.

4) Los elementos figurados de la sangre no juegan rol alguno en el fenómeno de precipitación, pero sí pueden dar lugar a fenómenos secundarios de hemólisis, cuando durante el proceso de inmunización se han inyectado al mismo tiempo estromas de glóbulos rojos.

5) Todas las sustancias albúminoideas sea que se encuentren al estado fisiológico o al estado de producto químico, inyectadas a un animal, son capaces de dar lugar a la aparición de precipitinas específicas.

6) La reacción precipitante parece establecer bajo el punto de vista científico, relaciones de consanguinidad entre animales de un mismo género o de géneros muy vecinos, como por ejemplo entre el hombre y el mono, entre el perro y el zorro, entre el buey, el cordero y la cabra, etc., etc. La reacción en estos casos es menos intensa pero sensible, y para su producción se necesita de un suero fuertemente precipitante.

7) Las precipitinas específicas nos permiten diferenciar las albúminas animales y vegetales y reconocer las albúminas de distintas clases de animales; nos proporcionan todavía un método biológico exacto para la diferenciación de distintas clases de carnes.

8) Este método biológico de diferenciación de las albúminas puede prestar muy importantes servicios a la Medicina Legal, a la Inspección de carnes y a la Química biológica.

Santiago, Enero 30 de 1902.





Bibliografía

BORDET, Dr. I.—Sur l'agglutination et la dissolution des globules rouges par le sérum d'animaux injectés de sang defibriné.

Annales de l'Institut Pasteur, 1898, páj. 688.

BORDET, Dr. I.—Mécanisme de l'agglutination.

Annales de l'Institut Pasteur, 1899, páj. 225.

Agglutination et dissolution des hematies.

Annales de l'Institut Pasteur, 1899, páj. 273.

LANDSTEINER.—Centralblatt der Parasitologie.

1899, N.º 25, páj. 546.

LONDON, M. E. S.—Contribution a l'étude des hémolysines.

Archives des sciences biologiques, St. Petersburg, tomo VIII, N.º 3 i 4, 1901.

SCHÜTZE, Dr. S.—Zeitschrift für Hygiene und Infectiouskrankheiten Band 38, Heft 3.

UHLENHUTH, Dr.—Eine Methode zur Untersuchung der verschiedenen Blutarten im besonderen zum differential diagnostischen Nachweiss des Menschenblutes.

Deutsche Medizinische Wochenschrift, 1901, pájs. 82, 260, 499, 480. (O.-A.)

Neuer Beitrag zum spezifischen Nachweiss von Eiereiweiss auf biologischem Wege.

Deutsche Medizinische Wochenschrift, 1900, páj. 734. (P.-A.)

