MECANISMOS INMUNITARIOS

Discurso de turno leído por el Académico Numerario

Dr. P. GONZALEZ JUAN

en la Sesión inaugural del Curso 1949-1950 de la Real Academia de Medicina, celebrada el día 29 de enero de 1950.

Un deber ineludible me obliga a presentarme ante vosotros para cumplir una función reglamentaria que en estos momentos yo no hubiera deseado. Mi precario estado de salud no permitirá que se cumpla mi deseo de inaugurar este curso de 1950 con una brillante conferencia cual corresponde al abolengo de esta casa y al nivel de vuestro rango científico.

Duéleme doblemente esta vez, porque el significado histórico de la fecha en que inauguramos este curso, merecía la designación de orador de más relieve del que os habla, y con más alientos juveniles para dar a la fiesta que celebramos el significado y la alegría de lo que hoy comienza. Yo tendré que hablaros de lo que hoy termina. Aceptad la emoción del que celebra en estas bodas de oro del siglo veinte, un momento trascendental de su propia existencia, que el destino ha querido enlazar con el instante crucial de este solemne cincuentenario.

Mucho he dudado en la elección del tema, atraído por la brillantez de este nuevo campo que se ha abierto a la terapéutica infecciosa con el advenimiento de los antibióticos. Horizontes inéditos a los que he dedicado mis últimos trabajos de investigador. Pero hubiera significado para mí una deserción, el no aprovechar este momento para dedicar unas breves páginas al capítulo de la inmunidad, que desde el comienzo de mis estudios bacteriológicos ha dominado mis aficiones a la investigación.

Cumplo con un deber que arraiga en lo íntimo de mi sentimiento, al resumir en este trabajo la historia de las investigaciones llevadas a cabo en el Laboratorio Municipal de Barcelona, en el curso de estos últimos cincuenta años, sobre el tema de la Inmunidad. La historia de la Bacteriología celebra este año su primer centenario, que no en vano fué en 1850 cuando RAYER vió por primera vez una bacteria patógena. Y si la primera mitad de este siglo bacteriológico fué pródiga en descubrimientos transcendentales bajo la figura egregia de PASTEUR, no le han ido a la zaga estos cincuenta años que historiamos, que han visto consolidar el prestigio de la ciencia inmunológica en los campos de la química, de la terapéutica y del diagnóstico.

Y permitidme antes de entrar en el tema de mi conferencia, que al invocar la escuela bacteriológica del Laboratorio Municipal, en otros tiempos conocido por Laboratorio del Parque, dedique unas líneas a recordar la preclara figura de su creador Dr. TURRÓ, DON RAMÓN, bajo cuyo apostolado vivió aquella casa una época de esplendor científico que hemos de esforzarnos en mantener.

Vivió TURRÓ la ciencia inmunológica desde sus comienzos, alcanzó los últimos tiempos de PASTEUR, y su espíritu de investigador nato y de filósofo sincronizó perfectamente con esta época de grandes concepciones interpretativas.

Si seguimos paso a paso el vaivén de las teorías inmunitarias, veremos que

fué el propio PASTEUR quien abandonó su primera interpretación inmunitaria de la substracción, al observar que no satisfacía a sus propias experiencias, adoptando la teoría de la adición. Fué CHAUVEAU, ilustre veterinario, quien inició esta doctrina, que se basaba en un hecho de observación. Vió CHAUVEAU que los fetos de las reses preñadas y vacunadas, quedaban inmunizados y de esto infirió —ya que la impermeabilidad de la barrera placentaria no permite el paso de gérmenes— que la substancia vacunante debía ser soluble y transportada por la sangre hasta el nuevo ser. El feto se inmuniza no por lo que el germen substrae, sino por lo que deja en el seno del organismo.

METCHNIKOFF, en 1883, presentó en Odesa una comunicación muy interesante en la que describía como ciertos organismos inferiores, con sus expansiones amebiformes englobaban, sumergiéndolas en el seno de su protoplasma, las partículas circundantes aunque fueran vivas, del medio en que vivían y como las iban digiriendo hasta asimilarlas. Más tarde hizo extensiva esta misma observación a los elementos mono y polinucleares de los organismos superiores. A estas células se les llama desde entonces fagocitos, y al mecanismo, Teoría fagocitaria de METCHNIKOFF.

BORDET, descubrió la quimiotaxia de los leucocitos. FODOR fué el primero que observó en el suero sanguíneo una substancia bactericida. BUCHNER, al comprobar y ampliar estos trabajos, consideró a esta substancia como protectora del organismo y le dió el nombre de alexina.

Es en este momento que se plantea la discusión por los que defendían la doctrina leucocitaria, los cuales, al no admitir estos hechos, atribuyen la presencia de substancias bacterícidas, a una secreción del propio leucocito o de su protoplasma en fase de destrucción, y denominan a estas substancias citasas.

La doctrina de METCHNIKOFF, cada día más exclusivista, había sublevado al Dr. TURRÓ, que ya desde sus primeras comunicaciones había adoptado la posición contraria, es decir, la pluralidad de orígenes.

NUTHALL había demostrado que con la propiedad bactericida de los humores, el organismo contaba con un medio de defensa superior al que le confería el fagocitismo leucocitario.

Poco tiempo después, es P. EHRLICH el que abandona la teoría de METCHKIKOFF y señala a las alexinas una pluralidad de orígenes. Estas ideas de EHRLICH sirvieron de base a muchos de los trabajos de TURRÓ. En el curso de los cuales va elaborando su tesis, que es expuesta ampliamente en su discurso de entrada en esta corporación en 1894 y en la conferencia inaugural de 1906.

La base experimental de todos los trabajos de TURRÓ, se apoya en los siguientes hechos. Así como el macerado en agua salina del coágulo de la sangre de perro, suministra al vehículo, por plasmolisis, substancias bactericidas, así de la misma manera, macerando tejido hepático, esplénico o renal, etc., reducidos previamente a pulpa, se obtiene a las 24 horas una solución enérgicamente bactericida. Incorporando como dice TURRÓ, 0,5 a 1 gramo de un cultivo fresco de B. Anthracis, se observa que en el espacio de uno o dos días y a la temperatura de 35°, se funden los bacilos casi en su totalidad, dejando como residuo una substancia mucosa que es perfectamente soluble en agua alcalinizada.

Los ganglios linfáticos, la médula ósea y la pulpa nerviosa, ceden con dificultad sus substancias bacteriolíticas. El tejido muscular y el de la glándula tiroides, por el contrario, ceden un jugo transparente y no coagulable, muy rico en bacteriolisinas.

Estos trabajos fueron comprobados por CALMETTE, entonces director del Instituto Pasteur de Lille.

Dice TURRÓ, después de practicados estos experimentos, que la lisis fagoci-

taria no depende de la forma, ni de la estructura, ni de la organización en suma del elemento vivo, sino de una característica o virtud química que reside en la propia substancia. La plasmodia o leucocito que con sus movimientos engloba el microbio, lo pone en contacto con su protoplasma, que es el que lo ataca y disuelve; el acto de esta digestión es de naturaleza química.

Reducida esta substancia amiboide organizada a materia soluble, tal como hacemos en el laboratorio con nuestros macerados, la digestión tiene lugar de la misma manera. No se defiende pues la célula por ser célula o cuerpo organizado; este poder defensivo no le viene de su membrana de envoltura que le protege como un manto, ni de la disposición del protoplasma, ni del núcleo ni del nucleolo; le viene de las substancias que integran su composición o de alguna de ellas especialmente. La resistencia que el leucocito opone a la invasión parasitaria no nace de su aprisionamiento, sino de lo que viene después; no se exterminan las bacterias por el hecho de ser ingeridas, sino por el hecho de ser digeridas.

Otros experimentos se basaban en la utilización de soluciones salinas masivas para proteger al conejo de la inoculación mortal de bacillus antracis.

Estos trabajos de TURRÓ cristalizaron en la teoría llamada «Los fermentos defensivos en la inmunidad natural y adquirida» que desarrolló en esta Academia el 4 de marzo de 1916.

En esta conferencia sigue exponiendo sus puntos de vista anteriores, pero orientando su interpretación hacia el capítulo de la nutrición, dentro de los cánones de la Fisiología general.

El que os dirige la palabra, al correr del año 1922, fué nombrado académico electo, y en su discurso de entrada y después de un estudio panorámico de la cuestión, escribía a modo de conclusión, lo siguiente:

«Y bien quisiera aducir nuevos y más contundentes hechos, acumulados por una investigación fecundísima, en demostración de que los mecanismos que se ponen en juego para frenar o inhibir la acción de los fermentos en el seno del organismo tal como los estudia el fisiólogo, son los mismos que aumentan o disminuyen las defensas; y bien quisiera poneros de manifiesto que la inmovilización de los fermentos que atacan la materia extraña ingresada por la vía parenteral, es siempre la misma, sea cual fuera su procedencia, bacteriana o no, que estos fermentos no conocen más que de especies químicas, y no de especies vegetales o zoológicas; bien quisiera recalcar que, después de la época de EHRLICH, bajo los progresos de la química biológica, aquellas dos vías que seguían de un lado el fisiólogo y del otro el inmunólogo, que poco o nada tenían de común, se van acercando y refundiendo hasta tal punto, que ya no es posible distinguir donde empieza el inmunólogo y acaba el fisiólogo o viceversa, porque cada día se va viendo con mayor claridad, que los trámites por los que pasa el metabolismo de sus productos solubles, son como los que pasa toda clase de materia alimenticia; pero comprendo que debo terminar, porque todo tiene sus límites y no debo abusar ya más de vuestra atención. El tema es inagotable con lo mucho que se lleva ya investigado y el amplísimo horizonte que a la investigación queda abierto. No es que pretenda decir con esto, que en la actualidad existe la visión teórica de que los procesos de la inmunidad y los procesos de la nutrición, son idénticos. Hoy por hoy esta teoría, fundada en una síntesis que está por hacer, no existe; lo que sí existe, es la tendencia a la orientación a ese gran ideal. Hoy por hoy sólo existe un abundantísimo material, hacinado o disperso, semejante al que se acarrea a un terreno sobre el que ha de levantarse un edificio monumental. Como será este edificio, no lo sabemos; es el secreto de los espíritus superiores que han de planearlo y sentarlo sobre sólidos cimientos. Interinamente, ante el espectáculo de tantos hechos incoherentes, de tantas investigaciones, algunas veces

contradictorias, cuando menos en apariencia, sólo cabe adivinar que esa inmensa labor quedará a la postre resumida en unos cuantos capítulos de la fisiología general.»

TURRÓ, en su discurso de contestación hace unos comentarios sobre unos experimentos de NICOLLE, que constituyen el único trabajo que sobre inmunidad publicó, antes de su fallecimiento. Dice así:

«En 13 de marzo de 1922, aparece en Comptes Rendus de la Academia de Ciencias de París, una comunicación de NICOLLE en que se da cuenta de los hechos siguientes: dos personas toman per Os cultivos de bacilos disentéricos de Shiga muertos por el calor; transcurridos unos días, ingieren la misma dosis de cultivos vivos sin el menor accidente; en cambio otras dos personas, que no habían sido previamente vacunadas por la vía gastrointestinal, toman la misma dosis de cultivo vivo en calidad de testigos y contraen la disenteria. El hecho puede parecer insólito a los que no conciben la inmunidad sin que los anticuerpos defensivos preserven de la reinfección; pero otros vienen en apoyo del primero. La vacunación per Os del micrococus Melitensis es otro hecho también incontestable descubierto por el propio NICOLLE; lo es también la vacunación per Os del bacilo tífico, conforme lo vienen pregonando LUMIÉRE y ha sido demostrado experimentalmente por BESREDKA para este germen y los bacilos paratíficos. A esta serie de datos, aducidos por la investigación novísima, hay que añadir la vacunación por la vía gastrointestinal contra el vibrión colérico. En vista de estos hechos y de los que nuevas investigaciones nos irán poniendo de manifiesto, ya que la vía a seguir está llena de sorpresas, parece que la mole de trabajos acumulados desde ENRLICH, de que os hablaba GONZÁLEZ, se derrumba y el problema de la inmunidad queda envuelto otra vez en el misterio del que creíamos haber salido. Creíamos cierto que las propiedades específicamente antitóxicas de los humores, las reacciones aglutinantes y precipitantes, el aumento de la potencia bacteriolítica que con la inmunización adquiere el suero, la mayor actividad del fagocitismo, la suma, en fin, de reacciones vivas que por parte del organismo son puestas en juego para defenderse de una nueva reimplantación de los mismos gérmenes y de las agresiones de los tóxicos era la causa de la inmunidad, pues no concebíamos que pudiera adquirirse sin la creación de estos nuevos poderosos medios de defensa que englobamos bajo la denominación de anticuerpos; mas esos descubrimientos recientes nos ponen de manifiesto que con el virus vacuno y carbuncoso, el microbio de Shiga, el de la fiebre ondulatoria, el tífico y los paratíficos, a más del vibrión colérico, la inmunidad se consigue sin necesidad de estos anticuerpos generales que engendran las abundantes inyecciones parenterales de los antígenos respectivos.»

El único defecto de que adolecen todas las teorías sobre la inmunidad es que los investigadores han polarizado sus trabajos orientándolos con la idea de defender a ultranza una idea determinada.

Han querido sistematizar, unificar métodos, creyendo que todos los fenómenos inmunitarios sigue una misma senda, la suya, y en la inmunidad se presenta cada caso de un modo diferente, y a pesar de que en estos últimos años se han hecho muchos descubrimientos en el dominio de la inmunología, el problema de la defensa ha quedado circunscrito y acaparado por el estudio de los anticuerpos. Y la realidad es que éstos quedan desbordados en infinitos casos, y muchos otros diversos medios de protección merecen ser considerados (TZANCK y ANDRÉ).

Ha demostrado BORDET que el organismo se defiende, con una eficacia sorprendente, contra la infección por gérmenes (en este caso de la putrefacción). Esta defensa se identifica, como han demostrado METCHNIKOFF y TURRÓ, con la vida misma, es decir con los mecanismos de la nutrición y de la digestión.

La virulencia de un germen reside y se basa en su inmunidad frente al organismo, de la misma manera que la inmunidad del organismo es su virulencia contra el germen.

Entre las enfermedades infecciosas pueden distinguirse:

a) Aquellas contra las que existe un estado natural de resistencia y, sin embargo, el suero no tiene poder curativo o preventivo alguno. La sangre de un animal refractario a la Sífilis no tiene acción contra la afección en el hombre.

b) Las que no recidivan porque la primera infección produce un estado refractario (fiebres eruptivas). En estos casos el suero de convalesciente posee una acción preventiva.

c) Aquellas que provocan un estado antitóxico (difteria, tétanos). En estos casos el suero parece estar dotado de propiedades neutralizantes; de aquí el uso de la sueroterapia curativa.

d) Aquellas en que la premunición parece ligada a un proceso reaccional (tifoidea, cólera).

e) Las que sin una inmunidad verdadera, presentan estados sucesivos de adaptación (tuberculosis, sífilis), lo que revela las diferentes transformaciones del organismo frente a estos gérmenes.

f) Aquellas, en fin, que pueden repetirse muchas veces en el curso de la vida sin cambiar de carácter (estreptococias, estafilococias, etc.).

Cada uno de estos grupos merece ser estudiado aisladamente, sin que las constataciones adquiridas para cualquiera de estas afecciones, deban ser necesariamente aceptadas para otros gérmenes o especies, incluso de grupos muy afines.

Muchas adquisiciones de primer orden se han logrado, por ejemplo, en la difteria. Pero todas ellas tienen una singular aplicación en esta infección. Si queremos utilizarlas en el tétanos, con la cual tiene tantos puntos de contacto, lo más probable será que equivoquemos el camino.

Los testimonios humorales de la inmunidad, tienen en ciertos casos la más alta importancia, en otros en cambio, pueden pasar a segundo término.

El problema de la inmunidad es tan complejo y tan voluminoso, que se impone una revisión y el estudio monográfico de cada enfermedad.

El estudio de los anticuerpos, de los antígenos, su estructura y variación, su aislamiento, utilizando los nuevos métodos que sirven para valorar y caracterizar su presencia, todo ello regido y valorado por los modernos procedimientos de control, nos servirán para sentar los estudios inmunitarios sobre una base más científica y más sólida.

Antígenos de FORSMAN

FORSMAN, en 1911, demostró que era posible obtener hemolisinas anti-carnero muy activas, inyectando al conejo pulpa de riñón de cobayo. Este descubrimiento fué recibido en sus comienzos con algún escepticismo, pero poco más tarde fué profundizado por el mismo FORSMAN y confirmado por gran número de investigadores.

Se pudo demostrar que inyectando al conejo riñón de caballo se obtenían también hemolisinas anti-carnero.

Desde este momento se define como antígeno tipo FORSMAN, todo antígeno presente en un tejido, célula, humor, microorganismo, etc., que inyectado a un conejo provoque la formación de hemolisinas anti-carnero. Y se llama hemolisina tipo FORSMAN, a la hemolisina anti-carnero natural o adquirida, que sea capaz de ser absorbida por los riñones de cobayo o caballo o por sus extractos alcohólicos.

Investigaciones posteriores demostraron que estos antígenos de riñón que provocaban la aparición de hemolisinas, podían encontrarse también en otros

elementos muy diversos, como órganos y sangre de especies de animales diversos y asimismo en ciertos gérmenes y aun en vegetales.

En el suero de los conejos inyectados con estas substancias enumeradas se podían demostrar, además de las hemolisinas, muchos otros anticuerpos de carácter mucho más específico.

BANG y FORSMAN, habían visto experimentalmente que el extracto alcohólico de hematíes de carnero fijaba la hemolisina formada, sin que, por el contrario, su inyección provocara por sí misma la formación de hemolisinas. Parecía, pues, que el antígeno de FORSMAN era un complejo formado por dos grupos, uno completo que condicionaba la formación de hemolisinas, y otro que podía fijarlas, pero incapaz de formarlas por inyección.

A éstos antígenos cuya inyección no provoca la formación de anticuerpos, pero que son capaces de fijarlos in vitro, se les considera antígenos incompletos. LANDSTEINER los denonmina haptenos, nombre con que se les conoce todavía.

Los órganos tipo Forsman completos, pero hervidos, para desnaturalizar las albúminas, provocan todavía la formación de hemolisinas, pero no dan lugar a la aparición del otro grupo de anticuerpos, que se genera comunmente.

Estos órganos hervidos absorben «in vitro» las hemolisinas formadas en la misma forma que los extractos alcohólicos.

Estos hechos nos conducen a sospechar la existencia de dos antígenos completamente distintos y cuya naturaleza es también muy diferente. LANDSTEINER y SCHEER, han sido los primeros que han precisado las condiciones experimentales que permiten obtener a voluntad hemolisinas anti-carnero de diferentes tipos y asimismo las hemolisinas antilipoide y antiproteica.

Se demostró que las hemolisinas anti-carnero, que se encuentran normalmente en el suero humano, pertenecen al tipo Forsman. Y LANDSTEINER confirma que la fracción alcohólica de órganos tipo Forsman no engendra la formación de hemolisinas en los conejos, aunque pueda fijarlas in vitro.

Rectifica este pensamiento variando las condiciones experimentales y obtiene, con la colaboración de SIMMS, la formación de hemolisinas anti-carnero, inyectando suero de cerdo o de otros animales que no fueran conejos, con extracto alcohólico de órganos tipo Forsman. LANDSTEINER, logró reconstituir de esta manera el antígeno, aparentemente en la misma forma que existe en los antígenos FORSMAN ya conocidos.

LANDSTEINER suponía que los antígenos de Forsman se encontraban en los órganos unidos a una albúmina antigénica, y que esta era indispensable para que el antígeno fuera completo, y capaz por tanto, no solamente de fijar in vitro la hemolisina, sino también de engendrar anticuerpos por inyección.

Según la opinión de LANDSTEINER el antígeno de FORSMAN debía ser considerado como un hapteno.

Nosotros, con la colaboración de ARMANGUÉ, realizamos una serie de trabajos que fueron presentados en julio de 1930 al Primer Congreso Internacional de Microbiología de París, y en donde demostrábamos que no era necesaria la presencia de albúminas para dar a los extractos alcohólicos de los órganos tipo FORSMAN la característica de antígenos completos.

Habíamos comprobado que el suero hemolítico anti-carnero, obtenido de un conejo inyectado con glóbulos frescos de carnero, contenía dos hemolisinas diferentes. Una idéntica a la hemolisina tipo FORSMAN y otra igual a la que se obtiene del cobayo cuando es inoculado con glóbulos de carnero.

Y pudimos demostrar la existencia de las dos hemolisinas por los métodos de adsorción que ya habían utilizado LANDSTEINER y TARNIGUCHI. Teniendo en cuenta todo lo expuesto anteriormente y en especial los trabajos de LANDSTEINER,

creíamos que el papel que en sus investigaciones jugaba el suero de cerdo o de otros animales era más bien de orden físico que químico.

Para comprobar nuestro punto de vista, emprendimos una larga serie de experimentos que nos llevaron a la conclusión de que se podían lograr hemolisinas anti-carnero inyectando por vía intraperitoneal extractos alcohólicos de riñón de cobayo, de caballo y aun de glóbulos de carnero, si previamente se fijaban en materiales inertes —totalmente desprovistos de posibilidades antigénicas— tales como el Kaolín, la tierra de Fullon o de infusorios, ciertos carbones, e incluso —pero con resultados inferiores— con carbonato cálcico o magnésico.

La primera nota fué comunicada, como hemos dicho, al Primer Congreso de Microbiología. A partir de esta fecha fueron apareciendo todos nuestros trabajos que se publicaron en los Comptes Rendus de la Société de Biologíe de París y en la Revista Española de Medicina y Cirugía.

Nuestras conclusiones fueron puestas en duda por WEIL, BERENDES y MISAWA, en Alemania y fueron, en cambio, confirmadas por LANDSTEINER y JACOBS en América, por PLEUT y RUDI y HANS SCHMITD en Alemania y por MUTESARS en Bélgica.

Dos años después de nuestra comunicación, ZOZAYA en los Estados Unidos, aplicó el método de los haptenos polisacáridos bacterianos, que reactivó con colodión.

Estos trabajos demuestran claramente que los extractos alcohólicos heterófilos de tipo FORSMAN, son antígenos completos que pueden fijar las hemolisinas in vitro, o producirlas por inyección.

Mosaico de antígenos:

Fué NICOLLE, quien en 1920 popularizó su teoría —la idea era anterior— sobre el mosaico de antígenos. NICOLLE imaginó un esquema según el cual los microorganismos o las células tienen cada uno cierto número de elementos antígenos, de entre los cuales pueden hallarse algunos en microbios o células de especies diferentes. Así pretende explicar los fenómenos de coaglutinación y la existencia de anticuerpos de grupo.

Pero se creía entonces que esta coexistencia de un mismo factor antigénico estaba limitado a especies de parentesco muy próximo.

Hoy día se ha demostrado que esta coincidencia de antígenos comunes tiene lugar no solamente entre las especies más alejadas, sino también entre seres pertenecientes al reino animal o vegetal.

Las investigaciones a que dió lugar la teoría de NICOLLE fueron facilitadas por la técnica que publicó CASTELLANI.

El perfeccionamiento de las técnicas de identificación y dosificación de los antígenos ha servido de base al estudio de los cambios de estructura y de virulencia, que tienen lugar en las variaciones microbianas.

Así DOMINGO y en el Laboratorio Municipal, pudo investigar las variaciones del bacilo Piociánico. Estudiando las condiciones oromégenas, lisógenas y germinativas de este germen, demostró DOMINGO claramente que, cuando el medio de cultivo favorece alguna de las variantes del Piociánico, se determina al propio tiempo una acción inhibidora sobre las demás. Si, por ejemplo, se practica una siembra de Piociánico en caldo preparado con macerado de carne, se obtiene un cultivo que da fluorescencia pero no piocianina.

VIDAL MUNNÉ, también técnico del Laboratorio Municipal, ha podido separar de la bacteridia carbuncosa toda una gama de bacilos Anthracis de diferentes virulencias. Esto se logra variando las condiciones de temperatura y medio de cultivo. También estudió la bacteridia asporógena en relación con sus propiedades inmunizantes.

No entra en nuestro propósito el desárrollo a fondo del problema de las variaciones bacterianas y de su repercusión en la estructura antigénica y virulencia; vamos a limitarnos a hacer unas cuantas consideraciones sobre el provecho que su estudio ha representado en el conocimiento y puesta en práctica de la vacunación activa.

La inmunización activa es uno de los métodos más eficaces con que cuenta hoy día la medicina preventiva. Ello exige, para que los resultados sean óptimos, un minucioso conocimiento de las características que deben reunir los antígenos. Esta idea ya había preocupado a PASTEUR, cuando seleccionaba el germen cuya atenuación le permitiera provocar una enfermedad atenuada, única forma por entonces conocida de obtener inmunidad.

Mucho se ha trabajado desde entonces, y la pléyade de investigaciones que desde PASTEUR a nuestros días han descubierto antígenos y anticuerpos, antígenos de Forsman, mosaico de antígenos, antígenos principales y sus variantes, labilidad y variedad de las razas conservadas en medios artificiales, han convenido con rara unanimidad, que para obtener buenos resultados en la práctica de las vacunaciones preventivas han de seguirse las condiciones esenciales siguientes:

Obtención del antígeno; su concentración; liberación de elementos tóxicos; conservación de sus propiedades en los cultivos y en las vacunas preparadas.

En la obtención de antígenos vacunantes vamos a referirnos a los de la tos ferina y fiebre tifoidea, máximos exponentes de este problema. Daremos por conocidas las técnicas de obtención de las toxinas solubles, tipo difteria y tétanos, ya que se obtienen con gérmenes cuyo poder antigénico se conserva sin grandes esfuerzos.

En la tos ferina (pertusis), el germen destinado a la preparación de vacunas posee en alto grado el poder de variar su constitución antigénica, hasta el punto de que se han podido investigar y puntualizar hasta cuatro fases antigénicas diversas. La más virulenta y la que mejor conviene a la preparación de vacunas es la fase primera. En esta forma se encuentran los gérmenes de recientes aislamientos. Lo difícil es su conservación; para ello se han ideado diferentes recursos de laboratorio, y entre ellos el cultivo en la membrana alantoidea del embrión de pollo.

Un caso análogo sucede en la vacunación antitífica, con el antígenos Vi o de virulencia. Este antígeno desaparece también y con facilidad en los cultivos artificiales de laboratorio. Se ha estudiado la técnica de conservación con artificios culturales y algo se ha conseguido en este sentido.

No basta conservar la imagen antigénica completa en el germen, es preciso que la vacuna contenga los antígenos principales y que lleguen al individuo vacunado con la plenitud de sus propiedades; para esto es condición indispensable que el germen no pierda durante su cultivo ni en las manipulaciones ulteriores ninguna de sus propiedades antigénicas indispensables.

El investigador debe seguir la posible variación de la vacuna durante todo su periodo de caducidad. Y así debe escoger entre los conservadores, aquellos que menos perturben y modifiquen la constitución química de los antígenos.

En la vacuna preparada con bacilo de BORDET en fase primera, se ha demostrado que es mucho más perjudicial el calor, por ejemplo, que el ácido fénico. El antígeno Vi, por el contrario, se conserva mejor en una solución de merciolato sódico que en fenol, y todavía es más conservadora la sacarosa e incluso el alcohol.

Otras veces la cantidad de antígeno obtenido resulta en exceso de dilución y para que produzca efectos inmunizantes precisa concentrarle; esto se logra

mediante técnicas de purificación y concentración como se ha hecho, por ejemplo. con la anatoxina diftérica.

Entre otros casos, como en la elaboración de vacunas antigripales, las técnicas son todavía imperfectas, aunque mucho han adelantado en estos últimos tiempos. HEROT, en 1942, congelando y descongelando el líquido alantoideo de embriones de pollo inoculados con el virus de la influenza, logra un precipitado coposo que contiene el virus en casi su totalidad. Otro procedimiento más perfecto — que logra concentraciones diez veces superiores — se basa en aprovechar la propiedad de los glóbulos rojos de pollo, que fijan el virus, eliminándolo luego con facilidad.

Otro de los factores que intervienen en la modificación de la virulencia de los gérmenes y virus, es el factor de difusión de DURÁN REYNALS, cuyas primeras investigaciones fueron hechas también en nuestro Laboratorio Municipal. El factor fundamental de la infección está relacionado con la permeabilidad tisular. El tejido conectivo tiene un tono normal de permeabilidad, que puede acentuarse por la acción de ciertos factores y debilitarse por la acción de otros, y estas fluctuaciones del grado de permeabilidad van paralelamente y tienen una importancia decisiva en el desarrollo final del proceso. Entre los factores que aumentan la permeabilidad tenemos al de DURÁN REYNALS, entre otros que actualmente se identifican con los fermentos mucolíticos.

En 1934, MEYER y PALMER descubrieron que en el humor vitreo del gato existía un polisocárido formado por partes equimoleculares de hexosamina (d-glucosamina), ácido hexurónico (glucourónico) y acetilo (aparentemente N-acetil-glucosa), y denominaron ácido hialurónico.

Posteriormente hallaron también este ácido en el humor acuoso, en la gelatina de WARTHON, etc., y otros investigadores la han encontrado en la piel del conejo y en las facias encontraron una substancia mucoide que daba las reacciones típicas del ácido hialurónico.

Existen otros factores fisiológicos que modifican la permeabilidad del tejido conectivo y que tienen influencia en la infección y en la resistencia.

En las investigaciones sobre factores de difusión, pronto se advirtió que aunque los factores fisiológicos eran los más potentes para modificar la permeabilidad tisular, no eran, sin embargo, los únicos, ya que la edad y la raza, así como las características individuales y locales de la piel, tienen una gran importancia como factores determinantes.

Tenemos métodos para medir la permeabilidad del tejido conectivo. Consiten en la práctica de inyecciones intersticiales — generalmente en la piel — con materias coloreadas, como la tinta china o colorantes poco difusibles, como el azul de EVANS. También se utilizan substancias tóxicas, como la toxina diftérica diluída, que producen ligeras reacciones locales. La extensión de una infección local es por sí misma control indicador del estado de permeabilidad tisular.

Los factores constitucionales fueron estudiados principalmente por LURIE y ZAPPAODI, utilizando la tuberculosis en seis familias de conejos. Cuando los individuos de la familia A, la más resistente, se exponían a la infección por medios naturales, originaban una ulceración local comparable con el tipo de reinfección de la tuberculosis humana. Cuando la familia F, la más susceptible, se infectaba de una manera similar, aparecía una infección ampliamente difusa, con las características de la primo-infección humana.

Cuando se exploró con tinta china la permeabilidad cutánea de los conejos, se halló que las áreas de difusión eran inversamente proporcionales al tiempo de supervivencia.

La importancia del sexo y de las hormonas fueron estudiados, respectivamente, por LURIE y ZAPPAZODI y SPRUNT.

Mc. MASTER y PARSON han demostrado: que la difusión del colorante es mayor en el animal vivo que en el animal recién muerto, que la presión mecánica externa y el movimiento promueven la difusión del líquido intersticial, y que durante las primeras fases de la formación del edema la difusión es rápida, y que ocurre lo contrario en las fases finales. La inmovilización de las extremidades de los conejos, retarda mucho la absorción de veneno de los ofidios y de toxinas bacterianas, lo que sugiere una disminución de la permeabilidad del tejido conectivo, como se observó en conejos desnutridos. Estos animales mostraron una susceptibilidad disminuída a la infección vacunal.

Al lado de los factores edad, sexo, constitución, etc., hay otros que condicionan la permeabilidad tisular, las vitaminas. La vitamina C, especialmente, está relacionada con la formación del cemento intercelular, elemento que como se verá, es antagónico del factor de difusión.

Está fuera de duda que un tejido conectivo permeable es un factor importante en la determinación de la susceptibilidad a la infección.

DURÁN REYNALS y SUÑER PI indicaron en 1928, que la inoculación vacunal del conejo se acentuaba notablemente cuando el virus se inyectaba en la piel conjuntamente con extractos acuosos de testículo de conejo, rata o cobayo. Estas observaciones fueron pronto extendidas a otros agentes infectivos y a diversas especies animales.

Este efecto difusor del extracto testicular, fué pronto confirmado por otros autores y posteriormente se ha comprobado en diversas bacterias, en insectos venenosos, en el veneno de las serpientes y en otras fuentes diversas.

MEYER demostró, en 1936, que una enzima presente en los autolizados de Neumococos, en el tejido iridial del conejo, bazo y cuerpo ciliar, hidrolizaba el ácido hialurónico obtenido del humor vitreo, líquido sinovial, cordón umbilical y de los estreptococos; este hallazgo fué confirmado por ROBERT y DURAND en 1940, con preparaciones de Cl. Welchi, actuando sobre líquido sinovial.

No se estableció la correlación entre estos enzimas y los factores de difusión hasta que CHAIN y DENETIÉ, en Oxford, el año 1.939 identificaron algunos de ellos con las enzimas mucolíticas (hyalurodinasas) y describieron el fenómeno de la difusión en los tejidos animales, como un efecto enzimático sobre el ácido hialurónico del tejido conectivo. El hallazgo fué rápidamente confirmado por los investigadores americanos y europeos.

Los factores de difusión existen en muchas especies bacterianas, alcanzando elevadas proporciones en las razas invasivas. Los virus filtrables — al menos los hasta ahora comprobados — carecen de ellos.

Los factores de difusión bacterianos en las infecciones

La inyección de cultivos bacterianos secretantes del factor de difusión, va seguida de los mismos fenómenos que si se añadieran los mismos factores al agente infectivo.

Al apreciar la parte que juegan los factores de difusión y los restantes medios de agresión bacterianos en la invasión de los tejidos, debe tenerse en cuenta que los efectos de estos elementos se dirigen contra la barrera (leucocitos) que el propio invasor ha provocado. El factor de difusión actúa sobre la barrera fisiológica preexistente (tejido conectivo).

Ello hace suponer que sean estos factores de difusión los elementos puestos en juego en primer lugar por las bacterias para atacar el organismo infectado. En este aspecto las infecciones Estrepto y Estafilocócicas son muy demostrativas.

Las cepas de Estafilococos pueden clasificarse según la calidad y extensión de las lesiones que provocan al inyectarse intradérmicamente al conejo, que es tanto como indicar la cantidad de factor de difusión que segregan.

El papel jugado por estos factores en las infecciones estreptocócicas es más complejo. Existen estreptococos que poseen hialurodinasa, mientras en otros puede encontrarse el ácido hialurónico en su cápsula.

BUSSARD BEQUINGON y LAMY han publicado en los Anales del Instituto Pasteur el pasado año, unos trabajos en los que han podido comprobar que la baba del perro normal, añadida al virus rábico fijo, e inoculada al cobayo por vía subcutánea, le produce la infección, y que esto mismo acontece en el cobayo y en el conejo, cuando se inocula virus fijado adicionado de hyalurodinasa, de origen testicular.

Investigaciones posteriores han permitido comprobar la existencia de hyalurodinasa en la baba del perro normal.

Algo muy parecido a esto había visto DURÁN REYNALS en 1928 y HOFFMAN en 1931, sobre la influencia del factor *T* en la difusión de los virus.

Hemos visto en el curso de esta breve síntesis, como la atención de los investigadores se ha dirigido con preferencia hacia los problemas de tipo serológico, y por lo tanto, al estudio de los antígenos y anticuerpos. En algunos casos es indudable que este camino les ha llevado a conseguir el objetivo deseado, pero en otros — seguimos a CALMETTE y BESREDKA — les habrá llevado por caminos torcidos, ya que en muchos casos los antígenos y anticuerpos no representan, en el conflicto inmunológico, otro papel que el de mudos testigos.

La investigación de antígenos y anticuerpos cuenta por otra parte con técnicas apropiadas y definidas que, permitiendo su exacta dosificación, pueden llevar a conclusiones perfectas. Sin embargo, el trabajo no está todavía agotado, ya que es preciso un estudio de revisión, que deberá ser en muchos casos monográfico.

No bastan tampoco los medios y las vías señaladas, hay que profundizar en otros aspectos ya conocidos, interesando los tegumentos, los órganos y los humores. Sin olvidar los problemas de la anafilaxia, la alergia, etc.

Y tampoco con esto hemos agotado el tema; nos queda todavía el estudio del sistema neuro-vegetativo y del sistema retículo-endotelial. Del primero nos dieron clara luz los trabajos de METALNIKOFF y REILLY. Y el segundo ha sido la base de numerosas investigaciones, cuyos frutos están lejos de agotarse.

También la piel, como protectora directa de nuestro organismo, merece mencionarse. Con su caja de quitina, su específico pH y su complicada reserva de fermentos.

Decía Claudio Bernard: «Se da generalmente el nombre de descubrimiento al conocimiento de un hecho nuevo, pero yo pienso que es la idea que se junta al hecho, lo que verdaderamente constituye la realidad del descubrimiento».

Y no sabría terminar este discurso sin hacer un llamamiento a las generaciones jóvenes, para alentarlas en este camino glorioso de la investigación, olvidando por un momento las dificultades del vivir presente. A ellos, que han sido educados en los secretos de la investigación moderna y que poseen una preparación modélica que nosotros no tuvimos, corresponde la alimentación de este fuego sagrado que brilla afortunadamente y todavía en nuestras escuelas. Y a nosotros, en la hora de ceder el relevo en esta encrucijada histórica, la satisfacción y el orgullo de poner la antorcha luminosa en buenas manos.