

INMUNIDAD ANTI-INFECCIOSA

PRESENCIA DE SUSTANCIAS ESPECIFICAS EN LOS LEUCOCITOS DE ANIMALES INMUNIZADOS

Conferencia pronunciada por el Delegado Argentino, Dr. ALOIS BACHMANN en la primera sesión plena de la segunda Conferencia de Higiene, Bacteriología y Patología Sud-americana, reunida en la Ciudad de Rio Janeiro.

Así como la aglutinación perdió la importancia que se le quiso dar en la inmunidad anti-infecciosa, también la bacteriolisis y demás cuerpos humorales, con el andar del tiempo, han ido cediendo poco a poco la hegemonía que pretendían ejercer.

Con el descubrimiento de Pfeiffer y los estudios de Ehrlich, Morgenroth y Bordet sobre los cuerpos líticos del suero, éstos fueron señalados como los portadores de la inmunidad, y el estudio de ellos y del amboceptor, fueron confundidos con el de la inmunización activa. La fácil constatación del fenómeno de Pfeiffer y su extensión a varios otros microbios, la elegante demostración *in vitro* de la presencia de las sustancias líticas por intermedio de la hemólisis específica; lo mismo que la constatación absoluta de la presencia en la sangre circulante del elemento específico de estos fenómenos, como también la opinión defendida especialmente por la escuela alemana, de la presencia del complemento en el plasma circulante; parecían elementos indestructibles de la teoría humoral, de la que ponía en los humores del organismo el asiento de todos los procesos realizados durante

el acto inmunizatorio, para la destrucción de los microorganismos que invaden al hombre o a los animales. Este modo de ver fué facilitado y ayudado ampliamente por la teoría del genial investigador Ehrlich, así como por las hipótesis auxiliares, que no otra cosa son las aseveraciones de Neufeld y de Wright, con sus bacteriotropinas y opsoninas, las que con el análisis sucesivo y el estudio ulterior de sus manifestaciones, no pudieron diferenciarse como cuerpos nuevos, sino como manifestaciones diferentes de una misma substancia (de las bacteriolisinas las primeras y del complemento las segundas) ante células de diferente constitución. Si la membrana celular lo permite, si su constitución es adecuada, por la presencia del amboceptor en unión del complemento, se efectúa la lisis; pero si, en cambio, su naturaleza es tal que ella no puede producirse, el efecto de la acción específica se traduce en una fácil fagocitosis. La lisis es, por lo tanto, sólo un caso especial del fenómeno general de la absorción, de la fijación por el elemento sensible, del amboceptor, que, en este caso especial, gracias a la fragilidad de la membrana celular, puede provocar, en unión del complemento, la lisis; mientras que la mayoría de los microbios patógenos resisten a esta acción, merced a su constitución, y sólo queda su membrana fisio-químicamente modificada de tal modo, que pueden ser fácilmente fagocitados.

De manera, pues, que para la teoría humoral, la modificación sufrida por los elementos sensibles, ya sean células o microbios, por efecto del amboceptor, es lo esencial. De ese fenómeno depende su destrucción; sin ese cuerpo, sin su acción, no hay destrucción ulterior, no hay eliminación. Si ésta se efectúa directamente en los humores, gracias a la lisis del elemento ya sensibilizado por el amboceptor, mediante el complemento o por fagocitosis provocada también por la modificación fisio-química de la cubierta microbiana o celular por el elemento específico, es una cuestión completamente secundaria; lo esencial, lo pri-

mordial es la acción específica directiva de los humores orgánicos, efectuada gracias a la presencia del amboceptor.

Las esperanzas fundadas en este modo de encarar el problema, no han respondido al deseo de sus sabios fundadores. Poco a poco se acumulan, hecho tras hecho, que no encuadraban en esta doctrina y que, muy al contrario, estaban en fundamental oposición con ella. Esta se encuentra hoy tan intensamente sacudida, que debemos dar completa razón a Sauerbeck, cuando sostiene que el estudio de los anti-cuerpos no debe confundirse con el de la inmunidad.

Sin embargo, es tan pesada la influencia de la acción ejercida sobre los espíritus, por la enorme cantidad de trabajos efectuados bajo la influencia de la inmunidad lítica, de tan fácil y elegante constatación en el tubo de ensayo, que cuesta trabajo desprenderse de su influencia, y en más de una ocasión, se ha tratado de forzar los hechos para encauzarlos dentro de esa corriente de ideas.

Son, a pesar de todo, tantos los elementos acumulados hoy día, y que no pueden en manera alguna explicarse por intermedio de la teoría humoral, que ella debe ser abandonada, por lo menos como elemento esencial, preponderante y único para explicar el fenómeno inmunizatorio.

Los sueros bacteriolíticos no dieron en la práctica los resultados que de ellos se esperaban; así, por ejemplo, uno de los sueros de más antiguo conocido y el más experimentado en el hombre, el antitífico, no sólo no da buenos resultados curativos, sino que a veces su acción es francamente nociva, llegándose a la paradójica conclusión de Chantemesse, que cuanto más grave es el caso tratado, tanto menor cantidad de suero hay que inyectar.

La experimentación tampoco deja mejor parados a estos sueros, y son numerosos los elementos de juicio hoy día acumulados en su contra, algunos de los cuales pasaremos rápidamente en revista.

Así, por ejemplo, Töpfer y Jaffe, estudiando el suero anti-colérico, demostraron que no hay concordancia entre la acción *in vitro* e *in vivo*. Razón por la cual llegan a suponer que la destrucción de los microbios en uno y otro caso, no se debe a la misma causa, vale decir, a la misma substancia.

Deutsch llega a conclusiones semejantes, pues hace notar la diferencia de acción *in vivo* del suero antipestoso preparado con bacilos vivos, del obtenido mediante la inyección de microbios muertos. El primero es más activo que el segundo, a pesar de que ambos pueden tener el mismo tenor de anti-cuerpos, demostrables en el tubo de ensayo; luego no pueden ser éstos, por lo menos por sí solos, los portadores de la inmunidad.

En el mismo sentido se manifiestan Garbet y Meyer, quienes han demostrado que el suero obtenido mediante inyecciones de bacilos sensibilizados, vale decir, cargados de amboceptor, es mucho más activo *in vivo* que aquel conseguido mediante la introducción de bacilos que no han sufrido este tratamiento previo. Esto a pesar de que ambos poseen la misma cantidad de bacteriolisinas, demostrables en el tubo de ensayo. No queda solo este ejemplo, porque Swift y Kinsella han efectuado comprobaciones semejantes con el estreptococo Viridans y el neumococo. Si se efectúan inyecciones con el Viridans sensibilizado, no hay formación de anti-cuerpos, fenómeno que también han observado introduciendo en el organismo del conejo neumococos muertos y cargados de amboceptor y a pesar de la ausencia de anti-cuerpos demostrables *in vitro*; cosa que sucede en ambos casos; los animales están inmunizados pues soportan la inyección de dosis mortales de cultivo para los testigos.

También Kakehi, al estudiar la inmunidad producida mediante la inyección del cocobacilo de la pseudo tuberculosis, nos demuestra que los animales tratados con vacuna sensibilizada obtienen igual grado de inmunización que aquellos que sólo reciben el bacilo común; pero estos últimos contienen mayor cantidad de anti-cuerpos. Razón por la cual Kakehi sostiene que la

avaluación *in vitro* de estos elementos, no da la medida exacta del estado de inmunización.

Antes que Kakehi, Besredka llega a conclusiones semejantes, estudiando el suero anti-estreptococcico de Aranson, al que encontró desprovisto de amboceptor, a pesar de lo cual en la experimentación se manifiesta francamente preventivo; hecho que ha sido confirmado por Schenk, al estudiar esta misma clase de suero, obtenido en el conejo.

En la inmunidad carbunclosa Bail y Petterson han demostrado evidentemente que, el amboceptor no desempeña función alguna en la resistencia del animal en contra de dicha infección; pues los vacunos muy sensibles a esta enfermedad, tienen un suero que posee tal cantidad de anticuerpos, que difícilmente pueden ser agotados por la absorción específica y en cambio en el perro que es relativamente inmune, sucede todo lo contrario.

No solo pasa esto en la inmunidad natural contra el carbunco, sino que sucede lo mismo en la adquirida (contra este microbio), como lo ha demostrado Petterson, quien ha podido establecer que, el suero del perro vacunado es tan inactivo "in vitro" como antes de la vacunación. Este fenómeno se hace más notable aún, en el conejillo de Indias, pues, a pesar de poderse inmunizar fuertemente a este animalito en contra del carbunco, su suero, por lo general, está completamente desprovisto de anticuerpos; tanto que solo de vez en cuando se puede transmitir por su intermedio la inmunidad pasiva. Luego en estos casos es bien evidente que la sede de la inmunidad no puede en manera alguna residir en la presencia de los anti-cuerpos y estar localizada en los humores, incapaces de transmitir la inmunidad.

Es cierto, que en la explicación de la inmunidad carbunclosa, nunca ha desempeñado un papel importante el amboceptor; pero aún en la antitífica, cuyo suero, conjuntamente con el anti-colérico, han sido, en todo tiempo, los caballos de batalla de la inmunidad lítica, se acumulan una serie de hechos que le quitan mucho de su anterior gerarquía, tanto que algunos la anulan.

Así por ejemplo, Svenson, después de una serie de prolifas investigaciones sostiene, que la sanación y la inmunidad antitífica, no pueden solamente explicarse por la presencia de las bacteriolisinas, pues puede establecerse un estado de inmunización sin la presencia de ellas. Svenson sostiene que debemos considerar a los anticuerpos como un fenómeno concomitante, como un síntoma importante de la sanación, pero no identificable con ella.

Algo semejante es la conclusión a que llegaron Carriere y Tomasin, quienes han visto, que el suero de los conejos inyectados endovenosamente con el vibrión colérico, adquiere rápidamente fuertes propiedades líticas, a pesar de lo cual posee pocas propiedades curativas.

Hace tiempo que Besrelka, al estudiar la inmunidad antitífica provocada en el hombre, mediante inyecciones de vacuna adecuada, llegó a decir que, no está demostrada en manera alguna, la importancia de las propiedades bacteriolíticas, en la inmunidad.

No solo se puede llegar a esta conclusión en la tifoidea, sino que también Calmette y Masrol sostienen cosa parecida en la tuberculosis. Estos autores, nos afirman después de minuciosos estudios, que no se puede considerar a los anti-cuerpos como elementos esenciales de la inmunidad contra la infección tuberculosa, más bien parecen ser ellos los testigos de reacciones celulares, contra los productos tóxicos segregados por los bacilos, en los tejidos parasitados. Por su parte Schürer después de un meditado trabajo experimental, llega a conclusiones semejantes, sosteniendo que, en la infección tuberculosa, la presencia de aglutininas, precipitinas, bacteriolisinas y cuerpos fijadores del complemento no permiten opinar sobre el grado de inmunidad adquirida.

Son tan importantes y tantos los argumentos que se acumulan en contra de la importancia exclusiva de la inmunidad lítica que, el mismo Kofle, uno de los primitivos campeones de la teoría humoral, tiene que convenir con estos hechos y nos dice, que la presencia de los anti-cuerpos, no bastan en todos los casos, para explicar el proceso inmunizatorio porque en ciertas infecciones,

se produce una inmunidad verdadera, sin que pueda ponerse en evidencia la presencia de dichos anti-cuerpos.

Después de estudiar la inmunidad tífica y colérica, dice que si bien los anti-cuerpos nos permiten, en cierta manera medir la intensidad de la inmunidad, no bastan ellos para explicar todos los procesos inmunizatorios.

En el hombre, es fácil observar, en los vacunados, en contra de la tifoidea y del cólera, que después de cierto tiempo, el suero de estos sujetos no puede ser diferenciado "in vitro" del de los hombres no vacunados y sin embargo no adquieren la enfermedad, aún cuando se expongan a ella; razón por la cual insiste Kolle, para sostener que los anti-cuerpos no bastan para explicar estos fenómenos.

Sobernheim, también llega a la conclusión de que al lado de los cuerpos disueltos en la sangre hay que tener en cuenta una modificación biológica de los tejidos.

Verdad es que Colle, sostiene, que, en estos casos las bacteriolisinas se forman más rápidamente; pero ellas se forman, como lo demuestran sus propias experiencias, después de la destrucción de los microbios inyectados.

Este hecho ha sido experimentalmente demostrado por Liebermann y Acel. Estos autores inmunizan conejillos de Indias en contra del bacilo de Eberth, dejan pasar un tiempo y cuando el suero de esos animalitos no es capaz de conferir la inmunidad pasiva. ellos comprueban que a pesar de esta circunstancia los cobayos siguen inmunes, pues la infección de prueba no los mata. Con razón dicen estos autores, que la inmunidad reside en factores independientes de los humorales y que tampoco puede estar basada, como lo supone Colle, en la mayor facilidad y rapidez de la producción de los anti-cuerpos, pues estos aparecen en los animales después que la infección ha sido dominada.

Hay además, muchos otros argumentos que demuestran la falta de importancia del amboceptor, en ciertos procesos inmunizatorios.

Así vemos Sawtchenko y Melkich, han podido establecer que en la fiebre recurrente los anti-cuerpos aparecen después que se efectúa la fagocitosis, luego ellos son una consecuencia y no la causa de la inmunidad. Un fenómeno semejante ha sido observado por Levaditi y Rocher en el "tic feber", cuya espiroqueta, en las ratas infectadas, desaparece merced a una activa fagocitosis, apareciendo los anti-cuerpos recién a los tres días después de haberse realizado ese acto.

Algo por el estilo observan Neufeld y Hühne, quienes sostienen que en la crisis neumónica se forman anti-cuerpos difícilmente demostrables "in vitro", pero fácilmente constatables "in vivo"; tesis en la cual son acompañados por Seligmann, Klopstock y Dorsche.

Como si todos estos factores no bastasen para quitarle importancia al amboceptor, Weil lleva mucho más lejos la argumentación. Este sabio agota, mediante absorciones repetidas el suero obtenido en contra de la infección causada por el coco bacilo del cólera de las gallinas, de todas sus propiedades serológicas observables "in vitro"; de modo que no queda ni trazos de amboceptor, bacteriolisinas, etc. A pesar de ello, el suero no pierde sus propiedades preventivas, con tal que se le inyecte algunas horas antes de la infección. Esta constatación de Weil que con razón, podemos llamarle por su capital impotencia, el fenómeno de Weil, no ha quedado aislada. Prettner, al estudiar la inmunización provocada por la inyección del bacilo productor de la erisipela de los puercos, comprueba que el suero no es bactericida "in vitro", ni "in vivo" y que tampoco pierde su poder preventivo por agotamiento. En este mismo orden de ideas se expresa Spät, quien estudiando este mismo suero comprueba estos hechos; lo que deja definitivamente demostrado, que por lo menos, para ciertos casos la acción de los anti-cuerpos, demostrables "in vitro", no intervienen como elementos indispensables en la inmunidad.

Basándose en estos y otros estudios Weil en unión con su

colaborador y discípulos Braun sostienen, que los sueros anti-infecciosos pueden dividirse en dos categorías, unos en los cuales el amboceptor, las opsoninas y las bacteriolisinas desempeñan un papel más o menos importante (tifus, cólera, etc.) y otros como en las septicemias hemorrágicas, en los cuales estos cuerpos no tienen mayor acción o la tienen muy limitada. Sin embargo este modo de ver, después de las experiencias citadas de Liebermann y Acel, no pueden a mi juicio ser sostenidas.

Todos estos hechos nos demuestran que forzosamente deben existir otros elementos que entra en juego en todos estos procesos, en los cuales los anti-cuerpos no desempeñan probablemente otro rol que el de cuerpos auxiliares, cuando ellos existen y en más de una ocasión, cuando se encuentran en grandes cantidades, pueden llegar a ser un peligro.

En la experimentación animal, se comprueba que aumentando las dosis mortales de bacilos y de suero se llega a un límite, en el cual la disolución bacteriana que provocan, mata a los animales por intoxicación, mediante los productos endobacterianos puestos en libertad por la lisis microbiana. En una palabra se provoca la muerte por envenenamiento por las endotoxinas.

Los sueros bacteriolíticos tienen por lo tanto una acción limitada como preventiva y nula como curativos.

Wassermann supuso que este fenómeno era causado por la insuficiencia del complemento. Sabido es, que la porción específica del anti-cuerpo, el amboceptor, puede aumentar en grandes cantidades durante la inmunización, mientras que la parte común a todos los sueros, la alexina o complemento, queda constante o con ligeras variaciones que no dependen del proceso inmunizatorio. En virtud de estas consideraciones Wassermann, aconsejó efectuar las inyecciones de suero con adición de complemento, vale decir, de suero fresco de animal no inmunizado.

Sin embargo, las experiencias de Sobernheim y Jacobitz, dirigidas para dilucidar este punto no son satisfactorias, porque

ellas comprobaron que la adición, al suero anti-colérico, de alexina, no aumentan de manera apreciable su valor terapéutico.

En cambio las experiencias de Weil tienden aparentemente a dar, hasta cierto punto, razón a la tesis sostenida por Wassermann pues el sabio experimentador anteriormente nombrado, inyectando al mismo tiempo que el suero específico, una mezcla fijadora del complemento, constata que no actúa y el animal muere. Este fenómeno, es probablemente de orden leucocitario, tan es así, que el mismo Weil, ha demostrado que, provocando una leucocitosis previa, el animal a pesar de la inyección de la mezcla anti-alexica, se salva, razón por la cual este autor, actuando en un medio francamente favorable a la teoría humoral, acaba por dar razón al sabio contrincante de ella, al genial investigador y eminente biólogo, el gran Metchnikoff.

Todos vosotros sabéis que este sabio maestro, guiado por una intuición genial creó su concepción de la fagocitosis, del estudio efectuado en una infección de unos dáfnidos, en los cuales vió establecerse una lucha entre las células mesodérmicas y el agente invasor, un esporo de alga. La suerte del animalito dependía de esa lucha, si las células mesodérmicas podían englobar y digerir a los invasores, la infección era vencida, quedaba detenida; en caso contrario la muerte del dáfnido era segura.

Las necesidades de la lucha, entablada rudamente, por los contrarios del sabio ruso y las dificultades de la técnica, alejaron a Metchnikoff de esta vía sencilla, lanzándolo poco a poco en el intrincado laberinto de los animales superiores, de los mamíferos, complicación a la cual se añadía la que traía aparejada la presencia indiscutible del amboceptor, por él llamado fijador, en la sangre circulante. Tuvo por lo tanto que aceptar la imposición de sus adversarios sostenidos por las experiencias de Denys y Lefclé; de Wright y sus discípulos, así como por los de Neufeld y

sus colaboradores, de que los leucocitos, solo son capaces de fagocitar aquellos elementos que sufren la influencia de los humores del organismo. En una palabra la fagocitosis, según esta concepción queda reducida a eliminar, lo que los humores del organismo señalan con su acción específica y directiva, que los experimentadores antes mencionados habían conseguido establecer al demostrar que, la acción del amboceptor, opsoninas, bacteriotropinas, etc., se ejerce directamente sobre las células sensibles, sean ellas microbios u otras y no sobre los leucocitos. Demostrándose también que no se distinguen "in vitro" es decir en el tubo de ensayo, los fagocitos provenientes de animales nuevos o inmunizados.

A pesar de la veracidad de estas experiencias, inobjetables dentro del dispositivo experimental, adoptado por sus autores, nunca dejó de lado Metchnikoff su hipótesis primitiva, según la cual la inmunidad se debía más que nada a la acción fagocitaria y el aumento de este estado sería debido, según él a la presencia de cuerpos especiales, los que actuarían sobre los leucocitos, activando, estimulando su acción; razones por las cuales les llamaba estimulinas. Aún en sus últimos trabajos no abandonaba del todo su idea y objetaba con razón a sus contrincantes, que la experimentación "in vitro" no puede nunca ser el fiel reflejo de lo que pasa en el organismo.

Sin embargo, en estos últimos años se han acumulado una porción de argumentos experimentales, que tienden a devolver su jerarquía a los leucocitos. Hace tiempo ya que Deutsch y Feistmantel, así como Kruse, sostuvieron que, los agentes infecciosos solo podían desempeñar su acción, merced a las sustancias que eliminan o segregan y cuya misión esencial es la de rechazar a los leucocitos, para poder pulular fácilmente. Estos cuerpos seguramente no son las hipotéticos, porque van de Velde los ha puesto en evidencia con el descubrimiento de la leucocidina en los cultivos del estafilococo piógeno, habiéndose señalado también su existencia en otros microorganismos, cuerpos que fueron

designados de acuerdo con Bail con el nombre de agresinas, teoría esta última que no ha podido resistir los embates de sus adversarios, como ser Wassermann, Citron, Doer, Sauerbeck, etc., los que han demostrado que las agresinas y la inmunidad anti-agresínica no son otra cosa, las primeras que las endotoxinas bacterianas y la segunda un estado anti-bacteriano, una inmunidad bactericida, en el amplio sentido de la palabra.

Estos estudios de Bail y sus colaboradores han tenido sin embargo su importancia, porque han servido para llamar poderosamente la atención sobre las transformaciones sufridas por los microbios en el organismo humano o animal, transformaciones que Bail sintetiza, con el nombre de bacilos animalizados. Estos se comportan biológicamente de una manera diferente de los de cultivo. En conjunto se manifiestan más resistentes a la acción de los sueros y a la fagocitosis, modificación que también tiene su representación morfológica en la formación capsular (carbunco, neumo, estrepto) en la tinción bipolar (peste, septicemias hemorrágicas) y en las modificaciones de forma y tamaño (tifoidea, coli, etc.).

Estos estudios tienen la virtud de volver a llamar la atención sobre la fagocitosis, más que nada porque solicitan la atención directa sobre la relación de leucocitos y microbios.

Así se demuestra que el bacilo del carbunco capsulado, que se forma en el organismo, escapa fácilmente a la fagocitosis, por un mecanismo propio del microbio, porque se transforma biológicamente de tal modo que resiste a la acción fagocitaria. Cosa igual sucede con el estreptococo, microbio en el cual demostró Marchand que su actividad patógena está en relación inversa con su facilidad de ser fagocitado, vale decir que un coco fácilmente englobado por los polinucleares de un animal determinado, no es patógeno para esa especie y que a medida que por pasajes sucesivos adquiere patogenicidad, va perdiendo su facilidad de ser fagocitado; tanto que los francamente virulentos no son englobados por los leucocitos.

Lo mismo se ha probado para el neumococo, microbio en el cual Rosenow lleva más lejos la experimentación, demostrándonos que la resistencia a la fagocitosis, se debe a una substancia que puede aislarse de los cocos virulentos y a la cual dió el nombre de virulina, virulina que impide la fagocitosis de los neumococos no virulentos.

Constataciones semejantes efectúa Tschistowich, con el bacilo del cólera de las gallinas, bautizando al cuerpo que impide la fagocitosis con el nombre de antifagina; antifaginas que al decir de Tschistowich son específicas, porque solo impiden la fagocitosis del bacilo que les dá origen y lo que es aún más importante solo actúa en contra de los leucocitos de los animales sensibles a la acción de estos microbios, no ejerciendo poder alguno en contra de los fagocitos de los animales naturalmente inmunes. Se demuestra de este modo una diferencia cualitativa bien apreciable de residencia exclusiva en el glóbulo blanco, no en los humores del organismo. La importancia intrínseca de los leucocitos las demuestran también algunas de las experiencias que nacen a consecuencia de las anteriormente señaladas. Así Bail nos ha demostrado que los bacilos del carbunclo animalizados, que escapan fácilmente a la fagocitosis, por causa de la transformación biológica que sufren durante su estada en el organismo, son destruidos, tan fácilmente como los de cultivo, por una mezcla de leucocitos y suero, cuando los primeros por efecto de su permanencia en el tubo de ensayo abandonan sus endolisinas. Cosa parecida sucede con los estreptococos virulentos no fagocitables "in vivo"; la mezcla de leucocitos y sueros, congelados por el método de Buchner, para la eliminación de las substancias bactericidas, destruye tan fácilmente a los cocos de cultivo como a los animalizados.

Vemos acumularse datos, que tienden a devolver su jerarquía a los leucocitos; más aún, una serie de experiencias que a continuación mencionaré les dá mayor realce.

Uno de los más ingeniosos discípulos de Metchnikoff, Can-

tacuzene para demostrar la capital importancia de los leucocitos, impide el aflujo de los fagocitos a la cavidad peritoneal de chanchitos inmunizados contra el vibrión colérico, por intermedio de la narcosis con tintura de opio. Pues bien; los animales narcotizados y fuertemente inmunizados, infestados en el peritoneo, mueren y tan mueren por falta de fagocitosis y no por la suma de los dos elementos perjudiciales, es decir, el opio y la infección, que Cantacuzene, provocando una leucocitosis peritoneal previa, mediante la inyección de un poco de solución fisiológica la víspera de la experimentación, ve salvarse a los chanchitos narcotizados e infestados peritonealmente.

Los animales se salvan, porque los leucocitos acumulados en la cavidad peritoneal, gracias a la leucocitosis previa, provocada artificialmente, ejercen activamente su papel fagocitario y dan cuenta de los microbios inyectados; demostrando así, de una manera palmaria la capital importancia de estas células en la inmunidad. Esta experimentación, ha sido repetida y confirmada para otros microorganismos, así el mismo Metchnikoff la observa con el bacilo de la peste, Open con el de Eberth y Georgewitch comprueba igual cosa para el puocianico.

En todas estas experiencias cabe una objeción fundamental. Al provocar la leucocitosis peritoneal, no solo acuden los leucocitos, sino que también se acumula plasma, en el cual están suspendidos los glóbulos blancos, plasma cuya acción suponen fundamental, los enemigos de la fagocitosis.

Para obviar esta fundamental objeción, he efectuado una serie de experiencias con el fin de eliminar por completo la posible acción del plasma de los exudados de los chanchitos.

Demostré que la dosis del bacilo de Eberth, no mortal para un chanchito común no inmunizado, se torna en letal si el animal es previamente narcotizado y como es fácil suponer, la leucocitosis previamente provocada, salva al animal, aún es estado de narcosis, gracias a la fagocitosis efectuada por los leucocitos acumulados con anticipación en el peritoneo, fagocitosis que se pue-

de seguir paso a paso mediante extracciones del líquido peritoneal.

Pude demostrar, que realmente la causa de la sanación de los animales narcotizados reside en la leucocitosis, inyectándoles en el peritoneo, momentos antes de la infección, el exudado de otro chanchito, es decir que el animalito se salva por intermedio de una leucocitosis pasiva, prestada. Para eliminar por completo la acción del plasma del exudado, sedimenté a este, e inyectaba al chanchito narcotizado, solamente los leucocitos, infectándolo poco después con una dosis mortal del bacilo de Eberth.

Los animalitos así tratados, soportaban perfectamente bien, sin molestias la infección. En cambio aquellos conejitos que solo recibían el plasma, residuo de la sedimentación del exudado, morían lo mismo que los testigos o antes. Demostrándonos entonces estas experiencias, que la acción fundamental y decisiva en el exudado lo ejercen los leucocitos. Inauguraba así un nuevo método curativo, por intermedio de la inyección de leucocitos e insisto en ello porque cuatro años después, repite Petterson experiencias parecidas en Europa, sin mencionarme y algunos autores tratan a este experimentador como el iniciador de estas ideas.

He llevado mucho más lejos la experimentación, demostrando que los leucocitos de los animales inmunizados gozan de propiedades específicas, que los diferencian francamente de las mismas células obtenidas de seres nuevos o vírgenes de inmunización.

Pude demostrar, que se necesita alrededor de seiscientos millones de leucocitos privados de plasma, provenientes de animales nuevos e inyectados momentos antes de la infección, en el peritoneo de los conejillos de Indias (no narcotizados) para salvarlos seguramente de la infección Eberthiana, mortal para un testigo. En cambio, bastan solamente quince millones de la misma clase de células, provenientes de un animal inmunizado, previamente separadas de su plasma (el que también es activo) y suspendidas en solución fisiológica, para obtener el mismo resul-

tado. Vale decir por lo tanto, que las células inmunes son alrededor de 40 veces más activas que las similares comunes.

Han adquirido por lo tanto los leucocitos de los animales inmunizados una propiedad específica, altamente importante y que he conseguido demostrar por primera vez, mucho antes que algunos experimentadores europeos que luego mencionaré.

Esta, es una propiedad que adquieren también los leucocitos de los animales inmunizados pasivamente, pues si a un chanchito se le inyecta una cantidad de suero inmune debajo de la piel y después de un lapso de tiempo, se le provoca una leucocitosis peritoneal y estudiamos comparativamente las células y el plasma, vemos que esto no es activo, en cambio los fagocitos no solo lo son, sino que comparando su acción con glóbulos blancos comunes, se muestran alrededor de tres veces más activos que estos últimos. Vemos pues, que por intermedio de la inmunidad pasiva también adquieren nuevas propiedades específicas los leucocitos.

Esta propiedad no está ligada a la vida de estos elementos, porque los leucocitos muertos pueden también inmunizar pasivamente a los animalitos, solo que para ello se necesita cantidades mayores.

Puede objetarse a mis experiencias, sosteniéndose que en la inmunidad lítica aumentan grandemente las substancias específicas del plasma y que por la sedimentación y lavaje no se puede privar a las células de todo el anti-cuerpo plasmático o humoral, máxime cuando algunas experiencias mías y de Petterson demuestran que la unión del suero y leucocitos es más activa que la del suero específico solo. A pesar de estar convencido, de que no cabía esta objeción en mis experiencias, la tuve muy en cuenta y recurrí, para eliminarla totalmente a la inmunidad carbunclosa del conejillo de Indias, en la cual la acción de los humores del organismo es nula.

Wernicke, Nitis, han comprobado que en la inmunidad contra el bacilo del grano malo, el suero del conejillo de Indias, queda tan inactivo como antes de haber sufrido este proceso; no

trasmite la inmunidad, no se puede inmunizar pasivamente con él, a pesar de que el animalito resiste sin molestias inyecciones veinte veces mortales, para un testigo. Este hecho puede confirmarlo en el curso de mi experimentación.

Es posible salvar a los cobayos de una infección mortal del bacilo del carbunco siempre que se provoque, debajo de la piel, un tumor leucocitario por la inyección de estos elementos, tomados de leucocitosis peritoneales de otros conejillos. Inyectando el microbio virulento, en el seno de este tumor, siempre que el número de leucocitos prestados pase de mil cuatrocientos millones, obtenidos de animales nuevos, es posible salvar los animales. Pues bien, solo se necesitan poco más de quince millones de leucocitos de animales inmunes privados de su plasma, para que el animal se salve. Son, por lo tanto, estos elementos al rededor de ochenta y tantas veces más activos que sus similares, extraídos de animales comunes. Bien interesante es por cierto, que inyectando los microbios en el seno del edema provocado por el suero de los chanchitos inmunizados o del plasma residuo de la sedimentación del exudado, los animales mueren, no se salvan.

Demuestran por lo tanto estas experiencias que los leucocitos de los animales inmunizados, adquieren indudablemente propiedades nuevas, que los hacen más aptos para luchar en contra de ciertas y determinadas infecciones y tanto más notable, en el caso del carbunco, cuanto que en su inmunidad los humores no ejercen, ni desempeñan rol alguno; estando solamente a cargo de los leucocitos la defensa del organismo. Propiedad que en este caso, tampoco está supeditada a la vida de los leucocitos, porque aún muertos, ellos inmunizan pasivamente al animal que recibe su inyección.

Esta propiedad, específica, no es cedida por los leucocitos al suero en el momento de la coagulación, puede sin embargo ser cedida al medio ambiente, si se tratan los fagocitos por el procedimiento de la congelación de Buchner, tornándose preventivo

el líquido en que estaban suspendidas las células, aún con previa eliminación de ellas.

Algo parecido, he demostrado en la eritrofagocitosis de los hematies de la llama, efectuada en el organismo del conejo; los leucocitos absorben las sustancias específicas haciéndose más activos.

Constataciones semejantes han efectuado varios años después de las mías, Pettenson, trabajando con carbunco y con el vibrión de Metchnikoff, hecho este último que ha sido confirmado por Salimbeni. Sulima, al estudiar la inmunidad contra el bacilo del cólera de las gallinas, sostiene que los leucocitos de los animales inmunizados han adquirido la propiedad específica de paralizar la vitalidad de los microbios; pero no consigue demostrar en los leucocitos sustancias bactericidas más activas que la de los fagocitos nuevos.

También Rosenow, cree, sin poderlo demostrar claramente, que los leucocitos de los neumónicos, después de la crisis, son más activos que sus congéneres comunes.

En la infección peritoneal del conejillo de Indias, efectuada por intermedio del cocobacilo del cólera de las gallinas, he podido convencerme que no es posible salvar a los animales por una leucocitosis previa; por intensas que ellas sean, los animales mueren en el mismo tiempo que los testigos. Pero si se trata de inmunizar débilmente a los chanchitos, mediante pocas inyecciones de agresina, de modo que los animales sufran un retardo de la muerte, sobre la de los testigos, la leucocitosis peritoneal, en este caso particular, es eficaz, salvándose merced a ella los conejillos de la India débilmente inmunizados, cabe suponer que esta acción sea también debida a una fagocitosis específica.

El hombre sin embargo, es siempre reacio a creer en las propiedades nuevas de los elementos, sino se le da el substracto de ellas, sino se le puede entregar el elemento causante de esas propiedades, y si bien mis experiencias llevaban la convicción a mi espíritu, era necesario también convencer a los demás; para.

ello era necesario aislar la substancia, merced a la cual los leucocitos de animales inmunizados adquieren sus nuevas propiedades, separarla de los leucocitos y demostrar que ella no se encuentra en los fagocitos comunes, que no se encuentra en los polinucleares de los animales vírgenes de inmunización, que solo y exclusivamente en los inmunes es, en donde se encuentran.

Ha sido este tema el motivo de mi última experimentación y la presentaré a la consideración de ustedes, para que vea la luz en esta ciudad hermana, como un homenaje a su caballeresca hospitalidad.

He trabajado con conejillos de la India inmunizados en contra del bacilo de Eberth. Obteniendo los exudados por intermedio de inyecciones de somatosa al 10 %, efectuadas la víspera de la extracción leucocitaria. El exudado, inmediatamente después de extraído, era diluído al décimo, para principiar de este modo a atenuar la acción del plasma.

Luego era sedimentado, separándose la parte líquida y dejando acumular lo que pudiera haber quedado adherido a las paredes, líquido que al cabo de cierto tiempo era extraído con pipeta. Luego los leucocitos eran emulsionados en solución fisiológica de cloruro de sodio, sacudidos por cierto tiempo, para lavarlos bien en el líquido de suspensión; luego sedimentados nuevamente para eliminar el líquido, con las mismas precauciones que la vez primera. Después de esta operación eran nuevamente emulsionados en solución fisiológica, de modo que se encontrasen alrededor de 100 millones de células por milímetros cúbicos. En estas condiciones eran congelados y descongelados tres veces consecutivas, para que abandonasen al medio ambiente las substancias bactericidas que pudiesen contener.

Inyectados conjuntamente con una dosis mortal del bacilo de Eberth en el peritoneo de un conejillo de Indias, se nota ya, al cabo de una hora una activa fagocitosis y disminución notable en la cantidad de bacilos comparados con el testigo, en el cual pululan. El resultado final salvándose el que recibe el producto

leucocitario, demuestra el pasaje al líquido de suspensión de sustancias inmunizantes de origen leucocitario. Puede objetarse que el tratamiento previo, es decir la sedimentación y lavaje de los fagocitos, no sea suficiente para extraer toda la parte plasmática humoral del exudado, que también es activa en estos casos. El cálculo demuestra que en la cantidad del producto leucocitario inyectado solo pueden, en el peor de los casos haber 0,000.02 de plasma; para eliminar esa objeción, a un conejillo testigo le inyecté mucha mayor cantidad de plasma (0,000.05) y sin embargo el animalito muere en el mismo tiempo que el testigo. Demostrándonos así, que no puede ser el plasma, el agente que salva de la muerte al chanchito infectado e inyectado con productos leucocitarios, sino que son estos mismos los elementos activos.

Si bien ésta experiencia, nos demuestra la presencia de sustancias bactericidas en los leucocitos de los animales inmunizados y que debido a su acción sola y exclusiva, es posible salvar de una muerte cierta a los animales infectados no nos demuestran que ellas no existan en los leucocitos de los animales sanos y cuya presencia ha sido señalada por muchos autores; como ser Schneider que les llama leuquinas y por Petterson, que es quien mejor las ha estudiado y las ha bautizado con el nombre de endolisinas, nombre que encierra el verdadero concepto de su naturaleza.

La experimentación nos demuestra que, estas endolisinas actúan también preventivamente y que en algunos animales, su cantidad es tal, que solo muy poco más activos aparecen los productos leucocitarios de los leucocitos inmunizados. Había que extremar la experimentación, que afinarla, para eliminar las posibles causas de error.

Con este fin he empleado los productos leucocitarios como curativos, inyectándolos cuando la infección peritoneal estaba establecida, a la hora de efectuada la introducción de los bacilos. En estas condiciones, la inyección de cantidades similares de productos leucocitarios inmunes y comunes, denota una diferen-

cia fundamental a favor de los primeros, es decir de los inmunes. Los animales inyectados con este producto, a la hora de la infección se salvan, notándose en el líquido peritoneal una fagocitosis activísima, mientras que aquellos que solo reciben los productos provenientes de animales nuevos mueren, si bien, con un retardo de varias horas sobre los testigos que solo reciben bacilos.

Estos hechos nos demuestran que, en condiciones más severas, que las anteriormente mencionadas, solo se muestran francamente eficaces los leucocitos inmunes; pero nos indican también, que las endolisinas tienen una acción evidente, aunque manifiestamente menor. Para llevar la convicción a los espíritus reacios hay que hacer resaltar ampliamente la acción de los productos leucocitarios inmunes, hay que efectuar una experimentación más severa, mediante la cual quede, sin duda de ninguna especie, demostrada la diferencia fundamental, entre una y otra clase de células.

Para ello he tratado de destruir las endolisinas, para dejar actuar solamente los productos específicos, el producto nuevo, mediante el cual los leucocitos inmunes adquieren sus nuevas propiedades. Felizmente después de algunos ensayos lo he conseguido. Calentando los productos leucocitarios, previamente diluidos para evitar su coagulación, a 75° en presencia de una pequeña cantidad de gelatina, he conseguido destruir totalmente la propiedad bactericida común de los leucocitos, quedando indemne la específica.

Inyectando animalitos, a la hora de efectuada la infección, con cantidades similares de productos leucocitarios inmunes y otros comunes, previamente calentados, solo se salvan los primeros, mientras que en los segundos sigue su curso la infección, con la misma rapidez que en los testigos. Queda con este hecho demostrada la presencia en los leucocitos inmunes, de productos que se pueden aislar de ellos, que pueden obtenerse en el tubo de ensayo y a los cuales deben ellos sus propiedades especifi-

cas. Substancias que hasta hoy solo habían sido sospechadas; pero que las dificultades de la experimentación habían hecho quedar ocultas, ocultas sobre todo por las intensas propiedades bactericidas de las endolisinas, las que previamente deben ser eliminadas, para poder poner a descubierto las específicas. Nos demuestran estas substancias una constitución semejante a los anticuerpos del suero, con un elemento específico más estable, que el común, merced a cuya propiedad he podido ponerlo de manifiesto.

Esta substancia también la he podido poner en evidencia en los leucocitos de los conejos inmunizados contra el bacilo de Eberth, siguiendo una técnica semejante a la anteriormente descrita.

Queda, pues, con esta experimentación cerrado el ciclo que demuestra la transformación que los leucocitos sufren en la inmunidad adquirida, transformaciones negadas firmemente por los sostenedores de la teoría humoral, modificación de la cual fuera el campeón y el poeta Metchnikoff.

Reivindico, pues, para esta bella ciudad, que nos sirve de albergue y para mi patria en particular, el honor de servir de cuna a las experiencias que cimentan con bases incommovibles la teoría del genial Metchnikoff.

ALOIS BACHMANN
