

BIBLIOTECA IBYS DE CIENCIA BIOLÓGICA

*

R. DOERR

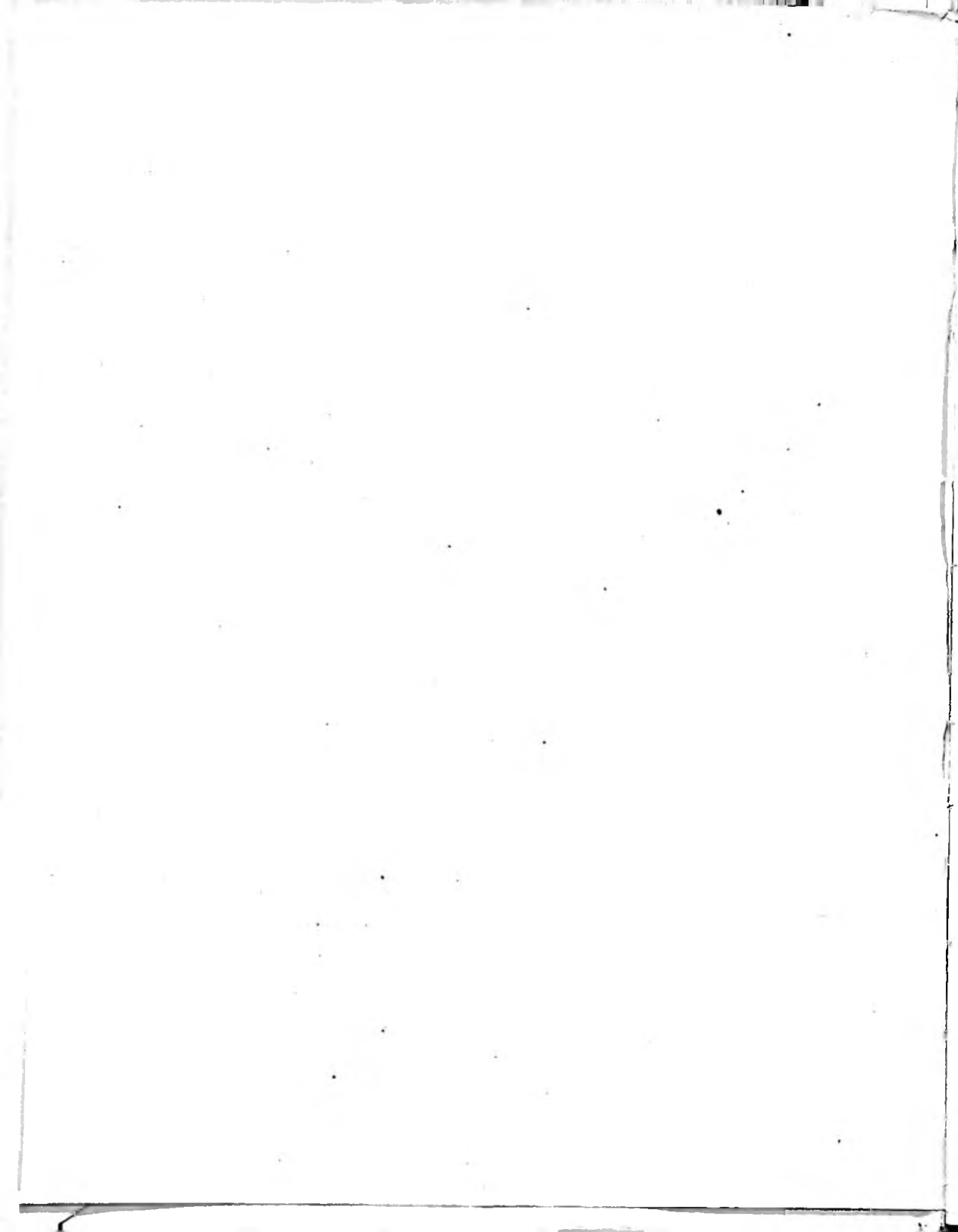
Las investigaciones sobre inmunidad

TOMO SEGUNDO

EL COMPLEMENTO



Revista de Occidente
MADRID



B I B L I O T E C A I B Y S



D E C I E N C I A B I O L Ó G I C A

BIBLIOTHECA 15 Y 2

DE RECHIA BIOLOGICA

LAS INVESTIGACIONES
SOBRE INMUNIDAD

EDITADO POR EL INSTITUTO DE INVESTIGACIONES
CIENTÍFICAS Y TECNOLÓGICAS

LAS INVESTIGACIONES SOBRE INMUNIDAD

(TOMO SEGUNDO)

EL COMPLEMENTO

LAS INVESTIGACIONES SOBRE INMUNIDAD

RESULTADOS Y PROBLEMAS
RECOGIDOS EN MONOGRAFIAS

DIRIGIDAS POR EL
PROFESOR R. DOERR
Basilea

TOMO PRIMERO

LOS ANTICUERPOS
(PRIMERA PARTE)

TOMO SEGUNDO

EL COMPLEMENTO

EL COMPLEMENTO

POR

R. DOERR
Basilea

Traducción de la edición original alemana por

F. CORDÓN

Jefe del Laboratorio de Bioquímica del Instituto Ibya

Revista de Occidente

Bárbara de Braganza, 12

Madrid

EL COMPLEMENTO

R. FORRER

Escritor

Copyright by
I B Y S, S. A.
Madrid • 1952

Imp. Viuda de Galo Sáez. Mesón de Paños, 6. Tel. 21-19-44. Madrid.

En la Biblioteca Ibys de Ciencia Biológica nos proponemos editar una serie de obras en que se recojan las disciplinas fundamentales de las ciencias biológicas.

Sólo se incluirán tratados de máxima autoridad, que, además, expongan con todo rigor crítico el estado actual de la pertinente rama científica, de modo que los conceptos e hipótesis no aparezcan desvinculados de los hechos que han forzado su nacimiento, y así el lector estudioso pueda penetrarse fácilmente del grado de certidumbre y generalidad de las teorías vigentes.

En definitiva, la Biblioteca Ibys constará únicamente de obras que, por lo científico de su exposición (purgada en lo posible del dogmatismo casi inevitable en los manuales de texto), descubran, entre el cúmulo de adquisiciones objetivas, los problemas que esperan solución del investigador atento y libre de prejuicios. Esperamos contribuir con ella a desarrollar entre nosotros la afición por la experimentación biológica, y a ayudar a que Médicos, Farmacéuticos, Veterinarios, Naturalistas, Ingenieros Agrónomos, etc., puedan elevar hasta una consideración científica los problemas que les plantea la práctica diaria.

Las dos empresas que aúnan sus esfuerzos en esta Biblioteca han sentido su necesidad desde puntos de vista muy distantes, pero convergentes, y esperan interesar en ella a un círculo de lectores escogidos, cada vez más amplio.

1875
The first of the year was a
very dry one, and the
crops were much injured
by the drought. The
winter was also very
cold, and the snow
was very deep. The
spring was very
warm, and the
crops were much
injured by the
drought. The
summer was very
warm, and the
crops were much
injured by the
drought. The
autumn was very
warm, and the
crops were much
injured by the
drought.

INDICE

	PÁGS.
CAPÍTULO PRIMERO.—Descubrimiento del complemento y su lugar en el círculo de ideas de la "inmunidad natural"; repulsa de esta concepción.	1
CAPÍTULO II.—Los cobayos exentos de complemento.....	5
1. Determinación más precisa de la carencia de complemento.....	5
2. Herencia de la carencia de complemento.....	6
3. De la influencia de la ausencia de complemento sobre la inmunidad antiinfecciosa natural	8
CAPÍTULO III.—La constitución compleja del complemento.....	10
1. Diferenciación entre un grupo "haptóforo" y un grupo "toxóforo" (P. EHRLICH)	10
2. El desdoblamiento del complemento en piezas media y final.....	11
3. Los factores termoestables de la función de complemento.....	13
α) El tercer componente	14
β) El cuarto componente	15
CAPÍTULO IV.—Papel de los componentes del complemento para la fijación de éste a los complejos específicos antígeno-anticuerpo.....	19
1. Nuevas designaciones de los componentes; propiedades físicas y químicas de los mismos en estado aislado.....	19
2. Investigaciones acerca de la combinación de los factores singulares del complemento en los complejos antígeno-anticuerpo.....	21
3. La participación de los componentes del complemento en la hemólisis inmune	23
CAPÍTULO V.—La lisis como demolición fermentativa del antígeno.....	29
CAPÍTULO VI.—Acción del anticuerpo, sin participación del complemento, sobre las células que poseen antígeno	32
1. Bacterias flageladas	32
2. Protozoos	33
CAPÍTULO VII.—Interpretación biológica de las perturbaciones ocasionadas por la acción de los anticuerpos sobre células que contienen antígenos. Significación de la citólisis	36

	<u>PÁGS.</u>
CAPÍTULO VIII.—Los fenómenos citotóxicos como procesos condicionados físico-químicamente	40
Acciones citotóxicas de los jabones invertidos ("Detergentes") como prototipo de los procesos de inmunidad citotóxicos.....	41
CAPÍTULO IX.—Anticuerpo y complemento en la neutralización de sustancias infecciosas del tipo de los virus.....	45
Apéndice: La inactivación de los virus por jabones invertidos...	48
CAPÍTULO X.—Los complementos de diversas especies animales.....	52
1. El complemento en el suero normal humano fresco. Complementos inactivados específicamente	52
2. Los sistemas de complemento de otras especies animales. Posibilidades de sustitución mutua entre factores de complemento de igual designación y de procedencia zoológica distinta.....	57
CAPÍTULO XI.—La formación del complemento en el organismo. La especificidad serológica de los soportes proteicos de las funciones de complemento	64
CAPÍTULO XII.—La labilidad de las funciones del complemento.....	70
Los métodos de diagnóstico por fijación del complemento.....	76
CONCLUSIÓN.....	79
BIBLIOGRAFÍA	81
INDICE ALFABÉTICO DE MATERIAS	89

CAPÍTULO PRIMERO

DESCUBRIMIENTO DEL COMPLEMENTO Y SU LUGAR EN EL CIRCULO DE IDEAS DE LA "INMUNIDAD NATURAL INESPECIFICA"; REPULSA DE ESTA CONCEPCION

El complemento es una sustancia bactericida que existe en el líquido sanguíneo de los animales normales. Su descubrimiento se debe al esfuerzo *para demostrar en el organismo mecanismos naturales (preformados) que entren en acción para defenderse de microbios infectantes*. Desde los primeros periodos del desarrollo de la investigación inmunológica se hizo una clasificación de fuerzas antibacterianas *humorales y celulares*. La defensa celular del cuerpo amenazado por una invasión microbiana fué atribuida por METSCHNIKOFF a los fagocitos, y las primeras observaciones señalan que los líquidos orgánicos, ante todo la sangre, también pueden participar en esta tarea [G. F. H. NUTTALL (1888)]. Los microorganismos patógenos que se conocían en aquella época, con pocas excepciones, pertenecen a las bacterias. Por consiguiente, las bacterias constituían el objeto de estudio principal para establecer la capacidad de los agentes antiinfectiosos, tanto celulares como humorales, y para apreciar el grado de su eficacia. Hasta la fecha, a este respecto todo sigue igual; la microbiología médica continúa adherida en este punto a la bacteriología.

También se mantienen los puntos de vista fundamentales sobre los que se ha edificado todo este campo de investigación. Hombres y animales están amenazados de numerosas y diversas infecciones. Debe existir una "defensa" capaz de dominar esas múltiples posibilidades de invasión, *defensa que debe carecer de orientación especial, para poder dirigirse contra cualquier germen que pueda penetrar*, tanto cuando se movilizan las células o los líquidos del cuerpo. De esta consideración se deduce como consecuencia evidente la afirmación: "La inmunidad natural y los medios en virtud de los cuales se produce deben ser inespecíficos, es decir, independientes de la especificidad

del agente." Aparentemente confirma esta afirmación el hecho de que cada especie animal no sea receptiva para un número mayor o menor de infecciones distintas entre sí. Sin embargo, supone en realidad una conclusión errónea, como se descubre inmediatamente *que se considera no sólo el "leitmotiv" negativo del comportamiento refractario, sino el criterio positivo de la receptividad* [R. DOERR (1934)]. Toda especie animal puede infectarse por varios, e incluso por muchos, microorganismos, y para subordinar esta disposición inespecífica al principio de la inmunidad natural debe admitirse que los mecanismos de defensa fallan en todos estos casos completamente heterogéneos. De este modo se llega forzosamente a la concepción de que toda infección es una lucha entre un microbio que penetra en el organismo y el organismo entero, y *que no sólo el resultado de esta lucha, sino la aparición de una enfermedad o la imposibilidad de que se produzca dependen enteramente de la intensidad de la defensa*. Pero la infección no es una lucha, sino una *relación entre parásito y huésped* [R. DOERR (1934, 1937, 1941 a, 1942)] que se determina por la adaptación del parásito al huésped en el que se arraiga y multiplica. Es muy notable que esta concepción familiar a todo parasitólogo se pierda en el zoólogo E. METSCHNIKOFF, que en lugar de ella introduce la inadmisibile idea del ataque y la defensa que después admitió fácilmente la microbiología médica, en la que se sostiene con la mayor tenacidad.

De la teoría de METSCHNIKOFF resulta una nueva consecuencia, que, aunque no se enunció explícitamente, resulta inevitable si se toma como fundamento esta concepción. *En este círculo de ideas no encuentra lugar la distinción entre "germen", es decir, microbio infectante, y microbio inocuo (no infeccioso)*. La existencia de microorganismos incapaces de multiplicarse en ningún ser vivo se atribuye únicamente a la circunstancia de que los mecanismos de defensa los destruyen fácilmente; ahora bien, posteriormente se observó que esta afirmación no podía ponerse de acuerdo con los hechos y hubo que introducir nuevas hipótesis en apoyo del principio del ataque y la defensa; O. BAIL emite una, al opinar que la carencia de infecciosidad tal vez se deba a la incapacidad de las bacterias en que se observe para producir *sustancias agresoras (agresinas)* capaces de dominar las defensas antagónicas. También este retoño de las teorías de METSCHNIKOFF, una vez nacido a luz se ha conservado tenazmente y volvemos a encontrarlo en la literatura novísima con los viejos nom-

bres y con su antigua significación, aunque con una fundamentación experimental modificada en parte.

Estos rodeos y extravíos que acabamos de esbozar a grandes rasgos se reflejan en las fases del desarrollo de nuestros conocimientos sobre el factor humoral más importante, el *complemento*.

Lord Joseph LISTER [antes que NUTTALL (1880-1881)] mostró que la sangre de buey, cuando se recoge asépticamente, no muestra inclinación alguna a entrar en putrefacción, e incluso soporta la adición de pequeñas cantidades de agua corriente o de polvo, en oposición a la leche, en la que basta la entrada de algún germen para que se produzca un crecimiento bacteriano fecundísimo. El poder bactericida de la sangre de buey, en estos casos no se dirige contra microbios parásitos, sino contra microbios saprofitos, lo que no podía ocurrírsele al cirujano LISTER porque en su tiempo las infecciones de la sangre se consideraban como putrefacción de las heridas. Pero en los procesos de trabajo de los institutos de serología se tiene en cuenta actualmente que una sangría tomada asépticamente no es necesario que se proteja tan angustiosamente como antes se hacía contra impurezas del aire, y esta experiencia enseña, indudablemente, que la acción perjudicial para los gérmenes se dirige también contra microbios frente a los que el organismo no necesita ejercer su defensa humoral.

NUTTALL y los autores posteriores, dominados por concepciones teleológicas, utilizaron como objeto de sus estudios bacterias patógenas, o, expresado más correctamente, infecciosas. Pero incluso estos resultados (a pesar de que por la selección de las pruebas experimentales estaban orientados de una manera unilateral y, por consiguiente, errónea) no hablan de ningún modo en favor de que la protección humoral pueda cumplir el fin que gustosamente le habría señalado la idea del ataque y la defensa. Pues el poder bactericida de la sangre no tiene nada que ver en ningún respecto, ni de modo absoluto ni relativo, con la resistencia del dador de la sangre contra los gérmenes a los que ésta influye *in vitro*. El conocimiento de que la posesión de tales fuerzas humorales no representa una condición necesaria para la vida fué debido a un descubrimiento causal, del que habremos de ocuparnos a continuación por extenso.

Antes de abordarlo señalaremos aún que contra las pruebas de LISTER y de NUTTALL podía haberse aducido la objeción de que se habían llevado a cabo con sangre completa, y, por consiguiente, dejaban la duda de si los efectos bactericidas eran debidos a células fago-

citarias de la sangre. H. BÜCHNER, sin embargo, demostró en 1889 que el suero exento de leucocitos puede matar ciertas bacterias, y denominó a la sustancia soporte de esta acción *alexina*, es decir, *sustancia protectora* (del griego ἀλέξειν). La designación ahora usual de *complemento* fué propuesta por P. EHRLICH y deriva de la inmunocitolisis, fenómeno que consiste en que las células cargadas de anticuerpos se dañan por un factor normal del suero, la alexina de BÜCHNER, y en determinadas circunstancias se disgregan. EHRLICH había admitido que la alexina completaba al anticuerpo en su acción destructora de la célula, y propuso por eso el nombre de complemento para significar una de las más importantes funciones del factor normal del suero, de que aquí se trata. Todo ello es necesario para entender la exposición que sigue.

CAPÍTULO II

LOS COBAYOS EXENTOS DE COMPLEMENTO

Para los fines de diagnóstico y de investigación científica se utiliza, en general, como complemento suero fresco de cobayo. Pronto se observó que el contenido de complemento en este suero está sometido a variaciones individuales, y por ello se recomienda reunir el suero de varios cobayos (mezcla de complemento) para compensar las diferencias. Sin embargo, supuso una gran sorpresa para los especialistas en serología la información de H. D. MOORE (1919) de que en el departamento de veterinaria de una estación de experimentación agrícola de Norteamérica se habían descubierto cobayos exentos de complemento, cuyo suero era incapaz de disolver los hematíes sensibilizados (cargados con anticuerpos específicos).

I. DETERMINACIÓN MÁS PRECISA DE LA CARENCIA DE COMPLEMENTO.

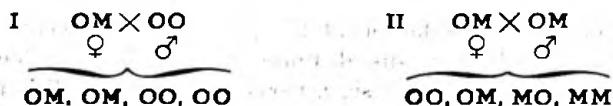
El complemento está constituido por varios fragmentos (al menos cuatro) que, debido a sus distintas propiedades, pueden separarse entre sí (véanse págs. 10 y sig.). Como enseña un análisis más exacto, en el suero de los cobayos "exentos de complemento" no faltan todos los componentes del complemento, sino únicamente la pieza denominada tercera, que se caracteriza por su termoestabilidad; en cambio, dichos cobayos poseen las piezas terminal y media. Estos hechos fueron demostrados por ROSCOE R. HYDE (1928), y antes de él por COCA (1920), por una sencilla prueba. Calentó un suero fresco cualquiera durante treinta minutos a 55°, después de lo cual únicamente conservaba, por su termoresistencia, la pieza tercera; añadió unas gotas de este suero inactivado a 20 ml. de suero reciente de cobayo "exento de complemento", y obtuvo de este modo un complemento de elevada actividad. Expuesto esquemáticamente:

a) Suero reciente de cualquier procedencia, calentado treinta minutos a 55°, proporciona la pieza tercera.

b) Suero fresco exento de complemento (piezas final y media), da con indicios de a) un complemento activo por reunir todas las piezas.

2. HERENCIA DE LA CARENCIA DE COMPLEMENTO.

En la estación experimental donde se descubrieron los cobayos exentos de complemento se comenzaron en seguida experimentos de cría para conservar la raza producida, al parecer, por una mutación. Como apreciaron F. A. RICH y R. DOWNING, la nueva propiedad era ante todo efectivamente hereditaria, y, como demostró el cruce con cobayos normales, estaba condicionada por un gene sencillo recesivo. Si nombramos este gene O (*ohne Komplement*, sin complemento) y el gene dominante correspondiente (decisivo para la posesión de un complemento normal) M, el cobayo exento de complemento posee la fórmula OO, es decir, es homocigótico con respecto a esta propiedad; todos los bastardos de la fórmula OM deben poseer suero con complemento, y el cruce de un bastardo femenino con un macho de pura raza, exento de complemento, debe rendir, según la conocida regla de la recesión, crías heterocigóticas (poseedoras de complemento) y homocigóticas (exentas de complemento) en la proporción de 1 : 1. Al cruzar dos bastardos, la proporción resulta ser 3 : 1, como era de esperar de una unidad mendeliana simple (véanse los esquemas I y II).



Las observaciones de DOWNING, confirmadas por R. R. HYDE (1923, 1932) (1), concuerdan por completo con estas reglas de la herencia mendeliana. No resultan formas intermedias, y el gene recesivo aparece tanto en machos como en hembras, así que no está ligado al sexo. En la fórmula I, la madre es un bastardo que posee complemento. Del cruce de uno de estos bastardos con un macho exento de complemento se obtienen crías que, aunque pertenezcan a la misma camada, se comportan como se ve en la fórmula: de cada 4 crías

(1) Véase también R. R. HYDE y E. PARSONS (1928).

resultan ordinariamente 2 bastardos poseedores de complemento y 2 animales exentos de complemento, de pura raza, a pesar de que los 4 fetos pertenecen al mismo corion y fueron regados por la sangre materna, rica de complemento. De esta observación deduce R. R. HYDE que el complemento, con más precisión su tercera pieza (termoestable), se desarrolla en virtud de una disposición genotípica que puede diferir de un feto a otro: por lo demás, el resultado descrito no es más que una nueva confirmación de los resultados de otros experimentos de cruce que hablan de modo indudable en favor de la existencia de un gene recesivo sencillo que condiciona la ausencia de complemento. Puede preguntarse por qué la mitad de los fetos de una madre poseedora de complemento se mantienen exentos de él durante toda la vida intrauterina: es decir, por qué dicha tercera pieza no pasa a los fetos carentes de complemento desde la sangre materna. O bien se acepta con HYDE que la placenta del cobayo resulta impermeable para los componentes del suero materno (homólogos), y en favor de esta opinión pueden aducirse experimentos de otra índole efectuados por L. NATTAN-LARRIER y P. LÉPINE, o se admite como posible el paso diaplacentario y se llega a la conclusión de que el complemento procedente de la madre no es estable en la sangre de los fetos de cobayo cuya disposición genética determina ausencia de complemento [R. DOERR (1941 b)]. La segunda versión no parece de ningún modo improbable. Los componentes del complemento lo son a su vez del plasma sanguíneo, y, como tales, son demolidos y vueltos a producir en el metabolismo. Si el organismo del cobayo exento de complemento es incapaz de sintetizar el tercer componente, éste no podrá persistir en la sangre aunque al feto le sea aportado a partir de la madre porque su destrucción no está compensada por ninguna regeneración, por lo que sufrirán el mismo destino que los anticuerpos administrados por vía pasiva (globulinas inmunes). Con ello se aclararía simultáneamente la esencia de la "ausencia de complemento", que quedaría interpretada como una incapacidad hereditaria para producir el tercer componente del complemento. Este punto concreto no ha podido demostrarse con seguridad; es cierto que escasean los objetos experimentales pertinentes; a saber: los cobayos exentos de complemento que evidentemente cuentan entre las mutaciones más raras.

La concepción defendida por muchos autores de que la acción de los sueros normales vinculada al complemento se produce a consecuencia de la coagulación de la sangre y no puede ejercerse directamente por la sangre circulante, en tal estado, de los animales vivos

se ha rechazado definitivamente por las investigaciones en los cobayos exentos de complemento. Se trata, por el contrario, de una sustancia que produce el organismo en condiciones naturales y existe en la sangre circulante. De las observaciones hasta aquí expuestas no se deduce cuáles son las células o tejidos en que se forma; sin embargo, investigaciones posteriores han permitido dar a esta pregunta una respuesta satisfactoria (véase cap. XI).

3. DE LA INFLUENCIA DE LA AUSENCIA DE COMPLEMENTO SOBRE LA INMUNIDAD ANTIINFECCIOSA NATURAL.

El complemento juega un papel importante en la citolisis inmune *in vitro*, y en especial en la bacteriolisis, y por este motivo no han faltado voces que concedan a este componente del plasma sanguíneo normal particular importancia en la defensa natural frente a la infección, al menos en la forma humoral de esta defensa (véase página 3). Como señala HYDE, la existencia de los cobayos exentos de complemento ofreció al complemento una oportunidad ideal para justificar su fama. Efectivamente, MOORE afirmaba que los cobayos exentos de complemento ofrecen mayor sensibilidad que los normales frente a las oscilaciones de temperatura y menor resistencia contra las infecciones experimentales, por ejemplo, por el *B. cholerae*. Sin embargo, sobrevino una epizootia en un criadero en que se conservaban en igualdad de condiciones cobayos exentos y cobayos poseedores de complemento, y ambos grupos se comportaron exactamente igual contra los estreptococos hemolíticos causantes de esta infección natural, cualquiera que fuera la camada a que perteneciera el animal [R. R. HYDE (1932), R. R. HYDE y E. J. PARSONS (1928)]. Tres olas sucesivas de la epidemia pasaron prácticamente por los 500 animales y los exterminaron casi por completo; y en ninguna de estas oportunidades pudo observarse ninguna diferencia entre los cobayos con y sin complemento. Ante tal experiencia, el prejuicio mismo hubo de ceder terreno, lo que expresó R. R. HYDE por la siguiente frase característica: "We are forced to conclude that complement does not play the rôle in resistance to infection that test tube experiments have led us to believe." La concesión, así pues, hubo de ser forzada por los hechos. Pero estos hechos sólo pueden sorprender a quienes contraponen la existencia de una inmunidad natural frente a la adquirida; DOERR (1934, 1937) ha señalado que esta antítesis es equivocada, y que para situarnos en el buen camino justo que nos saque

de las consecuencias de este error debemos rechazar la expresión "inmunidad natural" y sustituirla por "disposición natural", *entendiéndola por "disposición natural" la forma de manifestarse la adaptación del parásito a su huésped.*

La ausencia de la tercera pieza del complemento en el cobayo se ha considerado como un carácter racial producido por mutación. Pero se conocen animales de sangre caliente en los que la ausencia de complemento es característica de la especie. Según el testimonio de G. PETRAGNANI y AG. CASTELLI, la sangre de la paloma carece de complemento; sin embargo, estas aves no padecen infecciones de modo más acusado que otros animales en cuyo plasma sanguíneo se aprecia elevado contenido de complemento, por lo que no puede hablarse de que una especie pueda estar amenazada en su existencia por la falta de complemento.

CAPÍTULO III

LA CONSTITUCION COMPLEJA DEL COMPLEMENTO

I. DIFERENCIACIÓN ENTRE UN GRUPO "HAPTÓFORO" Y UN GRUPO "TOXÓFORO" (P. EHRLICH).

La función del complemento se atribuyó en un principio a una sustancia única. Pero como la experiencia enseña que su efecto destructor sobre las células sólo se pone de manifiesto, en general, cuando la célula antigénica está cargada con anticuerpos específicos, la escuela de EHRLICH opinó que en la molécula del complemento existían dos grupos distintos, uno de los cuales (el "haptóforo") permite la combinación con los anticuerpos anclados en la célula y, por consiguiente, prepara el efecto lítico cumplido por el segundo grupo (grupo "toxóforo"). La figura representa el esquema de esta concepción que aun hoy generalmente se admite:



Fig. 1.* Sistema hemolítico, según P. EHRLICH. E = eritrocito; R = receptor del eritrocito; A = anticuerpos que combinan el receptor de la célula con el grupo haptóforo del complemento.

Según esta concepción de EHRLICH, el grupo haptóforo del complemento debería combinarse directamente con el anticuerpo incluso cuando éste no esté adherido a una célula; sin embargo, esta combinación no pudo demostrarse, y por ello J. BORDET rechaza que los anticuerpos sean la pieza de enlace entre la célula con contenido de antígenos y el complemento; en su opinión, el proceso transcurre de modo que la célula, por efecto del anticuerpo, se modifica (sensibiliza), y a consecuencia de esta modificación adquiere la capacidad de

fixar el complemento [véase J. BORDET (1939)]. El hecho es que las células que contienen antígeno se combinan inmediatamente con el anticuerpo (aglutinación), y que esta reacción da lugar a modificaciones de las células que, actualmente, incluso pueden apreciarse ópticamente, de modo que, sin lugar a duda, la concepción de BORDET está mejor fundada que el esquema de EHRLICH. Pero P. EHRLICH, en colaboración con H. SACHS (1902), intentó demostrar su hipótesis de la doble función del complemento por una disociación de los dos grupos hipotéticos, y este experimento, como veremos, ha resultado ser el punto de partida de importantes investigaciones.

NUTTALL y H. BÜCHNER habían, por ejemplo, observado que el complemento pierde su actividad por una calefacción de media hora a 55°; pero si un suero que contiene complemento se calienta sólo a 52°, según EHRLICH y SAACH, pierde únicamente los grupos toxóforos, pero conserva con los haptóforos la capacidad de combinarse con el anticuerpo. El "complementoide", como se designó este hipotético resto del complemento, posee efectivamente esta capacidad, puesto que los hematíes cargados de anticuerpos que se tratan con complementoide no pueden lisarse mediante complemento completo (suero fresco) porque los anticuerpos ya están saturados por el complementoide ("obstrucción por complementoide"). F. B. GAY (1905), sin embargo, levantó objeciones contra esta prueba y, fundándose en comprobaciones de ella y en experimentos propios conducidos bajo la dirección de J. BORDET, llegó a la conclusión de que una calefacción moderada debilita simultáneamente la capacidad de combinarse y la fuerza lítica del complemento, y que experimentalmente no puede demostrarse una verdadera disociación como la que se quiere encarnar en el "complementoide". GAY no pudo imponer su oposición con éxito decisivo, ya que muchos años después seguía defendiéndose la existencia del complementoide [véanse, entre otros, C. T. BROWNING (1931) y R. MUIR, C. H. BROWNING y S. P. BEDSON (1931)].

2. EL DESDOBLAMIENTO DEL COMPLEMENTO EN PIEZAS MEDIA Y FINAL.

De hecho, poco después de las publicaciones de GAY, la investigación de la función complemento tomó un camino que en parte suponía una aproximación a la concepción de EHRLICH. A. CERRATA (1907), *por diálisis en agua corriente consiguió desdoblar el soporte sustancial de la función complemento en dos componentes.* Por este

procedimiento se precipitan del suero las globulinas insolubles en agua y continúan en disolución las seroproteínas restantes, que comprenden las globulinas solubles y la mayor parte de la albúmina. Ni el precipitado de globulinas (que pueden redisolverse de nuevo en NaCl al 0,85 por 100), ni el líquido sobrenadante, son capaces de disolver los hematíes cargados de anticuerpos; pero si se reúnen se recupera el efecto; es decir, la mezcla se comporta como el complemento del suero de partida. Las dos fracciones dependen una de la otra del siguiente modo: los hematíes sensibilizados por los anticuerpos deben ponerse en contacto con la "fracción de globulina" (como se designa abreviadamente el precipitado obtenido por diálisis) antes que con el segundo componente (la "fracción de albúmina"). Se opina por ello que la parte del complemento que precipita con las globulinas permite la combinación entre la célula sensibilizada y la segunda porción causante de la litis, y E. BRAND (1907), que había establecido esta relación, propuso por ello denominar la primera "*pieza media*" y la segunda "*pieza terminal*", expresiones que han continuado usándose. Como se aprecia a primera vista, existen múltiples concordancias con las concepciones de EHRLICH; ante todo se había conseguido una disociación efectiva de las propiedades "haptóforas" y "ergóforas" (toxóforas) del complemento, y, en segundo lugar, el papel de la pieza media recuerda la concepción del amboceptor; ahora bien, las piezas media y final no se comportan una con respecto a la otra como antagonistas, como habría que esperar de la hipótesis de la obstrucción por complementoide, sino como sinergistas.

Como era de esperar, el desdoblamiento del complemento en pieza media y terminal se pudo conseguir no sólo por diálisis, sino por otros métodos capaces de provocar una precipitación de las globulinas insolubles del suero; por ejemplo, por una débil acidulación con ácido clorhídrico diluido [H. SACHS y K. ALTMANN (1917)], haciendo pasar ácido carbónico gaseoso por suero con complemento, diluido con 4-9 veces su volumen de agua destilada [H. LIEFMANN (1909)] o por simple dilución de suero de cobayo fresco con 10 veces su volumen de agua destilada, de hielo [H. BRAUN (1911)]. Resulta interesante el hecho de que también se consiga una separación por la filtración por bujías duras. Con esto se relaciona, evidentemente, el hecho de que los edemas por éxtasis que se producen fácilmente en el conejo al apretar con un anillo de caucho la base de una oreja, sólo contengan la pieza terminal y no la media [T. KEMP (1927)]; la filtración por paredes capilares produce el mismo efecto que el paso por los poros de los filtros de laboratorio. La opinión

defendida por E. BRAND, por R. HECKER y por BRONFENBRENNER y NOGUCHI de que el complemento del suero fresco debe considerarse como una sustancia singular, y de que su desdoblamiento en fracciones debe atribuirse a la preparación artificial, no puede sostenerse en vista de estas observaciones; es improbable que una acción puramente mecánica pueda conducir a este resultado (véase pág. 74).

Las dos fracciones designadas como piezas media y terminal son termolábiles y pueden obtenerse de distintos sueros sanguíneos frescos que contienen complemento (también del suero de animales de sangre fría). No son específicos de especie, en el sentido de que la pieza final, por ejemplo, del suero de cobayo, sólo pudiera completarse por una pieza media de la misma procedencia para constituir el complemento completo; por el contrario, las piezas finales del cobayo pueden completarse por piezas medias del suero de buey, caballo o conejo, dando combinaciones activas frente a hemáticas sensibilizadas o a bacterias. Sin embargo, tales sustituciones no pueden efectuarse de modo arbitrario. Los desdoblamientos en piezas media y terminal, y su reconstrucción por su simple mezcla, no se consiguen con la misma regularidad por todos los métodos propuestos; por el contrario, hay que contar con una proporción, variable con la técnica aplicada, de fracasos cuya causa no siempre puede determinarse con seguridad. Poco objeto tiene entrar en la extraordinariamente abundante bibliografía concerniente a este asunto; el artículo de manual de H. SACHS da suficiente información respecto a lo aparecido hasta 1929.

3. LOS FACTORES TERMOSTABLES DE LA FUNCIÓN DE COMPLEMENTO.

Por el contrario, debemos mencionar por principio las importantes investigaciones de las que se deduce que la actividad de complemento no está ligada simplemente a las piezas media y terminal, o, expresado de modo más preciso, a los componentes termolábiles (inactivables) de estas dos fracciones, sino también a dos factores termostables (resistentes contra una calefacción de media hora a 55°) que se denominan *tercero* y *cuarto componentes*.

a) El tercer componente.

La existencia del tercer componente puede demostrarse por pruebas en tubo de ensayo. Si se trata suero de cobayo fresco con veneno de cobra se extingue su función de complemento a pesar de conservarse las piezas media y terminal [H. SACHS y L. OMOROKOW (1911)]; la actividad de complemento se regenera, sin embargo, si el suero inactivado por el veneno de cobra se mezcla con suero inactivado por el calor, en el que las piezas media y terminal han perdido su capacidad funcional por su termolabilidad [H. RITZ (1912)]. El suero de cerdo es especialmente rico en este tercer componente (como lo denominó H. RITZ), de modo que bastan cantidades mínimas (menos de 0,001 ml.) para activar un suero que carezca de este factor [W. JONAS (1913)]. La prueba más convincente de la existencia real de este tercer componente fué aportada, sin embargo, por las investigaciones efectuadas en las razas de cobayo exentos de complemento, de que se habló por extenso en las páginas 4 y siguientes. De ella parece deducirse que el soporte de la actividad de este componente es una existencia particular. Al desdoblar el complemento en piezas media y terminal se distribuye entre ambas fracciones del suero; de modo que un suero al que sólo falte el tercer componente puede activarse tanto por la pieza media como por la terminal (es decir, por las fracciones del suero designadas por estos nombres); pero la distribución no es homogénea, ya que la masa principal del tercer componente parece separarse más bien junto con la pieza media, de lo que se deduce su carácter de globulina [H. R. WHITEHEAD, J. GORDON y A. WORMALL (1925)]. Sin embargo, su constitución es casi totalmente desconocida. Es cierto que ha podido establecerse que el tercer componente puede separarse del suero por su adsorción a determinados microorganismos, por ejemplo, a la *Serratia marcescens* (*B. prodigiosus*) [H. RITZ y H. SACHS (1917) y S. KONDO (1922)], a los estafilococos [RITZ y SACHS, E. M. DUNLOP (1928)], al *Salmonella typhi* y *Escherichia coli* [E. M. DUNLOP], y, especialmente, a la levadura [A. F. COCA (1914), WHITEHEAD, GORDON y WORMALL]. Además, E. E. ECKER y P. GROSS (1929) señalan que la heparina puede destruir *in vitro* la actividad del tercer componente, y que este efecto no puede relacionarse con la actividad de la heparina como inhibidora de la coagulación, ya que no puede observarse *in vivo* ni se paraliza por la acción de CaCl_2 . Pero éstos y otros resultados de detalle de la investigación serológica no nos permiten

adquirir una imagen clara de la naturaleza química y mecanismo de acción de esta pieza del complemento.

β) *El cuarto componente.*

La reacción, con cuyo auxilio se descubrió el cuarto componente, consiste en la inactivación del suero que contiene complemento por un tratamiento no demasiado intenso con NH_3 y la reactivación mediante un suero readsorbido a levadura. Como la levadura separa el tercer componente (véase antes), la reactivación no puede atribuirse a la renovación ni la inactivación a la destrucción de este factor, sino que hay que admitir un nuevo componente (el cuarto) [J. GORDON, H. R. WHITEHEAD y A. WORMALL (1926 a)]. El hecho de que la reactivación sea también posible utilizando un suero calentado durante treinta minutos a 55° demuestra que el cuarto componente, a semejanza del tercero, es termostable. Difiere de éste, sin embargo, en que se separa junto con la pieza terminal en lugar de con la media, es decir, en la denominada "fracción de la albúmina", fracción que a pesar de su nombre, como ya se dijo en otro lugar, contiene no sólo las albúminas, sino también las globulinas hidrosolubles (seudoglobulinas) del suero. El cuarto componente, además de por NH_3 se inactiva o se destruye por una serie de otras sustancias, por ejemplo, éter o CHCl_3 [T. TODA y B. MITSUSE, Y. TAKANO], por diversos venenos de serpiente [O. G. BIER (1932), TODA y MITSUSE (1933), Y. TAKANO (1936)] y por prolongado contacto con sulfato amónico [H. TOKUNAGA (1929 a, 1929 b)], probablemente a consecuencia de la liberación de amoníaco.

J. GORDON, WHITEHEAD y WORMALL (1926 a), al intentar descubrir la causa del efecto del amoníaco observaron que las aminas primarias (metimetilamina y etilamina) se comportan frente al cuarto componente como el NH_3 , en tanto que otras combinaciones amínicas (como glicina, alanina y urea) resultan inactivas. Los mismos autores (1926 b) volvieron al tema y encontraron, en nuevas investigaciones, que el calcio debe participar en la reacción del cuarto componente con los grupos NH_2 ; de modo que este elemento, aunque no puede identificarse directamente con el cuarto componente, debe constituir una parte fundamental del mismo que se inutiliza si se transforma en una sal doble de calcio y amonio. En este punto comienzan los trabajos de L. PILEMER, J. SEIFTER y E. E. ECKER (1941 a).

Del examen sistemático del efecto de gran número de combinaciones aminadas se saca como consecuencia que sólo inactivan el cuarto componente aquellas combinaciones que posean un grupo NH_2 libre, grupo que reacciona enérgicamente con los aldehídos, y que esta acción se perturba por la reacción con aldehídos (resulta inactiva la metenamina: $(\text{CH}_2)_6\text{—N}$). Por ello la metilamina y etilamina pueden inactivar, y la hidracina ($\text{H}_2\text{N—NH}_2$), que posee dos grupos NH_2 , actúa con doble intensidad; por el contrario, la di y trimetilamina y la di y trietilamina y el hidróxido de tetrametilamonio resultan inactivos. La introducción de grupos polares en la molécula (urea, acetamida, glicina, hidroxilamina, etc.) que proporcionen a las combinaciones amínicas potencial ácido o propiedades redox, trae como consecuencia la pérdida de la capacidad de inactivar; y el bloqueo de los grupos polares restituye tal capacidad, como sucede con la α -metilhidroxilamina. Estos resultados, que no pueden exponerse aquí con todo detalle, conducen finalmente a la hipótesis de que el denominado cuarto componente es un hidrato de carbono que contiene un grupo carbonilo al que atacan los grupos NH_2 , transformándolo en una estructura con menor actividad.

Este hidrato de carbono, sin embargo, no debe estar libre, sino combinado con una pseudoglobulina (1) del suero formando, en combinación con el calcio [GORDON, WHITEHEAD y WORMALL (1926 b), L. PILLEMER, J. SEIFTER y E. E. ECKER (1941 a)], un complejo calcio-hidrato de carbono-pseudoglobulina que sería idéntico a la pieza terminal. Defendería esta opinión: 1, el hecho de que el suero privado de su cuarto componente por tratamiento con NH_3 manifiesta la misma especificidad serológica que el suero normal [J. GORDON y P. G. MARSHALL (1929)], de acuerdo con la opinión de M. HEIDELBERGER (1938), de que sobre la especificidad de las seroproteínas no influyen los hidratos de carbono combinados a ellas; 2, la prueba aducida por E. E. ECKER, PILLEMER, JONES y SEIFTER (1940) de que la acción lítica, que suele atribuirse al trozo terminal, está localizada en su totalidad en las globulinas del suero, no teniendo nada que ver con las albúminas, en contra de opiniones anteriores; 3, la observación de que la función del cuarto componente no está condicionada por los lípidos

(1) Esta afirmación, sin embargo, pronto fué modificada por PILLEMER, ECKER, ONCLEY y E. J. COHN (1941), fundándose en investigaciones sobre los componentes purificados de complemento, en el sentido de que no se trata de pseudoglobulina, sino de euglobulina insoluble en CO_2 combinada con el hidrato de carbono para constituir una mucopseudoglobulina. Acerca de la significación del Ca, PILLEMER y ECKER (1941 a) habían llegado anteriormente a una opinión diferente de las de GORDON y colaboradores (véase punto 4 del párrafo).

del suero [PILLEMER, SEIFTER y ECKER (1941 a)]; 4, las investigaciones de GORDON, WHITEHEAD y WORMALL (1926 b), de las que se deduce que en la acción lítica del complemento, además del cuarto componente atacable por combinaciones aminicas, participa un factor cálcico no difusible. Sin embargo, entre este calcio ligado y el cuarto componente parece probable que no exista ninguna relación directa, ya que por fosfato de plomo puede separarse hasta el 95,8 por 100 de este calcio sin que se reduzca la cantidad de cuarto componente; únicamente cuando la separación del calcio va acompañada de una destrucción considerable de la pieza terminal se aprecia la inactivación del cuarto componente [PILLEMER y ECKER (1941)].

Como se ha confesado, en esta hipótesis entran elementos no demostrados, y posteriormente se ha concedido que deben efectuarse experimentos con complemento "purificado" para lograr un conocimiento más claro (véase pág. 20). Sin embargo, se había decidido considerar el planteamiento del problema como un progreso efectivo. El desdoblamiento de la función de complemento en una pieza media combinante y otra terminal citotóxica (citolítica) no constituía ciertamente una solución ideal; pero junto con la afirmación de que ambas funciones parciales estaban ligadas a diversas seroproteínas, ofrecía una representación clara que presentaba, además, la ventaja exterior de la analogía con la cooperación de anticuerpo y complemento para el efecto citotóxico. Pero cuando a las piezas media y terminal hubo que añadir, como factores indispensables, dos componentes termoestables y, finalmente, incluir el calcio en la cadena de condiciones [GORDON, WHITEHEAD y WORMALL (1926 b)], se resintió incluso la ejercitada capacidad de combinación de los especialistas en serología. Esta perplejidad se manifiesta muy claramente en el artículo de tratado de H. SACHS, que se citó anteriormente, donde se afirma: que no puede adelantarse ninguna opinión acerca de la cooperación de las piezas parciales del complemento; que "no parece factible buscar en los componentes parciales del complemento sustancias determinadas"; que todo parece señalar que la actividad de las fracciones está más condicionada por sus peculiaridades físico-químicas que por su constitución química; y que la consideración atenta del problema, desde un punto de vista coloidequímico, puede abrir un camino que permita entender la acción del complemento.

Por el contrario, los trabajos de J. GORDON y colaboradores, así como las investigaciones de los autores americanos, suponen un progreso, en primer lugar, al admitir que el soporte de las piezas terminal y del componente cuarto es *una misma proteína* que posee una doble función, y, en segundo lugar, porque conducen a una identificación química de las piezas del complemento (primero se identificó el cuarto componente) y emancipan por ello de la necesidad de envolver la ignorancia con una fraseología coloidequímica que nada significa (perturbación del equilibrio de la totalidad de las sustancias del suero, labilidad de las globulinas, etc.). De acuerdo con este progreso, en el problema de la participación de los componentes del complemento en las reacciones antígeno-anticuerpo se sustituye con ventaja por un análisis positivo el punto de vista nihilista que representa H. SACHS (véase luego).

CAPÍTULO IV

PAPEL DE LOS COMPONENTES DEL COMPLEMENTO EN LA FIJACION DE ESTE A LOS COMPLEJOS ESPECIFICOS ANTIGENO-ANTICUERPO

L. PILLEMER, S. SEIFTER y E. E. ECKER (1942) estudian por extenso este problema, aplicando cuidadosos métodos cuantitativos. Se observan relaciones muy complicadas, como era de esperar, *a priori*, si se considera que en tales reacciones participan al menos seis componentes (el antígeno, el suero que contiene los anticuerpos y las cuatro funciones parciales de complemento), y que no sólo influyen sobre la marcha de la reacción las propiedades absolutas, sino también las relaciones recíprocas y las cantidades relativas de los factores singulares. Los autores citados han resumido sus observaciones en varias conclusiones. Antes de hacer una breve exposición del contenido de las mismas hacemos algunas observaciones previas que, en parte, completan los datos expuestos en el capítulo anterior.

I. NUEVAS DESIGNACIONES DE LOS COMPONENTES; PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS DE LOS MISMOS EN ESTADO AISLADO.

Ante todo hablaremos de los nuevos símbolos para designar los cuatro componentes del complemento propuestos por M. HEIDELBERGER (1941) [véase también HEIDELBERGER, WEIL y TREFFERS (1941)] y L. PILLEMER y E. E. ECKER (1941 b), que indudablemente resultan más apropiados que los nombres hasta ahora aplicados, que en parte prejuzgan opiniones no demostradas ("pieza terminal y media"). Los nuevos símbolos son: C'1, C'2, C'3 y C'4, y corresponden a la pieza media, terminal y tercero y cuarto componentes de la vieja terminología, aunque con un *contenido modificado en parte*. Fue PILLEMER, ECKER, ONCLEY y COHN (1941) quienes consiguieron ais-

lar en estado sumamento purificado tres de los cuatro componentes del complemento, a saber: la pieza media, la terminal y el cuarto componente; el tercer componente, según las investigaciones de PILLEMER y ECKER (1941 a), posiblemente posee carácter de fosfolipoide. Debido a estas investigaciones, ya citadas en otro lugar, de los autores americanos resulta la siguiente lista:

Tabla de los componentes del complemento.

C'1 (antigua pieza media).	Es una euglobulina insoluble en CO ₂ con una determinada velocidad de transporte electroforético y una determinada constante de sedimentación (1); supone el 0,6 por 100 de las proteínas totales del suero. Se encuentran en el suero como muco-euglobulina (2), que electroforéticamente se comporta como producto singular y que corresponde por sus propiedades físicas (3) a la α-globulina de TISELIUS. Contiene el 10,3 por 100 de un hidrato de carbono, y parece ser el soporte de dos funciones, a saber, del que por calefacción de la muco-euglobulina a 50° durante treinta minutos se destruye, y cuyo substrato sustancial puede considerarse que es la fracción de globulinas del complemento soluble en CO ₂ , y el que es relativamente termestable y que probablemente está vinculado al hidrato de carbono de la muco-euglobulina (véase pág. 16).
C'2 (antigua pieza terminal). C'4 (antiguo componente cuarto).	
C'2 (de la pieza terminal).	
C'4 (antiguo componente cuarto).	
C'3 (antiguo componente tercero).	Probablemente un fosfolipoide o sustancia análoga.

(1) Velocidad de transporte electroforético de C'1 en una disolución amortiguadora de fosfato de fuerza iónica 0,2 a pH 7,7 = $2,9 \times 10^{-5}$. Constante de sedimentación = $6,4 \times 10^{-13}$ en cloruro potásico de fuerza iónica 0,2; punto isoeléctrico ca. 5,2 — 5,4; contenido de hidratos de carbono = 2,7 por 100.

(2) La velocidad de transporte electroforético se determinó bajo las mismas condiciones que la de C'1, resultando = $4,2 \times 10^{-5}$; punto isoeléctrico, aproximadamente, 6,3 — 6,4; contenido de hidratos de carbono = 10,3 por 100.

(3) La muco-euglobulina supone el 0,18 por 100 de las proteínas totales del suero, de modo que para C'1 + C'2 + C'4 debe calcularse únicamente el 0,78 por 100 de las proteínas totales del suero de cobayo fresco; sin embargo, estos valores sólo comprenden los rendimientos en el producto final purificado.

2. INVESTIGACIONES ACERCA DE LA COMBINACIÓN DE LOS FACTORES SINGULARES DEL COMPLEMENTO EN LOS COMPLEJOS ANTÍGENO-ANTICUERPO

Como complejo antígeno-anticuerpo, PILLEMER, SEIFTER y ECKER (1942) utilizaron principalmente un producto de reaccionar el polisacárido específico del neumococo tipo III y el correspondiente suero inmune de conejo; como complemento, suero reciente de cobayo o preparados obtenidos de él, en el que estaban separados los distintos componentes. Pero para estudiar también la influencia de las diversas configuraciones del antígeno se probaron otros sistemas antígeno-anticuerpo, por ejemplo, suero humano + antisuero de conejo, virus del mosaico del tabaco + antisuero de conejo, y hemocianina + antisuero de conejo; pero se señala que la naturaleza y el tamaño molecular no influye sobre el modo de enlazarse el complejo con los componentes de complemento, al menos cualitativamente.

A continuación se dan las consecuencias más importantes de estos experimentos:

1. C'4 se adsorbe o inactiva rápidamente en condiciones favorables sin excepción hasta el 100 por 100 por los precipitados inmunes, de modo que debe considerarse como el componente combinante (intermediario) del complemento. Sin embargo, su enlace depende de los factores termolábiles del suero, ya que no se produce si se excluyen C'1 y C'2 por calefacción del suero (a 56° durante treinta a cincuenta minutos).

2. C'2 va junto con C'4 y, en condiciones óptimas, se enlaza, como esta última fracción, por completo o casi por completo.

3. La pieza media, es decir, C'1, a la que anteriormente se atribuía el papel de pieza de enlace, se combina en las precipitaciones inmunes en proporciones variables (50-70 por 100), que dependen de las condiciones particulares de la prueba.

4. C'4 no se adsorbe en los precipitados inmunes, o lo hace en muy pequeña cantidad (como máximo, el 25 por 100); sin embargo, su presencia es necesaria para que la fijación de complemento ejerza acción citotóxica (hemólisis, efecto bactericida). En este caso debe fijarse primeramente C'4 + C'2 y cantidades variables de C'1 sobre el complejo antígeno-anticuerpo antes de que se produzca la consecuencia secundaria, el daño de la célula, que, después, es función del C'3 no combinado y de la naturaleza del substrato que se utiliza.

5. Si se calienta C' (pieza media) durante cuarenta y cinco mi-

nutos a 56°, puede fijarse en el complejo antígeno-anticuerpo e impedir después la adsorción de los componentes del complemento existentes en un suero normal que contenga complemento (rehabilitación de la "obturación por el complementoide" de P. EHRLICH y H. SACHS; véanse págs. 11 y sig.).

6. Como condiciones óptimas para la fijación de complemento se admite: a) una temperatura de 22°; b) un pH de 7,0-7,2; c) un ligero exceso de anticuerpo.

7. Pueden apreciarse diferencias entre la fijación de complemento a los complejos específicos antígeno-anticuerpo y su adsorción en adsorbentes inorgánicos o en bacterias normales (sin tratar previamente con suero inmune). Por ejemplo, en los complejos específicos se fijan C'4, C'2 y cantidades variables de C'1 (véanse los apartados 1-3), mientras que en la adsorción inespecífica permanecen libres C'4 y C'2, no fijándose sino los otros componentes. Recíprocamente, C'3 no participa, o participa poco, en la reacción específica, en lo que respecta a la primera fijación (véase apartado 4), mientras que se inactiva, o fija, por completo a los sorbentes inespecíficos. De ello parece deducirse que C'4 participa de modo directo y esencial en la fijación específica de complemento.

Existe otra diferencia de índole cuantitativa. Pueden fijarse grandes cantidades de complemento, por cantidades muy pequeñas de precipitados específicos, mientras que en la adsorción inespecífica la relación pasa a ser la contraria, puesto que la fijación de pequeñas cantidades de complemento requiere grandes cantidades de adsorbente. Evidentemente, los factores C'4, C'2 y C'1 manifiestan acusada afinidad química con la superficie de los agregados inmunes específicos.

No todas las observaciones y consecuencias enumeradas reciben base experimental en la publicación citada de PILLEMER, SEIFTER y ECKER (1942); estos autores se refieren, en parte, a resultados de sus estudios anteriores sobre el complemento, que por poseer un interés general ya se han mencionado, y, en parte, a trabajos que aun no habían publicado y que sólo se han impreso posteriormente. De entre éstos pasamos a ocuparnos de la publicación de L. PILLEMER, S. SEIFTER, FEY CHU y E. E. ECKER (1942), en la que tratan por extenso del *mecanismo de la hemólisis inmune*, tema que sólo se ha señalado de modo sumario en el punto cuarto de las conclusiones que acaban de exponerse.

3. LA PARTICIPACIÓN DE LOS COMPONENTES DEL COMPLEMENTO EN LA HEMOLISIS INMUNE

PILLEMER y colaboradores observaron en seguida que un antisuero de conejo dirigido contra los hematíes de carnera no era capaz por sí solo de fijar cualquier componente del complemento o de inactivarlo. Sólo cuando el antisuero se ancla en los hematíes se producen modificaciones superficiales (sea en las moléculas del anticuerpo mismo o en los agregados del anticuerpo y las células) que determinan la exaltación de la afinidad para el C'4, C'2 y C'1, y permiten la fijación de estos tres componentes.

De ello se deduce que C'1, aunque se fija por los hematíes de carnero sensibilizados, también en ausencia de C'4, no alcanza por sí solo a producir hemolisis, para la que simultáneamente debe fijarse C'4. El componente C'4 aislado no se combina en ausencia de C'1. Junto con C'4, los hematíes sensibilizados fijan también C'2. (Véase página 21, conclusión 2.)

Si un suero de cobayo que contenga complemento se priva de C'3 por la adsorción de éste en el hidrato de carbono insoluble de las células de levadura, los tres restantes componentes del complemento se fijan en los hematíes sensibilizados tan por completo como de un suero sin tratar. De ello se deduce que C'3 no es necesario para que se fijen C'4, C'2 y C'1; y también que, como mucho antes había afirmado P. NATHAN (1913). C'3, aunque esté presente, no participa en absoluto en la fijación. Esto pudo demostrarse por un perfeccionamiento técnico de la conocida prueba de la separación en frío de P. EHRLICH y J. MORGENROTH. Hasta la fecha, para disociar fijación de complemento y hemolisis, no se permitía habitualmente que el contacto entre los hematíes sensibilizados y el complemento total se prolongara más de unos segundos, para evitar que una lisis inmediata se superpusiera al proceso de fijación. PILLEMER, SEIFTER y ECKER (1942), estaban convencidos, sin embargo, de que si el contacto se efectúa a +1° puede prolongarse sesenta minutos, y que durante este tiempo se consigue una fijación casi completa de C'2 + C'4, y una parcial de C'1 casi en las mismas proporciones que a la temperatura ambiente; pero si los hematíes, así cargados con todos los componentes capaces de fijación, se centrifugan y vuelven a suspenderse en disolución de NaCl al cabo de treinta minutos de incubación a 37°, no se observa sino una hemolisis completamente insignificante

y la adición de un suero exento de C'3 no modifica el resultado. De estas pruebas y otras orientadas en la misma dirección se deduce que C'3, si bien no se fija por hematíes sensibilizados (cargados con anticuerpos), sino que de momento permanece libre, es necesario para la hemólisis aunque ésta sólo puede producirse después de la previa fijación de C'4 + C'2 y de C'1.

Lo anterior sorprende y aparentemente está en contradicción con la concepción que considera que la pieza final es el soporte de la acción lítica; también contradice la declaración de ECKER, PILLEMER, JONES y SEIFTER (1940), de que el complemento, con todas sus funciones parciales, está contenido en la fracción de las globulinas del suero normal (véase pág. 16). Hay que añadir que, según autores antiguos y modernos, el tercer componente no se consume en la hemólisis [P. NATHAN (1913), E. WEIL (1913), M. THORSCH (1914-15), K. DEISSLER (1932)], lo que hace que su papel resulte más enigmático que si se gastara durante la reacción. PILLEMER, SEIFTER, CHU y ECKER buscan precisamente en esta circunstancia la clave para descubrir la función del C'3 al opinar que no actúa lisando, sino simplemente como catalizador del proceso de lisis propiamente dicho. Esta hipótesis podría considerarse como una solución formal, puesto que permite referir a un concepto conocido el hecho de que no se consume C'3 y no atenta contra la opinión antigua de que los componentes del complemento capaces de fijarse son también responsables de la lisis. Sin embargo, de hecho no se trata sino de un desplazamiento del problema; pues no se sabe si el factor C'3, que parece ser un fosfolipoide, posee verdaderamente capacidades catalíticas, y, ante todo, tampoco puede hacerse ninguna afirmación acerca de la índole de la reacción catalizada por C'3 (1).

(1) La idea de que C'3 actúa como catalizador había sido también considerada por N. KOSSOWITSCH, V. ILINE y G. COULON (1944). Estos autores pudieron separar C'3, además de por levadura, por formol, y señalan que se observan diferencias que indican que este componente no posee estructura homogénea, y, por consiguiente, cabe atribuirle una función más complicada. Además, KOSSOWITSCH y colaboradores, como anteriormente V. TODA y B. MITSUSE (1933), admiten un quinto componente del complemento de cobayo (C'5), que, según TODA y MITSUSE, se inactiva por tratamiento del suero con bencina. La hemólisis sólo se produce cuando C'1 + C'4 + C'5 + C'2 + C'3 se fijan en los hematíes por el orden citado actuando sucesivamente sobre ellos. En los trabajos simultáneos, o aparecidos posteriormente, de especialistas americanos sobre complemento, sólo se habla siempre de cuatro componentes.

En la misma época en que se publicaron los resultados experimentales aquí discutidos también se ocuparon de las relaciones puramente cuantitativas de la fijación de complemento, M. HEIDELBERGER (1941), HEIDELBERGER, H. A. WEIL y H. P. TREFFERS (1941), HEIDELBERGER, M. ROCHA E SILVA y M. MAYER (1941), HEIDELBERGER y M. MAYER (1942), HEIDELBERGER, BIER y MAYER (1942), A. HEGEDÜS y H. GREINER (1938), PILLEMER, CHU, SIEFTER y ECKER (1942), y O. BIER (1945). Como es sabido, la cantidad de "complemento" consumido en una reacción serológica se mide volumétricamente, es decir, por el número de ml. de suero fresco de cobayo (siempre usado como complemento) convenientemente diluido. HEIDELBERGER quiso sustituir este método por un procedimiento exacto (1), para lo que partió del hecho de que los precipitados específicos fijan el complemento y de que los complejos antígeno-anticuerpo, que constituyen los precipitados específicos, fijan la denominada pieza media del complemento (en la nueva terminología $C'1$), que desde antiguo se sabe que es una euglobulina (véase pág. 12). Por consiguiente, si un precipitado específico se pone en contacto, por una parte, con disolución de NaCl o con suero inactivado de cobayo, y, por otra parte, con suero activo de cobayo (que contiene complemento) en condiciones exactamente iguales, el valor de N debe ser más bajo en el primer caso que en el segundo, en el que se suma al N del precipitado específico el N del complemento combinado. Esto es lo que sucedió, en efecto. A la diferencia la designó HEIDELBERGER $C'1$ N, designación que únicamente sería acertada si los precipitados sólo pudieran fijar $C'1$; pero según se deduce de las investigaciones de PILLEMER, SEIFTER y ECKER (1942, véase punto 4 de la pág. 21), los complejos antígeno-anticuerpo fijan $C'4 + C'2$ y cantidades variables de $C'1$, y, por consiguiente, el aumento de N que señala en el precipitado la presencia de complemento no puede ofrecer una medida exacta del componente $C'1$ (2). El método, establecido sobre esta base, para la determinación química cuanti-

(1) F. HAUROWITZ (1939) había investigado algo antes con mayor exactitud la cantidad de complemento combinado a los precipitados específicos (ovalbúmina o una azoproteína con arsénico como antígeno, *antisuero* de conejo como anticuerpo) por el aumento de peso. El resultado fué *negativo*; es decir, el peso de los precipitados no aumenta, prácticamente, por la fijación de complemento, lo que resultaría incomprensible incluso haciendo la suposición previa de que cada molécula de anticuerpo sólo puede fijar una molécula de complemento; como el complemento, debía producirse, incluso en este caso, un considerable aumento del peso del precipitado. HAUROWITZ deduce "que en la reacción de precipitinas no se combina todo el complejo de complemento de alto peso molecular, sino sólo un pequeño grupo activo del complemento". Con respecto a los datos de GOODNER y HORSFALL (véase pág. 26), debe señalarse que HAUROWITZ añade los antisueros *después* de la adición de complemento en exceso al antígeno, de modo que puede producirse la fijación de complemento antes de que se produzcan precipitados groseros. No nos ha llegado noticia de que los datos de HAUROWITZ hayan sufrido ninguna comprobación especial.

(2) El aumento de N que se observa, después de añadir suero normal fresco, en los precipitados específicos, refleja, según PILLEMER, FEI CHU, SEIFTER y ECKER (1942), únicamente una cantidad variable del complemento total o de un determinado componente del mismo. Por ello la determinación de N en tales

tativa del complemento, se califica por HEIDELBERGER mismo de penoso, por lo que parece difícil que se introduzca en la práctica. En lo que respecta a los resultados teóricos, HEIDELBERGER calculó que el denominado C₁ N contenido en suero fresco de cobayo corresponde al 0.4-0.7 por 100 de las proteínas totales del suero, lo que coincide con el valor 0.6 por 100 que PILLEMER, SEITZER y ECKER atribuyen al C₁ (al menos ambos datos no se contradicen). Expresándose exactamente, sólo puede decirse que de las proteínas del suero fresco de cobayo sólo una pequeña parte actúa como complemento.

Los nuevos métodos para la determinación del complemento dieron ocasión a investigar las condiciones cuantitativas de la fijación del complemento a precipitados específicos en *diferentes condiciones*. Se dedujo que la cantidad de complemento fijada alcanza un máximo después de una hora de contacto a temperatura ambiente, y que el valor para C₁ N permanece constante tanto si el suero que contiene el complemento se añade posteriormente a los precipitados, como si el precipitado se forma directamente en un medio con complemento; por último, los precipitados que contienen anticuerpo o antígeno en exceso fijan igual cantidad de complemento; es decir, las determinaciones C₁ N rinden en ambos casos resultados idénticos. Todos estos datos [M. HEIDELBERGER, ROCHA E SILVA y M. MAYER], pero especialmente los aducidos en segundo y en tercer lugar, están en manifiesta contradicción con los resultados de las investigaciones de KENNETH, GOODNER y F. L. HORSFALL Jr. (1936).

GOODNER y HORSFALL establecieron inmediatamente, en confirmación de investigaciones anteriores de H. ZINSSER y J. T. PARKER, que los precipitados del polisacárido de cápsulas de neumococos y el suero inmune equino correspondiente, no fijan nada de complemento; la fijación de complemento sólo se produce cuando el antisuero procede de conejo. Pero si se utiliza un antisuero de conejo, la fijación de complemento se manifiesta como un fenómeno de superficie; por ejemplo, si se añade el complemento antes de haber mezclado el polisacárido con el suero inmune, la cantidad de complemento que se fija resulta varias veces superior que si primero se deja reaccionar el antígeno con el anticuerpo, y luego, después de transcurridos tiempos crecientes, se añade el complemento debido a que la superficie de adsorción se reduce, naturalmente, al aumentar de tamaño los floculos. Si el antígeno y el antisuero (de conejo) se mezclan y el precipitado producido, después de mantenido una hora a 37°, se separa por centrifugación, este precipitado, aunque se suspenda concienzudamente en disolución de NaCl, resulta incapaz de fijar complemento que se le añada, que puede descubrirse en su totalidad en el líquido sobrenadante al precipitado. Si a la disolución del polisacárido se añaden, simultáneamente, antisuero de caballo y antisuero de conejo, se fija complemento; el antisuero de caballo no puede, pues, bloquear la molécula de antígeno a no ser que esté

precipitados debe completarse por la investigación de la porción de cada componente del complemento que queda aún en exceso, es decir, que no se ha fijado al precipitado.

en muy gran exceso. Si se añade primeramente el antisuero de conejo y a los treinta minutos el de caballo, se observa una manifiesta inhibición de la fijación de complemento, pero sólo cuando la cantidad de suero de caballo es igual o mayor que la de suero de conejo; la acción de masa del anticuerpo se refleja, pues, en la intensidad de la fijación de complemento.

HEIDELBERGER, ROCHA E SILVA y MAYER pretenden resolver la oposición entre sus descubrimientos y los resultados citados de GOODNER y HORSFALL por la concesión de que la fijación de complemento puede transcurrir de modo distinto si se efectúa en distintas condiciones experimentales. Sin embargo, esto significa que no se conoce de modo suficiente la esencia del fenómeno; se trata de diferencias fundamentales y no producidas meramente por distintas condiciones experimentales; sin una comprobación concienzuda no puede formarse juicio acerca de la veracidad de los datos, lo que, expresado muy objetivamente, significa que se desconoce por qué la fijación del complemento transcurre de modo distinto en los experimentos de HEIDELBERGER y colaboradores que en las pruebas de GOODNER y HORSFALL.

Por último, M. HEIDELBERGER, en colaboración con A. J. WEIL y H. T. TREFFERS (1941), de la determinación química cuantitativa del complemento por el método por ellos propuesto intentaron lograr un análisis más exacto de las reacciones de inmunidad. Investigaron la hemolisis inmune de hematíes por un anticuerpo de conejo y complemento de cobayo. El antígeno (hematíes de carnero) sólo puede determinarse por el número de células contenidas en la mezcla reaccionante; por el contrario, el complemento, es decir, el índice C'I N, se calculó en moléculas atribuyendo a C'I un peso molecular de 150.000 (fundándose en una comunicación particular de E. E. ECKER y L. PILLEMER); análogamente se determinó el número de moléculas de anticuerpo necesarias para la reacción, a partir del índice de N de la hemolisis y del peso molecular de la globulina y de conejo (158.000). De este modo podía llegarse a determinar el número de moléculas de anticuerpo y de complemento que deben cooperar para lisis un solo hematíe. Los resultados obtenidos, en opinión de los autores, parecen corresponder con la teoría según la cual los antígenos multivalentes se combinan con los anticuerpos multivalentes constituyendo una red en la que, en el caso de la hemolisis o de una fijación de complemento por precipitados específicos, se entretejen las moléculas de complemento, combinándose con las moléculas de anticuerpo que rodean la red ("quizás también con las moléculas de antígeno"). Los autores mismos no consideran los resultados de su complicado experimento como *demonstración* de la teoría reticular (*alternation hypothesis*), sino únicamente que señalan hacia ella, y en un campo que no pudiendo ser estudiado por los métodos corrientes permanece aún, a pesar de los esfuerzos experimentales y del refinamiento especulativo, en el *non liquet* en que se ofrece al lector del tomo *El Anticuerpo* (Primera parte), pág. 223 de esta obra. También W. C. BOYD, en sus *Fundamentals of Immunology*, 1943, después de considerar cuidadosamente todos los argumentos en pro y en contra de la teoría reticular, no se decide en ningún sentido.

Puede preguntarse si este consumo de trabajo, este esfuerzo hacia la exactitud, estaba justificado; es decir, si de un avance emprendido con factores tan inseguros (pesos moleculares hipotéticos, configuración de las moléculas de anticuerpo y de complemento, cálculo de la proteína a partir de los valores de N, modo de efectuarse la combinación recíproca de los componentes de la reacción, etc.) podían esperarse que se cumplieran los objetivos que con él se proponían M. HEIDELBERGER y colaboradores. En todo caso, hasta ahora no se ha demostrado su significación heurística. Tampoco parece muy importante conocer cuánto anticuerpo y complemento debe fijarse en un hematíe para provocar la salida de la hemoglobina del estroma; sería necesario conocer antes por qué se daña la célula, problema que, evidentemente, no puede resolverse de modo puramente cuantitativo. Este es el lugar en que se encuentran ya los protagonistas de la investigación en inmunidad; los capítulos siguientes expondrán el estado en que se encuentra actualmente este problema.

CAPÍTULO V

LA LISIS COMO DEMOLICION FERMENTATIVA DEL ANTIGENO

Esta idea procede de P. EHRLICH, que imaginó que el complemento, una vez fijado por mediación del anticuerpo específico en la célula que contiene antígeno, despliega una suerte de acción digestiva; tal opinión se ha reflejado en la nomenclatura, ya que el grupo toxóforo del complemento se ha designado también como "grupo ciotóxico". El substrato fermentescible debe ser la célula, que es la que sufre una alteración visible o apreciable de otro modo (lisis, muerte de las bacterias); y, dentro de la célula, se considera que el punto que se ataca son las proteínas, porque el efecto citotóxico tiene como condición previa una reacción antígeno-anticuerpo, y las investigaciones sobre inmunidad durante mucho tiempo han considerado exclusiva de las proteínas naturales la cualidad de antígeno. Si esta serie de silogismos fuera cierta habría que considerar al complemento como una *proteasa*.

Pero la citolisis inmune no es el único campo en que aplicar la teoría de la acción proteolítica del complemento. Los animales pueden prepararse de modo específico por proteínas, de modo que una nueva inyección de la misma proteína desencadena en ellos fenómenos de choque, y este hecho sugirió la idea de que en la inyección desencadenante se produce un desdoblamiento rápido del antígeno, pensamiento que recibió fuerte apoyo por el hecho de que la demolición fermentativa de las proteínas rinde productos tóxicos, cuyos efectos se asemejan en alto grado a los síntomas producidos por la inyección proteica repetida. Hay que añadir que E. FRIEDBERGER, por la digestión de precipitados inmunes con sueros que contienen complemento, obtuvo líquidos (anafilotoxinas) que, inyectados intravenosamente a cobayos normales, les producen el síndrome de un choque anafiláctico agudo. También debe investigarse a este respecto la reacción del suero de ADDERHOLDEN.

Ahora bien: no ha podido apreciarse nunca que el complemento actúe proteolíticamente sobre los hematíes cargados de anticuerpo o sobre cualquier otro producto resultante de una reacción antígeno-anticuerpo. Todo el esfuerzo gastado con este propósito ha dado resultado completamente negativo, siempre que no han intervenido errores experimentales. Así, H. LAMPL y K. LANDSTEINER (1917) señalan que los precipitados inmunes específicos no experimentan por tratamiento con suero que posee complemento ninguna pérdida apreciable de peso. W. BACHMAN (1923-24) observó, primero, que en los procesos fermentativos en que se producen desdoblamientos hidrolíticos se produce un aumento de la densidad óptica de la mezcla de la reacción, que puede medirse con el interferómetro para líquidos de Zeiss; en las reacciones de inmunidad, y en especial en aquellas en que el complemento funciona como factor esencial, no se aprecia este proceso. Aparte de las demostraciones de este tipo (muy numerosas) con resultado negativo [J. W. JOBLING, A. A. EGGSTEIN y W. PETERSEN (1915), A. MCNEIL y R. L. KAHN (1918), E. WOLLMANN y GRAVES (1923), H. DALE y KELLAWAY (1921) y otros], se produce un cambio de ideas decisivo al descubrirse que también pueden funcionar como antígenos sustancias no proteicas, de modo que los polisacáridos de las bacterias pueden intervenir en la formación de precipitados inmunes fijadores de complemento y en el desencadenamiento del choque anafiláctico [J. TOMSIK y T. J. KUROTCHEV (1928), R. C. LANCEFIELD (1928)]. Tampoco ha podido admitirse la hipótesis de que el complemento actúa no proteolíticamente, sino como una lipasa (desdoblando grasas), a pesar de haberse discutido la posibilidad, por falta de una prueba admisible de cualquier tipo.

Los defensores de la teoría de la naturaleza fermentativa de la acción del complemento no han cesado nunca de replicar contra los argumentos aducidos en contra de ella. En innumerables trabajos, que incluso han dado ocasión a exposiciones monográficas del problema del complemento [J. KISS (1921), T. W. B. OSBORNE (1937)], se ha defendido esta posición insostenible, e incluso publicaciones recientes suscitan de nuevo si, a pesar de todo, las modificaciones del antígeno provocadas por las acciones sumadas de anticuerpo y complemento no hablan en favor del carácter enzimático de éstas. Así, T. W. OSBORNE (1937) aduce que tales reacciones, como los procesos fermentativos, son extraordinariamente específicas, que el complemento es termolábil y que una pequeña cantidad del mismo es capaz de transformar grandes cantidades de substrato; además, señala que la velocidad de reacción de la hemólisis, en los casos en que el subs-

trato sobrepase en mucho la cantidad de complemento, no se influye por la concentración de los hematíes no lisados. PILLEMER, SEIFTER, FEI CHU y ECKER (1942), que citan estas consideraciones de OSBORNE, opinan que de sus propias investigaciones acerca de los componentes del complemento C'1, C'2 y C'4 poco puede aducirse en pro y contra de la hipótesis enzimática; pero que los pocos hechos conocidos acerca de C'3 justifican la calificación de este factor como catalizador, ya que ni se combina ni se consume en la hemolisis. J. BORDET, en la segunda edición de su "Traité de l'immunité" (1930), afirma que el organismo, para conseguir un determinado fin, con frecuencia utiliza la cooperación de dos sustancias, y aduce el ejemplo de la digestión pancreática; el profermento contenido en el jugo pancreático se transforma en tripsina activa mediante otra sustancia contenida en el jugo intestinal o en el pancreático mismo (enteroquinasa). Este proceso podría compararse con la cooperación del anticuerpo y del complemento en la hemolisis; del mismo modo que la enteroquinasa puede fijarse en cualquier proteína, permitiendo que sobre ella actúe el jugo pancreático, los anticuerpos sensibilizan los hematíes, llevándolos al estado en que puedan someterse a la influencia perturbadora del complemento. Sin embargo, BORDET subraya que las relaciones entre anticuerpo y complemento no corresponden de ningún modo a las que existen entre enteroquinasa y jugo pancreático. El único lazo de unión que se observa entre los dos fenómenos es que en ambos participan dos sustancias para conseguir *un* efecto, y esta analogía no justifica la conclusión de que el mecanismo de todos los procesos combinados de este modo deba ser el mismo, ni siquiera semejante.

CAPÍTULO VI

ACCION DEL ANTICUERPO, SIN PARTICIPACION DEL COMPLEMENTO, SOBRE CELULAS QUE POSEEN ANTIGENO

I. BACTERIAS FLAGELADAS

A todo el que intenta abrirse paso entre la maraña de todas estas discusiones le sorprende *la unilateralidad con que se ha procedido a distribuir los papeles entre anticuerpo y complemento*. Al anticuerpo, desde P. EHRLICH hasta la fecha, no se le concede más papel que el de simple intermediario, atribuyéndose el efecto de lesionar la célula al complemento. Esta distribución es manifiestamente incorrecta, como ha señalado R. DOERR (1929). Las bacterias móviles se perturban en sus movimientos por antisueros exentos de complemento (por ello R. PEIFFER y KOLLER propusieron para las aglutininas la designación de "paralisinás"). Esta observación ha caído en olvido, porque posteriormente, por razones de técnica de diagnóstico, la aglutinación microscópica se ha sustituido por métodos macroscópicos, y se utilizan bacterias muertas para evitar infecciones de laboratorio. Únicamente la necesidad de esclarecer las diferencias entre las aglutinaciones H y O ha dado ocasión a volver a considerar el fenómeno de la inmovilización de bacterias móviles. En el microscopio electrónico se ha podido demostrar que los flagelos se vuelven más gruesos por la globulina inmune que en ellos se deposita cuando se hace actuar un anticuerpo dirigido contra el antígeno flagelar [ST. MUND y T. F. ANDERSON (1941)], y la investigación en la cámara oscura de la aglutinación flagelar de bacilos tíficos [A. PIJPER (1938)] dió también la impresión de que los bacilos se hacen más gruesos por el depósito, se envaran y, a consecuencia de ello, se entrecruzan. Pero resulta dudoso si, en este caso, no se confunden entre sí causa y efecto, o, expresado con mayor preci-

sión, si basta el primer contacto con el antisuero para que los flagelos, o todo el aparato que rige las funciones motoras, se paralícen y que el depósito de la globulina inmune sólo pueda producirse y progresar, porque los bacilos han quedado previamente en reposo.

2. PROTOZOOS

Muchos *protozoos móviles* se comportan de modo análogo a las bacterias flageladas. Los sueros inmunes pueden obtenerse por la inmunización de conejos por los protistas, y, prescindiendo de las relaciones de parentesco, se comportan como específicos; siguen activos después de una calefacción de media hora a 56°: es decir, después de eliminar el efecto del complemento [R. RÖSSLE (1905), M. MASUGI (1927-28), M. ROBERTSON (1934), CH. TANZER (1941), J. A. HARRISON y E. H. FOWLER (1945)]. El síntoma más sorprendente de la acción de los sueros inmunes inactivados consiste en una inmovilización de los protistas análoga a la observada con las bacterias flageladas. Pero, según la investigación microscópica continuada, resulta evidente que la parálisis no se debe al espesamiento de los cilios y flagelos por la globulina inmune depositada, sino a una influencia inmediata sobre el aparato neuromotor; en primer lugar porque a la parálisis precede un estadio de exaltación de la movilidad, que, en condiciones experimentales apropiadas, se aprecia claramente [R. RÖSSLE], y en segundo lugar, porque los movimientos, al cabo de un período mayor o menor de reposo, pueden reanudarse [CH. TANZER]. Tampoco puede admitirse que el impedimento sea puramente mecánico, porque en la fase de parálisis se separa un número mayor o menor de flagelos que no se regeneran en el tiempo que dura la observación microscópica, de lo que debe deducirse que tales porciones del aparato motor quedan sin función de modo permanente; es decir, que parece haber muerto el centro trófico-motor. Pero (y ésta es una observación de fundamental importancia) la interrupción irreversible de las funciones vitales por los sueros inmunes no se limita de ningún modo a la esfera motora de los protistas: *los animales mueren poco a poco, y las concentraciones mínimas letales de los sueros inmunes inactivados pueden reducirse hasta 1:800-1:3.200* [M. ROBERTSON].

Si a un suero inmune inactivo se añade suero fresco de cobayo (complemento), no se exalta el título letal del suero inmune, sino que únicamente se reduce el tiempo necesario para que mueran todos los

protistas de la mezcla reaccionante. Por el contrario, la adición de complemento provoca la lisis de los protozoos, como comprobó M. ROBERTSON en su material de experimentación (el flagelado *Bodo caudatus*). ROBERTSON señala expresamente que la acción letal de los sueros inmunes inactivados debe considerarse como una reacción de inmunidad, ya que el título se mantiene constante en diversas condiciones, y porque los sueros normales carecen de esta propiedad o la poseen en grado reducido (véase luego). No todos los protozoos se comportan en este sentido como el *Bodo caudatus*. Sin embargo, este flagelado no es el único ejemplo de gran sensibilidad contra un anticuerpo específico.

El efecto, J. A. HARRISON y E. H. FOWLER (1945 a) confirmaron en el *Paramecium aurelia* las observaciones de M. ROBERTSON, y lo mismo hicieron en una comunicación posterior [HARRISON y FOWLER (1945 b)] en el holotrico *Ciliate tetrahymena*. En esta última especie no sólo se apreciaron los fenómenos descubiertos por ROBERTSON, sino que después de una acción más prolongada de antisueros más diluidos aumentó muy considerablemente el número de ejemplares atacados en su partición (que se elevó hasta el 80 por 100). Si el período de observación se prolonga lo suficiente, se demuestra que las particiones en dos quedan con frecuencia incompletas y que se suceden numerosos intentos de participación abortados, de modo que aparecen células gigantes multinucleares de configuración enteramente irregular. La comparación con los efectos producidos por sueros normales de conejo o por antisueros heterólogos demuestran que debe tratarse de manifestaciones de una reacción específica antígeno-anticuerpo. Por último, H. NOGUCHI (1926) y I. J. KLIGLER (1925-26), inmunizaron conejos por inyección intravenosa de cultivos vivos de *Leishmania* y obtuvieron antisueros estrictamente específicos capaces de actuar sobre la especie de *Leishmania* homóloga *sin adición de complemento*, paralizándola, aglutinándola, matándola y disolviéndola en cierto sentido por la demolición de la sustancia de su soma.

Ahora bien: es justo señalar que los sueros normales frescos provocan también perturbaciones en muchos protistas, en especial fenómenos de parálisis [W. SCHUCKMANN (1920), M. ROBERTSON, M. E. ELMORE (1928), M. MASUGI, CH. TANZER]; pueden incluso provocar la muerte y la lisis de los protozoos. Pero el título es bajo; bastan diluciones de 1 : 40 para que sobreviva cierta proporción de ejemplares. Si tales sueros normales se inactivan (por calefacción a 56°), sólo alcanzan a producir una especie de choque transitorio, que se manifiesta por perturbaciones de movilidad, del que pronto se restablecen.

Queda por decidir si la acción de los sueros frescos se debe a la cooperación de complemento termolábil y de un anticuerpo natural termostable. Esta parte de las reacciones de inmunidad citotóxicas sobre animales unicelulares debe comprobarse sobre diversas especies, teniendo también en cuenta los métodos antiguos y recientes de fraccionar el complemento.

CAPÍTULO VII

INTERPRETACION BIOLOGICA DE LAS PERTURBACIONES OCASIONADAS POR LA ACCION DE LOS ANTICUERPOS SOBRE CELULAS QUE CONTIENEN ANTIGENOS. SIGNIFICACION DE LA CITOLISIS

M. ROBERTSON intentó relacionar en lo posible los resultados de sus investigaciones en protistas con las observaciones acerca de la hemolisis y bacteriolisis. Como también se deduce de los datos anteriormente señalados, tal paralelismo, indudablemente, existe. Pero, *a priori*, puede considerarse seguro que, considerando la gran diversidad de los seres vivos objeto de experimentación, también han de observarse diferencias de comportamiento. El experimentador en la hemolisis sólo aprecia la separación de hemoglobina de la sustancia que constituye la armazón de los hematíes; si se trabaja con bacterias vivas y móviles, se observa la inmovilización y los fenómenos de la aglutinación H y O, que se producen sin complemento, y, caso de cooperar complemento, la muerte de las células bacterianas que, según sea la naturaleza de éstas, puede ir acompañada de su disgregación (*Vibrio cholerae*) o producirse sin lisis (especies de *Salmonella*); en los protistas, finalmente, la muerte de la célula puede incluso ser independiente de la cooperación del complemento y no apreciarse lisis en medios pobres en sal. *Hay, pues, que reconocer que los anticuerpos dañan en sí y por sí mismos las células, y que sólo depende de la naturaleza de éstas, de las condiciones experimentales y, ante todo, de los indicadores del daño celular, el que la acción aislada del anticuerpo se manifieste directamente o que requiera que el experimentador la descubra.* Esta afirmación, evidentemente, es independiente del mecanismo de la lesión. Es muy posible, e incluso sumamente probable, que el proceso se inicie por depositarse globulina inmune; que a consecuencia de ponerse en contacto con el antígeno tome el carácter de globulina desnaturalizada, y que entonces las

células se comporten como partículas de proteínas desnaturalizadas y que, como éstas, floculen por los electrolitos de la mezcla reaccionante (hipótesis de G. S. SHIBLEY). Esta explicación se adapta y resulta suficiente para la aglutinación, que, como es sabido, también se produce con bacterias muertas, pero no esclarece nada la naturaleza del efecto citotóxico que por definición presupone un objeto vivo. Para la aglutinación tampoco es indispensable el anticuerpo. Si se añade tanino a una suspensión de hematíes también se produce una aglutinación de éstos, que L. REINER y colaboradores atribuyen a la fijación de los grupos polares del tanino sobre los coloides de los hematíes, mientras que los grupos apolares (hidrófobos) bencénicos se vuelven hacia el agua; el proceso se interpreta también como la transformación de partículas liófilas en lióforas, opinión que ya había expuesto anteriormente G. S. SHIBLEY para la aglutinación inmune.

Sin embargo, el fenómeno vital es *la muerte de la célula* (¡no la lisis!). Desde hace tiempo se sabe que la muerte de las bacterias por efecto de anticuerpo y complemento puede producirse sin lisis, e incluso que ésta es excepcional. En los protozoos también son independientes muerte de la célula y citolisis, en el sentido de que la muerte puede producirse sin que implique necesariamente la disgregación dentro del período de observación (M. ROBERTSON).

Ahora bien, si los anticuerpos pueden provocar la muerte de las células, o al menos de determinadas células, sin participación del complemento, hay que admitir como consecuencia que lesionan por sí mismos las células; sin embargo, en aquellas combinaciones en que para que se produzca el efecto letal se requiere el complemento, queda sin contestar cómo éste exalta la lesión preparada por el anticuerpo hasta interrumpir las funciones vitales. Este problema, hasta la fecha, está sin resolver. Una consideración superficial se limitaría a atribuir al complemento propiedades "líticas". Si los hematíes se tratan previamente por tanino, adquieren la capacidad de fijar complemento y de ser lisados por él [L. REINER y colaboradores]. En este experimento el anticuerpo se sustituye por un agente inespecífico, y podría descubrir en su pureza el modo peculiar al complemento de lesionar la célula; la lesión se manifiesta como hemolisis. Pero de hecho los

hematías no se disgregan, sino que sólo dejan salir la hemoglobina. Resulta decisivo el hecho de que la mayoría de las bacterias, cuando se cargan con anticuerpos específicos y después se exponen a la acción del complemento, mueren *sin disgregarse*. Y en los flagelados investigados por M. ROBERTSON los procesos transcurren de modo que el anticuerpo mata la célula y el complemento no intensifica cuantitativamente la acción letal, sino que sólo la acelera. De modo que no es justo atribuir el efecto lítico siempre al complemento, como se hace, por ejemplo, en los trabajos de PILLEMER, ECKER y colaboradores. Los hechos conocidos no permiten precisar a qué se debe que la actividad del sistema anticuerpo + complemento sobrepase la del anticuerpo (sin complemento), y por qué la diferencia sea tan variable de un tipo a otro de células.

Se ha considerado erróneamente que la hemolisis (o expresado con más exactitud, la pérdida de la hemoglobina por los hematías), tanto fenológica como experimentalmente, era la clave para la resolución del problema del complemento. Sin embargo, así se orientaron las investigaciones que condujeron a E. E. ECKER (véase la revisión de conjunto aparecida en la *Rev. d'Immunologie*, 4, 1938) a la hipótesis de que el complemento se asemeja a ciertos fermentos hidrolíticos porque, como ellos, está sometido a influencias oxidantes y reductoras. Por ejemplo, E. E. ECKER, L. PILLEMER, E. W. MARTIENSEN y D. WERTHEIMER (1938) observaron que el "complemento" se inactiva por ciertos agentes oxidantes, como yodo, agua que contiene O, aireación o quinona, y que puede reactivarse por agentes reductores (H_2S , KCN, vitamina C (ácido l-ascórbico), hidrosulfito sódico). Se han comprobado la inactivación y reactivación regulando cuidadosamente los reactivos utilizados, la concentración de iones hidrógeno, la temperatura, la duración de la reacción, etc.; pero siempre, exclusivamente, en pruebas de hemolisis. De lo observado se deduce que el complemento sólo resulta activo cuando se encuentra en estado reducido, es decir, cuando contiene el grupo sulfhidrilo (en el estado que puede representarse esquemáticamente como complemento —SH), y que la inactivación por oxidación, cuando es reversible, debe conducir a la forma del complemento: complemento —S—S—complemento (es decir, a una combinación del tipo de la cistina). Según esta teoría, la inactivación reversible no sólo se produciría por oxidación, sino por cualquier alteración química reversible del grupo con S del complemento; algunos resultados obtenidos en determinadas condiciones parecen indicar que esta deducción es correcta.

Modificaciones reversibles, que se traduzcan en la pérdida de ciertas funciones que luego pueden recuperarse, no son raras, en especial entre sustancias activas que contienen proteínas. Recordaremos únicamente que muchas toxinas bacterianas pueden perder su efecto venenoso por la acción de ácidos, y que la toxicidad puede recuperarse total o parcialmente por la neutralización de ellos [R. DOERR (1907 a, 1907 b)], que en los experimentos clásicos de V. GEGENBAUER (1922), mediante sublimado, se elimina totalmente la capacidad de reproducción de los estafilococos *in vitro* e *in vivo*, capacidad que se recupera desintoxicando con H_2S o con sulfuros. La heterogeneidad misma de estos y otros numerosos ejemplos análogos de inactivación reversible de una sustancia no permiten deducir ninguna conclusión acerca de su naturaleza ni del mecanismo de su acción, de no existir alguna otra prueba. Por lo demás, es también sabido que se producen inactivaciones irreversibles del complemento y que la recuperación de su función complemento en los procesos reversibles puede ser más o menos incompleta (los experimentos de ECKER y colaboradores suministran abundantes datos); una hipótesis bien fundada debe tener en cuenta todos estos hechos y no apoyarse exclusivamente en los resultados que convengan con ella.

CAPÍTULO VIII

LOS FENOMENOS CITOTOXICOS CONSIDERADOS COMO PROCESOS CONDICIONADOS FISICO-QUIMICAMENTE

Pero, como ya se ha señalado, estas objeciones no llegan a la medula del asunto. La hemolisis no es una fermentación. La hemoglobina no experimenta modificación alguna, ni los estromas, que después de eliminada continúan en la célula, se disuelven ni se alteran químicamente, en el sentido de demolición. Lo que se produce en la hemolisis inmune, en principio, no es nada diferente del arrastre de la hemoglobina por lavado con agua destilada. Sin embargo, M. HEIDELBERGER y H. P. TREFFERS (1942) han señalado que los estromas de los hematíes de carnero, de los que se ha extraído, por varios lavados con agua destilada, la hemoglobina y otras sustancias solubles, conservan ligada a ellos la denominada "hemolisina", y que, si se combinan con anticuerpos, anclan complemento hasta fijarlo en una proporción de un 80 por 100 del propio peso (como medida se aplicó el valor de C'I N). *Resulta, pues, claro que la eliminación de la hemoglobina de los hematíes no desnaturaliza el antígeno de los estromas, sino que deja intacta su capacidad serológica de reaccionar con anticuerpos y complemento.*

Partimos del punto de vista de que también en la hemolisis inmune lo que se separa de los hematíes es únicamente hemoglobina, y que no existe ningún punto de apoyo para admitir la demolición enzimática del antígeno (de los hematíes); debe añadirse, sin embargo, en primer lugar, que entre el proceso que ocasiona la salida de hemoglobina al añadir una gran cantidad de agua destinada a una suspensión de hematíes, y la fijación de anticuerpo y complemento en hematíes normales suspendidos en una disolución isotónica de NaCl, no parece existir ninguna relación estrecha; y, en segundo lugar, que el color

laqueado que toma la sangre en la prueba hemolítica no es el único efecto que puede producir en una célula viva el anticuerpo o la acción combinada de anticuerpo y complemento, sino que, como se ha considerado por extenso, puede observarse también la muerte o la disolución de la célula que contiene antígeno.

Sin embargo, ni la primera ni la segunda objeción ofrecen base para combatir la opinión de que el complemento, solo o en unión del anticuerpo, es capaz de ejercer funciones fermentativas; es decir, que él mismo es una especie de fermento, para cuya existencia real, por el momento, no puede aportarse ninguna prueba convincente. Indudablemente es más racional limitarse a resultados experimentales seguros; y aquí se tropieza de hecho con una abundante fuente de conocimiento.

ACCIONES CITOTÓXICAS DE LOS JABONES INVERTIDOS ("DETERGENTES") COMO PROTOTIPO DE LOS PROCESOS DE INMUNIDAD CITOTÓXICOS

En 1928, M. HARTMANN y H. KÄGI, por la acción de ácidos grasos superiores sobre diaminas alifáticas, obtuvo unas combinaciones que en disoluciones fuertemente ácidas presentan el carácter de jabones, carácter que los jabones ordinarios no poseen sino en disolución neutra o alcalina. Por tal comportamiento estas sustancias se designaron como "jabones ácidos", expresión que posteriormente R. KUHN sustituyó por "jabones invertidos". R. DOERR investigó estos preparados y observó que inhiben el desarrollo de las bacterias y las matan con mucha más energía que los jabones alcalinos (investigaciones inéditas, citadas someramente por M. HARTMANN y H. KÄGI); estos jabones invertidos se comportan también como potentes hemolíticos.

El descubrimiento de HARTMANN constituyó el punto de partida para la síntesis de gran número de desinfectantes, de los que dieron información numerosas publicaciones [G. DOMAGK (1935), O. WESTPHALL y D. JERCHEL (1942), R. KUHN y O. WESTPHALL (1940), W. BOSSHARDT (1944) y otros]. Pero a nosotros, en este lugar, no nos interesan las operaciones químicas utilizadas en la síntesis de estos desinfectantes, ni el interés práctico que hayan adquirido en la

lucha contra las epidemias, sino sus acciones fisiológicas sobre las células y el mecanismo de tales acciones.

Una revisión de R. HÖBER y JOSEPHINE HÖBER, expuesta con claridad, que resume la literatura aparecida hasta marzo de 1942, nos ahorra el esfuerzo de detenernos en particularidades. Hemos de señalar únicamente que en la literatura americana estas sustancias reciben el nombre de "detergentes" (es decir, medios de limpieza), indudablemente a causa de su carácter de jabones y de la aplicación que de dicho carácter se deriva.

Según la exposición de R. y J. HÖBER, estas sustancias son electrolitos orgánicos con actividad de superficie, cuya molécula está compuesta de dos componentes, uno polar, hidrófilo, que tiende a fijar moléculas de agua, y otro no polar (hidrófobo u organófilo), atraído por la fase no acuosa. El resultado es una orientación de las moléculas en las superficies limitantes, determinada por el contrabalanceo mutuo de ambas fuerzas contrapuestas. Cuando predomina el componente hidrófobo se fija una película de agua sobre la fase no acuosa, y en el caso de superficies limitantes entre células y su medio las células deben hincharse por el agua que captan y pueden disgregarse cuando la acción humectante destruye la estructura coloidal o micelar de las células. Las moléculas proteicas pueden desplegarse [M. L. ANSON (1939), A. E. MIRSKY (1938)], las proteínas complejas pueden desdoblarse [M. L. ANSON, KUHN y colaboradores (1940)] y el final es la *disgregación de las células*. La capacidad citolítica de las sustancias, según R. y J. HÖBER, puede determinarse, según su grado: a) por el umbral hemolítico, y b) por el miolítico; es decir, por las mínimas concentraciones capaces de provocar la salida de hemoglobina de los hematíes o de dañar los músculos estriados. Resulta que estos valores límite no sólo van paralelos con la actividad superficial (determinada estalacmométricamente) de la sustancia correspondiente, sino que incluso coinciden en valor numérico de modo notable. En experimentos efectuados con las células estrelladas de KUPFFER del hígado de rana, se ha observado que las sustancias investigadas (sulfonato de alcohol, sulfosuccinato de alcohol y sales

de ácidos gálicos) facilitan la entrada en el plasma celular de colorantes, por ejemplo, de azul tripán, a partir de un líquido de perfusión, pero sólo cuando a éste se le añade un pequeño porcentaje de suero (R. y J. HÖBER). Los autores atribuyen este efecto a la acción combinada de las proteínas del suero y del detergente; en todo caso también aquí se observa un efecto que sólo se produce por la cooperación de dos factores (véase también pág. 31).

El modo de acción de estas sustancias con actividad superficial enseña, en primer lugar, que la salida de hemoglobina de los hematíes probablemente no se debe a un proceso fermentativo, sino a fuerzas intermoleculares que actúan en la superficie limitante entre la célula y su medio líquido. Lo que presta un valor particular a este prototipo de acción citotóxica es que se extienda a todas las manifestaciones de actividad que observamos en las reacciones serológicas cuando el antígeno o antígenos están engarzados en la estructura de las células vivas (salida de hemoglobina de los hematíes, lisis completa de las células y muerte de la célula sin previa disgregación). La forma de actividad depende no sólo de la estructura química de la sustancia empleada, ni, dentro de cada una, de su concentración, sino también de la peculiaridad del objeto, es decir, de las características de la célula atacada. Las diferencias que pueden existir a este respecto se deducen del hecho, observado en el microscopio por R. y J. HÖBER, de que las células hepáticas de KUPFFER sólo pueden captar el azul tripan del líquido que las baña, cuando éste contenga suero (véase pág. 42); por el contrario, los epitelios secretores del hígado y las células de los túbulos renales se dejan penetrar por el colorante, que pasa sin impedimento por su plasma, tanto cuando el líquido que pasa por los capilares contiene suero, como cuando carece de él. La misma dependencia del tipo de célula domina, como ya se expuso por extenso, el fenómeno de la citolisis inmune, una razón más para buscar su causa en factores de la misma índole y ver si por el camino intentado por L. PAULING (1945) puede alcanzarse mejores resultados que manteniéndose aferrados a la hipótesis fermentativa, no justificada por pruebas nuevas. En el resumen del capítulo sobre reacciones antígeno-anticuerpo de la obra *Fundamentals of Immunology*, de W. C. BOYD, capítulo al que concede una extensión excepcional, fundamenta el autor esta preferencia temática por las siguientes palabras: "The main reason, however, for the present exposition has been the hope that possibly through it other minds, coming to the problem with fewer prejudices and no preconceived notions, may hit upon the true solution which the rest of us have been unable to see." En esta

frase, además del reconocimiento espontáneo de que "la verdadera solución" no se ha encontrado aún, y que quizás ni siquiera se encuentra entre las posibilidades discutidas hasta la fecha, se oculta también una nota crítica que significa que sería aconsejable abordar las tareas planteadas con menos lastre de "prejuicios y opiniones formadas". Al reconocimiento y a la crítica podemos adherirnos sin reservas, como se deduce de lo expuesto.

CAPÍTULO IX

ANTICUERPO Y COMPLEMENTO EN LA NEUTRALIZACIÓN DE SUSTANCIAS INFECCIOSAS DEL TIPO DE LOS VIRUS

Uno de los puntos más importantes de lo expuesto anteriormente, no lastrado por hipótesis, sino limitado a establecer hechos, es el reconocimiento de que el efecto ejercido por la fijación de anticuerpo y complemento en una célula viva depende de lo peculiar de esta célula. Los virus se comportan en muchos respectos exactamente igual que los microorganismos infecciosos, es decir, como células que se multiplican de modo parásito en un huésped y pueden producir en él efectos patógenos [R. DOERR (1936, 1942, 1944)]. Muchos virus, en especial los corpúsculos elementales de la vacuna variólica, parecen poseer, según investigaciones en el microscopio electrónico, una organización celular (membrana limitante, estructura interna) [R. H. GREEN, T. F. ANDERSON y J. F. SMADEL]; pero la mayor parte se consideran macromoléculas, concepción que fuerza a la alternativa de admitir la existencia de moléculas vivas capaces de reproducción autónoma o de separar de los virus la capacidad de multiplicación, y explicar el hecho de que proliferen en determinados huéspedes por distintas hipótesis, todas aventuradas y algunas absurdas [R. DOERR (1938, 1944)]. Pero lo que no puede discutirse es que la sustancia de los elementos del virus consiste en proteína antigénica que desencadena en el organismo animal la formación de anticuerpos específicos capaces de ligarse al virus al que deben su formación, neutralizándolo, es decir, privándolo de infecciosidad. El anclaje del anticuerpo no conduce a una rápida destrucción del virus, de lo que se deduce que el virus se recupera en forma activa, es decir, infecciosa, si el contacto con el anticuerpo no se ha prolongado mucho; posteriormente se hace imposible disociar el virus del anticuerpo, y la inactivación del primero se hace irreversible [consúltese la exposición de C. HALLAUER en el "Handbuch der Virusforschung", 1939].

Los anticuerpos producidos por los virus no sólo pueden neutralizar éstos *in vitro*, sino dar las reacciones serológicas designadas como aglutinación, precipitación y fijación del complemento. J. CRAIGIE ha reunido todos los datos dignos de ser conocidos en un artículo de tratado meditado, y se plantea también la pregunta, que se nos ha ofrecido en varias ocasiones, de si los anticuerpos que participan en estas reacciones son idénticos o distintos. Desde la publicación de CRAIGIE (1939) ha cambiado poco el problema en líneas generales; algunos trabajos posteriores, como la comunicación de M. H. SALAMAN sobre inmunidad activacunal, aunque aportan observaciones importantes, no influyen de modo decisivo sobre los problemas planteados.

Con respecto al tema que aquí discutimos, nos interesa una afirmación y una pregunta, las dos relativas a la participación del complemento en las reacciones serológicas de los virus. Es un hecho, perfectamente establecido para numerosos virus, que el virus, cuando se carga de anticuerpo, puede fijar "complemento", es decir, privar al suero normal fresco (en general, de cobayo) de su propiedad así designada. La pregunta, que está relacionada con la observación anterior, es si la neutralización (inactivación) del virus por el anticuerpo (véase pág. 45) está ligada o no a la cooperación del complemento. Formulada de este modo, la pregunta debe contestarse negativamente. El complemento no es necesario para neutralizar el virus *in vitro*. Ahora bien: para poder comprobar la neutralización es necesario inyectar a un animal el virus cargado con el anticuerpo, y, por ello, sería posible que el organismo del huésped suministre el complemento necesario para la neutralización. C. HALLAUER (obra citada, págs. 1151 y siguiente) considera esta objeción poco fundada, en primer lugar, porque no se entiende el motivo por el que el complemento no había de ejercer esta acción también *in vitro*, y en segundo lugar, porque pueden planearse experimentos en que se excluye la cooperación del complemento, actuando únicamente el anticuerpo (neutralización de virus fitopatógenos o de bacteriófagos).

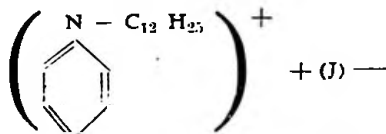
Se conocen, sin embargo, datos antiguos y recientes de los que parece deducirse que, en muchos casos, el complemento intensifica la acción neutralizante del anticuerpo. Así, M. H. GORDON (1925) se refiere a un suero de conejo contra la vacuna que se inactiva (pierde su capacidad neutralizante) por una calefacción de 55° durante treinta minutos, pero que se reactiva totalmente por la adición de complemento. Según J. H. MUELLER (1931), el efecto virulicida de los anticuerpos dirigidos contra el sarcoma de Roux, se intensifica por la

actuación durante una hora a 37° de suero fresco de cobayo, mientras que suero inactivado de cobayo carece de efecto. J. M. MORGAN (1944, 1945) había observado que antisueros de conejo obtenidos por inmunización con el virus de la encefalomielitis equina ("estirpe occidental") pierden parcialmente su acción neutralizante por conservación a unos 4°, pero pueden regenerarse por completo por la adición de complemento; además, el anticuerpo puede separarse por salado, de los sueros inmunes, como seudoglobulina, y el efecto de esta globulina inmune se intensifica siempre por complemento.

El hecho de que la fijación del anticuerpo baste habitualmente para inactivar un virus y, por otra parte, el de que, circunstancialmente, el efecto pueda exaltarse por complemento, sólo son contradictorios, si se parte de la suposición, improbable *a priori*, de que la "citólisis inmune" se determina exclusivamente por el anticuerpo y el complemento, y es independiente del tercer componente de la reacción, a saber: de la célula o, mejor dicho (considerando las opiniones divergentes acerca de la naturaleza de los virus), de la naturaleza del elemento infeccioso. En una serie de ejemplos se ha señalado (véanse págs. 32 a 35) que esta suposición previa es errónea, y que, de hecho, el anticuerpo por sí solo o en combinación con complemento, puede dar lugar a modificaciones muy distintas, según que el substrato correspondiente sea un hematíe o un vibrión del cólera, un bacilo tífico vivo y con el aparato flagelar intacto, una bacteria no flagelada o un protozoo. Precisamente en los protozoos se tropieza con circunstancias que en algunos puntos especiales (fuerte actividad del anticuerpo sin complemento, posibilidad de la aceleración o exaltación del efecto del anticuerpo por complemento) ofrecen gran semejanza con el comportamiento de los virus en las reacciones serológicas. Es cierto que tales analogías no permiten sacar conclusiones acerca de la naturaleza de los virus; pero, por otra parte, resultan apropiadas para excluir aventuradas hipótesis acerca del mecanismo de la inactivación serológica de los mismos. Lo que puede afirmarse de modo bien determinado es, simplemente, que la molécula de anticuerpo se adhiere a los elementos del virus y los priva de su capacidad de reproducción (por tanto, de su infecciosidad), primero de modo temporal, y por último, de modo permanente [consúltese F. M. BURNET, KEOGH y D. LUSH (1937)]. Y he aquí el punto fundamental, ya que el virus y el organismo atacado o inmunizado por él, en el fondo se comportan como si se tratara de una infección producida por un microbio visible al microscopio al que hubiéramos de atribuir el carácter funcional y morfológico de una célula.

APÉNDICE: LA INACTIVACIÓN DE LOS VIRUS POR JABONES INVERTIDOS

Con respecto a lo anterior, debe mencionarse que los virus pueden inactivarse por los jabones invertidos ("detergentes", véanse págs. 41 y siguientes). El efecto alcanza tanto a los virus patógenos de animales [F. M. BURNET y D. LUSH (1940), A. P. KRUEGER (1942), C. C. STOCK y T. FRANCIS, jr. (1943), C. A. KNIGHT y W. M. STANLEY (1944), M. KLEIN, D. A. STEVENS (1945)] como a los fitopatógenos, por ejemplo, al virus del mosaico del tabaco [M. SREENIVASAYA y N. W. PIRIE (1938), F. C. BAWDEN y N. W. PIRIE (1938)]. Las concentraciones activas pueden ser muy bajas. El número de estos preparados es sumamente elevado y muy diversa su composición química. Z. BAKER, R. W. HARRISON y B. F. MILLER (1941 a, 1941 b) han propuesto su clasificación en tres grupos. El primero, designado como grupo de las combinaciones aniónicas, comprende todas las sustancias que al ionizarse se descomponen de modo que el soporte de la acción hidrófoba se localiza en el anión, como, por ejemplo, el laurilsulfato sódico, que se disocia en $(\text{Na})^+$ y $(\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{OSO}_3)^-$. En el segundo grupo, el de las combinaciones catiónicas, es el catión, por el contrario, lo que constituye el grupo hidrófobo, por ejemplo, el yoduro de laurilpiridinio



El tercer grupo incluye las combinaciones no ionizables, como el éster de la poliglicerina. Según los datos de los autores citados, esta clasificación posee también importancia biológica, puesto que los preparados del grupo de los cationes matan tanto las bacterias Gram positivas como las Gram negativas, si bien las Gram negativas mueren con concentraciones del jabón de 1:6000 — 1:30000, actuando durante diez minutos, y las Gram negativas resisten algo más, aunque disoluciones de 1:30000 (de la misma sustancia), si bien no llegan a matar el germen, provocan en él una inhibición manifiesta del metabolismo (de la respiración y de la producción de ácidos). En cambio, las combinaciones del grupo de los aniones apenas actúan sobre las bacterias Gram negativas, y sobre las Gram positivas también ejercen, incluso

en los mejores preparados, un efecto mucho más débil que el de las preparaciones catiónicas.

M. KLEIN y D. A. STEVENS estudiaron el efecto de tales jabones sobre la conocida estirpe PR8 del virus A de la gripe, que habían cultivado en el líquido alantoideo del huevo de gallina incubado. De las 20 sustancias investigadas, 7 inactivan el virus de la gripe, incluso a grandes diluciones dentro de los sesenta segundos; de ellas, 3 pertenecen a las combinaciones catiónicas, y 4 a las aniónicas; ahora bien: la acción de las combinaciones aniónicas coincide, en intensidad, con el efecto bactericida que las mismas ejercen sobre las bacterias Gram positivas. Fijando en sesenta segundos la duración de la acción, la concentración límite capaz de ejercer inactivación completa resulta de 1:500 en las 4 combinaciones aniónicas, y de 1:2000 en las 3 combinaciones catiónicas, es decir, cuatro veces más baja. Por lo demás, ninguna de las sustancias que *in vitro* se comportan como sumamente activas consiguen proteger el ratón de la infección intranasal con el virus de la gripe, tanto cuando se las administra a gotas, por vía intranasal, como en niebla: en estas pruebas sólo dió resultado profiláctico un suero inmune específico.

En principio, tampoco han adquirido importancia teórica las observaciones de M. KLEIN y D. A. STEVENS. Sin embargo, hace poco, A. K. EPSTEIN, B. R. HARRIS y M. KATZMAN (1943) informaron que los preparados designados como emulsoles, cuando contienen de 12 a 14 átomos de C en el grupo de ácido graso, actúan de modo enérgicamente bactericida (matan al *Staphilococcus aureus* en concentraciones de 1:3500 a 1:55000), mientras que no inactivan el virus A de la gripe, o sólo lo hacen parcialmente y a muy elevadas concentraciones. Resulta claro que en tales circunstancias no pueden relacionarse los efectos bactericidas y los virulicidas, sino que cada uno de estos fenómenos debe investigarse por separado en tanto que no pueda tenderse entre ellos un puente practicable que justifique su consideración común.

F. C. BAWDEN y N. W. PIRIE (1938) distinguen dos tipos de inactivación de virus. Uno conduce a una pérdida de la infecciosidad sin modificar las propiedades ópticas ni la reactividad serológica, mientras que el otro desnaturaliza la proteína y, por consiguiente, destruye a la vez todas las propiedades características del virus. Los intentos de descubrir el substrato material de la función de la multiplicación de los virus por la acción de sustancias de composición química conocida, aunque no ha dado el resultado que se esperaba de ella, ha quitado valor a la clasificación de los agentes inactivadores

de virus propuesta por BAWDEN y PIRIE; tales intentos enseñan que a las dos grandes categorías de dichos autores hay que añadir una tercera: la modificación química del virus sin influir considerablemente sobre la infecciosidad. Acerca de estas investigaciones publicó R. DOERR (1944, págs. 27-35) un extenso informe crítico al que apenas puede añadirse nada más (1). N. W. PIRIE (1945), teniendo en cuenta estos progresos, ha modificado su primer esquema original de los procesos inactivadores, prestando una especial consideración a las modificaciones químicas.

En el trabajo citado de BAWDEN y PIRIE se describe un experimento íntimamente relacionado con los problemas de que aquí tratamos: la inactivación del virus X de la patata por dodecilsulfato sódico, sustancia que, en el esquema de Z. BACKER y colaboradores, pertenece al grupo de los aniones. A una suspensión de 10 mg. del virus purificado en 1 ml. de líquido se le añade un 0,33 por 100 de dodecilsulfato sódico y se la mantiene a 38°. Se observa una disminución rápida de la infecciosidad (la infecciosidad se mide por el número de lesiones provocadas en hojas), que se anula al cabo de trescientos minutos. El virus inactivado no ofrece anisotropía en líquido circulante; por centrifugación prolongada no puede separarse ninguna molécula proteica pesada: sin embargo, se precipita material proteico por ácidos o sulfato amónico. La circunstancia de que la anisotropía en líquido circulante y la infecciosidad se reduzcan simultáneamente, parece indicar que los elementos del virus sufren modificaciones morfológicas (tal vez en el sentido de una "kísis") y que la inactivación no debe estar causada por una desnaturalización de la nucleoproteína específica; es cierto que la actividad serológica se reduce igualmente en el curso de la inactivación: pero sigue apreciándose, incluso a grandes diluciones, cuando se ha reducido intensamente la infecciosidad.

(1) Los datos de G. L. MILLER y W. M. STANLEY, según los cuales, por determinados procedimientos químicos pueden modificarse virus fitopatógenos de modo que dejen de ser infecciosos para determinadas plantas, continuando en posesión de la capacidad de multiplicarse en otras, enseña que no es correcto considerar los virus como simples combinaciones químicas en estado de dispersión molecular. La química no ofrece ninguna interpretación para el fenómeno observado por MILLER y STANLEY; en cambio tropezamos con innumerables analogías si consideramos las infecciones por virus desde el punto de vista de la correlación parásito-huésped [R. DOERR (1941 a)], y por ello las incluimos, del mismo modo que las infecciones con microbios vivientes, entre las formas fenomenológicas del parasitismo.

Nada más puede decirse acerca de la inactivación de los virus por jabones invertidos, es decir, por sustancias con actividad de superficie, después de considerar el conjunto de fenómenos observados hasta la fecha. Sin embargo, puede admitirse con certeza que los distintos virus se comportan frente a estas sustancias de modo diverso, y que el mecanismo de inactivación, aunque causado por fuerzas del mismo tipo, probablemente puede transcurrir de diferentes modos. Justifica esta afirmación el hecho de que una misma sustancia, con actividad de superficie, actúe de modo distinto sobre la infecciosidad de diversos virus, y que los virus manifiesten una capacidad de resistencia frente a influencias de todo tipo que varía entre amplios límites, y, por último, la consideración de que las sustancias con actividad de superficie no sólo inactivan diversos gérmenes infecciosos, sino que actúan también desnaturizando proteínas [M. L. ANSON (1939)], privando de su efecto venenoso a toxinas bacterianas [M. BAYLISS (1936)], debilitando o inhibiendo por completo la actividad de fermentos [T. U. MARRON y F. B. MORELAND (1939)]; en una palabra, actuando sobre sustancias de actividad biológica tan diversa que *a priori* se da la posibilidad de múltiples combinaciones de los distintos procesos particulares. Sólo cabría esperar un comportamiento homogéneo de los virus frente a las sustancias con actividad de superficie, si estos agentes infecciosos pudieran considerarse como una unidad biológica *sui generis*, idea que la investigación experimental ha demostrado absurda [R. DOERR (1936, 1938 y 1940)].

CAPÍTULO X

LOS COMPLEMENTOS DE DIVERSAS ESPECIES ANIMALES

I. EL COMPLEMENTO EN EL SUERO NORMAL HUMANO FRESCO. COMPLEMENTOS INACTIVADOS "ESPECÍFICAMENTE"

E. E. ECKER, L. PILLEMER y S. SEIFTER comprobaron que en el suero humano, como en el de cobayo, existe un sistema de complemento constituido por cuatro componentes: C'1, C'2, C'3 y C'4, que son semejantes, pero no enteramente idénticos, a los de igual designación del cobayo. C'1 puede obtenerse en estado de gran pureza a partir de complemento humano; se comporta como una euglobulina, que (en amortiguador de veronal con fuerza iónica de 0,1 y pH 7,8) manifiesta una velocidad de transporte electroforético de $2,9 \times 10^{-5}$ [PILLEMER, SEIFTER, SAN CLEMENTE y ECKER (1943)]. C'1 puede sustituirse, en el suero humano, por C'1 procedente de sueros de bovino u oveja; C'3 es, en cambio, el único componente que puede intercambiarse en los sistemas de complemento humano y de cobayo. ECKER, PILLEMER y SEIFTER llegaron a estas conclusiones aplicando cuatro métodos de inactivación, fundados en parte en métodos de fraccionamiento anteriores (véase pág. 58), ideados de modo que por cada uno de los cuatro métodos podía eliminarse por completo uno de los componentes del complemento. En primer lugar, se dializa, contra un amortiguador de fosfato de pH 5,4 y de fuerza iónica de 0,02, a través de una membrana de celofán, con lo que se provoca una precipitación; el precipitado corresponde a la pieza antes denominada intermedia, y el líquido sobrenadante contiene la pieza terminal, y por la reunión de ambos componentes puede restablecerse la plena actividad del complemento. El líquido sobrenadante queda exento de C'1, y el precipitado, de C'2. Por tratamiento con zimosán se elimina C'3, y mediante NH_4OH , C'4. Resultan los cuatro siguientes preparados de complemento "inactivados específicamente":

N.º	OBTENCION	Contenido de los 4 componentes.			
		C'1	C'2	C'3	C'4
1	Diálisis a pH 5,4 (líquido sobrenadante)....	-	++	+	+
2	Diálisis a pH 5,4 (precipitado).....	++	-	+	+
3	Zimosán.....	+	+	-	+
4	NH ₄ OH.....	+	+	+	-

Los vibriones del cólera sensibilizados con suero inmune específico mueren por el complemento humano; pero con cualquiera de los cuatro complementos inactivados de modo específico no se produce la acción bactericida [T. F. DOZOIS, SEIFTER y ECKER (1943)]. Sin embargo, las bacterias sensibilizadas pueden fijar algunos componentes de tales complementos inactivados, y *estos componentes siguen con capacidad funcional*, ya que el efecto bactericida se produce si después de lavar las bacterias se les añade el factor del complemento que no se había fijado, o al menos se había fijado en cantidad insuficiente, a las bacterias cargadas de anticuerpos [T. F. DOZOIS, SEIFTER y ECKER (1944)]. Finalmente, SEIFTER, DOZOIS y ECKER (1944) también lograron obtener el componente C'2 puro a partir de suero humano.

El suero humano, si se refrigera y almacena a -35° , puede conservarse por lo menos durante un año, sin que la pérdida de actividad exceda de un tercio del valor original. Si se aíslan los componentes singulares del sistema de complemento, se observa que el C'2 es el más sensible a la temperatura, jugando también en su estabilidad un papel la concentración de iones de hidrógeno; C'4 es el que reacciona más intensamente ante las modificaciones del pH; C'3 y C'4 se dañan del modo más intenso por conservación (a diversas temperaturas) y por dilución. En el suero total, sin embargo, C'4 está protegido frente a diversas influencias por factores aun desconocidos [SEIFTER, PILLEMER y ECKER (1943)].

Como de especial importancia debe señalarse que los autores americanos, en sus extensas investigaciones efectuadas cuidadosamente

y, en parte, utilizando factores del complemento purificados, llegaron al convencimiento de que el complemento hemolítico debe ser idéntico al bacteriolítico [DOZOIS, SEIFTER y ECKER (1943, 1944), SEIFTER, DOZOIS y ECKER (1944)]. La afirmación de que el complemento hemolítico se diferencia del bacteriolítico debe considerarse uno de los peores extravíos de la tendencia a hacer responsable a una sustancia especial de cada forma de reacción (aglutinación, precipitación, fijación de complemento, etc.). En la página 26 se mencionan los datos de ZINSSER, y J. P. PARKER y los de K. GOOTNER y F. L. HORSFALL, según los cuales los precipitados obtenidos a partir del polisacárido capsular de los neumococos y del correspondiente suero de caballo no fijan nada de complemento, mientras que se obtienen, en cambio, resultados positivos si se utiliza suero inmune de conejo. La diferencia en este caso es evidente que no se debe al complemento, en ambos casos de la misma especie animal (cobayo), sino que procede del anticuerpo antineumocócico; el anticuerpo de caballo posee un peso molecular tres o cuatro veces mayor que el de la globulina normal de caballo; su especificidad de tipo se acusa menos; la protección que brinda en pruebas con ratones es menor y no puede sensibilizar por vía pasiva al cobayo contra el polisacárido específico; por el contrario, el anticuerpo de conejo se asemeja en el peso molecular y en su velocidad de transporte electroforético a la globulina normal de conejo, posee una especificidad de tipo acusada, protege intensamente contra la infección a los ratones y sensibiliza pasivamente al cobayo contra el polisacárido del neumococo [O. T. AVERY y W. S. TILLET (1929)]. La molécula del anticuerpo humano se asemeja en sus dimensiones a la globulina y de la especie [E. A. KABAT (1939)]; pero en su reactividad serológica se asemeja al anticuerpo del caballo. D. STATS y J. G. M. BULLOWA (1942) examinaron 8 sueros de enfermos que habían sufrido una neumonía tratada por sulfonamidas, en las que se había determinado el tipo de neumococo infectante; el contenido de anticuerpos en los sueros de estos convalecientes alcanzaba a dar, con el polisacárido específico, las reacciones de aglutinación y precipitación, pero no la de fijación de complemento.

Complemento y vitamina C.—Para las reacciones serológicas, en especial para la reacción de Wassermann, se utiliza casi exclusivamente suero fresco de cobayos. Los cobayos, especialmente en invierno, se alimentan a menudo inadecuadamente en los criaderos de los laboratorios y, como consecuencia, enferman con frecuencia. La experiencia de que el suero de cobayos enfermos muchas veces resulta pobre en complemento, y el hecho de que estas especies sean espe-

cialmente sensibles frente a una dieta pobre en vitamina C, ha sugerido que entre ambos hechos pudiera existir una relación causal. E. E. ECKER, L. PILLEMER, D. WERTHEIMER y H. GRADIS (1938), partiendo de estos datos los han comprobado más exactamente con los métodos perfeccionados por ellos. Sacaron la conclusión de que la actividad de complemento del suero de cobayo está en relación directa con su contenido en ácido ascórbico, al menos dentro de un cierto intervalo de concentraciones (hasta 1 mg. en 100 ml. de suero), y que una actividad de complemento *in vitro* escasa puede mejorarse por la adición de ácido ascórbico hasta alcanzar la concentración óptima. ECKER, PILLEMER, GRIFITS y SCHWARTZ (1939) informan también de que el suero de dos hombres que padecían escorbuto poseía poco complemento y se activaba *in vitro* por la adición de ascórbico. Esto llevó a ECKER y colaboradores a emitir la hipótesis expuesta en la página 38, de que el complemento se inactiva por influencias oxidantes y puede reactivarse por agentes reductores; esta hipótesis interpreta el efecto de la avitaminosis C, suponiendo que el complemento existente en el suero de hombres o animales pobres en ácido ascórbico se encuentra en estado oxidado y que su actividad latente puede revelarse *in vitro* o *in vivo* si se administra o añade ácido ascórbico, que actuaría como reductor.

Sin embargo, no han podido confirmarse hasta la fecha los fundamentos experimentales de esta hipótesis ni las observaciones efectuadas en cobayos y hombres alimentados con una dieta pobre en vitamina C. Únicamente F. CHU y B. F. CHOW (1938) pudieron apreciar en el hombre una relación entre la vitamina C administrada y el contenido de complemento en el suero. Por el contrario, C. ARDY (1939) y R. MACCOLINI (1939), trabajando con cobayos alimentados con una dieta pobre en ascórbico, y J. H. CRANDON, C. C. LUND y D. B. BILL (1940), examinando hombres enfermos de escorbuto grave llegaron a resultados negativos, puesto que no pudieron observar ninguna reducción del título de complemento a consecuencia de la alimentación defectuosa (pobre en ácido ascórbico). W. W. SPINK, S. AGNEW y O. MICKELSEN, en tres trabajos sucesivos (véase también S. AGNEW y colaboradores, así como SPINK, AGNEW, MICKELSEN y LA META DAHL), se han ocupado extensamente del tema (1942), y al comprobar los resultados experimentales de ECKER y colaboradores obtienen resultados totalmente negativos.

De modo que un título bajo de complemento en el suero humano no puede elevarse por la administración intravenosa de ácido ascórbico; ni un contenido insuficiente de vitamina C en la alimentación del cobayo, aunque reduzca fuertemente el nivel en sangre de esta vitamina, trae como consecuencia un descenso del título de complemento; tampoco se consigue nunca aumentar la actividad del complemento por la adición de ácido ascórbico, ni conduce a resultados convincentes la repetición de los intentos de inactivar el complemento por oxidación y reactivarlo por reducción. Del mismo modo, el título bactericida, de la sangre humana total o del suero, frente a los estafilococos, al *Escherichia coli* o al *Eberthella typhi*, tampoco ha podido elevarse por la inyección de ácido ascórbico, ni la oxidación completa de esta sustancia por pequeñas cantidades de Cu logra reducir la acción bactericida del suero humano fresco normal.

Una réplica tan contundente en toda la línea no es, sin embargo, de extrañar si se tienen en cuenta las causas de error en las determinaciones de complemento y los factores aún desconocidos anti-complementarios. Considérese que algunos componentes de los sistemas de complemento son proteínas y que una alimentación pobre repercute en la producción de globulinas, pudiendo incluso agotarse las reservas proteicas del organismo; por ello, al parecer, no puede excluirse que la carencia en proteínas o en algún aminoácido esencial [W. C. ROSE (1938)] pueda conducir a la desaparición de complemento en el plasma sanguíneo, del mismo modo que muchos autores, con el mismo fundamento, han supuesto que la producción de anticuerpos protectores (globulinas inmunes) se perjudica si la alimentación durante largo tiempo es insuficiente en calidad y cantidad [véase, entre otros, P. R. CANNON (1942)]. Es decir, una avitaminosis C más o menos acusada no debe ser el factor decisivo; ahora bien, aunque fuera de modo indirecto, tal vez contribuya a la reducción de la producción de globulinas. Si nos referimos exclusivamente al papel de la vitamina C en el problema del complemento, parece que puede situarse en la misma línea al hombre y el cobayo a causa de su sensibilidad frente a la carencia en vitamina C. Los complementos de cobayo y hombre, sin embargo, son únicamente semejantes y difieren entre sí en algunos aspectos.

2. LOS SISTEMAS DE COMPLEMENTO DE OTRAS ESPECIES ANIMALES. POSIBILIDADES DE SUSTITUCIÓN MUTUA ENTRE FACTORES DE COMPLEMENTO DE IGUAL DESIGNACIÓN Y DE PROCEDENCIA ZOLÓGICA DISTINTA

Desde un principio se compararon entre sí los sueros normales, frescos de diferentes especies, con respecto a su capacidad de disolver *in vitro* hematíes sensibilizados (cargados con anticuerpos) (1); es decir, capaces de provocar la salida de la hemoglobina contenida en la sustancia que constituye la trabazón del hematíe. Se observó que los sueros de determinadas especies, por ejemplo, los de caballo y ratón, no son capaces de provocar este efecto, por lo que deben diferir en algún respecto de los sueros de cobayo y hombre. Pero como ha resultado posible dotar de actividad lítica completa a un suero por sí mismo inactivo, mediante la adición de la pieza terminal, aislada, del suero de cobayo, parece justificada la conclusión de que los sueros de cobayo y ratón no poseen la pieza terminal, sino únicamente la media. En estos intentos de completar el complemento [consúltese el artículo de tratado de H. SACHS (1929)] radica el primer ensayo de resolver la actividad total de los sueros normales, frescos en la de sus componentes singulares, o, expresado de otro modo, la primera tentativa para establecer el espectro de los distintos sistemas de complemento.

Importante progreso en esta dirección significaron los descubrimientos de W. JONAS (1913), según los cuales el contenido de tercer componente (véase pág. 14) varía mucho en las diversas especies de sueros; en el de caballo sólo ha podido descubrirse una mínima cantidad de este factor del complemento, que, en cambio, abunda en el de cerdo. La circunstancia de que al calentar los sueros puedan excluirse los factores termolábiles y se conserven los componentes tercero y cuarto, que, a su vez, pueden diferenciarse entre sí por la acción del veneno de cobra y del amoníaco, ha sido utilizado por T. MISAWA (1934) para apreciar el contenido de los factores termolábiles en distintos sueros. Se ha observado que el complemento humano y el de cobayo se caracterizan por un contenido especialmente alto en el componente cuarto, mientras que en otros sueros, por ejemplo, en el de cerdo, predomina el tercero sobre el cuarto

(1) Habitualmente se trata de anticuerpos ("amboceptores hemolíticos") de conejo, lo que resulta importante para el resultado de tales ensayos (véase página 26).

[consúltense a este respecto los datos antes citados de W. JONAS, de los que también se deduce el predominio del tercer componente en el suero de cerdo]. Algunos de los datos publicados por MISAWA se han completado posteriormente por A. HEGEDÜS y H. GREINER (1938), que no se limitan a los componentes singulares, sino que se esfuerzan en conseguir un análisis completo de los distintos sistemas de complemento aplicando una técnica cuantitativa.

El método utilizado por HEGEDÜS y GREINER es el mismo que aplicaron posteriormente autores americanos [ECKER, PILLEMER y SEIFTER (1943), DOZOIS, SEIFTER y ECKER (1944); consúltense página 52]: se funda en la obtención de derivados del complemento "inactivados específicamente", que se utilizan como reactivos para diagnosticar la existencia o la carencia de determinados factores del complemento. Las designaciones C'1, C'2, C'3 y C'4 datan de fecha posterior (véanse págs. 19 y sig.); los autores utilizan otros símbolos. con que designan A (albúmina) la pieza terminal, G ("globulina") la pieza media, y las cifras 3 y 4 los componentes tercero y cuarto, respectivamente. Al suero de cobayo que contiene los 4 componentes le corresponde, por consiguiente, la fórmula bruta AG 3 4; los derivados del complemento inactivados específicamente que se utilizaron como reactivo fueron A 3 4 (como reactivo para la existencia de G), G 3 4 (para la de A), AG 3 (para la de 4) y AG 4 (para la de 3). Si, por ejemplo, al suero de carnero, que en sí es inactivo, se añaden grandes cantidades de G 3 4 ó de A G 3, continúa inactivo, pero la adición de A 3 4, incluso a dosis de 0,000625 ml., y la de AG 4, a dosis de 0,5 ml., le dotan de efecto lítico completo; ello significa que el suero de carnero posee abundante G y el tercer componente debe existir en moderada cantidad, y que carece tanto de A como de cuarto componente. Estas pruebas permiten una interpretación cuantitativa que se ilustra excelentemente por el ejemplo tomado de una publicación de HEGEDÜS y GREINER que se representa en el esquema de la figura 2.^a

TABLA 1.^a

Se preparan cinco series de diluciones de suero fresco de carnero: la primera no contiene ningún otro producto y a la segunda se añade A 3 4, a la tercera G 3 4, a la cuarta AG 3 y a la quinta AG 4 (siempre la misma cantidad, pero calculada en gran exceso). Inmediatamente después se añaden muestras de los mismos hematíes de carnero sensibilizados y se leen los resultados de la reacción después de mantener media hora el termostato.

Ml. del suero de carnero que se analiza.	Sin adición.	ADICION DE			
		A 3 4 (reactivo para G).	G 3 4 (reactivo para A).	A G 3 (reactivo para 4)	A G 4 (reactivo para 3.)
1,0	0	++++	0	0	++++
0,5	0	++++	0	0	++++
0,25	0	++++	0	0	+
0,1	0	++++	0	0	0
0,05	0	++++	0	0	0
0,005	0	++++	0	0	0
0,000525	0	++++	0	0	0
0,0003125	0	0	0	0	0

El suero de carnero no contiene, por consiguiente, ni componente A, ni cuarto componente, sino únicamente G y tercer componente (véase antes). Las cantidades de los componentes existentes pueden expresarse, o en la mínima dosis activa (es decir, volumétricamente en mililitros), o en los valores recíprocos de estas dosis; para G (pieza media), el suero de carnero contiene 1/0,0006, ó en números redondos 1600, para el tercer componente $1/0,5 = 2$.

El resultado de tales análisis para diez especies distintas de suero se resume gráficamente en el siguiente esquema:

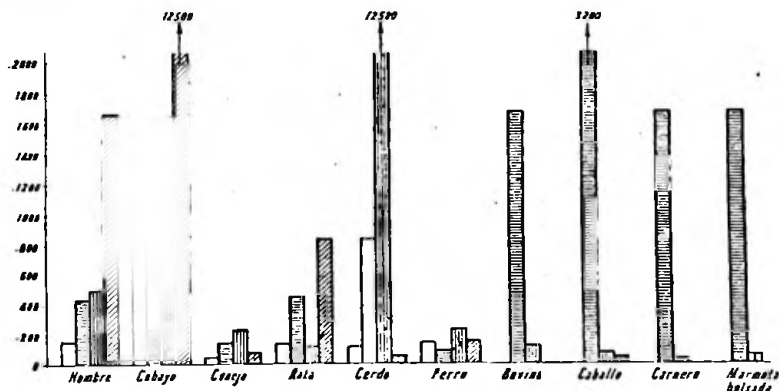


FIG. 2.ª Sistemas de complemento según HEGEDÜS y GREINER. Las columnas blancas corresponden a la pieza terminal; las rayadas horizontalmente, a la media; las rayadas verticalmente, al tercer componente, y las rayadas oblicuamente, al cuarto.

En este esquema gráfico quedan de manifiesto las grandes diferencias existentes entre los sistemas de complemento de diferentes especies animales de sangre caliente. Sin embargo, se han levantado diversas objeciones contra la técnica experimental de HEGEDÜS y GREINER que ponen en entredicho las conclusiones deducidas de los experimentos [véase J. E. CUSHING, jr. (1945 b)]. HEGEDÜS y GREINER, por ejemplo, utilizaron siempre hematies de carnero y amboceptor (anticuerpo) de conejo, y parten además de la suposición de que los cuatro componentes del complemento son idénticos en todas las especies animales ensayadas, es decir, que no existen diferencias "específicas de especie". Esto puede no ser correcto, como se deduce, entre otros, del ejemplo citado de CUSHING de que el suero normal de caballo (utilizado como complemento) es capaz de lisar hematies de cobayo o de bovino si éstos se sensibilizan por anticuerpos de gato; en este caso no existe ninguna justificación para afirmar que el suero fresco de caballo carezca por completo de la pieza terminal (C'2). CUSHING pone en duda también los datos de C. G. BROWN (1943), según los cuales el suero de ratón no puede actuar como complemento en pruebas hemolíticas, y sostiene que probablemente el complemento de ratón, como el de caballo, difiere por su "especificidad" del de cobayo, y que su actividad tal vez se ponga de manifiesto cuando se encuentre un sistema indicador apropiado.

Aunque se admita que esta crítica es justificada, ello no significaría, sin embargo, que fueran incorrectas todas las conclusiones deducidas por HEGEDÜS y GREINER. En su aspecto fundamental, las afirmaciones de los autores son importantes en cuanto señalan que los componentes singulares de un determinado complemento no pueden sustituirse mutuamente. Esta aseveración se apoya simplemente en que el complemento se inactiva por la eliminación de uno o varios de sus componentes y puede reactivarse por la incorporación de los componentes antes excluidos. Por la eliminación de determinados componentes se obtienen los denominados por HEGEDÜS y GREINER "sueros reactivos" ("Reagenzsera"), designación que E. E. ECKER, PILLEMER y SEIFTER (1943) sustituyeron luego por la expresión "complementos inactivados específicamente" (véase pág. 52). Naturalmente, los resultados serían más seguros si en lugar de añadir al suero completo de diversas especies animales un complemento inactivado específicamente (HEGEDÜS y GREINER), o de combinar entre sí dos derivados del complemento inactivados de modo distinto [J. E. CUSHING (1945 b)], fuera posible añadir al complemento inactivado

específicamente de una especie animal, el componente que le falta, aislado en estado puro del suero de otra especie.

En todo caso, de los experimentos efectuados, a los que J. E. CUSHING, jr. (1945 a, 1945 b) ha aportado valiosas contribuciones, se deduce que los sistemas de complemento de diversos animales difieren entre sí, y especialmente en la proporción de los componentes singulares, aunque éstos posean la misma función, e incluso los homólogos procedentes de sistemas distintos puedan reemplazarse entre sí (véase pág. 52). Esto puede tener la consecuencia, como HEGEDÜS y GREINER exponen, de que la actividad total del complemento (determinada por su título total, es decir, por la mínima cantidad que provoca lisis en la prueba hemolítica), dependa del componente contenido en menor cantidad; y explica, además, que el complemento pueda inactivarse fácilmente cuando se adsorbe de modo selectivo un componente que existe en cantidad ínfima, como han mostrado DOZOIS, SEIFTER y ECKER (1944) en el sistema de complemento humano, del que las bacterias sensibilizadas separan principalmente C'2 ó C'3 de modo selectivo, componentes que en dicho sistema, según los datos de ECKER, PILLEMER y SEIFTER (1943), son los que poseen el título más bajo. También se comprende que los sistemas completos puedan robustecerse añadiéndoles otro sistema completo o el componente representado de modo insuficiente. Por ejemplo, el complemento humano puede intensificarse por complemento de cobayo, pudiéndose demostrar que los componentes C'3 y, en menor grado, C'2 del suero de cobayo, participan en el efecto reforzador. Según los datos de HEGEDÜS y GREINER, el suero humano es más pobre en C'2 que el de cobayo, de modo que el reforzamiento se explica fácilmente, por lo menos en lo que respecta a este componente; con ello concuerda que también pueda activarse el complemento humano por la adición de un derivado de complemento en sí mismo inactivo, pero que posea la pieza terminal C'2 [HEGEDÜS y GREINER (1938), ECKER, PILLEMER y SEIFTER (1943)].

En cuanto a las diferencias cualitativas entre los complementos de diferentes especies animales, hay que decir que no son tan considerables como cabría esperar si se considera que al menos dos de los componentes (C'1 y C'2) son seroproteínas; las seroproteínas se caracterizan por su especificidad de especie, en la que se reflejan las relaciones filogénicas de las especies. En los sistemas de complemento, las circunstancias, al parecer, son muy distintas.

En el complemento hemolítico del suero de rana pueden descubrirse, como en el complemento del cobayo, cuatro componentes que

además se revelan con auxilio de los mismos métodos de inactivación: calefacción con el fin de eliminar los factores termolábiles C'1 y C'2, precipitación con CO₂ para separar las fracciones de globulina y albúmina, acción de la zimina para excluir C'3 y acción del hidróxido aluminico para eliminar C'4. J. E. CUSHING, jr. (1945 a), del que proceden estos datos, pudo observar también que el complemento de rana inactivado se activa por un complemento de cobayo inactivado de modo distinto, como se deduce de dos ejemplos elegidos entre las numerosas combinaciones ensayadas.

TABLA 2.*

Combinaciones con actividad hemolítica.					
	C'1	C'2	C'3	C'4	
I	+	+	+	o	Suero de rana, inactivado por NH ₄ OH.
	+	+	o	+	Suero de cobayo, inactivado por zimina.
II	+	+	o	+	Suero de rana, inactivado por zimina.
	o	o	+	+	Suero de cobayo, inactivado por calor.

También en el suero de carpa pueden observarse análogas relaciones con el complemento de cobayo, y, por consiguiente, ha podido demostrarse, mediante los correspondientes experimentos de inactivación, que también posee una parte termolábil y los factores C'3 y C'4; únicamente resultó imposible el desdoblamiento de la porción termolábil por CO₂, aunque, según CUSHING, si se modifica ligeramente el fraccionamiento por CO₂, tal vez se logre separar entre sí los factores, combinados, C'1 y C'2. También resultan posibles las activaciones cruzadas de los sueros de cobayo y carpa, según el modelo de los ejemplos aducidos en la tabla superior, así como las de los sueros de carpa y rana efectuadas en determinadas condiciones.

Los complementos de los vertebrados, por mucho que difieran las especies, poseen propiedades semejantes, de lo que cabe deducir, como subraya CUSHING (1945 b), que es un carácter relativamente estable desde el punto de vista filogenético.

Lo que CUSHING comprende como "especificidad" de complemento nada tiene que ver con el concepto de "especificidad de especie", sino que designa el hecho de que el complemento de una misma especie o incluso el de un mismo individuo no reacciona con determinados complejos antígeno-anticuerpo, sin que se dé ninguna razón para ello ni pueda preverse por razones empíricas si el complemento que se va a aplicar en un caso habrá de funcionar o no. CUSHING (1945 b) ha reunido en una lista los datos de este tipo aparecidos en la literatura que completa por observaciones propias; una reproducción completa ocuparía un espacio excesivo, por lo que sólo exponemos algunas combinaciones negativas.

El *Haemophilus influenzae* no muere por efecto de un anticuerpo de caballo y complemento de caballo; si en esta combinación se sustituye el complemento de caballo por complemento humano, aparece el efecto bactericida [J. H. DINGLE, FOTHERGILL y CHANDLER (1938)]. Los polisacáridos capsulares de los neumococos, si se combinan con los anticuerpos de caballo, hombre, ratón, gato, perro y cabra, no fijan el complemento de cobayo; en cambio, se produce la fijación de este complemento si para este fin se utilizan anticuerpos de conejo, cobayo, oveja o rata [F. L. HORSFALL y K. GOODNER (1946)]. Los hematíes de bovino sensibilizados con anticuerpos de conejo, cabra o pato no se lisan por complemento de caballo; sólo da resultado positivo un anticuerpo de gato [R. MUIR (1911-12)]. Los precipitados de diferentes sueros antitóxicos de caballo y las toxinas correspondientes no pueden fijar complemento de cobayo [T. W. B. OSBORN (1937)]. Los hematíes de oveja sensibilizados por anticuerpos de conejo no se lisan por complemento de oveja ni de caballo, pero sí por complemento de cobayo o rana [ECKER, PILLEMER y KUEHN (1942), L. REINER y colaboradores (1929), DINGLE, FOTHERGILL y CHANDLER (1938)].

Por varias razones cabe dudar que sea oportuno resumir estos fenómenos bajo la designación de "especificidad" del complemento. CUSHING considera importante conocerlos, porque algunos fracasos de la seroterapia pudieran deberse a que los anticuerpos inyectados no se completaran por el complemento humano, y que, por consiguiente, debido a ello no se produjeran ni el efecto bactericida sobre gérmenes infecciosos, ni la exaltación de la fagocitosis, que depende de la acción del complemento.

CAPÍTULO XI

LA FORMACION DEL COMPLEMENTO EN EL ORGANISMO. LA ESPECIFICIDAD SEROLOGICA DE LOS SOPORTES PROTEICOS DE LAS FUNCIONES DEL COMPLEMENTO

H. BUCHNER creía que los leucocitos producen en su protoplasma el complemento y que lo ceden en el curso de su vida al exterior por un proceso secretor, mientras que E. METSCHNIKOFF, si bien opinaba también que el complemento se produce en los leucocitos, pensaba que sólo se libera por la destrucción de los mismos. La teoría de la formación de leucocitos era una especie de "hipótesis puente" que parecía apropiada para referir a la actividad de una única célula los principales factores—uno celular y otro humoral—de protección contra las infecciones y de este modo prevenirse contra objeciones que pudieran levantarse sobre la satisfacción de un mismo fin por dos mecanismos de protección diferentes. Pero, a pesar de numerosos esfuerzos, no se ha logrado obtener de los leucocitos sustancias que pudieran actuar como el complemento del suero, especialmente en las pruebas de hemólisis, por lo cual la hipótesis ha caído en desuso.

En las investigaciones acerca de la naturaleza del complemento, y en especial las que conciernen al desdoblamiento del mismo en los componentes singulares, hay que tener presente que estas sustancias activas poseen carácter proteico y manifiestan propiedades que justifican su inclusión entre las globulinas del plasma sanguíneo (véanse los capítulos III y IV). Esto resulta válido para los componentes C'1 y C'2 + C'4, y sólo hace excepción, al parecer, C'3 [PILLEMER y ECKER (1941 a)], que, sin embargo, como los otros componentes del suero es una fracción normal de la sangre circulante. Las proteínas del plasma sanguíneo, como todas las proteínas del organismo, son demolidas en el metabolismo proteico y reemplazadas por proteínas iguales, que se producen a partir de los aminoácidos de las proteínas de la alimentación más allá de la barrera intestinal y que cubren las

pérdidas continuas resultantes del metabolismo. El órgano en el que se producen los procesos sintéticos, en proporción relativamente grande, aunque no de modo exclusivo, es el hígado [S. C. MADDEN y G. H. WHIPPLE (1940)]. Por la alimentación de animales con aminoácidos marcados que contienen en lugar de N ordinario, el isótopo N^{15} , R. SCHÖNHEIMER, S. RATNER, T. RITTENBERG y M. HEIDELBERGER (1939, 1942 a) pudieron apreciar que los aminoácidos de la alimentación aparecen después de breve plazo en las proteínas de los órganos internos, así como en todas las del plasma (fibrinógeno, euglobulina, pseudoglobulina y albúmina). Si los animales se encuentran en fase de inmunización activa (con hemocianina o con neumococos específicos de tipo), el N^{15} de la alimentación aparece también en los anticuerpos (globulinas inmunes), y en experimentos debidamente planeados se demuestra que las moléculas de anticuerpo tienen unas cuatro semanas de vida, transcurridas las cuales desaparecen de la circulación y son sustituidas por moléculas de anticuerpos no marcadas [R. SCHÖNHEIMER, RATNER, RITTENBERG y HEIDELBERGER (1942 b)]. Precisamente en estos experimentos con proteínas del plasma, que podían caracterizarse doblemente (a saber: por su contenido del N^{15} administrado con los alimentos y por su capacidad reaccional serológica de anticuerpo), aparece de modo particularmente claro el equilibrio entre pérdida y reposición.

Debemos admitir que los componentes del complemento, al menos de los que son globulinas del plasma, se comportan de modo análogo, es decir, que su presencia en el plasma no se debe a que persistan en él como sustancias indestructibles, sino a que, como las otras proteínas, se consumen y sustituyen de modo continuo, debiendo considerarse el hígado como lugar más probable de la síntesis. Para esta concepción existen numerosas pruebas.

En primer lugar, el hecho de que la carencia relativa de complemento, por ejemplo la producida por una fuerte hemorragia, puede compensarse de nuevo totalmente. El complemento de cobayo se consume en gran cantidad para la reacción de Wassermann (método de la desviación del complemento), y como los animales son caros en muchos laboratorios, un mismo animal se utiliza varias veces para obtener complemento (por punción cardíaca). Se sabe, además, que el título del complemento en el hombre y en los animales se reduce en algunos procesos patológicos (véase pág. 54), en los que pueden jugar un papel perturbaciones de la alimentación. En relación con esto también merecen recordarse los experimentos de C. W. JUNGBLUT y J. A. BERLOT (1926), que por la inyección intravenosa de tinta china

provocan una manifiesta reducción, que aparece al cabo de quince minutos, del complemento existente en la sangre de cobayo, que al cabo de veinticuatro horas ha vuelto a su nivel normal. Con lo rápido de esta renovación concuerda la observación de S. C. MADDEN, FINCH, SWALBACH y G. H. WHIPPLE (1940), de que el organismo del perro puede compensar rápidamente y por completo las pérdidas de proteína del plasma. Como JUNGBLUT y BERLOT admiten que la respiración de las células hepáticas se reduce después de la inyección de tinta china, las pruebas efectuadas hablan también en favor de la participación de este órgano en la reducción y en la reposición del complemento. Las perturbaciones tóxicas del hígado influyen en el contenido de complemento en la sangre, como ya comunicaron P. EHRLICH y J. MORGENROTH (1900), y G. F. DICK (1913), y han vuelto a llamar la atención W. C. BOYD en su "Fundamentals of Immunology" (1943).

Debemos mencionar, finalmente, los datos de O. OLSEN (1922), según los cuales hígado exento de suero de cobayo, si se sensibiliza (se carga de antígeno) por irrigación, puede lisar hemáties, aunque sólo después de varias horas de irrigación; cuando el autor quería acelerar la hemólisis debía adicionar al líquido de irrigación cantidades (que en sí no lisaban) de la pieza media o de la terminal. OLSEN admite que el hígado es capaz de segregar todos los componentes del complemento con la excepción de la pieza C₃ (probablemente no proteica). En el jugo obtenido por la expresión de hígado exento de suero no pudo, sin embargo, descubrirse la existencia de la pieza terminal ni de la media; de modo que hay que concluir que estos componentes no se almacenan en el hígado, sino que se segregan cuando circula un líquido por los vasos. Al parece, no se han efectuado comprobaciones de estos experimentos.

N. P. SHERWOOD, C. SMITH y R. WEST (1916), sin embargo, se oponen a la afirmación de que en la producción del complemento el hígado juegue un papel más importante que el de otros órganos o tejidos del cuerpo. Han observado, por ejemplo, que, si bien desciende el contenido de complemento en la sangre de los perros inmediatamente después de practicarles una fístula de Eck, dicho contenido vuelve a recuperar su valor normal entre seis y dieciséis horas después de la operación. Y así se mantiene al menos durante noventa días, a pesar de las graves alteraciones degenerativas que van apareciendo paulatinamente en el hígado a consecuencia de la operación. En contra de esta opinión puede aducirse que el hígado, después de la operación, continúa en el cuerpo y en él recibe un riego sanguíneo abundante a través de la arteria hepática; en las fases posteriores podrían funcionar otros lugares de producción. El papel del hígado en la formación del complemento no puede decidirse ni en sentido negativo ni en el positivo, como resulta de las últimas consideraciones.

Parece también sugestivo el hecho de que el material proteico del plasma sanguíneo consiste en una suma cualitativamente constante

de proteínas especiales. La carencia congénita de una proteína especial, como la del complemento en la hemofilia denominada fibrinogénica (consúltese A. SCHITTENHELM), es extraordinariamente rara. Del mismo modo se comporta el espectro de los componentes del complemento, que ofrece la misma constancia en todos los individuos de una determinada especie, siendo verdaderamente excepcional que en el complejo característico de una especie se produzca la carencia de un componente como consecuencia de una mutación (como la del C₃ en los cobayos exentos de complemento). Es cierto que si se comparan los componentes de diferentes especies animales se encuentra que en muchas especies faltan determinados componentes que otras poseen; pero los componentes de estos sistemas de complemento incompletos son, habitualmente (aunque no siempre), equivalentes a los que poseen las especies de complemento completo, de modo que pueden intercambiarse en un gran número de combinaciones (véanse págs. 57 y siguientes).

Las proteínas del plasma, como es sabido, son antígenos dotados de especificidad de especie, y que dentro del marco de la especificidad de especie (es decir, dentro en la misma especie animal) presentan diferencias serológicas, que, en parte, son más acusadas que las diferencias de la especificidad de especie. Por ejemplo, la diferencia en la albúmina y la globulina del suero de cabra es tan grande, que entre ellas no pueden descubrirse reacciones de parentesco, mientras que las globulinas de cabra, oveja y bovino dan reacciones cruzadas. Cabe preguntarse si los componentes del complemento, o, expresado con mayor precisión, los soportes proteicos de las funciones de complemento, son específicos de especie, y si dentro del cuadro de la especificidad de especie los componentes especiales poseen especificidades particulares propias.

Para decidir esto podrían inmunizarse conejos con complemento de otra especie y ensayar, del modo habitual, los sueros obtenidos tanto con el complemento utilizado para el tratamiento previo, como con complemento de otras especies animales (reacciones de precipitinas, prueba anafiláctica). Pero si como "complemento" se inyecta suero completo, actuarían como antígenos todas las proteínas especiales contenidas en él, incluso las que no participan en la función del complemento. El resultado nos lo enseña un experimento efectuado por C. MORESCHI (1905-1906).

MORESCHI inmunizó conejos con suero normal de cabra. El "suero anti-cabra" obtenido de este modo ofrecía propiedades "anticomplementarias", si

se le añadía a un sistema hemolítico consistente en sangre de bovino, un amboceptor específico contra la sangre de bovino (de conejo) y complemento de cabra. La actividad anticomplementaria, sin embargo, sólo se producía cuando se utilizaba complemento de cabra, pero no usando complementos de cobayo o conejo. MORESCHI interpreta correctamente esta observación en el sentido de que el suero de cabra y el suero anti-cabra forman un complejo antígeno-anticuerpo que fija complemento. Rechaza la interpretación de que por la inmunización del conejo por "complemento de cabra" se forme un "anticuerpo"; es decir, que se hubiera producido un anticuerpo capaz de neutralizar de modo específico el complemento.

¿Qué se lograría por la separación de todas las proteínas del suero que no participan en la función de complemento? En cuanto a la técnica experimental hay que señalar que el complemento no puede aislarse del suero como un todo dotado de la función, sino que sólo pueden separarse determinados componentes [PILLEMER, ECKER, ONCLEY y COHN (1941)]; ahora bien: todos ellos son componentes de las globulinas y podrían utilizarse para el fin perseguido. No se han efectuado, que sepamos, investigaciones de este tipo. Sin embargo, su resultado puede predecirse hasta un cierto grado.

Ante todo hay que admitir que las globulinas del complemento se comportarían como antígenos con especificidad de especie, como se ha observado con las globulinas dotadas de función de anticuerpo. La función de complemento sería, en este caso, tan independiente de la especificidad de especie de su soporte proteico, como lo es la función de anticuerpo de la especificidad de especie de la globulina inmune.

Resulta, por lo menos, dudoso que las globulinas del complemento (en cuanto *antígenos proteicos*) difieran de las restantes globulinas del mismo suero; al menos esto no es lo que sucede en las globulinas anticuerpo.

No puede predecirse si el antisuero obtenido con una globulina complemento sería capaz de neutralizar la función de complemento. La citada prueba de MORESCHI no permite prejuzgar acerca de esta posibilidad. Cabe imaginar que un antisuero obtenido con el componente C'I tendría la capacidad de neutralizar este componente, cualquiera que sea su procedencia zoológica; es decir, que su acción neutralizante resultaría específica para C'I. Pero, por lo que sucede en casos análogos, es de esperar lo contrario. Por ejemplo, si se precipita antitoxina de caballo por un suero anticaballo de conejo, se obtiene un precipitado que sigue en posesión de la capacidad de neu-

tralizar toxina; es decir, que la función anticuerpo no se extingue por la reacción entre el soporte proteico y una precipitina específica de especie [M. EISLER (1920), F. C. SMITH y R. MARRACK (1930), H. EAGLE (1936) y otros]. En el caso de las globulinas del complemento es probable que exista una independencia análoga entre la función y la especificidad de los soportes proteicos.

Como se ve, el planteamiento del problema es análogo al de las relaciones existentes entre la función de anticuerpo y la especificidad serológica de las globulinas inmunes, aunque aquí se complica considerablemente. La consideración teórica de las globulinas inmunes encuentra un asidero en la relación genética de la globulina inmune (anticuerpo) con su antígeno, y las globulinas inmunes actúan como tales: todo anticuerpo es una sustancia activa independiente. Los complementos, por el contrario, se originan a consecuencia de caracteres fijados por herencia, que no requieren ser despertados por un estímulo específico; por consiguiente, en el complemento se carece del antígeno, del que se deducen las propiedades del anticuerpo (de las globulinas inmunes), y, por otra parte, los complementos no son sustancias independientes, sino que están constituidos por componentes (factores sustanciales) que dependen unos de otros de modo singular. De ello se deducen las dificultades experimentales que hay que vencer, además aumentadas por la labilidad del complemento, que obligan a prescindir casi por completo de agentes que, como una digestión parcial, se han utilizado en la investigación de los sueros inmunes.

CAPÍTULO XII

LA LABILIDAD DE LAS FUNCIONES DEL COMPLEMENTO

Las investigaciones más precisas acerca de la labilidad del complemento son las emprendidas por S. SEIFTER, N. PILLEMER y E. E. ECKER (1943) en suero humano normal fresco (consúltese pág. 53). Señalaron que:

1. El complemento en forma de suero total congelado puede conservarse a -35° por lo menos durante un año, sin que pierda más de una tercera parte de su actividad inicial; sin embargo, la actividad completa sólo se conserva durante dos semanas. A 37° el suero total se inactiva completamente en una sola noche, y a la temperatura ambiente, en una semana; a 1° mantiene su actividad completa durante una semana, y después reduce rápidamente a la mitad del valor inicial. Si el suero total se diluye con disolución de NaCl al 0,9 por 100 en la proporción de 1 : 5, la estabilidad es en general semejante, aunque ligeramente menor.

2. La adición de un 10 por 100 de NaCl, más un 4 por 100 de ácido bórico (ambos en sustancia), retrasa la pérdida de actividad. Aunque es cierto que a 37° el complemento salado se inactiva casi tan rápidamente como el suero total sin la adición dicha, un análisis más exacto señala que en el primer caso, al cabo de unas veinticuatro horas solamente, se han destruido por completo C'3 y C'4, mientras que se conservan el 60 por 100 de C'2 y el 30 por 100 de C'1.

3. C'2 se destruye rápidamente a un pH hasta 6 a todas las temperaturas altas. A los pH 6,6 ó 7,3 es estable a 46° , pero ya pierde algo de su actividad a 50° y se inactiva por completo entre 50 y 54° .

4. A un pH bajo, C'3 resulta menos resistente contra el calor que C'2. A pH 6,6 — 7,3 resulta completamente estable hasta 50° , y sólo se inactiva por completo a $54-58^{\circ}$.

5. C'4 puede destruirse por calefacción a $58-62^{\circ}$, pero sólo a pH 6,6-7,3. Por el contrario, este componente resulta menos estable que todos los restantes contra las modificaciones de calor y de pH, y contra la edad de las disoluciones; en el suero completo parece estar protegido contra la deterioración por la presencia de sustancias que no ha podido determinarse.

6. C'1 es el más estable frente al calor en una disolución amortiguadora de pH 7,3. En disoluciones amortiguadoras de pH 5,5 se inactiva incluso a 46° .

7. El precipitado, así como el líquido sobrenadante que se obtiene por diálisis de suero humano fresco contra amortiguador de fosfato, y que se disuelve en disolución de NaCl, puede separarse por un filtro micro-Seitz sin que se inactiven los componentes obtenidos en estas manipulaciones (consúltese página 12).

Entre los componentes del complemento humano y de el de cobayo existen pequeñas diferencias que no se refieren al número de los componentes, sino sólo a sus proporciones relativas y, seguramente, también a sus propiedades químicas y físicas. Una tabla comparativa de las propiedades químicas y físicas del C'I de uno y otro complemento fué publicado por PILLEMER, SEIFTER, SAN CLEMENTE y ECKER (1943); según ella, el C'I de cobayo parece contener algo más N proteico y algo menos hidrato de carbono. Las condiciones de inactivación, sin embargo, parecen muy semejantes para ambas sustancias, tanto cuando se encuentran en el suero completo como en estado aislado.

Lo que en estos datos sorprende a primera vista es la extraordinaria termolabilidad de la actividad del complemento si se considera que sus soportes son seroglobulinas o plasmaglobulinas. Esta termolabilidad no puede atribuirse exclusivamente al componente C'3, que no se considera como una seroglobulina, puesto que C'3 es menos sensible al calor que C'2. Para apreciar debidamente lo anómalo de la labilidad de la función de complemento en relación con su carácter de globulinas, basta recordar la estabilidad de las funciones antigénicas específicas de las seroglobulinas normales y las funciones de anticuerpo de las globulinas inmunes; en estado estéril podemos conservar suero de caballo durante largo tiempo en posesión de la capacidad de inmunizar conejos con el fin de obtener precipitinas específicas, y el "amceptor" para la reacción de Wassermann se obtiene liberando previamente del complemento el suero inmune hemolítico por calefacción, de modo que el suero contenga únicamente los anticuerpos: este reactivo se conserva luego sufriendo congelamientos y desecaciones, sin ninguna precaución especial durante semanas y meses.

Posiblemente lo dicho no corresponde enteramente con los hechos si lo que pretendemos es hacer responsable a la temperatura, como tal, de la inactivación del suero total (como complemento). Es de imaginar que durante la conservación se producen espontáneamente determinados procesos que determinan la inactivación, y que estos procesos transcurren más lenta o rápidamente según la temperatura. Esta concepción, enteramente hipotética dado nuestro desconocimiento de los procesos inactivadores, podría valer para todo el campo de tem-

peraturas que se encuentran aún muy por debajo del límite donde se producen los procesos de desnaturalización condicionados por el calor, de las proteínas coagulables.

Se ha admitido que el complemento no se forma a consecuencia de la coagulación de la sangre al extravasarse ésta, sino que preexiste ya dispuesto para su función en el plasma sanguíneo circulante [SACHS (1929), C. H. BROWNING (1931)]. Uno de los argumentos fundamentales en favor de esta opinión era la hemólisis intravascular que podía apreciarse después de la inyección intravenosa de un anticuerpo dirigido contra los hematíes del receptor, sin administrar complemento. Tres de los componentes se identifican con seguridad como proteínas de alto peso molecular (globulinas) que naturalmente no pueden formarse después de extravasarse la sangre; de admitir que, si bien existen en la sangre circulante, no adquieren la capacidad de participar en la función del complemento hasta verse fuera del cuerpo, sería muy difícil de entender como tal función ésta, distribuida de modo regular entre un determinado número de sustancias con propiedades físico-químicas constantes (punto isoelectrico, velocidad de transporte electroforético, contenido de N, contenido de hidratos de carbono).

La temperatura de la sangre en los mamíferos alcanza unos 37 a 38°, y el complemento en forma de suero completo se inactiva rápidamente a esta temperatura (en el transcurso de horas). Por ello, si los hombres o los mamíferos poseen permanentemente complemento en la sangre circulante, y si además éste, prescindiendo de desviaciones accidentales, se encuentra en cantidad constante, esto solamente es posible: 1, si el complemento; por cualquier motivo, resultara en el plasma más estable que en el suero; ó 2, si la destrucción de complemento se compensara permanentemente por la renovación del mismo ($C_1 + C_2 + C_4$ suponen el 0,7 por 100 de las proteínas totales del suero); ó 3, si admitimos que nuevas cantidades de las globulinas circulantes del plasma aumentan continuamente la actividad de los componentes del complemento. Sin embargo, hasta la fecha, apenas se han estudiado estas cuestiones, tan importantes para entender en

su conjunto el problema del complemento. La teoría y la investigación, en lo que respecta al complemento, se han orientado más desde el punto de vista serológico que desde el fisiológico.

Según las antiguas investigaciones de M. GRAMENITZKI (1912), la actividad de complemento del suero de cobayo perdida por una calefacción de ocho minutos a 55-57° se regenera al cabo de algunas horas de mantenerlo a 37°. J. KISS, que ha comprobado este dato, confirma la regeneración, pero comunica que sólo se produce si el suero no se calentó por encima de 50-52° y si el título del complemento después de la calefacción suponía todavía del 45 al 50 por 100 del valor inicial; cuando la actividad disminuye hasta quedar reducida a un pequeño resto, no se produce, según KISS, ninguna regeneración.

La inactivación del complemento producida por la calefacción de los sueros totales que lo poseen, como se deduce de las manifestaciones anteriores, puede ofrecer gran interés teórico y plantea problemas que hasta la fecha no se han resuelto. Tiene importancia en todo método que haya de utilizarse en la práctica serológica y en el que deba excluirse el complemento contenido en los sueros (inactivación de los sueros humanos y del amboceptor hemolítico en la reacción de Wassermann).

Además de la acción de las temperaturas elevadas se ha ensayado un gran número de agentes con el propósito de inactivar el complemento y de este modo acercarse algo a la esencia del complemento. Del cúmulo de datos reunidos en la literatura sólo se elegirán unos pocos resultados a los que, al simple registro de la observación, quepa añadir alguna consideración interesante.

a) *Inactivación mecánica.*—En 1910 comunicaron M. JACOBY y A. SCHÜTZE que el suero de cobayo con complemento puede inactivarse por hora y media de agitación a 37°, apareciendo simultáneamente un enturbiamiento; el suero agitado puede reactivarse tanto por la adición de la pieza media como por la de la terminal. Estos datos fueron recogidos por numerosos autores, y en 1919 existían ya muchos trabajos que se ocupaban del mismo tema [Hans SCHMIDT (1919)]. Se han sucedido las interpretaciones del mecanismo del fenómeno. M. JACOBY (1915) se adhiere a la opinión de E. COURMONT y A. DUFOUR (1912), de que la inactivación sólo se produce en presencia de oxígeno y no en atmósfera exenta de este gas, por lo que debe tratarse de un proceso de oxidación; esta opinión, sin embargo, se impugna por H. SCHMIDT, que considera la formación de espuma como causa principal, ya que extiende el suero en superficie y de este modo lo desnaturaliza. La reactivación de los sueros agitados fué

confirmada por H. SCHMIDT, que hizo la observación adicional de que el suero completamente inactivado no puede reactivarse por la pieza media, pero sí por los termosueros; es decir, por sueros inactivados por calor que, como ahora sabemos, sólo contienen los componentes C'3 y C'4. (Los datos de SCHMIDT acerca de las posibles reactivaciones no son, ciertamente, precisos y ya no corresponden a las concepciones actuales acerca de los componentes del complemento.) C'3 y C'4, según las investigaciones citadas en la página 19 y siguientes, no son globulinas, de modo que no está justificado atribuir a la labilidad de las globulinas del complemento ("Labilglobuline") el efecto de la agitación, como hacen H. SACHS: y su escuela [consúltese H. SACHS (1929)].

Por otra parte, sabemos actualmente que las seroproteínas y las globulinas inmunes (anticuerpos) pueden extenderse en películas monomoleculares que sólo poseen un espesor de 8 a 10 Ågm. [A. ROTHEN y K. LANDSTEINER (1939, 1942)] sin que se perturbe su capacidad de reacción serológica, lo que es difícilmente compatible con una desnaturalización por espumación; H. WU y S. M. LING (1927) están convencidos de que, en todo caso, las seroproteínas no se desnaturalizan de modo irreversible si se las extiende en una película fina (monomolecular) con ayuda de la espumación (en oposición a la albúmina). Si, según lo dicho, hay que desechar también que sea la oxidación el proceso de desnaturalización (consúltese pág. 38), se requieren nuevas investigaciones experimentales para esclarecer la esencia de la inactivación por agitación.

b) Si se añade a la sangre bilis, heparina o hirudina, desaparecen simultáneamente la capacidad de coagulación y la actividad de complemento. De ello se deduce que el complemento no existe en la sangre circulante, sino que sólo se produce a consecuencia de la coagulación sanguínea [H. J. FUCHS (1928-29), W. PFANNENSTIEL (1927), K. H. BÜSING y H. ZUZAK (1943), y otros]. La pieza media del complemento fué identificada por FUCHS con la protrombina, y BÜSING y ZUZAK, apoyándose en ensayos en pollos, pretendieron establecer una relación entre el contenido de protrombina, el título de complemento y el contenido en la dieta de vitamina K.

Pero no todas las sustancias que inhiben la coagulación inactivan el complemento. F. KLOPSTOCK (1926) señala que el complemento se

encuentra en el plasma citratado en mayor cantidad que en el suero separado de la misma sangre, y que en el plasma se conserva activo durante mucho más tiempo. Véanse en las páginas 7 y 72 los hechos que hablan en favor de que el complemento debe existir preformado en la sangre circulante.

c) R. MUIR y C. H. BROWNING (1909) observan que la actividad de complemento que posee el suero fresco de cobayo se debilita a consecuencia de su paso por filtros de Berkefeld, y en ocasiones se extingue casi por completo; pero que esto sólo se verifica en los primeros estadios del proceso de filtración; después el filtro se hace permeable para el complemento, lo que también puede conseguirse filtrando previamente suero inactivado por el calor. Utilizando suero con el 5 por 100 de NaCl no se observa ninguna pérdida de actividad al pasar por el filtro. Evidentemente, se trata de una adsorción en el material del filtro (tierra de infusorios). BROWNING y MACKIE no pudieron regenerar el suero inactivado por filtración por adición de la pieza media ni de la terminal, lo que indica que todos los componentes se retienen por la tierra de infusorios. Ahora bien, si el mismo suero se filtra repetidamente por bujías de Berkefeld, siempre renovadas, se observa que los componentes termolábiles desaparecen antes que los termostables, lo que se debe a que los primeros se adsorben más fácilmente o están menos dispersos [P. S. STRONG y J. T. CULBERTSON]. Estos datos sólo son válidos para los filtros de Berkefeld; los filtros construídos con otro material pueden comportarse de modo totalmente distinto (véase pág. 71). El hecho de que un proceso tan poco lesivo como una filtración permita separar entre sí los componentes del complemento, justifica la opinión de que el complemento existe en el suero en sustancias completamente independientes entre sí.

El complemento puede adsorberse no solamente en tierra de infusorios, sino, como ya observaron K. LANDSTEINER y R. STANKOVIC en 1906, en un gran número de diversas sustancias en estado de disolución coloidal. La más importante de estas adsorciones es su fijación en un complejo de antígeno y anticuerpo que no es un proceso específico, porque complejos de muy distinta índole pueden fijar un mismo complemento, y porque los anticuerpos, en tales sistemas, pueden sustituirse por tanino y otras sustancias. Nada cambia estos hechos el que los componentes parciales del complemento, cuando se fijan en un complejo específico antígeno-anticuerpo, muestran un comportamiento algo distinto que cuando se adsorben en adsorbentes inorgánicos o en bacterias normales (sin tratar previamente por suero inmune)

(véase pág. 22). Lo específico, pues, es únicamente la reacción entre antígeno y anticuerpo.

Como antes se ha mencionado, el suero de cobayo con complemento se inactiva parcial o totalmente al pasar por un filtro de Berkefeld. MUIR y BROWNING, que comunicaron esta observación, efectuaron también tentativas para recuperar el complemento adsorbido, haciendo pasar posteriormente por el filtro una disolución de NaCl; sin embargo, la elución fracasó. MUIR y BROWNING dedujeron que el contacto con la tierra de infusorios destruye el complemento, porque el complemento, después de una breve filtración, puede aparecer en los filtrados con su título original; admiten una fijación irreversible, es decir, una adsorción que no puede disociarse por elución. Las publicaciones posteriores no aluden a esta importante observación ni a la interpretación que de ella hacen sus autores. Sin embargo, en tiempos recientes se ha conseguido una valiosa confirmación con los experimentos de T. F. DOZOIS, SEIFTER y ECKER (1944), según los cuales las bacterias sensibilizadas pueden fijar componentes aislados existentes en complementos inactivados parcialmente; componentes que, a pesar de la fijación, conservan sus funciones, porque se aprecia efecto bactericida si se lavan las bacterias y se les añaden los factores del complemento que en la primera fase de la prueba no se ligaron (o se ligaron en cantidad insuficiente) a las bacterias cargadas de anticuerpo. En este experimento resalta con particular claridad que la fijación consiste en una adsorción no eluible, y no en una destrucción del adsorbato.

Los métodos de diagnóstico por fijación de complemento.

Las reacciones antígeno-anticuerpo pueden traer como consecuencia, con la cooperación del complemento, modificaciones apreciables a simple vista (aglutinación, precipitación, hemólisis y bacteriolisis). Cuando no sucede esto se aplica un indicador capaz de llevar la reacción antígeno-anticuerpo al campo de visibilidad del investigador. Las bacterias flageladas y los protozoos vivos se paralizan por la acción de un anticuerpo, lo que puede apreciarse al microscopio. Las bacterias sin flagelos mueren por la influencia del anticuerpo y del complemento, y los métodos de cultivo descubren esta consecuencia de la reacción. Pero existen casos en los que el curso de una reacción antígeno-anticuerpo sólo puede reconocerse por la fijación de complemento, proceso que no puede observarse a simple vista; ahora bien, J. BORDET y O. GENGOU (1901) enseñaron a descubrir la fija-

ción de complemento; para ello, después de transcurrido el tiempo necesario para que la fijación se produzca, se añade un sistema indicador que consiste en hematíes y un amboceptor específico (por ejemplo, de hematíes de carnero y amboceptor de conejo para los hematíes); los hematíes sólo se lisan cuando la mezcla reaccionante contiene complemento libre, es decir, cuando el complemento no se desvió en la primera fase de la reacción. Si se designa con Ty los bacilos tíficos, con Ch los vibriones del cólera, con A-Ty y A-Ch los anticuerpos correspondientes y con C, HC y AC, respectivamente, el complemento, los hematíes de carnero y los anticuerpos para estos hematíes aparecen como posibles las combinaciones siguientes, de las que se deduce a la vez la posibilidad de aplicar el procedimiento para el diagnóstico:

I.ª FASE	2.ª FASE	RESULTADO	
Ty + A-Ty + C	+ HC + AC	Ninguna lisis de los hematíes.	I
Ch + A-Ch + C	+ HC + AC	Ninguna lisis de los hematíes.	II
Ch + A-Ty + C	+ HC + AC	Lisis.	III
Ty + A-Ch + C	+ HC + AC	Lisis.	IV

Las reacciones designadas por I y II se denominan positivas considerando la pregunta planteada, ya que la no aparición de lisis señala que el complemento se ha consumido totalmente en la fase primera, y, por consiguiente, tuvo lugar en ella una reacción antígeno-anticuerpo; por la misma razón, III y IV se designan como negativas. En lugar de bacterias completas o de células de otro tipo pueden utilizarse también antígenos disueltos. Evidentemente, por este método pueden identificarse antígenos que se adicionan a los sueros inmunes correspondientes y, recíprocamente, con auxilio de un antígeno conocido pueden descubrirse sus anticuerpos dada la reacción mutua de ambas sustancias, en virtud del principio utilizado, por ejemplo, para descubrir el ión plata con un cloruro, o los cloruros con sales de plata. Lo único peculiar en esta prueba de la fijación del complemento, es el artificio utilizado para poner de manifiesto la reacción.

El método de la fijación de complemento es unas diez veces más sensible que la reacción de precipitinas. Esta ventaja, sin embargo, se desvirtúa por las muchas causas de error que implica dicho método. La fijación de complemento, como se ha señalado explícitamente, es inespecífica. Por ello ha de adquirirse previamente la certeza de que la reacción de un antígeno con un anticuerpo es lo que verda-

deramente ocasiona el consumo de complemento y no los reactivos aplicados en la prueba, que por si mismos, en las cantidades empleadas, pueden poseer propiedades "anticomplementarias". Esta seguridad se puede conseguir únicamente efectuando gran número de ensayos testigo. Incluso observando esta precaución, la reacción de fijación de complemento puede conducir a resultados erróneos. El método ha encontrado una aplicación especialmente útil para el diagnóstico serológico de la sífilis en la forma original que le dió A. WASSERMANN; aún no ha podido decidirse si la causa de esta reacción es una fijación de complemento por un complejo antígeno-anticuerpo, lo que puede valer como argumento de lo inadecuado y equivoco del método. En su aspecto teórico, la fijación de complemento no es sino un método serológico para investigar las relaciones entre antígeno y anticuerpo; y como aquí no pretendemos agotar los problemas que plantea la técnica y metodología de la práctica de laboratorio, no haremos ninguna otra consideración.

CONCLUSION

El estado actual de nuestros conocimientos acerca del mecanismo de acción del complemento se ha ido desarrollando, en el transcurso de unos cuatro decenios, por el camino directo abierto por la concepción intuitiva que tuvo del problema P. EHRLICH; además, el descubrimiento de los componentes tercero y cuarto constituyeron ampliaciones empíricas del principio establecido por EHRLICH, según el cual la función del complemento procede del concurso de una pluralidad de componentes esencialmente distintos. Pero hay que decir, por otra parte, que los problemas más importantes siguen sin resolver. No podemos decir con certeza por qué los hematíes sensibilizados pierden la hemoglobina bajo la influencia de sistemas íntegros de complemento, ni por qué en tales circunstancias determinadas bacterias se transforman en gránulos y, finalmente, se lisan por completo, y otras, en cambio, mueren, pero conservan su forma. La opinión de EHRLICH de que se trata de un proceso fermentativo que se exterioriza en diversas formas no pasa de ser una simple hipótesis. Por último, tampoco son claras las relaciones entre las acciones líticas de los componentes del suero y las de las β -lisinas [véase A. PETERSSON (1934)], sustancias que existen también en el suero, son termoestables y se precipitan parcialmente del suero diluido, haciendo pasar CO_2 y que actúan sobre muy distintas bacterias (aerobias y anaerobias, formadoras de esporas y aespórogenas, patógenas e inoocuas), que, como notable característica común, sólo poseen el ser todas GRAM positivas. Las β -lisinas no son específicas en el sentido de los anticuerpos líticos obtenidos por inmunización; este rasgo negativo alcanza también al complemento, y también, a semejanza de éste, la cantidad de β -lisinas del suero tampoco se exalta por la inmunización con bacterias; es decir, su título lítico no aumenta cuando los animales se tratan con microbios sensibles a la lisina. Según lo anterior, entre β -lisinas y complemento cabe establecer algunas ana-

logías; pero hasta la fecha no puede afirmarse que posean una significación más profunda que la de mera semejanza externa.

Si contemplamos el cúmulo de hechos descubiertos hasta la fecha por la investigación podemos sentir cierta satisfacción; pero el entusiasmo se enfría inmediatamente si consideramos que este servicio tan imponente en cantidad no nos ha permitido profundizar en ningún conocimiento fundamental. P. WEISS, en un artículo notable, opina que la esperanza de ordenar los datos reunidos de modo que constituyan un todo en el sentido más amplio de la teoría del conocimiento es tan poco probable como que se realizara la ilusión de los magos medievales de conseguir el desarrollo del homúnculo de la mezcla de toda suerte de productos químicos en una retorta. La consideración anterior esconde mucha verdad. La investigación del complemento, a pesar de lo prolongada que es ya actualmente y de la riqueza de hechos descubiertos, no constituye un campo cerrado en sí mismo.

BIBLIOGRAFIA

- AGNEW, S., W. W. SPINK and O. MICKELSEN (1942), *J. Immunol. (Am.)*, 44, 297.
- ANSON, M. L. (1939), *J. gener. Phys. (Am.)* 23, 239.
- ARDY, C. (1939), *Revista Clin. Pediatr.* 37, 495.
- AVERY, O. T. and W. S. TILLET (1929), *J. exp. Med. (Am.)* 49, 251.
- BACHMANN, W. (1923), *Z. f. Immunitätsch. (D.)* 35, 462.
- (1924), *Z. f. Immunitätsch. (D.)* 40, 325.
- BAIL, O. (1929), "Bakterienaggressine". *Handb. d. path. Mikroorg.*, 3. Aufl. II/1, 635.
- BAKER, Z., R. W. HARRISON and B. F. MILLER (1941 a), *J. exp. Méd. (Am.)* 73, 249.
- — — (1941 b), *J. exp. Med. (Am.)* 74, 611.
- BAWDEN, F. C. and N. W. PIRIE (1938), *Brit. J. exp. Path.* 19, 66.
- BAYLISS, M. (1936), *J. inf. diseases. (Am.)* 59, 131.
- BIER, O. (1932), *Z. Immunitätsch. (D.)* 77, 187.
- (1945), *J. Immunol. (Am.)* 51, 151.
- BORDET, J. (1939), *Traité de l'immunité*, 2. Edit., Paris.
- BORDET, J. et O. GENGOU (1907), *Ann. Inst. Past.* 15, 290.
- BOSSHARD, W. (1944), *Helvetica Chim. Acta*, S. 1736.
- BOYD, W. C. (1943), "Fundamentals of Immunology", Nueva York.
- BRAND, E. (1907), *Berl. klin. Wschr.*, Nr. 34.
- BRAUN, H. (1911), *Bioch. Z. (D.)* 31, 65.
- BROCC-ROUSSEU, J. D. et G. ROUSSEL (1939), *Le sérum normal*, Paris, p. 283-320.
- BRONFENBRENNER, J. and H. NOGUCHI (1912), *J. exp. Med. (Am.)* 15, 598, 625.
- BROWN, G. C. (1943), *J. Immunol. (Am.)* 46, 319.
- BROWNING, C. H. (1931), "Complement" in *System of Bacteriology VI*, 332.
- BROWNING, C. H. and T. J. MAC KIE (1925), cit. nach Browning, C. H. (1931).
- BUCHNER, H. (1889), *Centralbl. f. Bakt.* 5, 817 und 6, 1.
- (1892), *Münch. med. Wschr.*, Nr. 8.
- BURNET, F. M., KEOGH and D. LUSH (1937), *Austral. J. exp. Biol. a. med. Scienc.* 15, 227.
- BURNET, F. M. and D. LUSH (1940), *Austral. J. exp. Biol. a. med. Scienc.* 18, 141.
- BÜSING, K. H. und H. ZUZAK (1943), *Z. Immunitätsch.* 102, 401.

- CANNON, P. R. (1942), *J. Immunol. (Am.)* 44, 107.
 CASTELLI, AG. (1928), *Boll. Istit. sierotherap. Milanese*, fasc. 2.
 CHU, F. and B. F. CHOW (1938), *Proc. Soc. exp. Biol. a. Med. (Am.)* 38, 679.
 COCA, A. F. (1914), *Z. Immunitätsch. (D.)* 21, 604.
 — (1920), *Proc. Soc. exp. Biol. a. Med. (Am.)* 18, 71.
 COHN, E. J., T. L. McMEEKIN, J. L. ONCLEY, J. M. NEWELL and W. HUGHES (1940), *J. Americ. Chem. Soc.* 43, 3386.
 COURMONT, E. et A. DUFOUR (1912), *C. r. Soc. Biol. Paris* 72, 916, 1014, 1058.
 CRAIGIE, J. (1939), "Die Antigenfunktionen und die serologischen Reaktionen der Virusarten in vitro", *Handb. d. Virusforsch.*, 2. Hälfte, 1106-1147.
 CRANDON, J. H., C. C. LUND and D. H. BILL (1940), *New England J. Med.* 223, 353.
 CUSHING, J. E. JUN. (1945 a), *J. Immunol. (Am.)* 50, 61.
 — (1945 b), *J. Immunol. (Am.)* 50, 75.
- DALE, H. and KELLAWAY (1921), *J. of Phys. (Brit.)* 54, 143.
 DEISSLER, K. (1932), *Z. Immunitätsch. (D.)* 73, 365.
 DICK, G. F. (1913), *J. inf. diseases*, 12, 111.
 DINGLE, J. H., L. D. FOTHERGILL and C. A. CHANDLER (1938), *J. Immunol.* 34, 357.
 DOERR, R. (1907 a), *Wien. Klin. Wschr.*, Nr. 20.
 — (1907 b), *Bioch. Z.* 7, 128.
 — (1929), "Allergie und Anaphylaxie", *Handb. d. path. Mikroorg.*, 3. Aufl. I, 759.
 — (1934), *Festschrift f. ZANGGER*, Zürich.
 — (1936), *Z. Hyg. (D.)* 118, 738.
 — (1937), *Z. Hyg. (D.)* 119, 635.
 — (1938), "Die Entwicklung der Virusforschung und ihre Problematik", *Handbuch d. Virusforschung*, 1. Hälfte, S. 1-125.
 — (1941 a), *Arch. f. Virusforschung* 2, 87.
 — (1941 b), *Schweiz. med. Wschr.* Nr. 43.
 — (1942), "Die Lehre von den Infektionskrankheiten in allgemeiner Darstellung", *Lehrb. d. inn. Medizin*, 5. Aufl., Springer, Berlin.
 — (1944), "Die Natur der Virusarten", *Handb. d. Virusforsch.*, 1. Erg.-Bd., S. 1-86.
 — (1947), "Antikörper I" in *Immunitätsch.*, Springer, Wien.
 DOMAGK, G. (1935), *Dtsch. med. Wschr.* 61, 829.
 DOWNING R., zit. nach R. R. HYDE (s. das).
 DOZOIS, T. F., S. SEIFTER and E. E. ECKER (1943), *J. Immunol. (Am.)* 47, 215.
 — — — (1944), *J. Immunol. (Am.)* 49, 31.
 DUNLOP, E. M. (1928), *J. Path. a. Bact. (Brit.)* 31, 769.
- EAGLE, H. (1936), *J. Immunol. (Am.)* 30, 339.
 ECKER, E. E. (1938), *Revue d'Immunol. (Franz.)* 4, 528.
 ECKER, E. E. and P. GROSS (1929), *J. inf. diseases. (Am.)* 44, 250.
 ECKER, E. E., CH. BREESE JONES and A. O. KUEHN (1941), *J. Immunol. (Am.)* 40, 81.
 ECKER, E. E. and L. PILLENER (1941), *J. Immunol. (Am.)* 40, 73.
 — — (1942), *Complement. Ann. NY. Acad. Scienc.* 43, 63.

- ECKER, E. E., L. PILLEMER, C. B. JONES and S. SEIFTER (1940), *J. biol. Chem. (Am.)* 135, 347.
- ECKER, E. E., L. PILLEMER, J. J. GRIFFITHS and W. P. SCHWARTZ (1939), *J. Amer. med. Assoc.* 112, 1449.
- ECKER, E. E., L. PILLEMER, E. W. MARTIENSES and D. WERTHEIMER (1938), *J. biol. Chem. (Am.)* 123, 351.
- ECKER, E. E., L. PILLEMER and A. O. KUEHN (1942), *J. Immunol. (Am.)* 43, 245.
- ECKER, E. E., L. PILLEMER and S. SEIFTER (1943), *J. Immunol. (Am.)* 47, 181.
- ECKER, E. E., L. PILLEMER, D. WERTHEIMER und H. GRADIS (1938), *J. Immunol. (Am.)* 34, 19.
- EHRlich, P. und J. MORGENROTH (1900), *Berl. Klin. Wschr.* 37, 453, 681.
- EHRlich, P. und H. SACHS (1902), *Berl. Klin. Wschr.*, S. 492.
- EISLER, M. C. (1920), *Centralbl. f. Bakt., I. Orig.*, 84, 46.
- ELMORE, M. E. (1928), *J. Immunol. (Am.)* 15, 21.
- EPSTEIN, A. K., B. R. HARRIS and M. KATZMAN (1943), *Proc. Soc. exp. Biol. a. Med. (Am.)* 53, 238.
- FERRATA, A. (1907), *Berl. Klin. Wschr.*, S. 366.
- FUCHS, H. J. (1928/29), *Z. Immunitätsch.* 58, 14; 61, 342; 62, 107, 117.
- GAY, F. P. (1905 a), *Centralbl. f. Bakt., I. Orig.* 39, 172.
— (1905 b), *Centralbl. f. Bakt., I. Orig.* 40, 695.
- GEGENBAUER, V. (1922), *Arch. f. Hyg. (D.)* 90, 23.
- GRAMENITZKI, M. (1912), *Bioch. Z. (D.)* 38, 501.
- GOODNER, K. and F. L. HORSFALL (1936), *J. exp. Med. (Am.)* 64, 201.
- GORDON, J. and P. G. MARSHALL (1929), *Brit. J. exp. Path.* 10, 249.
- GORDON, J., H. R. WHITEHEAD and A. WORMALD (1926 a), *Biochem. J. (Brit.)* 20, 1028.
— — (1926 b), *Biochem. J. (Brit.)* 20, 1036.
- GORDON, M. H. (1925), *Medical Research Council, Spec. Rep. Ser. N.º 98.*
- GREEN, R. H., T. F. ANDERSON and J. E. SMADEL (1942), *J. exp. Med. (Am.)* 75, 651.
- HALLAUER, C. (1939), "Die erworbene Immunität gegen Virusinfektionen", *Handb. d. Virusföschg.*, 2. Hälfte, S. 1147-1291.
- HARRISON, J. A. and E. H. FOWLER (1945 a), *J. Immunol. (Am.)* 50, 115.
— — (1945 b), *Science (Am.)* 102, 65.
- HARTMANN, M. und K. KÄGI (1928), *Angew. Chem. (D.)* 41, 127.
- HAUROWITZ, F. (1939), *Z. Immunitätsch.* 95, 200.
- HECKER, R. (1907), *Arb. Inst. exp. Ther. Frankf.* 3, 89.
- HEGEDÜS, A. und H. GREINER (1938), *Z. Immunit. (D.)* 92, 1.
- HEIDELBERGER, M. (1938), *Symp. on Quant. Biology* 6.
— (1941), *J. exp. Med. (Am.)* 73, 681.
- HEIDELBERGER, M., O. BIER and M. MAYER (1942), *Federation Proc., Part. II*, 1, 178.
- HEIDELBERGER, M. and M. MAYER (1942), *J. exp. Med. (Am.)* 75, 285.
- HEIDELBERGER, M., M. ROCHA E SILVA and M. MAYER (1941), *J. exp. Med. (Am.)* 74, 359.

- HEIDELBERGER, M., M. and H. P. TREFFERS (1942), *J. gener. Phys. (Am.)* 25, 523.
- HEIDELBERGER, M., A. J. WEIL and H. P. TREFFERS (1941), *J. exp. Med. (Am.)* 73, 695.
- HÖBER, R. and J. HÖBER (1942), *J. gener. Phys. (Am.)* 25, 705.
- HORSFALL, F. L. and K. GOODNER (1936), *J. Immunol. (Am.)* 31, 135.
- HYDE, R. R. (1923), *J. Immunol. (Am.)* 8, 267.
- (1932), *Americ. J. Hyg.* 15, 824.
- HYDE, R. R. and E. PARSONS (1928), *Amer. J. Hyg.* 8, 859.
- JACOBY, M. (1915), *Bioch. Z. (D.)* 69, 127.
- JACOBY, M. und A. SCHÜTZE (1910), *Z. Immunitätsch. 4*, 730.
- JOBLING, J. W. and W. P. PETERSON (1914), *J. exp. Med. (Am.)* 20, 231.
- JOBLING, J. W., A. A. EGGSTEIN and W. P. PETERSEN (1915), *J. exp. Med. (Am.)* 21, 239.
- JONAS, W. (1913), *Z. Immunitätsch. (D.)* 17, 539.
- JUNGBLUT, C. W. and J. A. BERLOT (1926), *J. exp. Med. (Am.)* 43, 797.
- KABAT, E. A. (1939), *J. exp. Med. (Am.)* 69, 103.
- KEMP, T. (1927), *C. r. Soc. Biol. Paris* 96, 559.
- KISS, J. (1921), *Alexin und Antialexin*, Jena.
- KLEIN, M. and D. A. STEVENS (1945), *J. Immunol. (Am.)* 50, 265.
- KLIGLER, I. J. (1925/26), *Trans. Roy. Soc. Trop. Med.* 19, 330.
- KLOPFSTOCK, F. (1926), *Centralbl. Bakt., Orig. I*, 98 100.
- KNIGHT, C. A. and W. M. STANLEY (1944), *J. exp. Med. (Am.)* 79, 291.
- KONDO, S. (1922), *Z. Immunitätsch. (D.)*, 35, 366.
- KOSSOWITZ, N., V. JLINE et G. COULON (1944), *C. r. Soc. Biol. Paris* 138, 170.
- KRUEGER, A. P. (1942), *U. S. Naval Med. Bull. (Am.)* 49, 622.
- KUHN, R., H. BIELIG, O. DANN, D. JERCHEL und O. WESTPHAL (1940), *Ber. Dtsch. chem. Ges.* 73, 1080.
- KUHN, R. und O. WESTPHAL (1940), *Ber. Dtsch. chem. Ges.* 73, 1105.
- LAMPL, H. und K. LANDSTEINER (1917), *Z. Immunitätsch. (D.)* 26, 193.
- LANCEFIELD, R. C. (1928), *J. exp. Med. (Am.)* 47, 843, 857.
- LANDSTEINER, K. und R. STANKOVIC (1906), *Centralbl. Bakt., Orig. I*, 42, 353.
- LIEFMANN, H. (1909), *Münch. med. Wschr.* 56, 2097.
- LISTER, J., *Collected papers of JOSEPH BARON LISTER*, Clarendon Press, Oxford.
- MACCOLINI, R. (1939), *Boll. Soc. it. Biol. sperim. (Ital.)* 14, 389.
- MADDEN, S. C. and G. H. WHIPPLE (1940), *Physiol. Reviers* 20, 194.
- MADDEN, S. C., C. A. FINCH, W. G. SWALBACH and G. H. WHIPPLE (1940), *J. exp. Med.* 71, 283.
- MARRON, T. U. and F. B. MORELAND (1939), *Enzymologia* 6, 225.
- MASUGI, M. (1927/28), *Krankheitsch. 5*, 375.
- MCNEIL, A. and R. L. KAHN (1918), *J. Immunol. (Am.)* 3, 295.
- MILLER, G. L. and W. M. STANLEY (1942), *J. biol. Chem. (Am.)* 146, 331.
- MIRSKY, A. E. (1938), *Cold Spring Harbor Symp. on quant. Biology* 6, 150.
- MISAWA, T. (1934), *Z. Immunitätsch. (D.)* 83, 177.

- MOORE, H. D. (1919), *J. Immunol. (Am.)* 4, 425.
MORESTHÉ, C. (1905), *Berl. Klin. Wschr.* 37, 1181; 38, 100.
MORGAN, J. M. (1944), *J. Bact. (Am.)* 47, 466.
— (1945), *J. Immunol. (Am.)* 50, 359.
MUDD, ST. and T. F. ANDERSON (1941), *J. Immunol. (Am.)* 42, 251.
MUELLER, J. H. (1931), *J. Immunol. (Am.)* 20, 17.
MUIR, R. and C. H. BROWNING (1909), *J. Path. Bact. (Brit.)* 13, 232.
MUIR, R., C. H. BROWNING and S. P. BEDSON (1931), *System of Bacteriology* VI, 295.

NATHAN, P. (1913 a), *Z. Immunitätschg.* 19, 216.
— (1913 b), *Z. Immunitätschg.* 21, 259.
NATHAN-LARRIER, L. et P. LÉPINE (1928), *C. r. Soc. Biol. Paris* 98, 926.
NOGUCHI, H. (1926), *J. exp. Med. (Am.)* 44, 327.
NUTTALL, G. F. H. (1888), *Z. Hyg. (D.)* 4, 353.

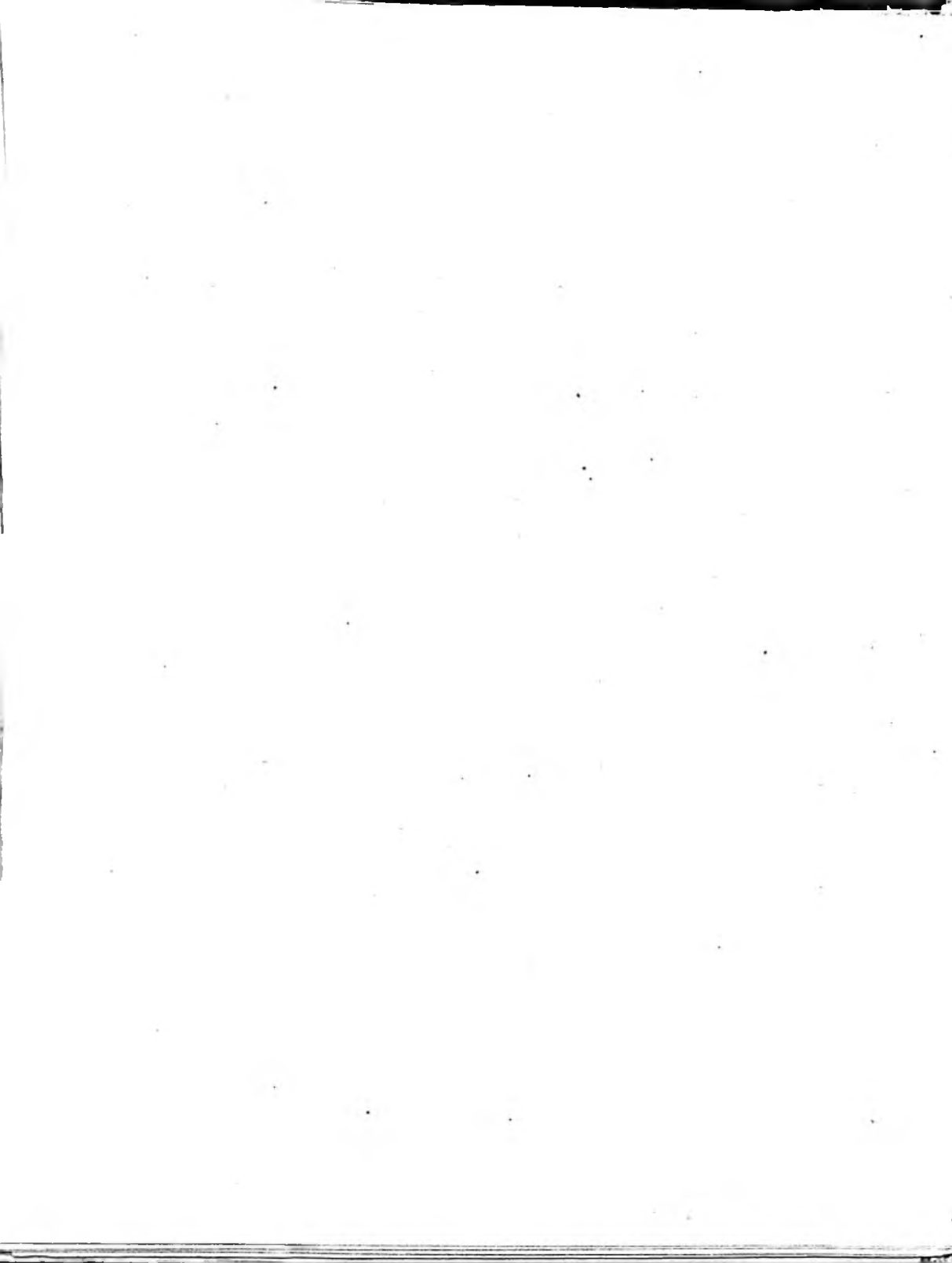
OLSEN, O. (1922), *Bioch. Z. (D.)* 133, 24.
OSBORN, T. W. B. (1937), *Complement or alexin*. London, Oxford University Press.

PAULING, L. (1945), *Molecular structure and intermolecular forces*. In K. LANDSTEINER "The specificity of serological reactions", *Rev. Ed.*, 275-293.
PETRAGNANI, G. (1923), *Sperimentale (Ital.)* 77.
PETTERSSON, A. (1934), *Die Serum-β-Lysine und die antibakterielle Immunität gegen die davon beeinflussten Mikroben*, Jena, G. Fischer.
PFANNENSTIEL, W. (1927), *Z. Immunitätschg.* 52, 445.
PIJPER, A. (1938), *J. Path. a. Bact. (Brit.)* 47, 1.
PILLEMER, L., F. CHU, S. SEIFTER and E. E. ECKER (1942), *J. Immunol.* 45, 51.
PILLEMER, L. and E. E. ECKER (1941 a), *J. Immunol. (Am.)* 40, 401.
— — (1941 b), *Science (Am.)* 94, 437.
PILLEMER, L., E. E. ECKER, J. L. ONCLEY and E. J. COHN (1941), *J. exp. Med. (Am.)* 74, 297.
PILLEMER, L., FEI CHU, S. SEIFTER and E. E. ECKER (1942), *J. Immunol. (Am.)* 45, 51.
PILLEMER, L., J. SEIFTER and E. E. ECKER (1941 a), *J. Immunol. (Am.)* 40, 89.
— — — (1941 b), *J. Immunol. (Am.)* 40, 97.
— — — (1942), *J. exp. Med. (Am.)* 75, 421.
PILLEMER, L., J. SEIFTER, C. L. SAN CLEMENTE and E. E. ECKER (1943), *J. Immunol. (Am.)* 47, 205.
PILLEMER, L., J. SEIFTER, FEY CHU and E. E. ECKER (1942), *J. exp. Med. (Am.)* 76, 93.
PIRIE, N. W. (1945), *Advances in enzymology* 5, 1.

REINER, L. und Mitarbeiter (FISCHER, KOPP, STRILICH), (1929), *Z. Immunitätschg. (D.)* 61, 317, 397, 459.
RICH, F. A., *zit. nach R. R. HYDE* (1923).
RITZ, H. (1912), *Z. Immunitätschg. (D.)* 13, 62.

- RITZ, H. und H. SACHS (1917), Z. Immunitätsch. 26, 483.
- ROBERTSON, M. (1934), J. Path. a. Bact. (Brit.) 38, 363.
- ROSE, W. C. (1938), Physiol. Rev. 18, 109.
- RÖSSLE, R. (1905), Arch. Hyg. (D.) 54, 1.
- ROTHEN, A. and K. LANDSTEINER (1939), Science (Am.) 90, 65.
— — (1942), J. exp. Med. (Am.) 76, 437.
- SACHS, H. (1929), Hämolytische Serumwirkung (Hämolsine) und Komple-
mentbindung (Citotoxische Sera), Handb. d. path. Mikroorg., 3. Aufl.,
III 1, 779-928.
- SACHS, H. und K. ALTMANN (1917), Bioch. Z. (D.) 78, 46.
- SACHS, H. und L. OMOROKOW (1911), Z. Immunitätsch. II, 710.
- SALAMAN, M. H. (1940), 3. Intern. Congr. Microb., Nueva York, S. 356.
- SCHITTENHELM, A. (1942), Die Krankheiten des Blutes und der blutbildenden
Organe. Lehrbuch der inneren Medizin, Springer, S. 350.
- SCHMIDT, H. (1919), Z. Hyg. (D.) 88, 495.
- SCHÖNHEIMER, R., S. RATNER and RITTENBERG (1939), J. biol. Chem. (Am.)
130, 703.
- SCHÖNHEIMER, R., S. RATNER, D. RITTENBERG und M. HEIDELBERGER
(1942 a), J. biol. Chem. (Am.) 144, 541.
— — — — (1942 b), J. biol. Chem. (Am.) 144, 545.
- SCHUCKMANN, W. (1920), Berl. klin. Wschr. 57, 545.
- SEIFTER, S., DOZOIS, T. F. and E. E. ECKER (1944), J. Immunol. (Am.)
49, 45.
- SEIFTER, S., L. PFLUMER and E. E. ECKER (1943), J. Immunol. (Am.)
47, 195.
- SHERWOOD, N. P., C. SMITH and R. WEST (1916), J. inf. diseases. (Am.)
19, 682.
- SHIBLEY, G. S. (1926), J. exp. Med. (Am.) 44, 667.
- SMITH, F. C. and R. MARRACK (1930), Brit. J. exp. Path. II, 494.
- SPINK, W. W., S. AGNEW and O. MICKELSEN (1942), J. Immunol. (Am.)
44, 289.
- SPINK, W. W., S. AGNEW, O. MICKELSEN and LA META DAHL (1942),
J. Immunol. (Am.) 44, 303.
- SREENIVASAYA, M. and N. W. PIRIE (1938), Bioch. I. (Brit.) 32, 1707.
- STATS, D. and J. G. BULLOWA (1942), J. Immunol. (Am.) 44, 41.
- STOCK, C. C. and T. FRANCIS JUN. (1943), J. Immunol. (Am.) 47, 303.
- STRONG, P. S. and J. T. CULBERTSON (1934), J. Hyg. (Am.) 34, 522.
- TAKANO, Y. (1936), Z. Immunitätsch. (D.) 87, 29, 72.
- TANZER, CH. (1941), J. Immunol. (Am.) 42, 291.
- THORSCH, M. (1914/15), Bioch. Z. (D.) 68, 67.
- TODA, T. und B. MITSUSE (1933), Z. Immunitätsch. (D.) 78, 62.
- TOKUNAGA, H. (1929 a), Zentralbl. f. Bact., I. Orig. 111, 470, 478.
— (1929 b), Zentralbl. f. Bact., I. Orig. 114, 203.
- TOMCSIK, J. and T. J. KUROTCHEV (1928), J. exp. Med. (Am.) 47, 379.
- WEIL, E. (1913), Bioch. Z. (D.) 48, 347.
- WEISS, P. (1945), Science (Am.) 101, 101.

- WESTPHAL, O. und D. JERHEL (1942), *Kolloid-Z. (D.)* 101, 213.
- WHITEHEAD, H. R., J. GORDON and A. WORMALL (1925), *Bioch. J. (Brit.)* 19, 618.
- WOLLMANN, E. et GRAVES (1923), *C. r. Acad. Scienc. Paris* 177, 1162.
- WORMALL, A., H. K. WITHEHEAD and J. Gordon (1925), *J. Immunol. (Am.)* 10, 587.
- WU, H. and S. M. LING (1927), *Chines. J. Physiol.* 1, 407.
- ZINSSER, H. and J. T. PARKER (1923), *J. Immunol. (Am.)* 8, 151.



INDICE ALFABETICO DE MATERIAS.

(C. SIGNIFICA "COMPLEMENTO".)

- A**glutinación, 11, 32, 36, 37, 46.
— de bacterias flageladas, 32.
- A**gresinas, 2.
- A**islamiento de los componentes del C., 19.
— C'1 ("pieza media"), 19, 20.
— C'2 ("pieza terminal"), 19, 20, 53.
— C'4 (cuarto componente), 19, 20.
- A**lexina, 3.
- A**lquilaminas, 15, 16.
— inactivación del cuarto componente, 15, 16.
- A**nimales, complementos en los, 57.
— — animales de sangre fría, 61, 62.
— — complementación mutua, 62.
— — carencia de componentes aislados, 57, 60.
— — diferencias, 57 y ss.
— — análisis por complementos inactivados específicamente, 52, 57.
— — "especificidad", 63.
- A**nisotropía en líquido circulante (inactivación del virus X y), 50.
- A**nticomplementos, 68.
- A**nticuerpos, 10, 23, 32, 65.
— efectos sobre las bacterias flageladas, 32.
- A**nticuerpos: efectos sobre los protozoos vivos, 33.
— — con C., 33.
— — sin C., 34.
— interpretación biológica de los efectos sobre células con antígenos, 35.
— — significación de la citolisis, 37, 38.
— de caballo, 26, 54, 60, 63.
— de conejo, 25, 26, 54, 60, 63.
— de hombre, 54, 63.
- A**scórbico, ácido, 54.
— relación con el C., 54, 55, 56.
- B**actericidia, 1.
— del C. sobre bacterias sensibilizadas, 36, 53.
— de la sangre (del suero sanguíneo), 3.
- C.**, avitaminosis, C. en la, 54, 55, 56.
C., vitamina (véase Ascórbico, ácido).
- C**arencia de C. en el cobayo, 5.
— ausencia del tercer componente, 5, 7.
— — en la sangre de los hijos, existiendo en la de la madre, 6.
— herencia, 6.
— influencia sobre la inmunidad anti-infecciosa, 8.
- C**erdo, suero de, 14, 57, 58, 59.
— contenido de C'3, 14, 57, 58, 59.
- C**itolisis, 36, 37, 38, 39.

- Citotóxicos, fenómenos, 36.
— como procesos físico-químicos, 40.
- Complemento, I.
— carencia (véase carencia de C.).
— destino en el metabolismo de los animales, 7, 64, 72.
— factor de la defensa contra la infección, 8.
— en el hombre (véase Hombre, suero de).
— en diferentes animales (véase Animales, complemento en los).
- Complementoide, II.
— "obstrucción" por el, II, 22.
- Componentes del C., 19.
— aislamiento (véase Aislamiento de los componentes del C.).
— carácter específico como antígeno proteico, 67.
— comportamiento en la fijación en complejos antígeno-anticuerpo, 21, 22.
— cuarto componente (C'4)' 15, 20, 21, 22.
— designaciones, símbolos, 19.
— fijación inespecífica, 21, 75.
— participación en la hemólisis inmune, 23.
— peso molecular (C'1), 27.
— pieza media (C'1), II, 20, 21, 22.
— pieza terminal (C'2), 11, 20, 21, 22.
— propiedades, 20.
— sustitución por componentes de igual designación y otra procedencia, 13, 52, 57, 63.
— tercer componente (C'3), 5, 7, 14, 20, 21, 22.
— termoestables, 13.
— termolábiles, 12, 70.
- Cuarto componente (C'4), 15.
— combinación con C'2, 20.
— composición química, 20.
— — euglobulina, 16, 20.
— — factor Ca, 17.
— — hidrato de carbono, 16, 20.
— — — grupos carbonilos del, 16.
- Cuarto componente (C'4): distribución entre las piezas media y terminal, 15.
— inactivación, 15, 16.
— — por éter, 15.
— — por sulfato amónico, 15.
— — por CHCl_3 , 15.
— — por NH_3 , 15.
— — — grupos polares, 16.
— — — — bloqueo de los mismos, 16.
— — — — significación de un grupo NH_2 libre, 16.
— termoestabilidad, 70.
- Desdoblamiento del C., II.
— en piezas media y terminal, II.
— — por acidulación, 12.
— — por CO_2 , 12.
— — por diálisis, 12.
— — por dilución, 12.
— — por filtración, 12.
- Detergentes (véase Invertidos, jabones), 41.
- Eck, fístula de, 66.
— comportamiento del C. en la, 66.
- Edemas por éxtasis, 12.
— carencia de la pieza media, 12.
- Electroforético, equilibrio, 20, 52.
— C'1, 20, 52.
— C'2 + C'4, 20.
- Escorbuto, C. en, 54, 55, 56.
- Específicamente inactivado, C., 52, 57.
— eliminación de C'1, 52, 57.
— eliminación de C'2, 52, 57.
— eliminación de C'3, 14, 52, 57.
— eliminación de C'4, 15, 52, 57.
- Fagocitosis, I.
- Fermentativo del C., efecto, 29.
— citolisis como, 29, 39.
— como lipasa, 30.
— como proteasa, 29, 30, 40.
- Fijación del complemento, 20, 76.
— aplicación al diagnóstico, 76.

- Fijación del complemento: capacidad de función de los componentes ligados, 53, 54.
- dependencia del tamaño de la partícula del complejo antígeno-anticuerpo, 25, 26.
 - determinación cuantitativa de la (véase Titulación).
 - en los complejos antígeno-anticuerpo, 20.
 - — anticuerpos de caballo, 26, 54, 60, 63.
 - — anticuerpos de conejo, 25, 26, 54, 60, 63.
 - — anticuerpos de hombre, 54, 63.
 - indicadores de la, 76.
 - inespecífica, 71.
 - — comportamiento de los componentes, 21.
- Frío, pruebas de separación en, 23.
- γ -Globulina (de conejo), peso molecular de la, 26.
- Globulinas del complemento, 12, 16, 20, 64.
- como fracción de las proteínas totales del suero, 20, 25.
 - especificidad como antígenos proteicos, 67.
- Haptóforo**, grupo, 10.
- comportamiento con el anticuerpo, 10.
- Hemocianina, 21, 65.
- Hemolisis, mecanismo, 40, 41.
- participación de los componentes del C., 23 y siguientes.
- Hidracina, 16.
- Hidratos de carbono, contenido de, 20.
- — en C'1, 20, 64.
 - — en C'2 + C'4, 20.
 - — en C'4, 16.
- Hombre, suero de, complemento en el, 52.
- — C'1, aislamiento, 52.
 - Hombre, suero de: sustitución por C'1 de suero de bovino o de oveja, 52.
 - — — velocidad electroforética, 52.
 - — C'2, aislamiento, 52.
 - — C'3, sustitución por C'3 de C. de cobayo, 52.
 - — componentes, 52.
 - — — labilidad, 70.
 - — conservación, 53.
 - — C. específicamente inactivado de, 52.
 - — suero total, labilidad del C. en el, 53.
- Inactivación del C. (véase también en los Componentes), 53, 70.
- adsorción, en adsorbentes inorgánicos, 22, 75, 76.
 - — en bacterias, 22, 53.
 - agitación, 73.
 - calefacción 70.
 - eliminación de los componentes singulares, 92, 57.
 - filtración, 12, 71.
 - sustancias inhibitoras de la coagulación, 74.
- Infección como correlación entre parásito y huésped, 2.
- defensa inespecífica contra la, 1.
 - — celular, 1.
 - — humoral, 1, 2.
 - como lucha entre macro y microorganismos, 2.
- Inmuglobulinas, 7, 65, 68, 69.
- marcadas, 65.
- Inmunidad, natural, inespecífica, 1, 8.
- Interferómetro, 30.
- Invertidos, jabones, 41.
- comportamiento contra bacterias Gram positivas y Gram negativas, 48.
 - efecto citotóxico de los, 41.
 - — mecanismo del, 42.
 - — modelo para los procesos de inmunidad, 43.

- Invertidos, jabones inactivación, del virus de la gripe, 49.
 — — del virus X de la patata, 50.
- Isoeléctrico, punto, 20.
 — C'1, 20.
 — C'2 + C'4, 20.
- K**, vitamina, 74.
 — y producción del C., 74.
- Levadura, extracto, 14, 52.
 — inactivación del C'3 por, 14, 52, 62.
- β -Lisina, 79.
- Media, pieza (C'1), 11, 20, 52.
- Mosaico del tabaco, virus del, 21, 48.
- Mucooglobulina, 20.
- N**, isótopos, 65.
- Origen del C., 7, 64.
 — en los leucocitos, 64.
 — en el hígado, 65.
- Oxidación, 38.
 — inactivación del C. por, 38.
 — reactivación por reducción, 38, 39.
- Paralisinias, 32.
- Películas monomoleculares, 74.
- Plasma, proteínas del, 64.
 — — consumo, 64.
 — — reservas, 65.
 — — síntesis, 64.
 — — — lugar de la, 64.
- Polisacáridos, 20, 30, 54, 63.
- Sedimentación, constante de, 20
 — C'1, 20.
 — C'2 + C'4, 20.
- Sódico, dodecilsulfato, 50.
 — acción sobre el virus X, 50.
- Sulfhidrilo del C., grupos, 38.
 — condición de actividad, 38.
- Tercer componente (C'3), 14.
 — adsorción en bacterias, 14.
 — carácter químico, 20, 24.
 — carencia hereditaria, 5, 7.
 — comportamiento en la hemolisis, 23.
 — — como catalizador, 23, 24.
 — contenido en el suero de cerdo, 14.
 — división en pieza media y terminal, 14.
 — inactivación, 14, 52, 62.
 — — por formol, 24.
 — — por heparina, 14.
 — — por levadura (zimina), 14, 52, 62.
 — — por veneno de cobra, 14.
- Terminal, pieza (C'2), 11, 20, 52.
- Titulación del C. 25.
 — por determinación del N., 25, 26.
 — volumétrica, 25.
- Toxóforo, grupo, 10.
- Virus**, 45, 49, 50, 51.
 — inactivación por anticuerpos, 45.
 — — papel del C., 45, 46, 47.
 — inactivación por jabones invertidos, 48 a 51.
- Zimina, 52, 62.

TERMINOSE DE IMPRIMIR LA PRIMERA
EDICION DE ESTE LIBRO EN LOS TA-
LLERES TIPOGRAFICOS DE LA VIUDA
DE GALO SAEZ, MESON DE PAÑOS, 6,
MADRID, EL DIA 25 DE ABRIL DE 1952

Precio: 25 pesetas.

