

ORIGINALES

ESTUDIO INMUNOLÓGICO DE LA CONSTITUCIÓN ANTIGENICA DE LOS POLVOS DE CASA Y DE GRANERO

J. M. ALÉS REINLEIN, C. JIMÉNEZ DÍAZ
y F. ORTIZ MASLLORÉNS.Instituto de Investigaciones Médicas. Madrid.
Director: Profesor C. JIMÉNEZ DÍAZ.

Aunque ya de antiguo se conocía la influencia de determinadas viviendas y de algunas profesiones sobre un cierto número de enfermos de asma bronquial, fué KERN en 1921¹ el primero que llamó la atención sobre la posible sensibilización al polvo de casa, y posteriormente COOKE², un año después, demostró tal sensibilización por pruebas cutáneas. A esto siguieron las aportaciones de ROWE³ y JIMÉNEZ DÍAZ⁴, y desde entonces hasta nuestros días son innumerables los autores que se han ocupado de este problema.

A pesar de los numerosos intentos que desde entonces se han hecho para aclarar la naturaleza del alergeno del polvo de casa, todavía no se ha llegado a un acuerdo sobre esta cuestión; mientras algunos autores creen que el polvo de casa debe su actividad a la suma de diversos alergenos ambientales, la mayoría opinan que existen realmente una o varias sustancias aler-

génicas propias del polvo, a las que ocasionalmente se podrían sumar otros alergenos procedentes del ambiente. Hoy día la opinión predominante es esta última, de que existe un alergeno propio del polvo de casa.

En estos últimos años se ha llegado, gracias a los estudios de RIMINGTON y cols.⁵ y ⁶, a un conocimiento bastante completo de la naturaleza química de este alergeno propio del polvo, pero la procedencia del mismo sigue siendo desconocida, aunque algunos autores⁷ y ⁸ sugieren su origen a partir de fibras de algodón envejecidas.

El estudio alergénico del polvo de casa se ha atacado desde distintos puntos de vista. Primariamente, con un criterio clínico, estudiando los anticuerpos reagénicos y efectuando pruebas de provocación y de exclusión en sujetos sensibles. En segundo lugar, desde el punto de vista inmunológico, comprendiendo los estudios llevados a cabo mediante la provocación del choque anafiláctico en el cobaya previamente sensibilizado al polvo y los estudios de difusión en gelles. Por último, desde el punto de vista del análisis químico de la sustancia sensibilizante aislada.

El polvo de casa es una mezcla muy compleja en la que entran diversos elementos que se pueden clasificar con arreglo al cuadro I.

CUADRO I

C o m p o n e n t e s d e l p o l v o e n r e l a c i ó n c o n el a s m a	1. Sustancias inorgánicas no o sólo ex- cepcionalmen- te alergénicas.	Animales.... Domésticas.... Vegetales.... Profesionales....	Metales, carbón, silice, etc., etc
	2. Sustancias orgánicas eventualmen- te alergénicas.		Animales.... Domésticas.... Vegetales.... Profesionales....
	3. Sustancia "X" (alerge- nos propios del polvo)		Vegetales.... Profesionales....
			Productos dérmicos animales (caballo, vaca, co- nejo, gato, perro, oveja, etc.). Productos dérmicos humanos. Suero humano. Plumas de aves. Colas de pescados. Insectos (cimex, efemera, carcoma, etc.). Restos de alimento (huevo, etc.). Seda.
			Algodón, crin vegetal, miraguano y yute. Lino, rayón, cáñamo y esparto. Piretrum (crisantemos). Raíz de lirio de Florencia y colas vegetales. Restos de alimentos y madera. Pólenes, plantas, tabaco y hongos del aire. Hongos parásitos (merulius, etc.).
			Harinas leguminosas, drogas y sustancias quími- cas, linaza, polvo de tabaco, serrín de madera, fibras textiles, esparto, etc.

Los elementos inorgánicos no interesan en este estudio por tratarse de sustancias irritantes, carentes de una acción alergénica propiamente dicha. De la misma forma excluimos de nuestro trabajo la mayor parte de los elementos orgánicos profesionales u ocupacionales, centrándonos nuestra atención a los elementos orgánicos que constituyen los polvos de casa y de granero.

En ese cuadro incluimos aparte, la sustancia "X", alergeno propio del polvo, cuya procedencia se ignora, y que ha sido objeto de un magnífico estudio químico por parte de RIMINGTON y colaboradores⁵ y⁶ y de EFRON⁹ y¹⁰, como veremos más adelante.

MATERIAL Y MÉTODOS.

Hemos emprendido el estudio de la constitución antigénica del polvo de casa desde un punto de vista inmunológico. Considerando la complejidad del antígeno de polvo de casa, hemos elegido el método de precipitación en geles en dos dimensiones de OUDIN-OUCHTERLONY¹¹ y¹², que permite separar los componentes de una mezcla antigenica.

La precipitación en medio líquido, habitualmente empleada, tiene lugar por igual en toda la masa del mismo, de manera que si el sistema precipitante es múltiple, es decir, si hay más de un antígeno y un anticuerpo, al final no podremos conocer directamente la parte que en la precipitación total corresponde a cada uno de los elementos que intervienen.

La precipitación específica que hace uso del fenómeno de difusión en geles viene precisamente a resolver esta dificultad. En ella los antígenos y los anticuerpos difunden a través del gel (agar o gelatina) que contiene solamente los iones necesarios para que se produzca la precipitación, la cual tiene lugar allí donde ambos reactivos se encuentran en la llamada relación de equivalencia, es decir, donde están en proporciones óptimas para precipitar. La precipitación, pues, ya no es difusa y homogénea como en el medio líquido, sino perfectamente localizada, y se manifiesta por una línea de precipitación más o menos densa en el gel semitransparente. Ahora bien, como ambos reactivos difunden a una velocidad que depende, entre otros factores, de la naturaleza de la sustancia que difunde y de su concentración inicial, tendremos que en el caso de un sistema complejo los diferentes antígenos y anticuerpos difundirán a velocidades distintas, por lo que en un momento dado las zonas de precipitación por ellos producidas serán independientes y aparecerán perfectamente individualizadas en el gel.

Disponemos la experiencia colocando en el gel (agar al 1 por 100), contenido en placas de Petri de 7 cm. de diámetro, tres reservorios cilíndricos de aproximadamente 0,5 c. c. de capacidad, distantes entre sí 1 cm. y situados en los tres vértices de un triángulo equilátero. Esta disposición nos permite la comparación directa de dos antígenos o mezclas antigenicas frente a un suero o viceversa.

Las placas se guardan en termostato a 22° C., se llenan una o dos veces los reservorios, a medida que su contenido difunde, y a los 7-9 días se hace la lectura, dibujando esquemáticamente la imagen obtenida y fotografiando las placas por transparencia.

La precipitación se ve formando líneas o bandas, rectas o más o menos curvas, según su posición y generalmente inmóviles.

Cuando los antígenos que se comparan tienen elementos comunes capaces de precipitar con el mismo anticuerpo, se ve cómo las bandas formadas a uno y otro lado se continúan entre sí, total o parcialmente, o al menos la banda formada en un lado se arquea ligeramente en

el otro cuando aquí la cantidad es insuficiente para producir una precipitación visible. Cuando las sustancias comparadas no tienen entre sí ninguna relación, la precipitación puede ser unilateral, o si hay bandas en ambos lados, éstas se cruzan sin continuidad. Se forman así las imágenes llamadas de identidad, identidad parcial y no identidad (fig 1).

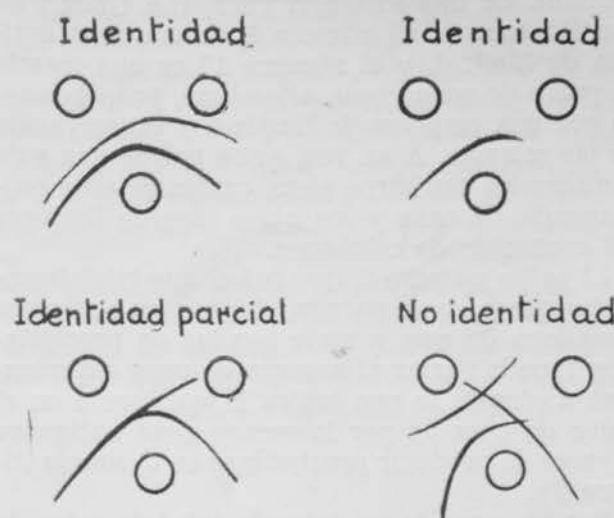


Fig. 1.

Nótese que en las reacciones de identidad las diferencias de distancia de la banda a los reservorios a uno y otro lado nos orientan sobre la diferencia de concentración del reactivo correspondiente en ambos sistemas comparados.

Para la identificación de los antígenos del sistema precipitante hemos empleado tres procedimientos: a) Comparación del sistema con antígenos conocidos. b) Comparación del antígeno con dos antisueros: uno, contra el antígeno total, y otro, contra alguno de los componentes que queremos investigar; y c) Eliminación específica de una o varias bandas difundiendo previamente en el gel la sustancia a probar, según la técnica de BJÖRKlund¹³.

Hemos empleado dos técnicas distintas de preparación de extractos de casa. Para la preparación de extractos totales hemos seguido la técnica de ROCKWELL¹⁴, que consiste en la extracción con suero fisiológico alcalinizado con NaOH y añadido de Merthiolate como conservador. Los extractos purificados fueron preparados según la técnica de SUTHERLAND¹⁵: extracción con amoníaco N/100, seguida de adsorción de la sustancia específica sobre ácido benzoico y elución con acetona, que disuelve el ácido benzoico.

La obtención en conejos de un inmunosuero potente contra el polvo de casa no es empresa fácil. Intentamos primeramente inmunizar los animales mediante un ciclo prolongado de inyecciones intravenosas siguiendo la pauta de KABAT y MAYER¹⁶, con la cual no tuvimos éxito. Por carecer de parte de los ingredientes que integran el adyuvante ideado por FREUND¹⁷ no pudimos emplear esta técnica, que es la más usada para obtener en conejos inmunosueros frente a antígenos débiles. Recurrimos a la técnica de GLYNN y cols.¹⁸, de copulación del antígeno con estreptococos hemolíticos grupo A vivos, que una vez muertos son inyectados por vía intravenosa, pero tampoco nos dió resultado. Por último, se nos ocurrió seguir la técnica propuesta por PROOM¹⁹ para la obtención de sueros de conejo anti-globulinas humanas usados para la prueba de Coombs, y que consiste en precipitar el antígeno con alumbre potásico, inyectándolo en esta forma por vía intramuscular. Con dos inyecciones de este precipitado y una o varias hiperinmunizaciones con el antígeno crudo por vía intravenosa se consigue en uno y medio a tres meses obtener buenos inmunosueros, que son los que nosotros hemos utilizado.

RESULTADOS.

Primera parte. Extractos totales de polvo de casa (ROCKWELL).

Hemos estudiado detenidamente tres polvos de casa (núms. 1, 8 y 15). El polvo número 1 procedía de una vivienda rural (La Granja de San Ildefonso). El número 8, de una casa antigua de Madrid, y el número 15 es una mezcla de polvo de numerosas alfombras, proporcionado por una empresa de limpieza y conservación de las mismas. A su vez, estos polvos han sido comparados con otros siete, cuatro de ellos propiamente de casa y los otros tres de limpieza del contenido de colchones.

El polvo número 8, que fué el que inicialmente tomamos como patrón, dió con su antisuero homólogo de seis a siete bandas de precipitación (puede variar el número de unas experiencias a otras), lo que indica la existencia en el polvo de casa de por lo menos siete antígenos capaces de producir precipitinias en el conejo (figura 2).

Por tratarse de un extracto total de polvo de casa, algunas de estas bandas son debidas a la sustancia específica del polvo y las restantes a alergenos de la vivienda no específicos.

Tratando de identificar los componentes del polvo, la primera sustancia que comparamos con el sistema homólogo (polvo 8 - antisuero 8) fué un extracto de *Productos Dérmicos Humanos* (P. D. H.) (producto del afeitado en seco con máquinas eléctricas). Esto nos fué sugerido porque ya VAN LEEUWEN²⁰, en 1925, había llamado la atención sobre la frecuencia de reacciones cutáneas positivas a los productos dérmicos en pacientes alérgicos, y por los trabajos de HAMPTON y STULL²¹, que demostraron que en cobayas sensibilizados con un extracto total de polvo podía desencadenarse el choque anafiláctico por la inyección de productos dérmicos humanos.

Hemos comprobado la existencia de P. D. H. en el extracto total de polvo de casa por cuatro vías distintas:

1. Comparación del sistema homólogo polvo 8 - antisuero con el extracto de P. D. H. Se obtienen cuatro bandas comunes entre los sistemas comparados: tres, de identidad total, y una, de identidad parcial (fig. 3).

2. Comparación del sistema homólogo P. D. H.-inmunosuero anti-P. D. H. con el polvo 8. Se observa identidad completa de todas las bandas (fig. 4).

3. Difusión previa de P. D. H. en una experiencia dispuesta como la del apartado 1 (figura 3). Se ve desaparecer todas las bandas que allí daban comunidad (fig. 5).

4. Comparación de los antisueros anti-polvo 8 y anti-P. D. H. frente al extracto de polvo número 8 (fig. 6).

Por esta serie de experiencias queda confirmada la existencia en el polvo de casa de P. D.

H., al mismo tiempo que se demuestra que éstos no constituyen un solo antígeno, sino cuatro inmunológicamente distintos.

Comparamos también el *Suero Humano Normal* (S. H. N.), cuya comunidad antigenica con el extracto de polvo de casa había sido ya demostrada por WODEHOUSE²² por medio de la difusión en geles. Nosotros lo comprobamos también por varios métodos:

1. Comparación del sistema homólogo polvo 8 - antisuero 8 con S. H. N. (fig. 7). Se ven tres bandas de identidad total.

2. Poniendo el polvo 8 frente a un inmuno-suero anti-S. H. N. se obtuvieron tres bandas de precipitación (fig. 8).

3. Difusión previa de S. H. N. en una experiencia dispuesta como la del apartado 1 (figura 7). Se observa la desaparición de todas las bandas comunes al S. H. N. (fig. 9).

Se demuestra en estas experiencias la existencia en el polvo de casa de tres productos inmunológicamente indiferenciables de otros tantos del S. H. N.

Se comparó asimismo la *saliva humana*, concentrada y desprovista de sales, con el sistema homólogo (polvo núm. 8 - antisuero 8), observándose que todas las bandas del sistema homólogo, a excepción de dos, dan una reacción total o parcial con la saliva humana (fig. 10).

Comparamos la *Orina Humana Normal* concentrada y desprovista de sales (O. H. N.) con el sistema homólogo polvo número 8 - antisuero 8, viéndose una banda común al extracto de polvo y a la O. H. N. y otra que no se ve continuarse con las del polvo, pero que tiene que corresponder a algún elemento de éste por ser una precipitación obtenida con el suero anti-polvo (fig. 11).

El encontrar en los extractos de polvo de casa cuatro antígenos comunes a los P. D. H., dos o tres al S. H. N., cuatro a la saliva y dos a la O. H. N., no quiere decir que todos éstos sean productos distintos existentes en el polvo. Más bien, por ser de origen humano todos los productos comparados con el polvo, cabría pensar en la identidad de todos o algunos de éstos entre sí.

Para aclarar esto hemos emprendido una serie de experiencias consistentes en comparar entre sí todos estos productos frente al antisuero anti-polvo y en algún caso frente a un inmuno-suero anti-P. D. H., experiencias que no detallamos para no alargar demasiado este trabajo.

Las conclusiones a las que hemos llegado son las siguientes: En el extracto de polvo de casa hay un elemento común a los P. D. H., saliva humana, O. H. N. y S. H. N. Hay otros dos antígenos comunes a los P. D. H. y a la saliva. Hay también en el extracto de polvo antígenos propios de los P. D. H. y del S. H. N. sin relación entre sí ni con los otros productos analizados.

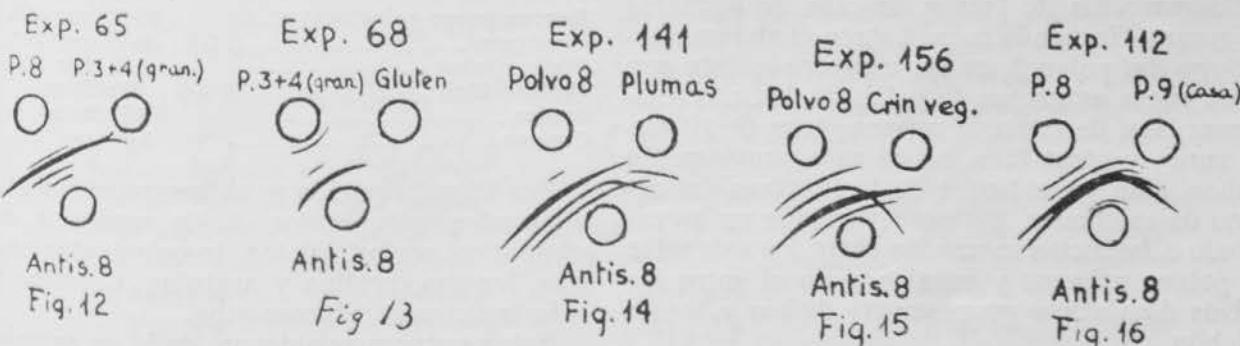
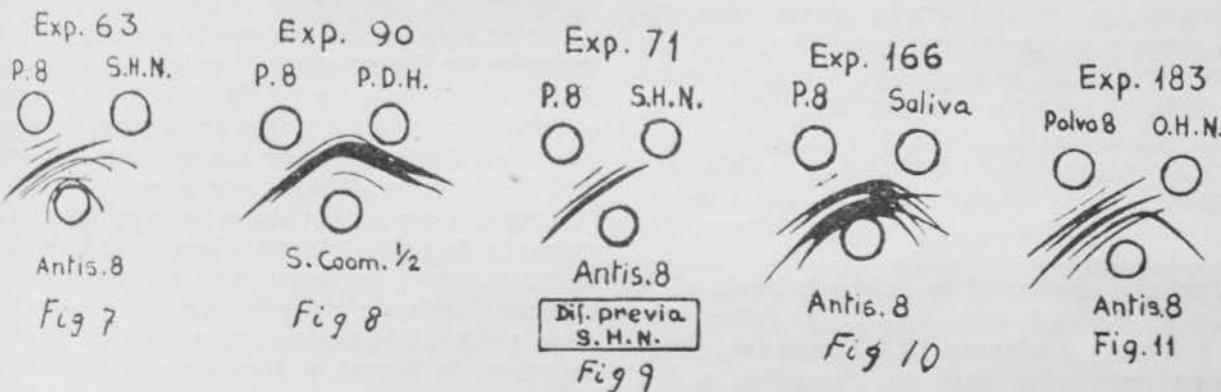
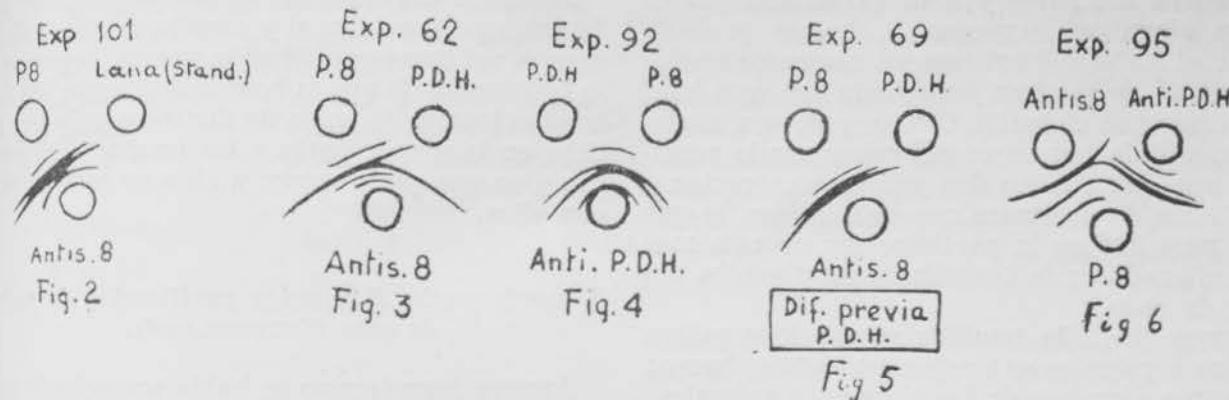
Además de los productos humanos hemos investigado en el extracto total de polvo de casa un gran número de alergenos domésticos. Dado

que algunos de los polvos estudiados procedían de viviendas rurales, hemos comparado el sistema homólogo (polvo núm. 8 - antisuero 8) con una mezcla de distintos extractos de polvos de granero (polvos núms. 3 y 4), encontrando una identidad parcial entre una de las bandas del polvo de casa y el polvo de granero (fig. 12).

Para ver a qué se debía esta comunidad en-

polvo núm. 8 - antisuero 8 con resultado negativo.

Pensamos entonces si la comunidad entre el polvo de casa y el de granero sería debida a la existencia de productos humanos, eligiendo para esta prueba los P. D. H., como más representativos del grupo, por ser los que dan mayor número de bandas comunes al polvo de casa. La



tre las dos clases de polvos, se planearon una serie de experiencias de las que detallaremos aquí las principales.

Se puso frente al antisuero 8 (anti-polvo de casa), por un lado, los extractos de polvo de granero, y por otro lado, el gluten puro, que, como veremos más adelante, es uno de los antígenos hallados por nosotros en el polvo de grano. Se vieron dos bandas débiles en el lado del polvo de granero sin equivalencia en el lado del gluten (fig. 13). Esto mismo se confirmó al comparar el gluten con el sistema homólogo

comparación de éstos con el polvo de granero frente al antisuero antipolvo 8 demostró la falta de comunidad.

Se ha investigado también la comunidad del extracto de polvo con *plumas de ave* (pato, ganso, etc.). Comparando el sistema homólogo polvo núm. 8 - antisuero 8 con un extracto de plumas, se ve una banda común al polvo y a las plumas, y otra sólo visible en el lado de las plumas, pero que tiene que corresponder a un elemento del polvo, puesto que precipita con un antisuero anti-polvo (fig. 14). En otra experiencia se

investigó si esta comunidad de las plumas con el polvo se debe a alguna analogía antigénica entre los productos dérmicos de aves y humanos, con resultado negativo.

Otra de las comunidades halladas ha sido entre el sistema homólogo polvo 8 - antisuero 8 y extracto de *crin vegetal*, encontrándose una banda común a los dos extractos (fig. 15).

Puesto que se han descrito sensibilidades a la madera normal²⁴ y a la parasitada por el hongo *Merulius lacrymans*²⁵, hemos probado frente al sistema homólogo extractos de *madera normal*, de *madera parasitada* por este hongo, cedido por el doctor CANTO, y de una madera parasitada por *carcoma*, encontrando resultado negativo con los dos primeros extractos y resultados discordantes con este último, lo que hace muy dudosa la participación de esta madera alterada en la constitución antigénica del polvo de casa.

Hemos obtenido también resultado negativo con los siguientes extractos probados: huevo; productos dérmicos de los siguientes animales: gato, oveja (lana sin elaborar, lana de colchón y manta de lana usada), cerdo, conejo, asno, caballo, mulo y cabra; fibras vegetales: algodón nuevo, algodón viejo (decolorado y sin decolorar), cáñamo, esparto y miraguano; pólenes de gramíneas: *Dactylis glomerata* y *Lolium perenne*; insectos: *Cimex lectularius* y *Calandra granaria*; hongos del aire: *Penicillium*, *Cladosporium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Tilletia* y *Ustilago*.

Un estudio similar al mencionado hasta ahora ha sido realizado también con los polvos número 1 (rural) y número 15 (alfombras), obteniéndose resultados casi superponibles a los proporcionados por el polvo número 8, por lo que creemos innecesario detallarlos.

Comparación de polvos de casa de distintos orígenes.—Tomando como patrón el sistema homólogo del polvo 8, se ha comparado éste con otros nueve extractos de polvo de distintos orígenes: tres, de vivienda urbana; tres, de vivienda rural, y otros tres, no de casa propiamente dichos, sino procedentes de la limpieza del relleno de colchones. Esta comparación no ha revelado diferencias marcadas entre los extractos de polvos urbanos y rurales, pero sí entre los polvos domésticos propiamente dichos y los de colchón.

La comparación del sistema homólogo polvo 8 - antisuero 8 con los polvos 9 (rural) (figura 16), 14 (rural) (fig. 17) y 15 (urbano) (figura 18), demuestra la casi identidad de los extractos, salvo ligeras diferencias de concentración relativa de algunos de sus componentes. En los otros tres casos la comunidad fué menos marcada, pero nunca faltó.

Por el contrario, la comparación del sistema homólogo con los extractos de polvo de colchón números 2, 6 y 5 no dió analogía alguna, salvo el último, que dió una ligera comunidad de dos de sus elementos.

Resulta, pues, según nuestras observaciones, y de acuerdo con lo encontrado por otros autores²³ y²⁶ que los polvos de casa son antigenicamente semejantes, aunque su procedencia sea muy distinta, mientras que los polvos de colchón son antigenicamente diferentes de los polvos de casa propiamente dichos, excepto una ligera comunidad observada en uno de ellos, quizá por contener mezcla de polvo de casa.

Mediante experiencias de comparación de diferentes polvos entre sí y con los productos humanos, así como por difusión previa, llegamos a la conclusión de que la comunidad entre los extractos totales de polvo de distintos orígenes se debe en la mayor parte a los productos humanos y en una parte menor a algo no relacionado con ellos.

Segunda parte. Extractos purificados de polvo de casa (SUTHERLAND).

Aunque hace tiempo se había sospechado que el extracto de polvo de casa contenía un alergeno específico independiente de los del ambiente, no había sido posible obtenerlo aislado hasta los trabajos de SUTHERLAND¹³ y los posteriores de RIMINGTON y cols.⁵ y⁶ y de EFRON⁹ y¹⁰. Que lo obtenido por estos autores es la sustancia específica, se demuestra por las pruebas de actividad biológica realizadas por ellos.

RIMINGTON y cols. parten para su estudio del extracto de polvo obtenido según la técnica de SUTHERLAND¹³, perfeccionada por ellos. Llegan a la conclusión de que esta sustancia es un complejo polipéptido-polisacárido, que da reacción negativa de biuret y fuertemente positiva de Molisch, y cuyos caracteres químicos son los siguientes:

Hexosa (como galactosa)	40-60 por 100.
Nitrógeno	5-7 por 100.
Fósforo total	0,25 por 100.
Fosfato libre	Indicios.
Azufre	Indicios.
Cenizas	1-2 por 100.

Por hidrólisis ácida se obtienen finalmente los siguientes aminoácidos: ácido aspártico, ácido glutámico, serina, glicina, treonina, alanina, valina, leucina, prolina y arginina. Contiene además indicios de glucosamina.

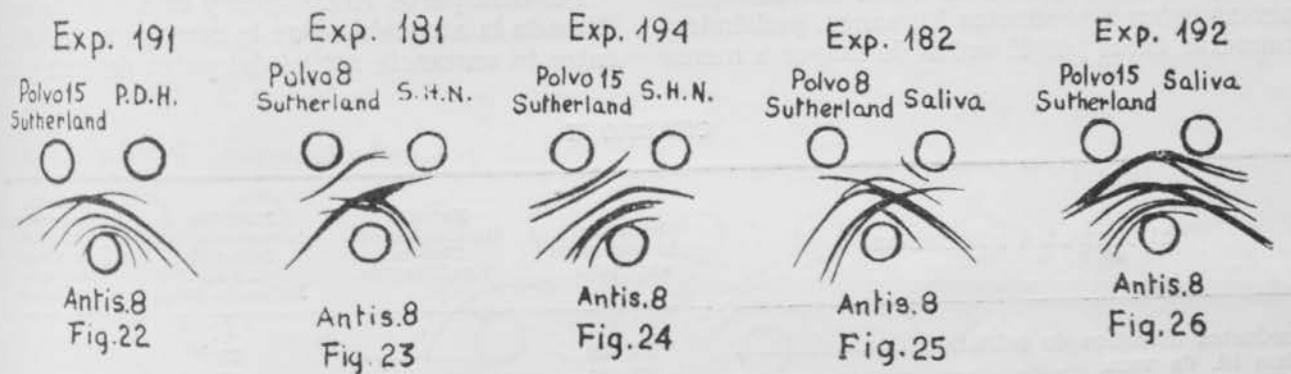
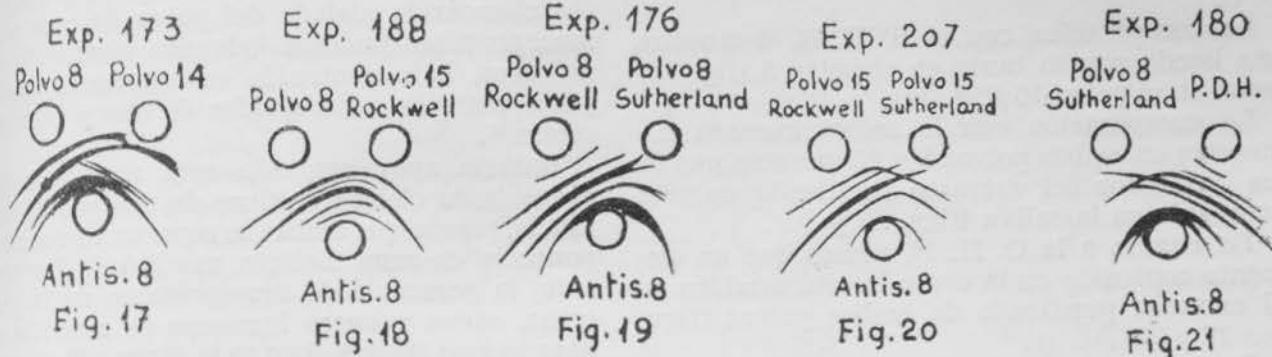
Estos autores relacionan, dada su semejanza química, esta sustancia con el polisacárido grupo específico A. Haciendo pruebas de inhibición de las isoaglutininas anti-A, anti-B y anti-O obtienen una inhibición anespecífica de las tres isoaglutinaciones a un título marcadamente inferior al obtenido empleando los respectivos polisacáridos específicos.

Electroforéticamente separan dos fracciones: una, incolora y casi inmóvil, y otra, coloreada móvil. Ambas son químicamente análogas y tienen la misma actividad biológica probadas en la piel de enfermos sensibles. Piensan los autores que puede tratarse de dos antígenos distintos a

los cuales el enfermo estaría sensibilizado simultáneamente, si bien se inclinan más a creer que se trata de uno solo, parcialmente ligado a la sustancia coloreada del polvo que le comunica su movilidad electroforética. Admiten la posibilidad de que esta sustancia, químicamente

partimos del extracto purificado de los mismos polvos número 8 (casa urbana) y 15 (alfombras) que empleamos en la primera parte de nuestro trabajo.

Comparando los dos extractos total y purificado del mismo polvo, vemos en el polvo núme-



única, sea un grupo de antígenos indistinguibles químicamente.

Según BOATNER y EFRON⁹ y¹⁰, la sustancia alergénica propia del polvo de casa es de naturaleza proteica, si bien con caracteres especiales: es perfectamente soluble en el agua, no es coagulada por el calor ni atacada por los fermentos proteolíticos, dializa ligeramente a través de celofán 1.200 y no se inactiva por el calentamiento a 100° durante una hora.

En esta segunda parte de nuestro trabajo

mo 8 (fig. 19) que de las 6 ó 7 bandas que componían el patrón de precipitación del extracto total quedan en el purificado solamente dos, que son idénticas a otras dos del extracto crudo.

En cambio, en el polvo 15 (alfombras), (figura 20), cuyo extracto total daba 6-7 bandas, al ser purificado se pierden solamente dos.

Las bandas que se pierden corresponden a los alergenos ambientales sobreañadidos contenidos en el extracto total.

Tratamos de averiguar cuáles son los compo-

nentes que quedan en el extracto purificado, para lo cual lo comparamos con diferentes productos humanos.

Por lo que respecta al polvo número 8, la comparación con P. D. H. demuestra que sus dos elementos están contenidos en éstos (fig. 21). Los cinco elementos del polvo número 15 (figura 22) están totalmente contenidos en los P. D. H.

La comparación con el S. H. N. demuestra una banda común tanto en el polvo 8 (fig. 23) como en el polvo 15 (fig. 24).

La comparación con la saliva humana demuestra en ambos polvos 8 y 15 que solo uno de los elementos del extracto purificado no está contenido en la saliva (figs. 25 y 26).

En cuanto a la O. H. N. vemos que un elemento contenido en la orina lo está también en el extracto purificado de ambos polvos (figuras 27 y 28).

De estas experiencias se puede concluir que todos los elementos que integran el extracto purificado de casa, según la técnica de SUTHERLAND, y desde el punto de vista inmunológico, corresponden a productos humanos, pudiéndose enumerar éstos por el orden de mayor a menor

comunidad con el polvo en la siguiente manera: P. D. H., saliva, S. H. N. y O. H. N.

Finalmente, hemos intentado caracterizar los productos humanos contenidos en el polvo de casa. Partiendo del estudio químico que de la sustancia activa específica purificada hicieron RIMINGTON y cols.⁵ y ⁶, nos llamó la atención la semejanza química entre el complejo polipéptido-polisacárido aislado del polvo de casa y la mucoproteína humana (elevado contenido en azúcares, bajo contenido en nitrógeno, semejanza entre los aminoácidos de uno y otro, etcétera²⁷.

Todavía apoyaban más esta semejanza las propiedades electroforéticas de una y otra sustancia, puesto que ambas se separan en dos componentes de muy distinta movilidad. Por otro lado, la presencia de mucoproteína en la piel, orina, saliva y suero humanos es conocida de hace tiempo (HOPPE-SEYLER²⁸, BEST y TAYLOR²⁹, HAMERMAN y cols.³⁰) y hemos podido nosotros demostrarla inmunológicamente por difusión en geles en estos cuatro productos humanos.

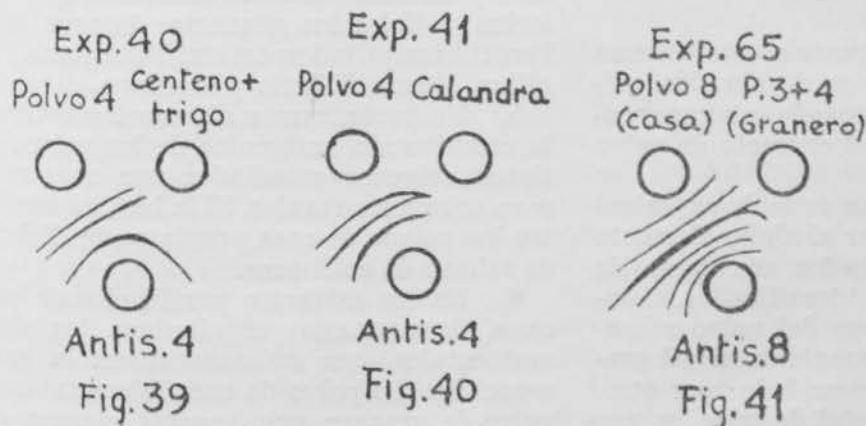
Por otra parte, RIMINGTON y cols.⁵ y ⁶ habían llamado la atención sobre la semejanza química entre la sustancia activa del polvo de casa y el

CUADRO II

SUSTANCIAS PROBADAS	Pruebas biológicas cutáneas	Estudio inmunológico. Choque anafiláctico	Estudio inmunológico. Difusión en geles. Extracto total	Estudio inmunológico. Difusión en geles. Extracto purificado
Productos dérmicos de caballo	32, 21	23	
Idem id. de vaca	32, 21	23	
Idem id. de conejo	32, 21, 33	23	
Idem id. de gato	32, 21, 33	23	
Idem id. de perro	32, 21, 33	23	
Lana	32, 21, 37		
Plumas	32, 21, 33, 34	Nosotros.	
Algodón	21, 33	7, 8		
Hongos del aire	35, 21, 33			
Madera normal	24			
Idem parasitada por carcoma	Nosotros (?).	
Merulius lacrymans	25			
Pólenes	21, 10			
Plantas de casa	33			Nosotros.
Crin vegetal		
Miraguano	3, 33			
Yute	36			
Lino	10			
Seda	10			
Rayón	10			
Lirio de Florencia	21, 33			
Piretrum (crisantemo)	36, 21			
Harina de linaza	21			
Colas de pescado	21			
Colas vegetales	21			
Tabaco	36			
Clara de huevo	8		
Insectos	21			
Peces de acuarium	37			
Productos dérmicos humanos	20	22	Nosotros.	Nosotros.
Suero humano	23. Nosotros.	Nosotros.
Saliva humana	Nosotros.	Nosotros.
Orina humana	Nosotros.	Nosotros.
Polvo de granero	38. Nosotros.	Nosotros.	Nosotros.
Sustancia "X", alergenos específicos	15, 5, 6, 10, etc.	Nosotros.	Nosotros.

polisacárido grupo específico A. Nosotros, relacionando esto con el hecho de que los polisacáridos grupos específicos se eliminan por la saliva con la fracción mucoproteína²⁸, comparamos los extractos purificados de los polvos de

el mismo resultado: la mucoproteína da dos bandas de precipitación comunes con otras dos del extracto de polvo de casa purificado. Es posible que estas dos fracciones, inmunológicamente distintas de la mucoproteína, correspondan



casa 8 y 15 con la fracción mucoproteína electroforéticamente pura aislada por nosotros del suero humano según la técnica de WEIMER y colaboradores²⁷. En ambos extractos de polvo obtuvimos el

a las dos fracciones separables electroforéticamente (figs 29 y 30).

Por las razones antes apuntadas, probamos también frente a los extractos de polvo de casa purificados polisacáridos grupos específicos A,

aislados por nosotros del hígado de vaca y de la peptona³¹, con resultado negativo.

En el cuadro II recogemos a manera de resumen los elementos alergénicos que han sido hallados en los extractos del polvo de casa, señalando los métodos por los que han sido demostrados.

Tercera parte. Polvo de granero.

Emprendimos también una serie de experiencias, similares a las efectuadas con el polvo de casa, utilizando tres muestras de polvo números 3, 4 y 12, procedentes de graneros que contenían principalmente trigo y centeno.

Se trabajó con extractos totales de polvo de granero, obtenidos según la técnica de ROCKWELL³⁴. Para la obtención de inmunoisqueros se siguió, como en la primera parte del trabajo, la técnica de PROOM¹⁹.

Elegimos como patrón, por tener mayor número de componentes alergénicos, el polvo número 4, que con su antisiero homólogo da tres bandas de precipitación perfectamente individualizadas (fig. 31).

Comparando los polvos números 3 y 4, de distintos orígenes, se observa que tienen dos bandas comunes y otra sólo contenida en el polvo número 4.

Hemos intentado la identificación de estos componentes del polvo de granero, para lo cual empezamos por comparar los elementos que integran el grano.

Comparando el sistema homólogo polvo número 4 - antisiero 4 con el gluten puro, vemos la comunidad total de una de las bandas (figura 32), la cual es común también al extracto de germe de trigo, tanto crudo como desengrasado (figs. 33 y 34). Probamos asimismo frente a este sistema extractos de salvado y de paja (figuras 35 y 36), obteniendo ligera desviación de la misma banda, lo que atribuimos, como en el caso anterior, más que a estas sustancias en sí a los restos de gluten que pueden llevar consigo.

Se probó repetidamente frente a este sistema homólogo diferentes extractos de almidón químicamente puro, no encontrando ninguna comunidad inmunológica con el extracto de polvo de granero.

Se emprendió entonces una serie de experiencias para tratar de averiguar si algún elemento del grano, aparte de los probados, era alguno de los componentes todavía no identificados. Comparando el sistema homólogo del polvo número 4 - antisiero 4 con un extracto total del grano completo de centeno, por un lado; por otro, con un extracto de grano total de trigo, y, por último, con una mezcla de extractos de los dos granos, vimos (figs. 37, 38 y 39) que todos ellos daban comunidad con la banda que ya habíamos identificado como correspondiente al gluten.

Pensamos entonces en la posibilidad de que

los parásitos vegetales (hongos) o animales (insectos) más frecuentes de estos cereales constituyesen los otros elementos antigenicos del extracto. Se probaron extractos de *Ustilago* y de *Tilletia* con resultado totalmente negativo. En cambio, un extracto de *Calandra granaria* desvió muy ligeramente otra de las bandas (figura 40).

Como ya dijimos en la primera parte de nuestro trabajo, hemos encontrado una comunidad inmunológica entre los extractos totales de polvo de granero y los extractos totales de polvo de casa (fig. 41). Como ya quedó dicho, esta comunidad no es debida al gluten ni a los productos humanos, y no se da con los extractos purificados de polvo de casa, lo que hace presumible que sea debida a algún alergeno ambiental sobreñadido que todavía no hemos podidoiliar.

CONCLUSIONES.

1. En los extractos totales de polvo de casa encontramos aproximadamente de 6 a 7 componentes inmunológicamente diferenciables.

2. La mayor parte de estos componentes son identificables como productos humanos, presentes en todos los polvos investigados.

3. El resto corresponde a otros alergenos ambientales, susceptibles de variación de unos polvos a otros, habiendo identificado nosotros un alergeno común al polvo de granero y otros comunes a las plumas de aves, crín vegetal y durasamente madera parasitada por carcoma.

4. No hemos encontrado comunidad entre el polvo de casa y los siguientes alergenos probados: huevo; productos dérmicos de los siguientes animales: gato, oveja (lana sin elaborar, lana de colchón y manta de lana usada), cerdo, conejo, asno, caballo, mulo y cabra; fibras vegetales: algodón nuevo, algodón viejo (decolorado y sin decolorar), cáñamo, esparto y miraguano; pólvenes de gramíneas: *Dactylis glomerata* y *Lolium perenne*; insectos: *Cimex lectularius* y *Calandra granaria*; hongos del aire: *Penicillium*, *Cladosporium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Tilletia* y *Ustilago*.

5. No encontramos diferencias marcadas en la constitución antigenica de los polvos de distintos orígenes estudiados por nosotros, bien sean urbanos o rurales. Si la hay, en cambio, entre los polvos de casa propiamente dichos y los de relleno de colchones.

6. En los extractos purificados de polvo de casa (SUTHERLAND) se eliminan los alergenos ambientales, que no constituyen la sustancia específica del polvo de casa (alergeno común al polvo de granero, crín vegetal, plumas, etc.).

7. Todos los elementos de los extractos de polvo purificados corresponden inmunológicamente a productos humanos en el siguiente orden de mayor a menor comunidad: productos dérmicos humanos, saliva, suero y orina humana.

8. Identificamos parte de estos productos humanos presentes en los extractos purificados como una mucoproteína.

9. No encontramos semejanza inmunológica entre la sustancia específica del grupo sanguíneo A y la sustancia activa específica del polvo de casa.

10. La constitución antigenica del extracto total de polvo de granero es menos compleja que la del polvo de casa, estando constituida especialmente por tres elementos.

11. La sustancia más antigenica desde el punto de vista inmunológico contenida en los extractos totales de polvo de granero es el gluten.

12. Los glútenes de diferentes especies (trigo y centeno) se comportan inmunológicamente de la misma manera.

13. Aparte del gluten, el extracto total de polvo de granero está constituido inmunológicamente en parte por sustancias correspondientes a parásitos de los granos (Calandra granaria) y en parte a una sustancia común a los polvos de casa, tanto urbanos como rurales, contenida en los extractos totales y en los purificados, haciendo pensar que se trata de un alergeno ambiental sobreañadido.

BIBLIOGRAFIA

1. KERN.—Cit. 19.
2. COOKE.—J. Immunol., 7, 147, 1922.
3. ROWE, A. H.—"Clinical Allergy". Ballière, Tindall y COX. Londres, 1937.
4. JIMÉNEZ DÍAZ, C.—"El asma y otras enfermedades alérgicas". Edit. España. Madrid, 1932.
5. RIMINGTON, C., STILLWELL, D. E. y MAUNSELL, K.—Brit. J. Exper. Path., 28, 309, 1947.
6. RIMINGTON, C. y MAUNSELL, K.—Intern. Arch. Aller. Appl. Immunol., 1, 115, 1950.
7. COHEN, M. B., COHEN, S. y HAWYER, K.—Allergy, 10, 561, 1939.
8. COULSSON, E. J. y STEVENS, H.—J. Allergy, 11, 537, 1940.
9. BOATNER, C. H., EFRON, B. G. y DÖRFMAN, R. I.—J. Allergy, 12, 176, 1941.
10. EFRON, B. G.—En "Treatment of Bronchial Asthma". DERRIVES, V. J. y ENGELHARDT, H. I. J. B. Lippincott Co., Filadelfia. Londres, Montreal, 1946.
11. OUDIN, J.—"Specific precipitation in gels and its application to immunochemical analysis. Methods in medical research", 5, 335, 1952.
12. OUCHTERLONY, O., ERICSSON, H. y NEUMÜLLER, C.—Acta Med. Scand., 138, 76, 1950 y Acta Path. Microb. Scand., 32, 231, 1953.
13. BJÖRKLUND, B.—Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 79, 319, 1952.
14. ROCKWELL, G. E., THOMAS, J. W. y WITTICH, F. W.—Ann. Allergy, 5, 27, 1947.
15. SUTHERLAND, CH.—Brit. Med. J., 2, 280, 1942.
16. KABAT y MAYER.—"Experimental Immunoochemistry". Chas. C. Thomas. Springfield, III, 1948.
17. FREUND, J. y McDERMOTT, K.—Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 49, 548, 1952.
18. FREUND, J. y BONANTO, M.—J. Immunol., 48, 325, 1944.
19. FREUND, J. y cois.—J. Immunol., 60, 383, 1948.
20. GLYNN, L. E., HOLBOROW, E. J. y JOHNSON, G. D.—J. Pathol. Bacter., 68, 295, 1954.
21. PROOM.—En "The haemolytic anaemias, congenital and acquired". J. V. Dacie. Churchill. Londres, 1954.
22. VAN LEEUWEN, S.—Cit. 21.
23. TUFT, L.—"Clinical Allergy". Lea & Febiger. Filadelfia, 1949.
24. HAMPTON y STULL, A.—J. Allergy, 11, 109, 1940.
25. WOODHOUSE, R. P.—Ann. Allergy, 12, 363, 1954.
26. ORDMAN, D.—South African Med. J., 23, 973, 1949.
27. FRANKLAND.—Cit. MAUNSELL, K. J. Laringol., 68, 765, 1954.
28. VAUGHAN, W. T.—"Practice of Allergy". Mosby Co. St. Louis 1948.
29. WEIMER, H. E., MEHL, J. W. y WINZLER, R. J.—J. Biol. Chem., 185, 261, 1950.
30. HAMERMAN, D., HATCH, F. T., REIFE, A. y BARTZ, K. W.—J. Labor. Clin. Med., 46, 848, 1955.
31. ARJONA, E. y ALÉS, J. M.—Rev. Clin. Esp., 5, 47, 1942.
32. DAVIDSON, M. T.—J. Allergy, 14, 244, 1943.
33. BERGER, W.—En "Allergie. Ein Lehrbuch", pág. 436. Leipzig, 1940.
34. GRIMM, V.—"Das Asthma", pág. 283. Jena, 1925.
35. STILLWELL, D. E., RIMINGTON, C. R. y MAUNSELL, K.—Brit. J. Exper. Path., 28, 325, 1947.
36. HANSEL, F. K.—"Fortschrifte der Allergielehre", 4, 129, 1949.
37. JAFFÉ, K.—"Fortschrifte der Allergielehre", pág. 156, 1939.
38. SCIMONE.—Comunicación personal.

SUMMARY

A study was carried out on the antigenic constitution of household and barn dusts from an immunological standpoint by means of two-dimension gel precipitation by the Oudin-Ouchterlony technique.

Environmental allergens (feathers, kapok, parasitised wood) were isolated from nontreated extracts. The rest was made up by human products.

Environmental allergens were eliminated from purified extracts (Sutherland). These were immunologically made up by human products which in order of frequency of occurrence were as follows: human dermic products, saliva, serum and urine. Part of these human products has been identified as a mucoprotein.

The antigenic constitution of barn dust was less complex, in that it was made up by three elements: gluten, corn parasites (Calandra Granaria) and a substance common to both city and country household dusts, which seemed to indicate that it was an environmental allergen superadded.

ZUSAMMENFASSUNG

Vom immunologischen Standpunkt ausgehend wird eine Untersuchung der antigenischen Beschaffenheit des Staubes in Haus und Scheune durch Fällung in Gelen in zwei Dimensionen nach Technik von Oudin-Ouchterlony angestellt.

In den Rohextrakten werden Allergen der Umwelt (Federn, Planzenhaar, parasitäres Holz) festgestellt und der Rest besteht aus menschlichen Produkten.

In den geläuterten Extraktten (Sutherland) werden die Allergen der Umwelt ausgeschieden. Ihrer immunologischen Beschaffenheit nach aus menschlichen Produkten bestehend, kommen sie ihrer Häufigkeit nach in folgender Reihenfolge vor: menschliche Hautprodukte, Speichel, Serum und Harn. Ein Teil dieser menschlichen Produkte konnte als ein Mukoprotein identifiziert werden.

Die antigenische Beschaffenheit des Staubes der Scheune ist weniger zusammengesetzt und besteht aus drei Elementen: Gluten, Schmalrotzer des Getreidekorns (Calandra Granaria) und einer dem Staube in ländlichen und städtischen Wohnhäusern gemeine Substanz, welche vermuten lässt, dass es sich um ein hinzugefügtes Umweltallergen handelt.

RÉSUMÉ

On fait une étude de la constitution antigénique des poussières de la maison et du grenier au point de vue immunologique par précipitation en gels sur deux dimensions, selon la technique de Oudin-Ouchterlony.

Dans les extraits crus on identifie les allergènes du milieu (plumes, crin végétal, bois parasites); le reste est formé par des produits humains.

Dans les extraits purifiés (Sutherland) les allergènes du milieu sont éliminés; ces extraits sont formés immunologiquement par des produits humains, selon l'ordre suivant de fréquence: produits dermiques humains, salive, sérum et urine. Certains de ces produits humains ont été identifiés comme une mucoprotéine.

La constitution antigénique de la poussière du grenier est moins complexe, car elle est formée par trois éléments: gluten, parasites du grenier (Calandra Granaria) et une substance commune aux poussières des maisons, aussi bien rurales que les urbaines, ce qui fait croire qu'il s'agit d'un allergène de milieu sur-ajouté.

el fenómeno, que naturalmente necesitaba ser confirmado y explorado con más detalle.

Proseguimos las experiencias en nuestro Instituto y comenzamos a observar que el fenómeno se hacia cada vez más inconstante, hasta que pasados unos meses más dejó de producirse. Ya que las condiciones experimentales eran las mismas, variando únicamente la época del año en que las hacíamos, pensamos en una posible influencia de factores climáticos desconocidos que fueran un eslabón importante en la aparición del fenómeno; algo similar a las variaciones ya conocidas de la tasa de complemento en el plasma del cobaya. Pero esto tampoco nos satisfizo al observar que en otra época similar (primavera) el fenómeno tampoco se reproducía. No dependía tampoco de la cuantía de anticuerpos antialbúmina de huevo en el suero del cobaya. Mediante la técnica de Proom (inyección intramuscular del antígeno sensibilizante adsorbido con alumbre) obteníamos títulos muy elevados de anticuerpos (hasta 145 gammas de N-anticuerpo dosificado por la técnica de Heidelberger) sin que apareciera el choque paraespecífico. Tam poco dependía de la vía empleada para la sensibilización. Revisando cuidadosamente las circunstancias que imperaban en la colonia de cobayas en la época de las primeras experiencias (mayo de 1954), nos dimos cuenta que los animales empleados en las mismas, aunque no habían recibido ninguna inyección previa de materiales humanos (orina, esputos, líquido céfalo-rraquídeo, etc.), eran sin embargo hijos de animales empleados en estas inoculaciones (teníamos escasez de cobayas en aquella época) y posiblemente habían sido sensibilizados por vía placentaria con los anticuerpos producidos en la madre.

Esta explicación exigía entonces demostrar la presencia de antígenos, extraordinariamente potentes en las secreciones humanas, capaces de provocar en el animal una sensibilización durable y transmisible a la descendencia. En este sentido realizamos nuevas investigaciones destinadas a conocer si en la orina normal existía este antígeno que, inyectado al cobaya, le sensibilizara anafilácticamente y de manera tan poderosa a los productos humanos. Elegimos la orina, en primer término, por ser el producto que con más frecuencia se emplea en el laboratorio para las inoculaciones a cobayas, y sobre todo porque se prestaba con más facilidad a un estudio fraccionado del antígeno o antígenos que pudiera contener. En todas las experiencias empleamos como antígeno desencadenante una mezcla de sueros de sujetos normales para seguir de cerca las condiciones de las primeras observaciones publicadas.

MATERIAL Y MÉTODOS.

Los cobayas fueron elegidos cuidadosamente para descartar los descendientes de cobayas inoculados antes con productos humanos. Los animales de cada lote fueron inyectados por vía intramuscular con orina normal.

ANTIGENOS POTENTES EN LAS SECRECIONES HUMANAS

C. JIMÉNEZ DÍAZ, J. M. ALÉS y J. M. SEGOVIA.

Instituto de Investigaciones Clínicas y Médicas.
Profesor: C. JIMÉNEZ DÍAZ.

En un trabajo anterior¹ comunicábamos un conjunto de observaciones sobre el diferente comportamiento de los sueros humanos, normales y alérgicos en la provocación del llamado "choque paraespecífico". En esencia, este fenómeno consistía en lo siguiente: Si a un cobaya, sensibilizado previamente a la ovalbúmina, se le inyectaba por vía intravenosa suero humano normal, se le desencadenaba un choque anafiláctico. El cuerno uterino, así como el íleon terminal, no quedaban descargados para la albúmina de huevo, pues con las técnicas apropiadas veíamos que se producía contracción de los mismos al añadir ovalbúmina al líquido de perfusión. Si en lugar de suero de un sujeto normal inyectábamos suero de un sujeto alérgico, no se producía el choque anafiláctico.

Este hecho nos llamó poderosamente la atención, ya que podía revelar diferencias entre el suero normal y el alérgico. En la mencionada comunicación previa hacíamos algunas consideraciones sobre posibles hipótesis que explicasen