

anfrat. Dagegen beobachtete man, dass kleinere Mengen stets zu einer bedeutenden Erhöhung des spez. Gewichtes führten. Die Ausscheidung von Chlorsalzen und Urea nimmt zwar in vielen Fällen prozentual ab, absolut gesehen allerdings nicht, wenn man die gesamte ausgeschiedene Menge berücksichtigt.

Bei Anwendung von 75 ccm. ist das spez. Gewicht immer über 1028; diese konstante Zunahme des spez. Gewichtes liess den Gedanken aufkommen, die Lösung zur Nierenkonzentrationsprobe anzuwenden. Um die Wirksamkeit nachzuweisen, wurden Versuche an den verschiedensten Nierenkrankheiten angestellt: Bei Kriegsnephritis, Hungerödem, Herzerkrankungen usw., wobei die Ergebnisse mit denen anderer Funktionsproben verglichen wurden, bei einigen Fällen wurden auch Diuresekurven angelegt usw.

Man kam zu der Schlussfolgerung, dass es sich nicht nur um eine wirksame Konzentrationsprobe handelt, sondern, dass sie einige Nachteile der klassischen Konzentrationsprobe nicht aufweist. So sahen wir, dass bei einigen Patienten auch mit einer ganz strengen Flüssigkeitsbeschränkung das spez. Gewicht nicht über 1014-1017 stieg, wogegen mit der Natriumsulfatlösung in oben angegebener Form hohe Konzentrationen erzielt wurden.

R É S U M É

On étudie chez des sujets normaux la réponse à l'injection intraveineuse de solution de sulphate de sodium au 20 pour 100. On injecte 5, 10, 25, 50 et 75 c. c. prouvant que la dose diurétique avec régularité, est celle de 75 c. c. Par contre nous observons une augmentation évidente de la densité, même avec des doses inférieures à 75 c. c. L'élimination de chlorures et d'urée bien que diminuée dans le pourcentage chez beaucoup de cas, n'est pas ainsi si on calcule la quantité absolue éliminée.

Employant la dose de 75 c. c. on obtient toujours des densités supérieures à celle de 1028. La constance dans l'augmentation de densité suggère la possibilité de l'emploi de cette solution comme preuve de concentration rénale. Pour prouver son efficacité on essaie sur de différentes néphropathies, néphrites de guerre, oedème de faim, cardiopathies, etc., comparant avec d'autres preuves fonctionnelles et chez quelques uns des malades avec la courbe de diurèse, etc.

On arrive à la conclusion que non seulement il s'agit d'une preuve de concentration efficiente sinon qu'elle obvie quelques uns des inconvénients de la preuve de concentration classique; ainsi quelques uns des malades chez qui on ne pouvait surpasser, malgré la plus rigoureuse restriction de liquides, la densité de 1014-1017, obtiennent des densités élevées après l'injection de sulphate de sodium sous la forme indiquée.

ESTUDIO FARMACOLOGICO DE LOS SUE- ROS ANTITOXICOS EQUINOS MODIFICA- DOS POR LOS ENZIMAS

II comunicación.

Acción de las carbohidrasas.

F. MORENO DE VEGA.

El método de HOFMEISTER es el más empleado para separar globulinas y albúminas del suero. Consiste en tratar dicho producto por cantidades distintas de una solución saturada de sulfato amónico. A media saturación (adición de su volumen de la sal a la concentración expresada) se precipita lo que se considera como globulinas, quedando disueltas las albúminas. Una precipitación fraccionada permite obtener al 33 por 100 (adición de 33 c. c. de solución saturada de sulfato amónico a 100 c. c. de solución proteica) las *euglobulinas*; al 50 por 100 (agregando 17 c. c. más de dicha solución salina), las *seudoglobulinas*, y por adición de sulfato hasta saturación completa, las *seroalbúminas*. La fracción *seuda*, vectora de los anticuerpos, es la que constituye la base de las preparaciones que se denominan sueros purificados. La relación de estas sustancias constituye el espectro proteico, que varía por varias causas: enfermedad, procesos de inmunización, etc.

Este ejemplo evidencia que merced al proceso inmunizante operado por la inyección de toxina diftérica, mediante el cual se genera la antitoxina, el suero acrece su proteína y, precisamente, a expensas de la fracción *seuda*. Teóricamente, por tanto, esta fracción tiene una singularización evidente, y en la práctica se demuestra que aislando las *seudoglobulinas*, se aíslan ciertos anticuerpos con ellas, entre otros las antitoxinas (*).

Pero las *seudoglobulinas* no constituyen un cuerpo definido. Los estudios recientes dan a entender que los grupos citados no son químicamente homogéneos. TAYEAUX y MLE. MARTIN¹ han aislado del suero varias fracciones por precipitación con el sulfato amónico a diversas concentraciones, con determinación del punto isoeléctrico; deduciendo por este procedimiento que las globulinas precipitadas por la media saturación no son globulinas puras, sino que contienen también albúminas, y las albúminas contenidas en la parte no precipitada por la media saturación tampoco son albúminas puras, sino que contienen además globulinas; si bien, en uno y otro caso, las fracciones ajenas al esquema de Hofmeister se presentan en proporciones de impurificación.

Por otra parte, la complejidad de los grupos

(*) Recordemos la significación que han adquirido las globulinas después del conocimiento de la variedad gamma, tan singularizada inmunológicamente.

CUADRO I

	Proteína total Por 100	Euglobulina Por 100	Seudoglobulina Por 100	Albumina Por 100
Suero normal equino	7,8	2,1	3,2	2,5
Suero de caballo inmunizado contra la difteria.....	9,5	2,1	5,9	1,5

establecidos por HOFMEISTER es notoria. ROCHE, DERRIEN y MANDEL², operando a concentraciones crecientes de sales neutras mediante pH, temperatura y concentración proteica constantes, han aislado siete fracciones, dentro de las globulinas, bajo diversos estados de polimerización o de combinaciones glucídicas o lipídicas.

De las siete globulinas *seudo* separadas por ROCHE, DERRIEN y MANDEL, una la han aislado pura.

HEWITT admite en la fracción albumínica del suero equino tres constituyentes: una albúmina cristizable sin glúcidos combinados (*cristalbúmina*) y dos glucoproteidos; *seroglucoide* y *globoglucoide*; el primero de éstos, considerado por ROCHE, DERRIEN y MANDEL como constituido por tres albúminas; y la cristalbúmina, según los mismos autores, por tres fracciones cristalizadas, que creen poder identificar con las tres cristalbúminas de SÖRENSEN; dos de ellas, dotadas de glúcidos en las proporciones respectivas de 1,95 y 2,5.

El globoglucoide de Hewitt es heterogéneo. En él han encontrado ROCHE, DERRIEN y MANDEL seis fracciones de distinta solubilidad.

En las albúminas del suero equino existirían glúcidos en una proporción vecina al 2,8 por 100, que estarían desigualmente distribuidos. Así, en las fracciones obtenidas a pH 4.8 a 50-55 por 100 de saturación con el sulfato amónico, los glúcidos figurarían en proporciones oscilantes entre 0 y 2 por 100, y en las albúminas totales, bajo la forma del seroglucoide de Hewitt, rico en glúcidos, obtenido por MAC MEEKIN en estado cristalino, con el 5,5 por 100 de dichas sustancias hidrocarbonadas³⁻⁴⁻⁵.

La complejidad de las globulinas explica que la distribución de la antitoxina diftérica en ellas no obedezca a reglas fijas. Por tanto, la mayor o menor ventaja de la purificación de los sueros depende de cómo esté distribuida la antitoxina entre las fracciones *eu* y *seudo* porque en algunos sueros al grado de saturación del 50 por 100 (esquema de Hofmeister) no se obtiene la concentración antitoxínica teórica simplemente, porque parte de la antitoxina está unida a la fracción precipitable a menor

grado de concentración salina y, por consiguiente, sólo un estudio previo de cada suero permite determinar de antemano el grado óptimo de saturación a elegir o si de la purificación no se obtendría un resultado ventajoso.

Es cierto que las fracciones con representación glucídica más cumplida residen en las partes no utilizadas para la obtención de los anticuerpos; pero no es menos cierto que el precipitado que obtenemos mediante la media saturación por el sulfato amónico está lejos de constituir un grupo homogéneo, sino que lleva también albúminas que se caracterizan, como hemos dicho, por un mayor contenido glucídico.

Indudablemente, la desnaturalización de las proteínas séricas por la acción de las carbohidrasas la llevamos a cabo dentro del empirismo, porque las sustancias que empleamos no están constituidas por un fermento puro. Así acontece, por ejemplo, con la taka-diastasa, ensayada por COGHILL⁶.

Nuestros ensayos.—Hemos ensavado la diastasa Merck. Este producto, estudiado previamente respecto a su acción fermentativa, se comportó, mezclado con distintas proporciones de fermento y solución de almidón soluble al 0.5 por 100, especialmente activo a un pH de 5-6 (indicador universal), ejerciendo su acción en presencia de la cantidad de fenol requerida por el suero para evitar su contaminación durante el proceso fermentativo (0.25 por 100). Se probó también respecto de su posible acción proteásica con tubos de Mett (albúminas de huevo y de suero equino, coaguladas), con resultado negativo a distintas potencias de hidrógeno; así como desde el punto de vista de su acción proteásica actuando sobre el suero bruto, con el mismo resultado negativo.

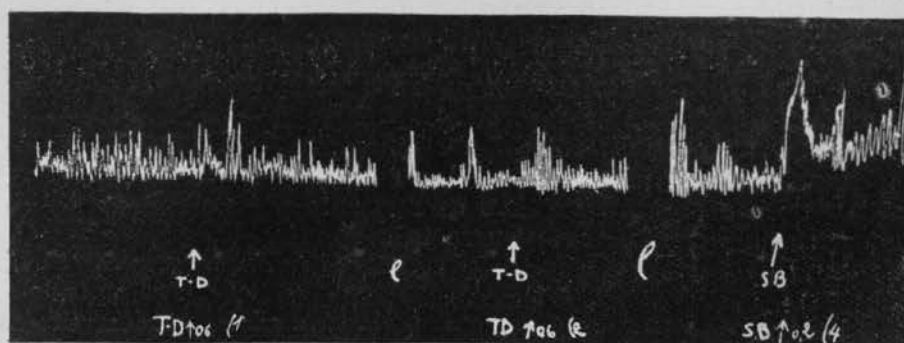


Fig. 1.—Intestino delgado de cobayo sensibilizado con suero equino bruto. T. D. = suero taka-diastásico, S. B. = suero equino bruto.

Se ensayó a continuación el fermento en presencia de suero equino antidiftérico diluido con agua destilada en la relación 1 : 2, con el 0,25 por 100 de fenol y el 0,33 por 100 de la diastasa, ajustando el pH a 3-4 (en ulteriores ensayos se ajustó a 5-6, por ser más conveniente, según

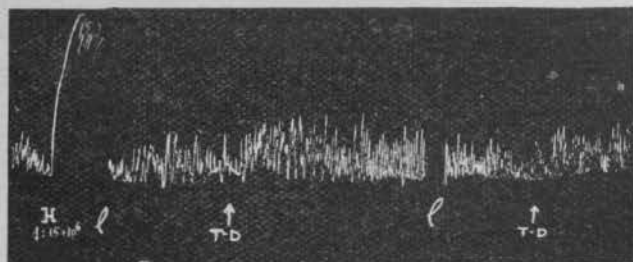


Fig. 2.—Intestino delgado de cobayo sensibilizado con suero equino bruto. H = histamina. T. D. = suero taka-diastásico (0,6 c. c.). l = lavado.

nuestra experiencia) por adición de una mezcla reguladora de ácido cítrico y fosfato bisódico (ph 2,25). Después de nueve días de digestión (36°-38°) se comprobó la presencia de sustancias precipitables por el reactivo de Tanret en frío, con desaparición por el calentamiento (¿hidrolisis no enzimática?).

Se había partido de un suero equino antidiftérico con 550 U. floculantes por c. c., y se obtuvo, después de las operaciones de adsorción por el gel fosfático, precipitación salina y diálisis, un líquido que, diluido hasta obtener

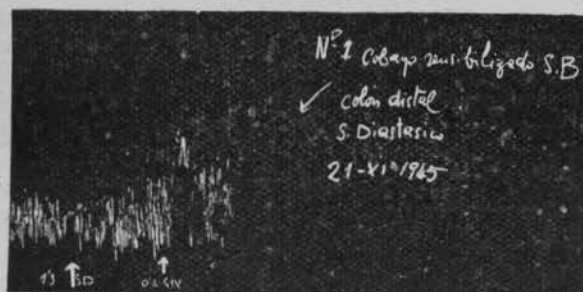


Fig. 3.—Colon distal de cobayo sensibilizado con suero equino bruto. S. D. = suero diastásico. S. N. = suero bruto.

400 U. F. por c. c., contenía 1,25 por 100 de proteína coagulable y 32.000 U. F. por gramo de dicha proteína.

También obtuvimos otro lote por digestión carbohidrática durante cuarenta y ocho horas, seguida de tres días de digestión proteásica a pH 4 (suero péptico-diastásico), y otra preparación con taka-diastasa en condiciones homólogas, pero con el 0,175 por 100 de fermento y cinco días de estufa a 37° (suero taka-diastásico).

Experiencias de sensibilización en los cobayos empleando las inyecciones desencadenantes por vía intracardiaca.—Una serie de cobayos se inyectó con 0,1 de suero bruto equino por vía

subcutánea y otra serie con 0,1 de suero desnaturalizado por la taka-diastasa. A los tres meses y medio se les administró la inyección intracardiaca desencadenante de suero bruto y de sueros desnaturalizados en proporciones equiproteicas (1 c. c. = 0,01 de proteína) (ver cuadro III).

Determinación de la hipersensibilidad mediante el método de Schultz-Dale.—Se sensibilizó a un lote de cobayos con 0,1 de suero bruto y a otro con 0,1 de suero taka-diastásico. A los tres meses y medio se sacrificaron los animales y se ensayó la acción contráctil del intestino por adición al baño de los sueros en estudio en

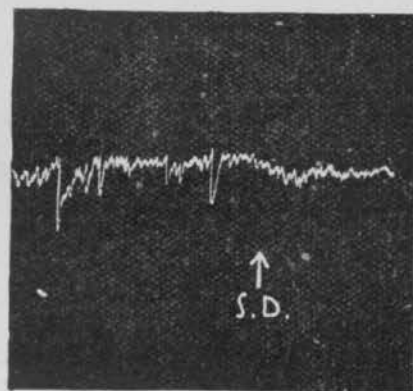


Fig. 4.—Intestino delgado de cobayo sensibilizado con suero equino bruto (órgano aislado). S. D. = suero diastásico (1,3 c. c.).

proporciones equiproteicas y equivalentes a 0,1-0,2 de suero bruto (*).

La inspección de las gráficas acusa la falta de contracción por la acción de los sueros de referencia sobre el intestino sensibilizado por el suero bruto, así como la ausencia de sensibilización por parte del taka-diastásico. Se observó, no obstante, al actuar éste como desencadenante, no contracción primaria, pero sí contracciones progresivamente amplificadas conforme

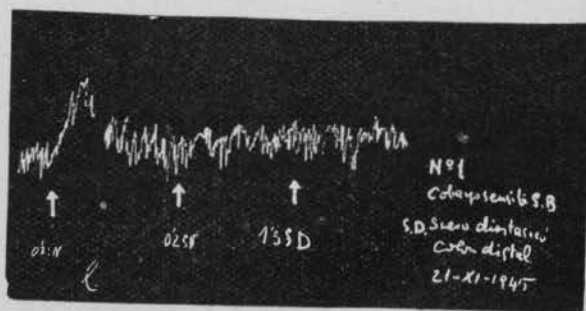


Fig. 5.—Colon distal de cobayo sensibilizado con suero equino bruto. S. N. = suero bruto. S. D. = suero diastásico.

se agregaba al baño nueva porción del producto, atribuyéndolo JALÓN a sustancias vagas inespecíficas.

(*) Estos ensayos, así como las gráficas, han sido efectuados por nuestro colaborador doctor GARCÍA DE JALÓN.

DEDUCCIONES.—Los sueros estudiados: *taka-diastásico*, *diastásico* y *pépsico-diastásico*, a juzgar por la prueba de Schultz-Dale, están profundamente modificados en su naturaleza.

Intradermorreacciones practicadas a sujetos inyectados y no inyectados anteriormente con suero equino.—Hemos ensayado el suero diastásico y pépsico-diastásico en intradermorreacciones practicadas a sujetos sensibilizados o

presuntamente sensibilizados con suero equino, con diluciones de suero bruto al 1/6 y con diluciones de los sueros modificados, practicadas de modo que en la dosis inyectada estuviera la proteína en la misma proporción que en la del suero bruto al 1/6. Se ha operado, pues, con cantidades equiproteicas. También fueron inyectados cuatro sujetos no inyectados anteriormente con suero equino. A continuación exponemos los resultados obtenidos (ver cuadros II y IV):

CUADRO II

SENSIBILIZADOS	Día primero	Día segundo
1.—D. C., ocho años. Suero antidiftérico dos años antes. Suero enzimático pépsico, dos meses antes de las pruebas intradérmicas. Suero bruto equino al 1/6 (0,1 c. c.) (*) Suero diastásico	+++++ +	+ —
2.—V. G., cuatro años. Suero antidiftérico tres meses antes. Suero bruto equino al 1/6 (0,1) Suero diastásico puro Suero pépsico diastásico	+++++ — +	— + —
3.—W. R., seis años. Suero antidiftérico, cinco años antes. Suero enzimático pépsico, hace dos meses. Suero bruto al 1/6 (0,2) Suero diastásico	+++++ +	+ +—
4.—E. M., treinta y cinco años. Hace dos meses, globulina tetánica no fermentada. Suero bruto al 1/6 (0,1) Suero diastásico puro	+++++ —	+ —
5.—E. A., cuarenta y cinco años. Suero antidiftérico, cuarenta años antes. Suero purificado puro (0,1 (**)) Suero diastásico puro	++ —	— +
6.—P. M., treinta y cinco años. Suero equino, treinta años antes. Suero bruto al 1/6 (0,2) Suero bruto puro (0,2) Suero diastásico	+++ +++++ +++	+ + +
7.—L. A., doce años. Suero antidiftérico, hace seis y dos años. Suero bruto al 1/6 (0,1) Suero diastásico Suero pépsico diastásico	— — —	— + —
8.—L. X., treinta y nueve años. Seis años antes, suero tetánico. Un año antes, suero enzimático pépsico. Suero bruto al 1/6 (0,1) Suero diastásico Suero pépsico diastásico	— — —	+ ++ +
9.—M. B., cuarenta años. Suero antidiftérico hace veinticinco años. Suero bruto al 1/6 (0,1) Suero diastásico Suero pépsico diastásico	— — —	— ++ +
10.—Veintiún años. Inyectado varias veces con suero; la última, hace dos meses. Suero bruto al 1/6 (0,1) Suero diastásico Suero pépsico diastásico	— — —	+— ++ +

(*) Notación de los resultados de las inyecciones intradérmicas.

+++++ = Habón de 1,5 cm. con halo rojo vivo de 2 a 3 cm.
++++ = Habón de 1 cm. con halo rojo vivo de 1 a 1,5 cm.
+++ = Habón de 1 cm. con halo rosado de 1 cm.
++ = Eritema papuloso de 1,5 a 2 cm.
+ = Eritema no papuloso.
+— = Eritema diminuto apenas perceptible.
— = Nada ostensible.

(**) Solución de pseudoglobulina en proporción equiproteica con la dosis inyectada de suero diastásico.

CUADRO III
COBAYOS SENSIBILIZADOS POR EL SUERO BRUTO

Número	PRODUCTO DESENCADENANTE	Dosis	Fenómenos anafilácticos (*)
1	Suero bruto	1 c. c. = 0,01 prot.	++++
1	Suero taka-diastásico	1 c. c. = 0,01 prot.	0
1	Suero péptico-diastásico	1 c. c. = 0,01 prot.	+
1	Suero diastásico	1 c. c. = 0,01 prot.	+
1	Suero taka-diastásico	0,02 prot.	0
1	Suero diastásico	0,02 prot.	+
1	Suero péptico-diastásico	0,02 prot.	0

COBAYOS SENSIBILIZADOS POR EL SUERO TAKA-DIASTASICO

Número	PRODUCTO DESENCADENANTE	Dosis	Fenómenos anafilácticos (*)
1	Suero bruto	0,01 prot.	++++
1	Suero taka-diastásico	0,01 prot.	0
1	Suero péptico-diastásico	0,01 prot.	++++
1	Suero péptico-diastásico	0,01 prot.	+
1	Suero diastásico	0,01 prot.	0
1	Suero diastásico	0,01 prot.	0

(*) ++++ = Muerte.
 +++ = Convulsiones, coma.
 ++ = Rascamiento y ligera disnea.
 + = Rascamiento y erizamiento de pelo.
 0 = Ningún síntoma ostensible.

DEDUCCIONES.—El suero equino modificado por la taka-diastasa no tiene efecto desencadenante, y el diastásico acusa una acción muy débil, parecida a la que se aprecia en el péptico-diastásico.

El suero taka-diastásico es susceptible de sensibilizar para el suero bruto y, en menor cuantía, para el péptico-diastásico; pero no para el mismo taka-diastásico ni para el diastásico.

CUADRO IV

NO SENSIBILIZADOS	Día primero	Día segundo
1.—A. G., cuarenta y dos años. Suero diastásico (*)	+++	+
2.—P. P., cincuenta años. Suero purificado péptico-diastásico puro (*)	++	—
Suero diastásico (*)	—	+
3.—L. G., veintitrés años. Suero péptico-diastásico (*)	+++	—
Suero diastásico (*)	—	—
4.—P. V., treinta y cuatro años. Suero péptico-diastásico (*)	++++	+
Suero diastásico (*)	+	—

(*) En proporción equiproteica respecto del suero bruto al 1/6.

DEDUCCIONES.—Los sujetos sensibilizados por el suero equino, o no reaccionan con el suero diastásico o lo hacen débilmente, a excepción del caso número 6. Las reacciones producidas son de otra coloración (rosada violácea) y, con frecuencia, son tardías y ligeramente dolorosas, como si interviniera algún otro factor inespecífico análogo al que interviene en el fenómeno observado por KREIS y RENAULT⁷ con soluciones salinas de distintas procedencias; siendo esto más de presumir cuanto que los sujetos no sensibilizados acusan el mismo fenómeno y, a veces, con cierta intensidad.

El suero taka-diastásico es susceptible de sensibilizar para el suero bruto y, en menor cuantía, para el péptico-diastásico; pero no para el mismo taka-diastásico ni para el diastásico.

RESUMEN.

El suero equino sometido a la acción carbohidrática se muestra profundamente modificado en sus propiedades sensibilizantes y desencadenantes respecto del cobaya (pruebas del choque anafilático mediante inyección intracardíaca y método de Schultz-Dale), reaccionando la especie humana con las dosis débiles en inyección intradérmica, de otro modo que con el suero bruto no tratado enzimáticamente.

BIBLIOGRAFIA

1. TAYEAUX y MLE, MARTIN.—Compt. Rend. Soc. Biol., 138, 923, 1944.
2. ROCHE, DERRIEN y MANDEL.—Compt. Rend. Soc. Biol., 138, 715, 600, 634, 671, 665, 676 y 743, 1944.
3. ROCHE, DERRIEN y MANDEL.—Compt. Rend. Soc. Biol., 138, 715, 1944.
4. L. F. HEWITT.—Biochem. J., 30, 2229, 1936.
5. T. L. MAC MEEKIN.—Jour. Amer. Chem. Soc., 62, 3393, 1940.
6. COGHILL, FELL, CREIGHTON y BROWN.—J. Immunol., 39, 207, 1940.
7. KREIS y RENAULT.—Compt. Rend. Soc. Biol., 139, 538, 1945.

SUMMARY

Equine serum submitted to the action of carbohydrazide exhibits profound modifications in its desensitizing properties and its capacity to produce an anaphylactic shock, in so far as the guinea pig is concerned (tests of anaphylactic shock through intercardiac injection and by the Schultz-Dale method). The human species reacts with weak doses injected intradermically in a different way from that in which it reacts with crude serum not enzymatically treated.

ZUSAMMENFASSUNG

Pferdeserum, das der Wirkung der Carbohydrazid unterworfen wurde, verändert sich weitgehend in seinen sensibilisierenden und auslösenden Eigenschaften dem Meerschweinchen gegenüber (anaphylaktische Shockproben mittels intracardialer Injektion und Methode von Schultz-Dale). Der Mensch reagiert auf schwache intracutane Dosen anders als auf das nicht enzymatisch behandelte Brutto-Serum.

R É S U M É

Le sérum équin soumis à l'action carbohydrazique, se montre profondément modifié dans ses propriétés sensibilisantes et déchaînantes en ce qui concerne le cobaye (preuves de choc anaphylactique au moyen d'une injection intracardiacque et méthode de Schultz-Dale), l'espèce humaine réagissant avec des doses faibles en injection intradérmique de manière différente qu'avec le sérum brut non traité enzymatiquement.

CONTRIBUCION A LA PATOGENIA DEL PRURITO VULVAR

F. BONILLA

Maternidad Provincial de Albacete. Jefe: Dr. F. BONILLA.

Los factores etiológicos capaces de desencadenar un prurito vulvar son numerosísimos. Una clasificación sin más fines que los puramente descriptivos podría esquematizarlos en locales, tóxicos, metabólicos, endocrinos, avitaminósicos y psíquicos. Cada uno de estos grupos, a su vez, implica una serie de causas cuya significación en la génesis del prurito no es siempre idéntica, mas cuya pesquisa resulta imprescindible desde el punto de vista diagnóstico, si queremos liberar a la paciente de su síntoma atormentador, ya que la cronicidad de tantos y tantos pruritos no estriba más que en la persistente actuación de ciertos factores de por sí no enteramente prurígenos, pero capaces de mantener dicha sensación.

Patogénicamente considerados, podríamos hacer con algunos de ellos otra clasificación: factores periféricos y factores centrales.

Conocemos con bastante precisión el mecanismo productor del prurito en tales casos. El desencadenado periféricamente es consecutivo al estímulo inespecífico de los receptores dolorosos de la piel, como lo demuestra la imposibilidad de provocarlo artificialmente en las zonas analgésicas de la lepra, siringomielia, etc. (TÖRÖK¹, ALRUTZ²), siendo las fibras C de ERLANGER³ las encargadas de su transmisión. El prurito no es más que una forma de dolor protopático (LEWIS y POCHIN⁴), existiendo en realidad una gradación en el complejo de esta clase de sensibilidad que empieza por cosquilleo superficial, sigue como prurito y termina por dolor (PRITCHARD⁵), pudiendo transformarse uno en otro sin cambio crítico de la sensación cuando la intensidad del estímulo aumenta gradualmente, de lo que se deduce que la percepción de estas sensaciones no depende más que de la frecuencia de los impulsos. Hay, además, una particularidad reactiva cutánea ante los estímulos, que explica muchas de las particularidades del prurito, y es el desarrollo de una zona hiperálgica alrededor de un punto traumatizado de la piel (GOLDSCHIEDER⁶), con la característica de que estímulos triviales, como roce, frotamiento suave, etc., provocan un prurito intenso; fenomenología que en las investigaciones experimentales de BICKFORD⁷ quedó definida como *prurito espontáneo*, confinado al punto donde actúa el estímulo, y *piel pruriginosa*, zona amplia alrededor del primero, que no prurigna espontáneamente, pero que responde con prurito a estímulos insignificantes. Precisamente esta hiperálgica explica que cambios ligeros de temperatura, la corriente de aire más insignificante, la supresión de vestidos que ejercían cierta presión, etc., etc., como le ocurre a la mujer