

## DISCURSO DE CONTESTACION

por el Académico

ILMO SR. D. JESÚS SÁINZ Y SÁINZ-PARDO

*Excelentísimos e Ilustrísimos Señores,*

*Señoras y señores:*

He sido designado por los compañeros de esta Academia para contestar al discurso de ingreso en ella que acabamos de oír al Profesor Sánchez Franco. Misión honrosa, pues debo ser portavoz de tan ilustre Corporación, y a la vez grata, porque incluye dar la bienvenida a tan buen amigo y colega.

El Profesor Sánchez Franco nació en Salamanca, el día 22 de septiembre de 1911. Después de realizar los estudios primarios y los del Bachillerato en su ciudad natal, pasó a la Universidad de Madrid, en cuya Facultad de Veterinaria obtuvo brillantemente el título de Licenciado y, años más tarde, el de Doctor. Su tesis, titulada *Receptividad del cerdo al bacilo Erysipelothrix rhusiopathiae suis y sus aplicaciones biológicas*, mereció el Premio extraordinario del Doctorado. Con ella culminaba una larga serie de investigaciones sobre la patología infecciosa porcina. Los hallazgos que en este trabajo exponía en relación con la mal conocida patogenia del mal rojo, fueron ratificados por varios autores. Pero, además, demostraron la inocuidad de las carnes de animales hiperinmunizados para la obtención de suero contra dicha enfermedad. La transcendencia de esta demostración es evidente, pues constituía un poderoso argumento en pro del aprovechamiento de estas carnes.

Quizá sea este el momento más oportuno para decir que en la actitud de nuestro nuevo compañero al escoger el rumbo de sus trabajos, se reconocen siempre claramente los dos motivos más nobles que pueden, y deben, impulsar al hombre de ciencia en su labor. Por un lado, la inquietud por alcanzar el *gozo de conocer*, que es, como ha escrito Jean Rostand, el honor del espíritu humano. Y, por otro, el deseo de contribuir al bienestar de nuestros semejantes.

Un admirado maestro, suyo y mío, el Profesor González Alvarez, ha retratado a Sánchez Franco con palabras certeras, que no me resisto a transcribir. Don Angel, dice, ... "anda serio por la vida desde que comenzó sus estudios y ... pone toda la verdad de su alma en aprender, en trabajar, en descubrir de cara a todas las dificultades, sin rehuirlas", ... "Cuando él formulaba una conclusión resultado de sus investigaciones, era oro de ley.

Jamás he conocido en el mundo de laboratorio o de clínica una conducta científicamente más honesta”, ...“demasiado modesto para lo que ahora se estila, ...abre los ojos todos los días con ingenuidad infantil, cortés, amable con todo el mundo, con sinceridad de modales y de palabra.”

Mucho antes de publicar su Tesis Doctoral, había comenzado el nuevo académico sus actividades científicas y profesionales en las materias de las que hoy es maestro. Ya en el año 1935, obtenía en la Escuela Nacional de Sanidad un Diploma que acreditaba su preparación bacteriológica. Desde el año 1936 hasta el 1939, prestó sus servicios técnicos en el Laboratorio Central del Ejército.

Después, hasta el año 1962, desempeñó los cargos de Jefe de la Sección de Bacteriología y de Director Técnico en dos importantes Empresas industriales dedicadas a la obtención de sueros, vacunas y otros productos empleados en Veterinaria.

Durante esta época continúa su especialización en Parasitología y Enfermedades parasitarias, según atestiguan los Diplomas que obtuvo en el Instituto de Parasitología (Granada, 1949 y 1950) y en el *Bernhard-Nocht-Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten* de Hamburgo (1957) en los que amplió sus estudios como becario de la Dirección General de Ganadería y de la Comisaría de Protección Escolar, respectivamente. Este mismo Organismo le había concedido otra beca en el año 1956 para realizar estudios en la Facultad de Veterinaria de Perugia (Italia).

En el año 1963 ganó por oposición la Cátedra de Enfermedades infecciosas y parasitarias de la Facultad de Veterinaria de esta Universidad, en la cual viene realizando desde entonces una eficaz labor de enseñanza e investigación.

En el año 1965 obtuvo otra beca de la Comisaría de Protección Escolar para realizar estudios sobre cultivos de virus en el *Instituto Zooprofilattico* en Brescia (Italia).

Ha asistido a varias Reuniones y Congresos Científicos, como el Congreso Mundial de Veterinaria (Madrid, 1959), el Congreso Internacional de Parasitología (Roma, 1959), el Congreso Regional de la Cuenca del Duero (Valladolid, 1945), el *Symposium* de Patología aviar (Tarragona, 1965) y la Semana del Ganado Lanar (Salamanca, 1965), en calidad de ponente en los tres últimos.

Ha sido Director del Centro de Estudios del Sindicato Español Universitario de León y en la actualidad desempeña el cargo de Secretario de la Facultad de Veterinaria de Zaragoza.

Pertenece a la Asociación Internacional de Microbiología, a la Sociedad Veterinaria de Zootecnia, a la Asociación Internacional de Parasitólogos y es colaborador permanente de la *Revista Ibérica de Parasitología* y de los *Archivos de Veterinaria práctica*. Además, ha publicado una larga serie de interesantes trabajos, ha pronunciado múltiples conferencias y ha desarrollado varios cursos sobre temas sanitarios de su especialidad, según se indica en las siguientes relaciones:

## PUBLICACIONES

- La tuberculosis bovina y su profilaxis*, 1951.  
*Enfermedades de importancia social: Brucelosis*, 1953.  
*Enfermedades de importancia social: Tuberculosis*, 1954.  
*Enfermedades de las aves en la provincia de León*, 1954.  
*Blue tongue (Lengua azul)*, 1956.  
*Estudio sobre una enzootia del ganado vacuno de la Montaña Leonesa*, 1958.  
*Leucosis aviar*, 1958.  
*Enteritis hemorrágica del cerdo*, 1959.  
*Brucelosis bovina*, 1960.  
*Diagnóstico diferencial de las enfermedades rojas del cerdo*, 1957.  
*La peste aviar como enfermedad transmisible al hombre*, 1956.  
*Toxoplasmosis*, 1965.  
*Diagnóstico diferencial de las enfermedades de las aves*, 1964.  
*Coccidiosis intestinal de las aves*, 1955.  
*Nuevos conceptos sobre las mamitis de las vacas lecheras*, 1954.  
*Estudio "post-mortem" de un caso de pielonefritis bovina bacterica, con pruebas de sensibilidad del Corynebacterium renale frente a varios antibióticos "in vitro"*, 1955.  
*Epizootias más frecuentes en la Cuenca del Duero*, 1945.  
*Observaciones acerca del poder patógeno de los virus vivos modificados de peste porcina sobre cerdas gestantes*, 1956.  
*Sobre algunos aspectos hematológicos y anatomopatológicos de la peste porcina*, 1957.  
*Estudio comparativo de diversas vacunas contra el Mal Rojo del cerdo*, 1963.  
*Enterotoxemia bovina en la Región de León*, 1964.  
*Receptividad del cerdo al B. Erysipelothrix rhusiopathie suis y sus aplicaciones biológicas. (Tesis doctoral)*, 1953.  
*Problemas actuales de la Pseudopeste o enfermedad de Newcastle (Interferencias en la vacunación)*, 1965.  
*Problemas actuales de las enfermedades infecciosas del ganado ovino*, 1965.  
*Diagnóstico diferencial de las enfermedades víricas del perro*, 1963.  
*Enfermedades infecciosas del cerdo*, 1944. (En colaboración con los Profesores Ovejero y González Alvarez).

## CONFERENCIAS

- Valladolid. *Epizootias más frecuentes de la Cuenca del Duero*, 1945.  
 Salamanca. *Salmonellosis*. Instituto Provincial de Higiene, 1956.  
 León. *Diagnóstico diferencial de las enfermedades rojas del cerdo*, 1956.  
 Palencia. *Leucosis*. Colegio Oficial de Veterinarios, 1957.  
 León. *Diagnóstico diferencial de las enfermedades víricas de las aves*, 1957.

- León. *Toxoplasmosis*. Facultad de Veterinaria, 1960.  
León. *Brucelosis bovina*. Colegio Oficial de Veterinarios, 1961.  
Vitoria. *Enfermedades víricas porcinas*. Colegio Oficial de Veterinarios, 1962.  
Salamanca. *Brucelosis*. Colegio Oficial de Veterinarios, 1963.  
Barcelona. *Epidemiología y epizootología de la Brucelosis*. C. O. de Veterinarios, 1963.  
Pamplona. *Neumonías víricas porcinas*, 1963.  
Barcelona. *Diagnóstico diferencial de las enfermedades víricas del perro*, 1964.  
Reus. *Enfermedades respiratorias de las aves*. Cooperativa Avícola, 1964.  
Lérida. *Problemas que presentan las enfermedades víricas de las aves*. Centro de Estudios Ilerdenses, 1964.  
Zaragoza. *El perro, amigo y enemigo del hombre*. Centro de Estudios de San Francisco de Asís, 1965.  
Tudela. *Virosis de las aves. Enfermedad de Gumboro*. 1965.  
Tarragona. *Problemas actuales de la Pseudopeste o Enfermedad de Newcastle* (Interferencias en la vacunación), 1965.  
Pamplona. *Mycoplasmosis*, 1965.

#### CURSOS DE DIPLOMADOS

Ha actuado como Profesor en los cursos organizados para la especialización de los aspirantes al Diploma de Sanidad en la Escuela Departamental de Salamanca (1957-58, 1958-59, 1959-60, 1960-61), y en la Escuela Departamental de Zaragoza (1963-64 y 1964-65).

\* \* \*

El historial científico y las cualidades humanas del Profesor Sánchez Franco justifican enteramente que esta Academia le eligiera para que ocupe el puesto vacante desde hace dos años por el fallecimiento del excelente Catedrático y hombre sabio y bondadoso que fue el Ilmo. Sr. Dr. D. Pedro Ramón y Cajal Vinós.

\* \* \*

El Profesor Sánchez Franco nos ha leído un discurso, pleno de modernidad, sobre una sustancia, la interferona, que quizá sea la más eficaz contra esos agentes patógenos, muchas veces temibles, que son los virus.

La importancia de este agente inhibidor de la multiplicación de los virus, pudiera ser todavía más grande. Basta recordar que numerosos datos hablan en pro de la etiología vírica de muchas neoplasias en ciertos animales. Aunque hasta ahora no se ha podido aislar virus alguno con poder cancerígeno para el hombre, algunos experimentos, como los realizados por PETZETAKIS (1,a) parecen reforzar la hipótesis de que también muchas neo-

plasias humanas (de mama, estómago, recto, hígado, etc.) son producidas por virus. Si tal suposición pudiera ser confirmada, se habría dado un paso importante en el difícil camino que la Ciencia debe recorrer antes de llegar a la solución de este gravísimo problema.

\* \* \*

Encontrar medios eficaces para combatir las infecciones producidas por los virus es un arduo problema. Ni el médico ni el veterinario disponen, prácticamente, todavía de medicamentos que actúen directamente contra estos agentes patógenos. El método seguido habitualmente frente a ellos, trata de prevenir la infección mediante el empleo de vacunas, es decir, de productos biológicos que estimulan al organismo a producir anticuerpos específicos, los cuales actuarán contra el virus cuando ingrese en la corriente sanguínea.

En ocasiones, el ataque por el virus provoca la muerte del organismo. Bien sabido es que la rabia, abandonada a sí misma, es fatalmente mortal y que la mortalidad de otras infecciones producidas por virus, como la viruela y la fiebre amarilla, es elevadísima. Muchos niños y ancianos sucumben también tras la invasión de sus vías respiratorias por el virus de la gripe. La encefalitis, la poliomiелitis y la hepatitis producidas por virus ocasionan, asimismo, algunas veces, la muerte de los pacientes.

Pero también es igualmente cierto que las infecciones víricas habituales de las vías respiratorias del hombre pueden ser padecidas cinco a diez veces al año por cada individuo y que, por lo general, el organismo las vence rápidamente. Los niños atacados por los virus del sarampión, la varicela o la parotiditis superan casi siempre con relativa facilidad estas enfermedades.

Vemos, por lo tanto, que el organismo es capaz, en muchos casos, de combatir y vencer por sí solo una infección vírica.

Como es lógico, al intentar interpretar esta capacidad se pensó en primer lugar que el organismo invadido por el virus reaccionaba produciendo anticuerpos específicos. Por otra parte, se demostró que durante ciertas infecciones víricas (por ejemplo, sarampión), aparecen anticuerpos específicos que perduran en el suero sanguíneo, incluso hasta la muerte del organismo. Finalmente, la eficacia de las vacunas en la profilaxis de la rabia, viruela, fiebre amarilla, poliomiелitis, fiebre aftosa, peste aviar y otras muchas infecciones víricas, parece atestiguar de modo concluyente el poder protector de los anticuerpos contra los virus causantes de enfermedades del hombre o de los animales.

Pero, el organismo humano y el de los animales domésticos está expuesto al inexorable ataque de tantas clases de virus, que, según ISAACS (1b), pudiera resultar poco práctico, y acaso imposible, preparar vacunas específicas contra cada uno de ellos.

Además, el papel de los anticuerpos en la defensa natural antivírica no aparece claro en ciertas enfermedades. Los anticuerpos se unen a los virus fuera de las células, pero normalmente no penetran en el interior de éstas.

No se puede atribuirles, por consiguiente, la inhibición de infecciones producidas por virus que, como el de la viruela de la vaca, se transmiten de una a otra célula.

Por otra parte, los anticuerpos aparecen, generalmente, en una fase tardía de la infección por el virus y, a veces, cuando la enfermedad ha entrado ya en un período de franca curación.

Como es bien sabido, los anticuerpos (2) son proteínas del grupo de las globulinas y se forman cuando en el organismo penetran o son inyectados proteínas o proteidos extraños a él (los llamados antígenos), ya aislados, ya como componentes de grandes complejos (bacterias, virus). Tienen un peso molecular de 156.000, aproximadamente, y su punto isoeléctrico se encuentra entre pH 6,8 y pH 7,3, es decir, presentan características fisicoquímicas muy parecidas a las de las gammaglobulinas normales. También es muy parecida la composición química de unos y otras, si bien recientemente se han podido comprobar algunas diferencias de la estructura primaria (es decir, en la secuencia u ordenación de los aminoácidos) de los anticuerpos.

La formación de los anticuerpos no ha sido aclarada completamente todavía. Se sabe, sin embargo, que tiene lugar en los *plasmocitos* o *células plasmáticas* (*células cianófilas* de Cajal) de los ganglios linfáticos, médula ósea y pulpa esplénica.

Con métodos microespectrográficos y microquímicos, ha sido posible seguir la metamorfosis de los *plasmocitos* durante el proceso de la inmunización. En las fases de intensa proliferación se comprobó la presencia de ribonucleoproteínas en grandes proporciones. Por ello, se admite que la biosíntesis sigue el mismo curso que la biosíntesis de las proteínas en general, en la que también intervienen las ribonucleoproteínas (3).

En la biosíntesis de las proteínas cabe distinguir dos problemas parciales. Uno, se refiere a la explicación de cómo es posible desde el punto de vista energético la formación del enlace peptídico. El otro, al mecanismo que establece la secuencia de los aminoácidos.

Los aminoácidos han de ser activados antes de unirse para formar las cadenas polipeptídicas que integran las proteínas. La energía química es suministrada por el adenosintrifosfato (ATP), que forma con los aminoácidos un anhídrido mixto carboxilofosfórico. Este cede después el grupo aminoacilo a una molécula de ácido ribonucleínico *soluble* (es decir, no unido a la estructura de los ribosomas y, por ello, no separable por ultracentrifugación. Se supone que existen tantos ácidos ribonucleínicos *solubles* como aminoácidos diferentes se encuentran en las proteínas. El ácido ribonucleínico *soluble* se llama también ARN *de transferencia* porque cada molécula del mismo tiene la misión de transportar un aminoácido al lugar donde se produce la síntesis de proteínas (por ejemplo, los ribosomas). La secuencia de los aminoácidos en la proteína parece ser determinada por otro tipo de ácido ribonucleínico. En contacto con el ácido desoxirribonucleínico (ADN) de los cromosomas se forman *matrices* o *mensajeros-ARN*. La denominación de mensajeros se debe a que transcriben la información de la molécula de ADN, y la transportan para ser traducida en la molécula de proteína (4).

El ARN transmite la información a través de un *código* de bases (púri-

cas y pirimidínicas) que consta, para cada aminoácido, de tres bases en un orden determinado. Los aminoácidos, que estaban unidos enérgicamente al ARN *de transferencia*, se disponen sobre el ribosoma de acuerdo con estos códigos y se unen entre sí por efecto de una acción enzimática.

Ya desde las primeras observaciones de cortes celulares con el microscopio electrónico, se observó que los ribosomas podían asociarse entre sí para formar agregados ribosómicos. Nació así el concepto importante del *polirribosoma* o *polisoma*, llamado también *ergosoma*, es decir, de agregados ribosómicos encargados de la síntesis de proteínas (5).

Parece tener considerable importancia la forma en que están unidos entre sí los ribosomas. El microscopio electrónico ha permitido comprobar que la unión se establece por medio de un delgado filamento, que se cree está formado por una sola cadena de ARN-mensajero de la información genética desde el núcleo.

Se admite que los ribosomas viajan a lo largo del ARN-mensajero en un proceso dinámico durante el cual el mensaje contenido como código en él es traducido en las moléculas de proteína. Estas son dejadas en libertad por los ribosomas y, mediante un mecanismo aún desconocido, ingresan en el *retículo endoplasmático* (RE), integrado por túbulos, vesículas y, a veces, grandes cisternas, sobre cuya superficie se encuentran los polirribosomas en disposición bidimensional. En el RE son almacenadas las proteínas para ser eliminadas al exterior de la célula. Por medio de anticuerpos marcados con ferritina, se ha podido demostrar este almacenamiento (6) por lo que se refiere a las gammaglobulinas.

Probablemente, el argumento más fuerte contra la importancia de los anticuerpos en la curación de las enfermedades víricas, haya sido suministrado por las observaciones realizadas en los individuos que padecen la rara enfermedad conocida con el nombre de *hipogammaglobulinemia* (7). Esta enfermedad se caracteriza por una muy deficiente capacidad para la síntesis de gammaglobulinas y, por tanto, de anticuerpos. Cuando uno de estos enfermos ha sido infectado por una bacteria o por un virus, sólo se pueden descubrir vestigios de anticuerpos en su suero sanguíneo. Sin embargo, estos pacientes conservan la capacidad de defensa contra numerosas infecciones por virus. Se puede creer, por lo tanto, que los anticuerpos no son un factor decisivo en la curación de estas enfermedades.

Un hallazgo netamente experimental, realizado hace pocos años, ha arrojado nueva luz sobre el problema de la defensa antivírica de los organismos. ISAACS y LINDENMANN, en 1957 (8), descubrieron que una sustancia producida por las células, a la que llamaron *interferona*, ejerce una notable actividad inhibitoria frente a muchos virus. El descubrimiento vino a aclarar el fenómeno de la *interferencia de los virus*, conocido desde hace casi treinta años y posiblemente observado ya por JENNER en 1805. El primer ejemplo claro de interferencia de virus en condiciones naturales, quizás fuera descrito por FINDLAY y Mac CALLUM (9) en 1937. Estos investigadores comprobaron que los monos infectados con virus de la *fiebre valle del Rift* quedaban protegidos contra los fatales efectos del virus de la *fiebre amarilla*. La pro-

tección no podía ser atribuida a un efecto de los anticuerpos, porque los anticuerpos contra el virus de la fiebre del valle del Rift son completamente ineficaces contra el virus de la fiebre amarilla.

El descubrimiento de ISAACS y LINDENMANN fue realizado, inesperadamente, cuando investigaban la acción del virus de la gripe inactivado por el calor. Comprobaron que el líquido nutritivo del cultivo, libre de células, había adquirido en pocas horas la sorprendente propiedad de conferir a nuevas células frescas una capacidad de resistencia contra gran número de virus.

Muy pronto, aislaron la sustancia responsable y la denominaron *interferona*, porque la resistencia que confería manifestaba todos los caracteres observados en la interferencia de los virus.

Conviene tener en cuenta que el nombre interferona, usado en singular, designa genéricamente a varias sustancias inhibitoras muy afines, que se producen en los cultivos celulares, o en los tejidos huéspedes, como respuesta a la infección por virus activos o inactivados (10). Por consiguiente, corresponde más a un concepto biológico que a una entidad química.

Las interferonas preparadas en distintas especies animales ofrecen pequeñas diferencias de una a otra, de igual modo que las ofrecen las hormonas proteínicas, los anticuerpos o los enzimas de especies zoológicas distintas. Según RITA y colaboradores (11), se puede concluir que la interferona presenta una especificidad absoluta de clase zoológica. También existe una especificidad de especie, pero no es tan absoluta como la de clase, ya que se puede relajar a consecuencia de las diferentes condiciones experimentales.

Por el contrario, su acción inhibitora frente a los virus es inespecífica, pues una misma interferona puede impedir la multiplicación de virus diferentes. No obstante, se han comprobado grados en la sensibilidad de los virus, que permiten una clasificación en grupos más o menos sensibles. Los virus tumorígenos, como el productor de sarcoma de Rous son también inhibidos por la interferona.

Varios autores han estudiado las propiedades fisicoquímicas de las interferonas obtenidas de diferentes sistemas virus/célula huésped. Del conjunto de los resultados se puede concluir que las interferonas son proteínas débilmente básicas (P. I. E. alrededor de pH 8). Sus moléculas son mucho menores que las partículas de los virus, de las cuales se pueden distinguir por los métodos serológicos.

La interferona obtenida por ISAACS y sus colaboradores (12, 13, 14, 15) con el virus de la gripe A Melbourne cultivado en membrana corioalantoidea de embrión de pollo, se inactiva completamente en una hora a 60°C si el pH de la disolución no es ajustado a 7,4, en el cual puede resistir parcialmente durante una hora a 70°C. El calentamiento a 100° durante cinco minutos la destruye totalmente.

Otras interferonas presentan ligeras diferencias en la termorresistencia. Así, la preparada por WAGNER (16) y WAGNER y LEVY (17) con virus de la gripe AWS y líquido alantoideo, fue completamente estable a 70°C durante una hora y perdió el 90 % de su actividad en una hora a 85°C.

Las investigaciones sobre el peso molecular de las interferonas han su-

ministrado resultados diferentes. Según PORTERFIELD, BURKE y ALLISON (18), es de 63.000. Recientemente, LAPSON y otros (19), con la interferona producida en el sistema virus de la gripe AWS/líquido alantoideo muy purificada (4.500 veces), han encontrado un peso molecular comprendido entre 20.000 y 34.000 calculado por los resultados de la ultracentrifugación. Otros investigadores (20) han estudiado las interferonas producidas en varios sistemas diferentes por el virus y por las células (virus Chicunguya/fibroblastos de embrión de pollo, virus de la enfermedad de Newcastle/fibroblastos de embrión de ratón, virus gripal A-Kunz/células de riñón de mono, virus gripal A-PRO/pulmón de ratón *in vivo*). Los resultados de la ultracentrifugación demostraron que todas las interferonas probadas tenían un coeficiente de sedimentación parecido y muy próximo al de la lisozima, cuya constante es 1,9 S, lo que les permitió llegar a la conclusión de que el peso molecular de las interferonas se encuentra entre un mínimo de 13.000 y un máximo de 20-25.000. Estos resultados concuerdan bien con los obtenidos por WAGNER y por LAMPSON y colaboradores. El peso molecular mínimo, calculado por el contenido en determinados aminoácidos, debe ser 7.900 y el peso molecular real correspondería a un múltiplo de esta cifra.

La obtención de interferona en estado puro ha permitido estudiar su composición química. La interferona purificada por LAMPSON y colaboradores contiene tirosina (2,3 %), triptófano (2,6 %) (calculados ambos del espectro de absorción en el U. V.), arginina (7,2 %) y lisina (11,1 %). No contiene ácidos nucleínicos, pero sí vestigios de hidratos de carbono.

Las propiedades de las interferonas parecen ser semejantes a las de las histonas. De acuerdo con su constitución química, son inactivadas por diversas proteinasas (tripsina, quimotripsina, pepsina y papaína), pero son insensibles a la acción de las exopeptidasas, de las  $\alpha$ -amilasas y de las lipasas. Por último, se ha demostrado que no pueden identificarse con la lisozima ni con la ribonucleasa o la desoxirribonucleasa.

La producción de interferona tiene lugar en el interior de las células de órganos muy diversos. Ha sido comprobada en la gallina, el pato, conejo, cobaya, ratón, perro, hurón, vaca, cerdo, mono y hombre (21).

Para llegar a una caracterización más perfecta de las interferonas producidas en los diferentes sistemas virus/célula en estas especies animales, será preciso esperar a que se determine la composición en aminoácidos y la secuencia de los mismos en las preparaciones purificadas.

El poder antigénico de las interferonas fue puesto en duda después de los primeros intentos infructuosos realizados para producir anticuerpos contra ellas. Sin embargo, quedó demostrado posteriormente al descubrirse que los sueros de cobayas repetidamente tratados con estas sustancias neutralizan la actividad inhibidora de las mismas. Es posible que los resultados negativos obtenidos al intentar demostrar el carácter antigénico de algunas interferonas, se deban, entre otros motivos, a que estos cuerpos son, según dijimos, proteínas de bajo peso molecular y, por tanto, es probable que su potencia antigénica sea escasa (22).

Las dos cuestiones de mayor interés en el estudio de la interferona son, probablemente, su síntesis en el interior de la célula y el mecanismo por el

cual inhibe la multiplicación de los virus. Antes de entrar en el análisis de estas cuestiones, conviene recordar algunos datos sobre estos agentes infecciosos.

Los virus son partículas submicroscópicas, que pueden penetrar en células-(huésped) adecuadas y multiplicarse dentro de ellas. La formación de nuevos virus exige siempre el aparato de una célula viva (23). La clasificación de los virus puede atender a distintos puntos de vista, pero suele hacerse de acuerdo con la naturaleza de los organismos huéspedes. Correspondientemente, se distinguen virus *bacteriófagos*, que solamente pueden infectar a bacterias, virus *fitopatógenos*, que atacan a las plantas, y virus *zoopatógenos*, entre los cuales figuran los que producen enfermedades en los animales homeotermos.

Con la ayuda del microscopio electrónico se ha podido conocer la morfología de los virus. Casi todos tienen una forma globulosa o de bastoncillo. Como componentes químicos, todos contienen ácidos nucleínicos (ARN o ADN, pero nunca los dos juntos) y proteínas, estas últimas como sustancia envolvente, al mismo tiempo. Los virus mayores pueden contener, además, otras sustancias, por ejemplo, lipoides. De acuerdo con la naturaleza de su ácido nucleírico, frecuentemente se distinguen también virus-ARN y virus-ADN.

Los procesos que se desarrollan durante una infección por virus han sido investigados muy intensamente en los bacteriófagos, cuyo comportamiento se considera como modelo para muchos problemas relativos a los virus. Los fagos constan de una parte cefálica y de otra caudal, que es de longitud variable. El ácido nucleírico de los bacteriófagos está compuesto, la mayoría de las veces, por ADN, localizado en la cabeza del fago (recientemente se han demostrado también fagos con ARN). La membrana cefálica y la prolongación caudal contienen diversas proteínas. Cuando los bacteriófagos se reúnen con célula-huésped apropiadas, el virus es adsorbido en la pared celular por el extremo de la porción caudal. Después de varios estadios intermedios, el ADN del fago y una pequeña cantidad de proteína son inyectados en la célula bacteriana. Si se trata de un fago *virulento*, el metabolismo de la célula atacada se transforma, orientándose hacia la producción de nuevos fagos. La célula parece por lisis y los fagos terminados quedan en libertad (24).

Dada la naturaleza química de las interferonas, su formación sigue, desde el punto de vista bioquímico, la vía general de la biosíntesis de las proteínas, expuesta al tratar de la génesis de los anticuerpos.

Parece improbable que la información genética completa para la producción de interferona sea llevada por los ácidos nucleínicos de los diferentes virus-ARN y -ADN capaces de estimular la formación de interferona (25). Esto exigiría la presencia de idénticas secuencias de bases en los nucleótidos de cada uno de ellos. Además, células de diferentes especies animales pueden responder al mismo virus con la producción de interferonas que se pueden distinguir una de otra, por lo menos en lo referente a la especificidad de especies (26).

De hecho, no se ha aclarado todavía si el estímulo primario de la formación de interferona corresponde al ácido nucleínico o a la proteína del virus. Lo que sí puede afirmarse razonablemente, es que las células no infectadas no producen interferona y que los virus, probablemente, desempeñan importantes funciones como inductores de la producción de esta sustancia. Nada puede decirse todavía sobre la posibilidad de que la formación de interferona sea inducida también por estímulos que no sean los virus o sus componentes.

En cualquier caso, el ADN de la célula debe participar en la ordenación de los acontecimientos que llevan a la síntesis de interferona. Como piensa WAGNER (10), el mecanismo de la producción de esta proteína puede corresponder a una de las siguientes posibilidades:

1.<sup>a</sup> La interferona es un componente normal de la célula producido constantemente como un precursor sin actividad biológica, que sería convertido en interferona activa por el virus infeccioso.

2.<sup>a</sup> La integración genética (o epigenética) del ácido nucleínico del virus con el ADN de la célula da por resultado la formación de una nueva proteína (interferona).

3.<sup>a</sup> Un gene *operador* situado en un cromosoma es activado por la infección vírica para inducir la producción de interferona. Esta inducción tiene lugar sobre un gene *estructural* inmediato dentro del operón, es decir, de la nueva unidad genética que, según las ideas de JACOB y MONOD (27), comprende el *operador* y un conjunto de otros genes que están bajo su control. O, alternativamente, un catabolito de la célula infectada por el virus actúa como *represor* de un gene regulador situado en otro lugar (28), bloqueando así la acción de éste sobre el operador. El resultado podría ser una aceleración de la actividad de los genes estructurales (puesta en marcha por el operador) seguida por la producción de más ARN mensajero y más proteína.

La tercera de estas posibilidades concuerda mejor con numerosas observaciones sobre los mecanismos genéticos que regulan la síntesis de enzimas inducidas bajo la influencia de la estimulación por el sustrato o la represión por el producto final.

En efecto, según JACOB y MONOD, existen *genes reguladores* que controlan la velocidad de síntesis de una proteína. Cada uno de estos genes actúa sobre la síntesis de diferentes proteínas, mientras que un *gene estructural* obedece al principio "un gene, una proteína".

El fenómeno de la represión enzimática sólo ha sido conocido en los doce años últimos. Se ha encontrado que la síntesis de la enzima triptófano-sintetasa en la bacteria *Escherichia coli* es inhibida selectivamente por el triptófano y algunos compuestos semejantes. La importancia de este fenómeno en la regulación de muchas actividades celulares es muy grande. En todos los casos que han sido estudiados, el producto final de una secuencia biosintética inhibe la síntesis de la enzima correspondiente.

El mecanismo de la producción de interferona quizá pudiera ser aclarado experimentalmente mediante el empleo de inhibidores específicos de la

síntesis de ácido nucleínico y de proteína. El más útil puede ser la actinomicina  $C_1$  (actinomicina D de los autores americanos), por razón de su capacidad para combinarse y formar un complejo con el ADN, sin influir sobre la síntesis de ARN. Tal capacidad de la actinomicina parece debida a que este antibiótico ocupa las matrices ADN, con lo que impide la formación de ARN dependiente del ADN y, por lo tanto, la del ARN mensajero (29).

Los estudios preliminares realizados por WAGNER (10) revelan que la actinomicina disminuye intensamente la producción de interferona por las células de la alantoides del pollo. Si nuevas investigaciones confirmaran estos resultados, se reforzaría la noción de que la síntesis de interferona es determinada por el ADN celular a través del ARN mensajero.

Es posible que la producción de interferona obedezca a un mecanismo de *retroacción* ("feed-back") semejante a los que se admiten para otros procesos de biosíntesis.

Los conocimientos sobre el mecanismo de acción de la interferona no han progresado mucho desde que fueron propuestas las primeras teorías. No obstante, se sabe con seguridad que la inhibición ejercida por la interferona es un fenómeno endocelular. De aquí, que se atribuya a una intervención en los procesos metabólicos generales de la célula o a una intervención sobre los mecanismos específicos de la multiplicación de los virus. La unión interferona-célula no altera los receptores de la superficie celular para la fijación del virus (30, 31).

El estudio de los efectos de la interferona sobre el metabolismo celular ha sido desarrollado por ISAACS (1) y por ISAACS y col. (32). Encontraron que las células tratadas con interferona producen una cantidad de ácido láctico tres veces mayor que la producida por las no tratadas, lo que les llevó a admitir que la interferona actúa sobre el metabolismo de los hidratos de carbono.

Conviene recordar que, en las células normales, la glucólisis es el primer paso de un complejo proceso metabólico que convierte a la glucosa en anhídrido carbónico y agua. El resultado neto del proceso es la transferencia de la energía contenida en la glucosa al adenosintrifosfato (ATP), que lleva la energía en una forma fácilmente utilizable por la célula en muchos procesos. En la glucólisis, una molécula del azúcar produce dos moléculas de ácido pirúvico y dos moléculas de ATP. Después, eventualmente, las dos moléculas de ácido pirúvico son convertidas en seis moléculas de anhídrido carbónico y cuatro de agua, produciéndose otras 36 moléculas de ATP. El proceso total es denominado fosforilación oxidativa (33).

Después de considerar otras varias hipótesis, ISAACS ha sugerido que la interferona actúa desacoplando la fosforilación oxidativa. Esto significa que la glucosa todavía es metabolizada, como lo indica el ácido láctico formado por su oxidación, pero el proceso ya no rinde una proporción normal del compuesto rico en energía ATP, lo que impide la multiplicación de los virus.

La sugestiva hipótesis de ISAACS explicaría que la interferona no detenga la multiplicación de las partículas de virus en algunas células tumorales (34, 35). Según descubrió WARBURG, estas células podrían obtener anaeró-

bicamente todo el ATP que necesitan. Puesto que la interferona sólo impediría la formación del ATP por la vía oxidativa, su efecto contra los virus no sería ejercido en las células cancerosas. Cuando un virus invadiera una de estas células, encontraría suficiente ATP para su multiplicación a pesar de la presencia de cantidades importantes de interferona.

ISAACS y sus colaboradores (36, 37) evidenciaron que los virus cuya multiplicación es más intensamente frenada por una disminución de la tensión del oxígeno, son, salvo algunas excepciones, más sensibles a la acción de la interferona, lo que iría de acuerdo con la hipótesis de que esta sustancia actúa sobre los mecanismos de la utilización del oxígeno e inhibiendo un proceso que suministra a la célula la energía necesaria para la síntesis de los componentes del virus.

Las sustancias desacoplantes de la fosforilación oxidativa (también pudiera llamarse oxidación fosforilante) desligan el proceso de fosforilación del de transporte de electrones por la cadena respiratoria. Son cuerpos desacoplantes, por ejemplo, el dinitrofenol, el dicumarol, la tiroxina, la azida sódica y el verde Janus.

De las observaciones de varios autores, dedujo ISAACS (15) que los efectos de la interferona eran semejantes a los del dinitrofenol. Ambos estimulan la glucólisis, inhiben la formación de copias o réplicas de partículas de virus en las células normales y no la inhiben en ciertas células cancerosas (células He La).

En menoscabo de la hipótesis de ISAACS, calificada por WAGNER (10) de intrigante, están las observaciones de que el dinitrofenol y otros poderosos desacoplantes son mucho menos activos que la interferona como inhibidores de los virus (32) y que el virus de la *encefalitis equina del Oeste* conserva la susceptibilidad a la interferona en condiciones de anaerobiosis (38). Por otra parte, las interferonas muy purificadas y concentradas no desacoplan la fosforilación oxidativa ni tienen efecto alguno sobre la glucólisis anaerobia o aerobia (19). Todavía no se sabe cuáles son las impurezas responsables de esta diferencia en el comportamiento de las interferonas purificadas y no purificadas.

Se han hecho varios experimentos para estudiar las relaciones tiempo-dosis, como un medio para averiguar el mecanismo de acción de la interferona. La interpretación de los resultados fue, a veces, difícil por el número de variables en tales pruebas. No obstante, los estudios sobre el efecto de diferentes interferonas en la inhibición del virus Rous (39) y del virus de la estomatitis vesicular (40) sugieren una cinética de primer orden. Una relación lineal dosis-respuesta fue observada también en los experimentos con la sustancia interferente transmisible (T) del virus de la estomatitis vesicular (41), que puede, o no, ser una interferona.

Todavía no se sabe con seguridad si cada célula tiene uno o varios lugares "críticos" para la acción de la interferona; pero parece probable que, para ejercer un efecto, sólo sean necesarias muy pocas unidades biológicamente activas de este cuerpo (10). Como Ho (31) ha demostrado, la acción de la interferona no obedece a la "ley del todo o nada".

Otras muchas investigaciones se han llevado a cabo para precisar el efec-

to de la interferona sobre la infectividad y sobre la síntesis del ARN de los virus. Los resultados de las mismas han sido resumidos por RITA y sus colaboradores (11) en la forma siguiente: 1.º, la interferona actúa endocelularmente; 2.º, no inactiva directamente al ARN del virus a través de la estimulación de la producción de una ARNasa específica; 3.º, no inhibe la multiplicación del virus por una actuación sobre el proceso de maduración del mismo; 4.º, inhibe específicamente la síntesis de un ARN-mensajero del virus, mientras que no parece inhibir la del ARN celular normal; 5.º, inhibe primitivamente la síntesis del ARN del virus en una fase inicial de la infección.

De cuanto antecede, se puede deducir que la utilización de la interferona exógena con fines profilácticos o terapéuticos se ve restringida en la práctica por dos motivos principales. Uno de ellos se refiere especialmente a su empleo en el hombre y se debe a la especificidad de especie de los preparados de este inhibidor. Pero, está demostrado que interferonas obtenidas en células de animales pertenecientes a diferentes órdenes, llegan a superar esta especificidad. Por lo que se refiere al hombre en particular, las interferonas preparadas en células de mono actúan igualmente en células humanas. El segundo motivo está relacionado con la posibilidad de purificar y concentrar las interferonas. Sin embargo, esta dificultad puede considerarse ya resuelta, por lo menos desde el punto de vista experimental.

Por lo tanto, se va confirmando una vez más, que, en las Ciencias, según ha escrito recientemente GAVAUDAN (42), no hay última página que no deba ser considerada como provisional. Con esta afirmación, queremos terminar nuestra contestación al discurso del Ilmo. Sr. Dr. D. Angel Sánchez Franco, pero no lo haremos sin darle antes la bienvenida a esta Academia, que espera abundantes frutos de su sólida preparación científica.

HE DICHO.

## BIBLIOGRAFIA

- (1a) PETZETAKIS, M.: *C. R. Sob. Biol.*, **148**, 19-20, 1560-1563, oct. 1954.
- (1b) ISAACS, A.: *Interferon. Publ. por Freeman and Company*, San Francisco (California). Reimpr. de Scientific American, mayo, 1961.
- (2) KARLSON, P.: *Kurzes Lehrbuch der Biochemie für Mediziner und Naturwissenschaftler*. Stuttgart, 1962.
- (3) GANDARIAS, J. M. DE: *Fisiología especial*, tomo I, p. 150. Salamanca, 1964.
- (4) DE ROBERTIS, E. D. P., NOWINSKI, W. W. y SAEZ, F. A.: *Biología Celular*. 6.ª ed. Editorial "El Ateneo". Buenos Aires, 1965.
- (5) WARNER, J. R., RICH, A. y HALL, C. E.: *Science*, **138**, 1399, 1962.
- (6) RIFKIND, R. A., MORGAN, C. y HARWET, M. R.: *Fifth. Congress for Electron. Microsc.*, *Academy Press U. S.*, 1962.
- (7) GROSS, P. A. M., GITLIN, D. y JANEWAY, C. A.: *New England J. Med.*, **260**, 170, 1959.
- (8) ISAACS, A. y LINDENMANN, J.: *Proc. Roy. Soc. (London) Biol. Sc.*, **147**, 258-267, 1957.
- (9) FINDLAY, G. W. M. y Mc. CALLUM, F. O.: [cit. en (2)].

DISCURSO DE CONTESTACION

- (10) WAGNER, R.: *The Interferons: cellular inhibitors of viral infection*. Ann. Rev. of Microbiology, **17**, 285-295, 1963.
- (11) RITA, G., RUSSI, M., BIANCHI BANDINELLI, F. y DIANZANI, F.: *Atti Congr. Naz. Soc. Ital. Micr.* p. 1.<sup>a</sup>. Perugia, 1963.
- (12) LINDENMANN, J., BURKE, D. C. e ISAACS, A.: *Brit. J. exp. Pathol.* **38**, 551-562, 1957.
- (13) BURKE, F. M. e ISAACS, A.: *Brit. J. exp. Pathol.*, **39**, 452-458, 1958.
- (14) ISAACS, A. y BURKE, D. C.: *Brit. med. Bull.*, **15**, 185-188, 1959.
- (15) ISAACS, A.: *Nature and function of interferon*. Ed. por Morris Pollard, Burgess Publ. Co. Minneapolis. *Perspectives in Virology*, **2**, 117-123, 1961.
- (16) WAGNER, R. R.: *Bact. Rev.*, **24**, 151-166, 1960.
- (17) WAGNER, R. R. y LEVY, A. H.: *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **88**, 1308-1318, 1960.
- (18) PORTERFIELD, J. S., BURKE, D. y ALLISON, A. C.: *Virology*, **12**, 197-203, 1960.
- (19) LAMPSON, G. P., TYTELL, A., NEMES, M. M. y HILLEMANN, M. R.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **112**, 468-478, 1963.
- (20) ROTEM, Z. y CHARLWOOD, P. A.: *Nature*, **198**, 1066-1068, 1963.
- (21) ISAACS, A.: *Defensa natural antivirica. Triángulo*. Vol. V, núm. 7, p. 311-315, enero 1963.
- (22) PAUCKER, K. y CANTELL, K.: *Virology*, **18**, 145-147, 1962.
- (23) LURIA, S. E.: *General Virology*. John Wiley. New York, 1953.
- (24) HARBERS, E. DOMAGK, G. F. y MÜLLER, W.: *Die Nucleinsäuren*. Georg Thieme Verlag. Stuttgart, 1964.
- (25) HO, M.: *New England J. Med.*, **266**, 1258-64, 1313-18, 1367-71, 1962.
- (26) WAGNER, R. R.: *Virology*, **19**, 215-224, 1963.
- (27) JACOB, F. y MONOD, J.: *J. Mol. Biol.*, **3**, 318, 1961.
- (28) MOYED, H. S. y UMBARGER, H. E.: *Physiol. Rev.* **42**, 446-466, 1962.
- (29) HARBERS, E. y MÜLLER, W.: *Biochem. biophys. Res. Commun.*, **7**, 107-110, 1962.
- (30) WAGNER, R. R.: *Virology*, **13**, 323-337, 1961.
- (31) HO, M.: *Virology*, **17**, 262-275, 1962.
- (32) ISAACS, A., KLEMPERER, H. G. y HITCHCOCK, G.: *Virology*, **13**, 191-199, 1961.
- (33) LEHNINGER, A. L.: *Energy Transformation in the Cell*. Scientific American, mayo 1960.
- (34) CHANY, C.: *C. R. Acad. Sc.*, **250**, 3903-3905, 1960.
- (35) CHANY, C.: *Virology*, **13**, 485-492, 1961.
- (36) BARON, S., PORTERFIELD, J. S., ISAACS, A.: *Virology*, **14**, 444-449, 1961.
- (37) ISAACS, A., PORTERFIELD, J. S., BARON, S.: *Virology*, **14**, 450-455, 1961.
- (38) ZEMLA, J. y SCHRAMEK, S.: *Virology*, **16**, 204-205, 1962.
- (39) BADER, J. P.: *Virology*, **14**, 436-443, 1962.
- (40) LEVY, H.: *Clin. Res.*, **10**, 218, 1962.
- (41) BELLET, A. J. D. y COOPER, P. D.: *J. Gen. Microbiol.*, **21**, 498-509, 1959.
- (42) GAVAUDAN, P.: *Addendum a la obra "L'origine de la vie sur la Terre"*, por A. I. OPARIN. Masson et Cie. Ed., París, 1965.

## FORMACION Y VALORACION DE LA IMAGEN OPTICA

Por el

ILMO. SR. D. JUSTINIANO CASAS PELÁEZ

*Excelentísimo Sr. Presidente,*

*Excelentísimos e Ilustrísimos señores Académicos,*

*Señoras y señores:*

Cuando esta ilustre Academia tuvo a bien designarme como miembro para compartir sus quehaceres, sentí la satisfacción natural del que llega al más alto peldaño de la honorabilidad, y, con ella, el desasosiego propio de quien recibe una distinción que no marca precisamente, como es usual, el fin de una tarea felizmente coronada, sino el principio de una responsabilidad, el comienzo de una actuación en la cual uno tiene que hacerse acreedor a los méritos que le permitan ostentar airoosamente el galardón que, en honor a la confianza, le ha sido concedido por anticipado.

Pueden estar seguros los señores Académicos de que, en la medida de mis fuerzas, pondré todo mi entusiasmo en ser digno de la acogida que me dispensan.

En este sendero de preocupaciones, la primera que me obsesiona es el pensar que vengo a relevar en su puesto al Prof. D. Mariano Velasco Durantez, lo que tiene para mí un significado especial. Conozco muy bien al profesor Velasco porque a él me ligan desde hace mucho tiempo profundos lazos de amistad, motivados, de un lado, por una constante relación científica basada en nuestra idéntica especialidad, y, de otro, por nuestra común manera de pensar como paisanos nacidos entre las labranzas de la dura tierra castellana y crecidos bajo su cielo azul con horizontes sin límites.

En él he tenido siempre un gran estímulo para mi trabajo, un consejero leal, y un gran instigador en su día para que abrazara la cátedra y viniera a sustituirle en la Universidad de Zaragoza.

Hoy he sido llamado también a sustituirle en su silla de académico y sé bien lo que representa para mí el ser sucesor de un hombre con tantas virtudes, entre las que resaltan su sabiduría, su bondad, el amor a su profesión y a sus semejantes, la sencillez y la modestia al par con su envidiable laboriosidad.

Don Variano Velasco, nació en Villacón (Palencia) en 1897, estudió su Licenciatura en las universidades de Salamanca y Madrid, doctorándose en esta última con el "Premio Echegaray". En 1931 ganó por oposición la Cátedra de Optica de la Universidad de Zaragoza y en 1952 ocupó por concur-