

Propiedades aglutinantes de algunas histonas y protaminas

Por S. LAJMANOVICH y N. MITTELMAN (*)

Estudiando la interacción entre la histona proveniente de núcleos de glóbulos rojos de pollo y el virus de la influenza a objeto de compararla con la que observara Chambers y Henle ⁽¹⁾ para protamina y virus de influenza, pudimos observar que tanto la histona en estudio como también la protamina (clopeína) aglutinaban glóbulos rojos de pollo a altas diluciones.

La existencia de hemaglutininas fuera de las del suero no es por supuesto ninguna novedad y entre ellas hay desde sustancias tan simples como algunos colorantes básicos (cristal violeta, p. ej.) o sales de metales pesados (Cu, Ni, Fe, La, etc.), hasta proteínas complejas (albúminas) extraíbles de algunas semillas vegetales como la ricina, crotina, fascina, etc. o las provenientes de extractos de algunas bacterias o levaduras, o las aglutininas para glóbulos rojos de pollo asociadas con el virus de la influenza, etc.

Específicamente, respecto de las propiedades aglutinantes de la histona de núcleos de glóbulos rojos de pollo o de la clupeína, no hemos podido hallar ninguna referencia directa, salvo la observación de W. H. Thompson ⁽²⁾ citado por el Abderhalden, quien en el año 1900 al mezclar sangre con protamina (al 1 %) para estudiar el retardo producido por esta última sustancia sobre el tiempo de coagulación observa entre otras cosas « un agrupamiento de los glóbulos rojos dejando un sobrenadante claro de suero ». Veremos más adelante que la presencia del suero enmascaró la sensibilidad del efecto.

(*) De la Sección Virus del Instituto Bacteriológico « Dr. Carlos G. Malbrán » de la Dirección Nacional de Salud pública. Estos estudios fueron subvencionados en parte por una donación de la International Health Division de la Fundación Rockefeller.

El fenómeno tal cual lo observamos nosotros consiste en lo siguiente: cuando una solución diluida (1/50.000 p. ej.) y aproximadamente neutra de histona o protamina se mezcla con una suspensión de glóbulos rojos de pollo en solución fisiológica, al cabo de 5 a 10 minutos comienza una floculación acelerada en grumos más o menos grandes de glóbulos y al cabo de unos veinte minutos, la sedimentación de los mismos es prácticamente total, quedando el resto pegado a las paredes del tubo; estos grumos pueden romperse con relativa facilidad dando una suspensión de aspecto homogéneo pero que estacionada vuelve a sedimentar totalmente en uno a dos minutos.

El objeto de este trabajo es estudiar cuantitativamente el fenómeno, determinar la sensibilidad de diferentes glóbulos y bacterias, observar el efecto de un exceso de «aglutinina» o de «aglutinógeno», estudiar la adsorción de la «aglutinina» por el glóbulo, discutir la acción de sustancias inhibitoras y el efecto del calor y acidez sobre la histona, ver como se comportan histonas de diferentes orígenes, y finalmente tratar de extraer aglutininas de glóbulos rojos no nucleados.

MATERIAL UTILIZADO Y MÉTODOS

Preparación de histona de núcleos de glóbulos rojos de pollo. — Se siguió en general el método de Kossel modificado por Bang ⁽³⁾ de extracción clorhídrica de histona a partir de núcleos de glóbulos rojos de ganso; los núcleos a su vez se prepararon casi sin excepción hemolizando los glóbulos con agua destilada a 40°C según aconseja Plenge ⁽⁴⁾. En algunos casos utilizamos para el aislamiento de núcleos el método recientemente descrito por Dounce y Tien Ho Lan ⁽⁵⁾, quienes utilizan saponina como agente hemolizante. Con el segundo método se obtiene con mayor facilidad una suspensión de núcleos libre de hemoglobina, aunque respecto de la histona final ambos métodos dan resultados análogos.

Aislamiento de núcleos de glóbulos rojos de pollo ⁽⁴⁾. — La sangre citrada se lava por centrifugación dos o tres veces con solución fisiológica, luego se toman los glóbulos con una gran cantidad de agua destilada (unos 3 litros para 150 ml de glóbulos) y agitando continuamente se mantiene una hora a 40°C, se le agrega luego una solución concentrada de cloruro de sodio hasta llevar el total a 0.9 %, después de media hora se decanta el sobrenadante y la operación se repite hasta obtener un sobrenadante libre de hemoglobina. La suspensión de núcleos así obtenida es de un color amarillo intenso.

Obtención de la histona ⁽³⁾. — Los núcleos provenientes de unos 60 ml de glóbulos centrifugados, se extraen agitando durante cuatro horas con HCl 0.8 %, se centrifuga y el sobrenadante límpido o ligeramente turbio se dializa contra

agua destilada hasta reacción negativa de cloruros; si hace falta se vuelve a centrifugar el líquido y del sobrenadante se precipita la histona por agregado cuidadoso de NaOH 0.1 N hasta pH aproximadamente igual a 10.4; se centrifuga inmediatamente, el precipitado se redissuelve en agua ligeramente clorhídrica y el tratamiento con NaOH 0.1 N se repite 2 ó 3 veces. Finalmente el precipitado blanco de histona se lava una o dos veces con poca agua, se redissuelve en agua ligeramente clorhídrica y se deseca por evaporación al vacío del producto congelado (*).

El clorhidrato obtenido se presenta en forma de un polvo blanco, muy liviano, fácilmente soluble en agua que precipita en forma coposa por agregado de álcali (pH 10.4) siendo soluble en un exceso del mismo. Da una reacción de Biuret intensamente positiva y una reacción de Molish negativa.

Preparación de histona de núcleos de glóbulos rojos de pavo.—Se siguió exactamente el procedimiento que antecede, obteniéndose un producto final enteramente análogo en su aspecto y propiedades generales al descrito.

Histona de timo.—Nos fué facilitada por el Dr. Mendive, quien la ha preparado por el método de Felix y Harteneck (6).

Protamina (chupeina).—Utilizamos el producto comercial de la B. D. H.

Técnica de aglutinación.—Se utilizó en todos los casos, suspensiones de glóbulos al 2 % en fisiológica, utilizando el método de observación descrito por Hirst para virus de influenza (7). Las suspensiones de bacterias, que en todos los casos habían sido muertas por calor, contenían 5.000 millones de gérmenes por ml y nos fueron facilitadas por los Dres. Miravent y Pirotsky.

a) *Sensibilidad frente a diferentes glóbulos y bacterias.*—Los cuadros (I, II, III y IV) adjuntos, reproducen los resultados de

CUADRO I
Agglutinación de glóbulos rojos por histona de glóbulos rojos de pollo

Titulado con glóbulos de:	Concentración de la histona en mgr/ml											
	2	1	0,5	0,25	0,125	$6,2 \times 10^{-2}$	$3,1 \times 10^{-2}$	$1,6 \times 10^{-2}$	8×10^{-3}	4×10^{-3}	2×10^{-3}	1×10^{-3}
Paloma	—	—	±	+	3+	4+	4+	4+	4+	4+	2+	—
Sapo	—	—	2+	3+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	—
Hurón	—	—	—	+	2+	4+	4+	4+	4+	3+	+	—
Pollo	—	—	—	2+	3+	4+	4+	4+	3+	2+	—	—
Conejo	3+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	3+	2+	—	—
Humano ...	—	—	—	—	+	4+	4+	4+	4+	2+	—	—
Oveja	—	—	—	—	3+	4+	4+	4+	2+	—	—	—
Cabra	—	—	—	2+	4+	4+	3+	2+	—	—	—	—
Ternero	3+	4+	4+	4+	4+	4+	+	—	—	—	—	—

Leídas después de 2 horas a temp. ambiente. pH de la soluc. de histona = 7,5.

(*) La evaporación al vacío da un producto de mejor aspecto y de más fácil redisolución que el que se obtiene por desecación con alcohol-éter como aconseja BANG (3).

una titulación de histona y protamina frente a glóbulos de diversas especies y algunas suspensiones de bacterias.

CUADRO II

Aglutinación de bacterias por histona de núcleos de glóbulos rojos de pollo

Titulado con	Concentración de histona en mgr/ml									
	2	1	0,5	0,25	0,125	$6,2 \times 10^{-2}$	$3,1 \times 10^{-2}$	$1,6 \times 10^{-2}$	8×10^{-3}	4×10^{-3}
<i>Bacillus proteus</i>	—	—	—	—	—	3+	4+	4+	2+	—
<i>Bacillus paratificus</i> ...	—	4+	4+	3+	—	—	—	—	—	—
<i>Stafilococcus aureus</i> ...	—	—	—	—	4+	4+	4+	4+	—	—

Leídas después de 2 horas a 37° C; pH de la solución de histona = 7,5.

CUADRO III

Aglutinación de glóbulos rojos por protamina (clupeína)

Titulado con glóbulos de:	Concentración de protamina en mgr/ml									
	2	1	0,5	0,25	0,125	$6,2 \times 10^{-2}$	$3,1 \times 10^{-2}$	$1,6 \times 10^{-2}$	8×10^{-3}	4×10^{-3}
Paloma	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	—
Sapo	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	+	—
Hurón	4+	4+	4+	4+	4+	+	—	—	—	—
Pollo	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	3+	—	—
Conejo	4+	4+	4+	4+	4+	4+	2+	+	—	—
Humano	4+	4+	4+	4+	4+	3+	2+	—	—	—
Oveja	4+	4+	4+	4+	3+	2+	—	—	—	—
Cabra	4+	4+	4+	4+	2+	+	—	—	—	—
Ternero	4+	4+	4+	3+	2+	—	—	—	—	—

Leídas después de 2 horas a temperatura ambiente; pH de sol. protam. = 7,5.

CUADRO IV

Aglutinación de bacterias por protamina (clupeína)

Titulado con	Concentrac. de protam. mgr/ml						
	1	0,5	0,25	0,125	$6,2 \times 10^{-2}$	$3,1 \times 10^{-2}$	$1,6 \times 10^{-2}$
<i>Bacillus proteus</i>	4 +	2 +	—	—	—	—	—
<i>Bacillus paratificus</i>	1 +	—	—	—	—	—	—
<i>Stafilococcus aureus</i>	4 +	4 +	4 +	4 +	4 +	2 +	—

Leídas después de 2 horas a 37° C; pH de la solución de protamina = 7,5.

Los resultados indican claramente que la histona proveniente de núcleos de glóbulos rojos de pollo, aglutina inespecíficamente sus propios glóbulos rojos o los de cualquier otra especie, nucleados o no; que también aglutina bacterias; que la dosis aglutinante mínima varía con los diferentes glóbulos o bacterias siendo en algunos casos del orden de 2 γ /ml, y que en todos los casos la aglutinación presenta un definido fenómeno zonal análogo al observado en inmunología (⁸).

Aun cuando el comportamiento de la protamina es en líneas generales similar al de la histona en el sentido que también aglutina inespecíficamente cualquier clase de glóbulos o bacterias, es evidente que la dosis aglutinante mínima requerida en este caso es mayor, siendo del orden de 8 γ /ml, y que además en ningún caso presenta el fenómeno zonal que caracteriza a la histona.

b) *Efecto de un exceso de « aglutinina » o de « aglutinógeno »*. — El objeto es estudiar el desplazamiento del fenómeno zonal observado para el caso de la histona, para concentraciones variables de los glóbulos (aglutinógeno).

El cuadro N° V reproduce un resultado típico con glóbulos de pollo.

Cuadro V

Efecto de un exceso de « aglutinina » o aglutinógeno

Concentración de glóbulos de pollo %	Concentración de histona en mgr/ml										
	2	1	0,5	0,25	0,125	$6,2 \times 10^{-2}$	$3,1 \times 10^{-2}$	$1,6 \times 10^{-2}$	8×10^{-3}	4×10^{-3}	2×10^{-3}
0,5	—	—	—	±	+	4 +	4 +	4 +	4 +	2 +	—
1	—	—	±	+	2 +	4 +	4 +	4 +	4 +	3 +	—
2	—	—	+	3 +	4 +	4 +	4 +	4 +	4 +	2 +	—
3	—	±	2 +	3 +	4 +	4 +	4 +	4 +	4 +	+	—
4	±	+	3 +	4 +	4 +	4 +	4 +	4 +	4 +	+	—

Leída después de 1 hora a temperatura ambiente.

Es evidente que al aumentar la concentración de glóbulos la prozona de aglutinación se hace cada vez menor. En este sentido el comportamiento de la histona es muy similar al que presentan muchas reacciones de antígeno-anticuerpo.

c) *Adsorción de la « aglutinina » por el glóbulo*. — El cuadro N° VI muestra la adsorción de la histona de núcleos de glóbulos rojos de pollo por glóbulos rojos de pollo, para concentraciones va-

riables de ambos. Si se tiene en cuenta que una dosis aglutinante de histona contiene de 4 a 2 γ /ml se ve que con soluciones diluídas de

CUADRO VI

Adsorción de la « aglutinina » por el glóbulo

Concentración de glóbulos	Concentración de la histona antes de la adsorción mgr/ml		
	0,5	0,25	0,125
%	Concentración de hist. en sobren. mgr/ml		
0,5	0,250	0,082	0,016
1	0,164	0,048	0,012
2	0,125	0,040	0,004
4	0,082	0,012	—
8	0,012	—	—

1,5 ml de suspensión de glóbulos se agitan con 1,5 ml de soluc. de histona; después de 45' se centrifugan titulando los sobrenadantes en la forma usual. La experiencia fué hecha por triplicado y a temperatura ambiente.

glóbulos y concentradas de histona, se consigue adsorber hasta de 100 a 200 veces la dosis aglutinante. Con todo y debido a errores experimentales inherentes al método de titulación los datos no son todo lo concordantes que sería de desear.

d) Estabilidad frente al calor y a los ácidos; influencia del pH sobre la aglutinación. — De acuerdo con la reconocida estabilidad química de las protaminas o histonas, éstas se pueden manejar entre límites muy amplios de pH (3 a 10) o calentar a ebullición hasta durante 1 hora sin pérdida sensible del poder aglutinante. Lo mismo puede decirse respecto de la influencia del pH sobre la aglutinación. Entre 5,5 y 8,7 el título es independiente de la acidez.

e) Sustancias inhibidoras. — Una manera indirecta de corroborar que es la molécula de protamina o histona la responsable del fenómeno de aglutinación, es considerar el efecto que tienen sobre la misma, sustancias que como el ácido nucleico presentan la propiedad de combinarse con aquéllas. En el cuadro N° VII puede apreciarse dicho efecto.

En este cuadro puede observarse que cuando la relación en peso de ácido nucleico a histona es de 1:1 o mayor, la inhibición es total. Un fenómeno análogo se observa para una relación de ácido

nucleico o protamina de 2:1; ambos resultados concuerdan con las proporciones en que ácido nucleico e histona o protamina se hallan unidas en las combinaciones naturales. [Ackerman (9) y Kossel (10)].

CUADRO VII

Inhibición de la aglutinación por ácido nucleico

Concentración de la histona (H) o protamina (P) gr/ml	Concentrac. del ácido nucleico gr/ml						
	1/500	1/1000	1/2000	1/4000	1/8000	1/16000	1/32000
	Aglutinación						
agua	0	0	0	0	0	0	0
H/2000	0	0	0	4 +	4 +	4 +	4 +
P/2000	0	0	4 +	4 +	4 +	4 +	4 +

pH de la solución de histona: 7,1-7,2.

pH de la solución de protamina: 7,1-7,2.

pH de la solución de ácido nucleico de timo: 7,0-7,1.

Otra propiedad clásica de las protaminas y que en mayor o menor grado es también extensible a las histonas es su propiedad de precipitar con las proteínas superiores; por lo tanto líquidos con alto contenido proteico deben tener una marcada acción inhibidora sobre la propiedad aglutinante. El cuadro N° VIII lo corrobora.

CUADRO VIII

Inhibición de la aglutinación por suero normal de cabra

Concentración de la histona (H) o protamina (P)	Concentración del suero normal de cabra									
	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/1024	1/2048
	Aglutinación									
agua	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
H/20.000	0	0	0	0	0	0	0	4 +	4 +	4 +
P/20.000	0	0	0	0	0	1 +	4 +	4 +	4 +	4 +

f) *Comportamiento de histonas de diversos orígenes.* — El cuadro N° IX muestra el comportamiento frente a glóbulos y bacterias, de otras dos histonas: la de timo y la proveniente de los núcleos de glóbulos rojos de pavo.

Puede observarse que mientras que el comportamiento de la histona proveniente de núcleos de glóbulos rojos de pavo es totalmente similar a la que proviene de glóbulos rojos de pollo, la histona de timo en cambio da resultados negativos aún en soluciones concentradas.

g) *Obtención de una fracción proteica aglutinante, del estroma de glóbulos rojos no nucleados.* — Se consideró de interés intentar extraer de glóbulos rojos no nucleados, tales como los humanos y de oveja, una fracción obtenible mediante un procedimiento similar al seguido para la obtención de la fracción proteica histónica de los glóbulos rojos de pollo. El procedimiento que hemos encontrado más ventajoso y práctico se aparta en algunos aspectos del descripto para la obtención de la histona de glóbulos de pollo y ha consistido en lo siguiente.

Separación del estroma de glóbulos humanos y de oveja. — Se comenzó por filtrar los glóbulos recogidos sobre citrato a través de doble gasa y se lavaron por tres veces con solución fisiológica separando los glóbulos del medio de lavado por centrifugación. Los glóbulos lavados fueron hemolizados según la técnica de Bang⁽¹¹⁾ poniéndolos en presencia de 10-20 veces su volumen de agua y sometidos a agitación mecánica enérgica durante 1-2 horas a las temperatura ambiente. Al cabo de la misma se hizo burbujear CO_2 durante unos minutos, lo que favorece la sedimentación ulterior del estroma.

El calentamiento suave a 40°C aconsejado por Bang para favorecer la hemólisis no resultó conveniente en este caso, por la lentitud con que tiene lugar la sedimentación del estroma por este tratamiento. Por reposo durante 6-12 horas a 4°C se tiene un sobrenadante límpido y un precipitado voluminoso que retiene una buena parte de hemoglobina. Se suspende el sedimento en el volumen original de agua y se hace burbujear CO_2 , etc. Este tratamiento se repite hasta que el sobrenadante resulta límpido y prácticamente incoloro; el estroma exhibe entonces un color pardo claro (oveja) o ligeramente rosado (humano). Los glóbulos humanos requieren un número de lavados casi doble que los de oveja ofreciendo aquéllos mayor dificultad para purgar el estroma de los últimos vestigios de hemoglobina. Finalmente, se centrifuga el sedimento proveniente de la última decantación.

Extracción de una fracción proteica del estroma. — El estroma así preparado resuspendido en un volumen pequeño de agua, se extrae con ClH al 0,8 %, durante 4 horas a 0°C y agitando continuamente; se centrifuga inmediatamente a 3.000 r. p. m. durante 45 minutos (en ocasiones es necesario centrifugar a 9.000 r. p. m. por media hora para obtener un sobrenadante límpido). El sobrenadante límpido se pone a dializar en tubos de celofán contra agua corriente durante 2-3 días a 4°C . A las 48 horas se puede observar ya la aparición de un precipitado en correspondencia con un valor aumentado para el pH de 6,0-6,5. Se ha encontrado más práctico este procedimiento de precipitación por elevación del pH por diálisis que el procedimiento seguido por Kossel consistente en tratar el líquido ácido proveniente de la extracción clorhídrica, con ClNa a saturación y diálisis del precipitado resuspendido en agua. El líquido turbio proveniente de la diálisis se centrifuga y el precipitado se resuspende en un pequeño volumen de agua destilada. Por adición de ClH 0,1 N se obtiene su casi total redisolución a un pH entre 5,7 y 6,0 en tanto que reprecipita por adición de NaOH 0,1 N redisolviéndose en un exceso del reactivo (pH 8,8-9,0). Por repetición de este tratamiento de disolución con el reac-

tivo ácido y reprecipitación con el reactivo alcalino a la temperatura del hielo fundente, y separación por centrifugación de las primeras porciones fuertemente coloreadas de marrón precipitadas por alcalización, se logra obtener una fracción que en solución es prácticamente incolora. Finalmente la solución clorhídrica congelada, se desecó por evaporación al vacío.

Se obtuvo así en ambos casos (humano y oveja) un producto sumamente liviano de un color blanco de aspecto homogéneo, insoluble entre pH 6,0 y 8,5 y que exhibe una reacción intensa de Biuret y una reacción negativa de Molish.

De las características anotadas es evidente que la fracción proteica aislada no pertenece al grupo de las histonas asemejándose más bien por su insolubilidad en medio neutro y su extracción en medio ácido a las llamadas «metaproteínas».

Dada la insolubilidad del producto no fué posible comparar su comportamiento como «aglutinina» en condiciones idénticas a las utilizadas para las protaminas o histonas.

En el cuadro N° X se estudian sus propiedades aglutinantes a diferentes pH con los controles correspondientes para evitar aglutinaciones inespecíficas debidas a la acidez.

Los resultados muestran claramente que la fracción proteica extraída del estroma de glóbulos humanos y de oveja, aglutina con sensibilidad variable glóbulos de diferentes especies, inclusive los propios. Esta propiedad se revela convenientemente a un pH 5,0 a 5,5 que no afecta todavía la estabilidad de los glóbulos y al cual la fracción proteica se halla totalmente disuelta.

DISCUSIÓN

Los experimentos acumulados no dejan lugar a dudas respecto de las propiedades aglutinantes de algunas histonas y protaminas; más aún, en líneas generales indicarían que se trata de una propiedad genérica del grupo, vinculada de alguna manera con el carácter básico de las mismas, como lo corroboraría el hecho de que la histona de timo definitivamente menos básica que la proveniente de glóbulos rojos nucleados no presenta dicha propiedad. Sin embargo, en contra de esta interpretación general estaría el hecho de que en todos los casos la histona de núcleos de glóbulos rojos es activa como aglutinina a diluciones mayores que la protamina, a pesar de que esta última es más básica que aquéllas. No debe olvidarse tampoco que una definida diferencia entre el comportamiento de histonas y protaminas es el fenómeno zonal que presentan las primeras y que no hemos podido constatar para la protamina ni aún en soluciones al 1 %.

CUADRO X

« Aglutinina » proveniente de estroma de glóbulos rojos no nucleados

pH	Aglutini n Glóbulo	Concentración de la aglutinina mgr/ml							
		0,5	0,25	0,125	$6,2 \times 10^{-2}$	$3,1 \times 10^{-2}$	$1,6 \times 10^{-2}$	8×10^{-3}	4×10^{-3}
4,8	H/P	4 +	4 +	4 +	4 +	4 +	3 +	2 +	—
4,8	O/P	4 +	4 +	4 +	4 +	3 +	2 +	1 +	—
4,8	Buffer/P	—	—	—	—	—	—	—	—
5,2	H/P	4 +	4 +	4 +	3 +	1 +	—	—	—
5,2	O/P	4 +	4 +	4 +	2 +	—	—	—	—
5,2	Buffer/P	—	—	—	—	—	—	—	—
5,8	H/P	4 +	3 +	2 +	—	—	—	—	—
5,8	O/P	4 +	3 +	1 +	—	—	—	—	—
5,8	Buffer/P	—	—	—	—	—	—	—	—
6,1	H/P	2 +	1 +	—	—	—	—	—	—
6,1	O/P	2 +	1 +	—	—	—	—	—	—
6,1	Buffer/P	—	—	—	—	—	—	—	—
4,8	H/H	4 +	4 +	4 +	3 +	2 +	—	—	—
4,8	Buffer/H	—	—	—	—	—	—	—	—
5,2	H/H	4 +	2 +	1 +	—	—	—	—	—
5,2	Buffer/H	—	—	—	—	—	—	—	—
5,8	H/H	1 +	±	—	—	—	—	—	—
5,8	Buffer/H	—	—	—	—	—	—	—	—
6,1	H/H	1 +	±	—	—	—	—	—	—
6,1	Buffer/H	—	—	—	—	—	—	—	—
4,8	O/O	4 +	2 +	±	—	—	—	—	—
4,8	Buffer/O	—	—	—	—	—	—	—	—
5,2	O/O	3 +	1 +	—	—	—	—	—	—
5,2	Buffer/O	—	—	—	—	—	—	—	—
5,8	O/O	2 +	1 +	—	—	—	—	—	—
5,8	Buffer/O	—	—	—	—	—	—	—	—
6,1	O/O	1 +	—	—	—	—	—	—	—
6,1	Buffer/O	—	—	—	—	—	—	—	—

H = humano; O = oveja; P = pollo.

En cuanto a los experimentos con estroma de glóbulos no nucleados (humano y oveja) aun cuando parecen demostrar que el mismo no contiene histona, resultaron muy interesantes pues permitieron extraer una fracción proteica insoluble en medio neutro y soluble en medio alcalino y ácido, capaz de actuar en soluciones como aglutinina inespecífica frente a glóbulos de diferentes especies.

Hasta este momento podemos afirmar pues, que del núcleo o del estroma de diferentes glóbulos elegidos al azar, y esto parecería indicar que la propiedad es general, es posible extraer una fracción proteica (histónica en el caso de los nucleados) capaz de aglutinar los glóbulos de cualquier especie, inclusive los propios, con sensibilidad variada.

RESUMEN

1º — Se describe la propiedad que presentan algunas histonas y protaminas de aglutinar inespecíficamente glóbulos rojos y bacterias.

El título de la histona proveniente de núcleos de glóbulos rojos de pollo es frente a algunas especies de glóbulos de 1/300.000 a 1/500.000 (4 a 2 γ /ml); el título de la protamina (clupeína) es en general menor (8 γ /ml).

Cualitativamente el comportamiento de ambas sustancias difiere en que la histona da lugar a un fenómeno zonal que la protamina no presenta.

2º — Se estudia la influencia de diversos factores (sustancias inhibidoras, calor, acidez).

3º — Se compara la acción de histonas de diversos orígenes; la extraída de núcleos de glóbulos rojos de pavo se comporta en forma muy similar a la de pollo, pero en cambio la histona de timo, no aglutina en ningún caso.

4º — Se demuestra que del estroma de glóbulos rojos no nucleados (humanos y de oveja) también se puede extraer una fracción proteica (insoluble entre pH 6,0 y 8,5) que tiene propiedades de aglutinina inespecífica.

5º — Se discuten estos resultados.

BIBLIOGRAFÍA

- (1) CHAMBERS, L., and HENLE, W. — *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.* **48**: 481-83 (1941).
- (2) THOMPSON, W. H. — *Zeitsch. für Physiol. Chemie.* **29**: 1-19 (1900).
- (3) BANG, I. — *Zeitsch. für Physiol. Chemie* **27**: 463 (1899).
- (4) PLENKE. — *Abderhalden's Handbuch der Biologischen arbeitmethoden*, Abt. 1, teil 8, s. 577 (1922).
- (5) DOUNCE, A. L., and TIEN HO LAN. — *Science* **97**: 584 (1943).
- (6) FÉLIX, K.; HARTENECK, A. — *Zeitsch. für Physiol. Chemie* **157**: 76 (1926).
- (7) HIRST, G. K. — *J. of Exp. Med.* **75**: 49 (1942).
- (8) MARRACK, J. R. — *The Chemistry of Antigens and Antibodies* (1939).
- (9) ACKERMANN, D. — *Zeitsch. für Physiol. Chemie.* **43**: 299 (1904).
- (10) KOSSEL, A. — *Protamines and Histones*, Longmans, Green and Co.
- (11) BANG, I. — *Abderhalden's Handbuch der Biologischen arbeitmethoden*, Abt. 4, teil 3, s. 596.