EL MÉTODO FÍSICO EN BIOLOGÍA

Discurso leído por el

EXCMO. DR. D. RAMÓN PORTILLO MOYA-ANGELER

Inauguración del Curso 1944-1945

el día 24 de noviembre de 1944,

EXCELENTÍSIMO SEÑOR:

SEÑORES ACADÉMICOS:

SEÑORAS, SEÑORES:

Como en tantas ocasiones semejantes, tras la obligada pausa del verano, esta Real Academia reanuda sus tareas con la solemnidad de costumbre y también, como siempre, corresponde a uno de sus miembros el ato honor de dar lectura al discurso de inauguración. ¡Momentos solemnes estos en la vida de la Corporación, que, al lado de las jornadas felices de las recepciones, iluminan como hitos brillantes la senda silenciosa y austera de su labor diaria! ¡Instantes de satisfacción y alborzo de todos sus colaboradores, vueltos al palenque remozadas sus fuerzas, tras la breve tregua, y hora de prueba para aquel que en tales momentos carga sobre sí el gran honor y responsabilidad, hermanados en tan destacada misión!

Cúmpleme a mí en la presente ocasión ser el encargado de desempeñarla, y he aquí que no puedo alegar para descargo propio venir obligado por un imperativo de reglamento, pues si en estos instantes me dirijo a vosotros ha sido por propia voluntad. Cuando el pasado curso nuestro Secretario perpetuo hizo en la primera Junta de gobierno –de la que por inmerecida distinción formo parte- la proposición de si alguno de sus miembros quería encargarse del discurso inaugural, yo, tras intima vacilación, me ofrecí a ello, y bien sabe Dios que si entonces me alisté de buen grado en tan honroso empeño, fue respondiendo a un impulso que en aquel momento anuló cualquier otra razón y no obedecía ni a ansia de exhibición ni a pretenciosa

suficiencia. Se debía simplemente, a que siendo mi colaboración activa con esta Real Academia muy escasa o casi nula, ofrecíaseme la coyuntura de demostrarle que mi parca participación en sus actividades científicas no era motivada por despego ni defección y sí únicamente a una serie de circunstancias que, limitando estrechamente mi tiempo, no me permitían poner al servicio de ella todo lo que por mi gusto hubiera deseado.

Pero con la misma sinceridad con que os digo que no me ofrecí a este cometido con afán exhibicionista, también os confieso que lo hice bajo el espejismo engañoso de la distancia, pues lo que aquel momento pudo parecerme obstáculo relativamente franqueable, sin otro concurso que una extradosis de buena voluntad, hoy, a pocos pasos del mismo, me abruma con su pavorosa magnitud y me hacer ver lo impremeditado de aquel ofrecimiento, sincero y bien intencionado por mi parte, que rebasa con creces la suma de todas mis posibilidades.

Os ruego, pues, aceptéis estas palabras de sincera justificación y al mismo tiempo me otorguéis lustra benevolencia; sólo así podré llegar sin tropiezos al final de mi empresa, hija, insito, del gran afecto y gratitud que de antaño me ligan a la esta Corporación y de un buen deseo puesto a su servicio.

EL MÉTODO FÍSICO EN BIOLOGIA

(Estampas modernas de investigación biofísica)

He elegido como tema de mi discurso el concerniente a la importancia que el método físico tiene en la investigación biológica moderna, no tanto por caer en el plano focal de mis actividades docentes como por juzgarlo de verdadero interés en las actuales orientaciones de las ciencias biológica. La Biología pasa en estos momentos por un estadio en que sus métodos clásicos de investigación resultan impotentes para resolver los numerosos problemas de encendida importancia que tiene planteados y, en consecuencia, precisa para abordarlos de otros medios que sólo otras ciencias son capaces de suministrarlos. De ellas, la Química y la Física, y por ende la Químicafisica, son las que indudablemente más pueden contribuir, como hemos de ver pronto, en esta orientación.

Por otra parte, siendo nuestra profesión, según apuntó en otra ocasión y en este mismo lugar un querido compañero nuestro (1), el puente lógico entre las ciencias naturales puras y las Fisicoquímicas, me ha parecido oportuno hacer notar, desde una tribuna tan elevada como la presente, la singular transcendencia que dichos métodos tienen actualmente en biología, más que nada, por el gran papel que en su utilización puede desempeñar el farmacéutico, a igual distancia, por su formación científica, de las ciencias fisicoquímicas que de las biológicas.

Ha pasado la época en que cada ciencia tenía sus propios métodos de trabajo, suficientes para cada una e inadecuados para las demás. Precisamente una de las características más acusadas de la ciencia actual es la promiscuidad de sus métodos de investigación, ya que al tajante y rígido encasillado de las ciencias de ayer se opone hoy una elástica permeabilidad entre sus más diversas ramas, a tal punto que, aun las más distanciadas en la esencia de su contenido, se simbiotizan en beneficio del conjunto. Donde más se ha manifestado esta cooperación o colaboración ha sido al aplicara a las ciencias de observación los más diversos métodos de trabajo propios de las ciencias experimentales, que han hecho desapareces la vieja divisoria entre ciencias de observación y de experimentación, ya que no se concibe la una sin la otra. Sin embargo, el apoyo que a las ciencias biológicas han prestado las otras ciencias no es

exclusivo de los tiempos actuales, pues desde lejos se muestran ya puntos de contacto; lo que ocurre es que tales asociaciones o concurrencias no se han desarrollado con igual pujanza , y mientras algunas han dado origen a ramas lozanas y espléndidas, como la química biológica, otras apenas son todavía más e brotes tiernos, como la biofísica.

Y, no obstante, es muy posible que entre todas la ciencias sea la Física a la que en antigüedad y beneficio tengan más que agradecer las ciencias naturales, ya que desde hace tres siglos el mundo biológico se ensancha de modo interrumpido gracias al auxilio del microscopio, que abrió vías insospechas a la investigación histológica, citológica y bacteriológica.

Quizás esta manifiesta desigualdad en el influjo ejercido sobre la Biología por la Química y la Física sea debido, en gran parte, al distinto desarrollo de cada una de estas ciencias aisladamente. Por grandes y notables que hayan sido los descubrimientos físicos en los primeros tercios del pasado siglo, no pueden compararse al arrollador empuje de las conquista químicas, y parece natural que, al compás de éstas, las zonas biológicas contiguas a la Química sufran su influencia y acomoden su paso a la marcha de ésta.

Asimismo, cuando por dicha época la Física y la Química se entroncan, dando origen a esa rama a la que la ciencia no pocos de sus notables triunfos –la químicafísica-, el biólogo encuentra en ellas nuevos fundamentos teóricos y nuevas técnicas de experimentación, que le permiten adentrarse, con éxito más o menos lisonjero, en el conocimiento de algunos oscuros problemas fisiológicos. Y a partir de entonces, la Química y la Físcoquímica son los aliados naturales más poderosos con que cuentan en la biología en el esclarecimiento de uno de sus problemas más consustanciales: el de la constitución y características propias de la materia viva.

Más he aquí que la Física, al experimentar el alucinante desarrollo de estos últimos tiempos y revolucionar totalmente el concepto físico del mundo, imprime un nuevo sesgo a todas las investigaciones que guardan relación con el mundo material. Los nuevos hechos ponen en manos de los físicos armas desconocidas hasta entonces, cuyo alcance es prematuro precisar, pero por las primeras escaramuzas, digámoslo así, en que han sido empleadas se puede esperar de ellas resultados insospechados. En lo que concierne a su utilización biológica quizás no se consiga ese ambicioso objetivo de la Biología, el dar con las fuentes de la vida, pero hasta aproximarse a ellas, emplazadas sin duda en los umbrales mismos de la Divinidad, hay todavía una larga cadena de hechos que sólo podrás ser remontada, eslabón a eslabón, con el auxilio de ingenios físicos cada vez más potentes y complejos, rayanos casi en lo sobrenatural.

Un hecho indiscutible es que a medida que se ahonda en el conocimiento de los últimos componentes del mundo material, lo mismo del inanimado que del dotado de vida, los métodos de trabajo pierden sus peculiaridades diferenciales y tano más se aproximan y asemejan a un método único, como radios de una rueda que se acercan a su centro.

Por otra parte, es también indudable que, sin aceptar el extremismo mecanicista de achacar todo el proceso vital a simples fenómenos Fisicoquímicos, por pequeña que sea la partícula inanimada que fundamenta el organismo vivo –hecha abstracción de ese soplo divino que allá en los confines de lo material ha de diferenciar al átomo inerte de la materia viva-, por mezquina que sea , está formada por la materia; esto es, por átomos y moléculas, y por tanto, las fuerzas dominantes entre ellos se dejarán sentir, exteriorizándose bajo las leyes que regulan los fenómenos Fisicoquímicos. Parece lógico pensar, en consecuencia, que la observación de tales fenómenos sólo sea asequible por aquellos métodos propios para esta

clase de especulaciones. Y así como el químico de hoy, por ejemplo, dueño y señor de medios e investigación propios, acostumbrado a trabajar en sus reacciones químicas con multimiriadas de átomos, si quiere observar átomos, moléculas o iones asilados; provocar una destrucción nuclear; seguir una transmutación atómica; saber cómo están distribuidos los átomos en un ordenado cristalino, o averiguar el tamaño y forma de una de esas gigantescas moléculas, base del contenido protoplásmico de una célula viva, abandona sus recursos habituales –ecuaciones estequimétrica, matraces, dializadores, etc.,- y recurre a aparatos físicos más o menos complicados –cámaras de niebla, ultracentrífugas, espectrógrafos de masas, etc., etc.,-, en un porvenir acaso no muy lejano el biólogo afanado en problemas de la más íntima e ínfima dimensión biológica no tendrá más remedio que aceptar el socorro de métodos de la más pura y honda cepa física.

Sin duda, por esto el físico alemán P. JORDAN (2), al pronosticar recientemente el comienzo de una rea de Física biológica, anuncia asimismo, y para plazo no lejano, el nacimiento y desarrollo de una Biología cuantista. Si la armazón del mundo biológico está formada por materia inerte y ésta se rige, en su microcosmos, por los principios propios de las nuevas mecánicas, la cuántica y la ondulatoria, parece natural que estos se extiendan hasta los últimos pilares de aquélla contenidos en la vida orgánica. Pero nada más que al soporte; no podemos imaginar, ni ahora, ni luego, ni nunca, que el gran misterio de la Vida pueda regirse por unos principios de termodinámica, ajustarse a nos postulados cuánticos o ser formulado en una ecuación de mecánica ondulatoria.

De lo que antecede se infiere que el método físico no entra en Biología como un intruso. Llega a ésta por la fuerza de las circunstancias; casi podría decirse por imperativo estratégico, ya que para profundizar más en aquellos puntos a que llegaron las avanzadillas en sus búsquedas biológicas es preciso el apoyo de los más poderosos medios físicos conocidos, verdaderas armas pesadas de la investigación moderna.

Pero aún hay más: hasta hace poco la Biología se constreñía al mundo circunscrito por la capacidad de nuestros órganos sensoriales. Todo lo que escapaba a la percepción de nuestros sentidos no existía para ella. Lo más que consiguió, al amparo de ciertos artificios técnicos , fue entreabrir un a rendija en su microcosmos. Su mundo era, en definitiva, el mundo de lo sensible. Es la Física la que demuestra que este campo, en el que el hombre se enseñorea, no es más que una minúscula parcela del Cosmos, bloqueada en todos sentidos por las más variadas fuerzas naturales que ella misma se afana en descubrir. Y que esta posición agobiante, pero quizás de privilegio, a igual distancia de la lejana estrella que del átomo, según el conocido cálculo de EDDINGTON (3), nuestro reducido mundo se halla sometido perpetuamente al influjo de esas potentes fuerzas circundantes, cuyos efectos todavía nos son desconocidos en un amplio margen. La Física de hoy es la física de esos Infra y ultradominios cuya exploración pone cada día en manos de los hombres hechos nuevos sorprendentes y recursos a su vez más maravillosos.

Ondas Infra y ultra sonoras, rayos infrarrojos, ondas ultravioleta, rayos X y electrónicos, radiaciones cósmicas, etcétera, etcétera, he aquí una serie de fuerzas misteriosas ajenas a nuestro limitado mundo habitual, cuyas acciones sobre el Cosmos biológico constituyen temas apasionantes en la Biología del día. Apenas si en la hora presente hay dibujadas algunas sendas en tan diversos derroteros, pero ¿ a qué verdades y a qué misterios conducirá cada uno de ellos?

Sería ardua empresa la exposición de los fundamentos y resultados de los diversos métodos físicos aplicados en la investigación biofísica; la sola enumeración de ellos constituiría una larga y enojosa labor. Baste señalar que actualmente todos los capítulos de la Física y de la

Fisicoquímica contribuyen con su granito de arena a la construcción del edificio: métodos mecánicos, eléctricos, electromecánicos, electroquímicos, térmicos, electrotérmicos, acústicos, magnéticos, ópticos, roentgennométricos, radiométricos, etc., etc.; en fin, todos los que conocen y manejan aquéllas, han sido aplicados sin reservas al estudio de los procesos biológicos. Por esto he preferido entresacar de ellos algunos de los más destacados, o por los frutos ya producidos o por los que parecen prometer, dominios y métodos todos, que en el firmamento de los estudios biológicos presentes se vislumbran como brillantes conglomerados estelares. Tales conjuntos, que os vaya presentar como estampas modernas de investigación biofísica, se refieren a temas tan sugestivos que para resaltar su belleza bien requerirían una pluma muy diferente de la mía.

DE LA VISIÓN MICROSCÓPICA A LA HIPERMICROSCOPÍA

Pocos instrumentos físicos, seguramente, habrán prestado a la humanidad servicios tan grandes como el microscopio. Desde su aparición en la ciencia (siglo XVII) hasta los momentos de mayor apogeo en su perfeccionamiento técnico (fines del XIX) no ha hecho más que rendir beneficios, no sólo abriendo a los ojos del hombre los misterios de un microcosmos des-conocido, sino haciendo brotar, a su socaire, ciencias nuevas y benéficas, como la Bacteriología e Inmunología.

Creencia muy extendida, aun en épocas relativamente cercanas, fue que las posibilidades del microscopio eran ilimitadas, siendo para el hombre el arma poderosa que habría de permitirle escudriñar, sin cortapisa alguna, las reconditeces más ínfimas del ancho mundo de lo infinitamente pequeño. Bastaba simplemente ir superando, paso a paso, el poder de penetración del instrumento, y esto parecía sólo un problema de posibilidades técnicas. Por eso causan sensación los trabajos de ABBE, que frenan, inesperadamente, la "carrera de aumentos" emprendida por los constructores. De aquellos trabajos resulta que las posibilidades del microscopio no sólo no son ilimitadas, sino, por el contrario, más reducidas de lo que podía imaginar, y tal limitación viene impuesta, no por deficiencias de su construcción, sino por algo íntimamente ligado a toda observación al microscopio: la propia naturaleza de la luz.

En efecto; el microscopio, como se sabe, no hace más que agrandar el ángulo visual baja el cual llegan a nuestra retina los rayos luminosos procedentes de un objeto. El valor mínimo de este ángulo es, aproximadamente, de un minuto, porque la constitución anatómica de la retina no permite una separación angular más pequeña entre dos puntos de un objeto; esta distancia mínima es de unas 0,2 a 0,3 mm, y por debajo de ella el ojo humano es incapaz de percepción alguna. Con el microscopio compuesto, objetos de dimensiones mucho más pequeñas, agrandados sucesivamente, primero por el objetivo y después por el ocular, llegan a nuestra retina en haces luminosos más abiertos, y aparentemente, se nos muestran como imágenes varias veces aumentadas en su tamaño. Pero la relación entre este tamaño aparente de la imagen y el real del objeto, o sea el aumento, no define la potencia de un microscopio, porque dicha relación puede hacerse prácticamente todo lo grande que se quiera. Aumentar hasta el infinito la imagen de un objeto no quiere decir que en aquella aparezcan forzosamente todos los elementos indefinidamente pequeños que lo constituyen. Se debe a ABBE el descubrimiento que ha la distancia mínima entre dos puntos, que un sistema óptico puede representar separados, depende de la longitud de onda de la luz empleada, y está dada por la relación $d=\lambda/2A$, en la que A es la apertura numérica del sistema. De aquí que cuento menor

sea dicha longitud de onda tanto menor debe ser la distancia que ha de haber entre dos puntos para distinguirlos separados, y , por tanto, mayor número de detalles aparecerán en la imagen. Como la luz visible de longitud de onda más corta es del orden de las 400 mμ, la mayor resolución que puede obtenerse con iluminación oblicua y una buena apertura es, aproximadamente, de unas 200 mμ, o sea, en números redondos, que el microscopio óptico lleva a lo sumo a un aumento de unas 2000 veces el tamaño del objeto, valor que no puede rebasarse en tanto no se ilumine aquel con una radiación de longitud de onda más corta.

Pero también en la ciencia, lo mismo que en la vida, ocurre a veces que si una puerta se cierra otra se abre, y a la desoladora conclusión de lo limitado del poder resolutivo del microscopio propuso ABEE la alentadora esperanza de un posible hallazgo de otras radiaciones más pequeñas (4). Naturalmente, no se refería a los rayos ultravioleta invisibles, que marchan inmediatamente detrás de los rayos de la luz visible, sino a otras radiaciones que pudiesen encontrarse, y entretanto propuso utilizar aquéllas, ya bien conocidas entonces, originándose así la microscopia de fluorescencia o ultravioleta, que perfeccionada más tarde permitió ensanchar algo más las fronteras del microscopio óptico, puesto que se logró alcanzar las 100 mμ en números redondos.

Y no obstante, en este mundo invisible, comprendido entre la magnitud de las 100 mμ (10^{-4}), límite imperfectamente observado con el microscopio de fluorescencia y el tamaño de ciertas individualidades químicas, como, por ejemplo, una molécula gigante de albúmina, cuyas dimensiones del orden de la millonésima de milímetro (2mμ) (10^{-6}), se habían perfectamente calculado por otros caminos, existía un mundo incógnito, que, nueva Tierra Prometida, parecía vedada a la ambición curiosa del hombre.

Lo que significa esta faja de dos unidades en las potencias de 10 nos lo dice, sencillamente, pensar que lo que el microscopio ordinario hace llegar a nuestro ojo como un simple punto, para un poder de resolución cien veces superior, aparecería como una imagen constituida por 10.000 representaciones de aquel elemento. Valía la pena buscar una radiación que, confirmando la predicción abbeiana, pusiese en nuestras manos la llave de ese mundo; mas en aquella época no se conocía aún bien la esencia de muchas radiaciones y sólo hallazgos posteriores, ajenos por cierto totalmente a este propósito, permitieron alargar el campo de las radiaciones electromagnéticas hasta los confines de los rayos cósmicos, pasando por los X, los gamma y los rayos electrónicos

Sin embargo, para los rayos Roentgen y λ, si bien tienen longitud de onda más corta que la luz visible, no hay medios ópticos adecuados que los desvíen de su trayectoria, de modo análogo a como lo hacen las lentes con la luz ordinaria; sólo los rayos electrónicos, por su naturaleza corpuscular, pueden experimentar en campos eléctricos y magnéticos desviaciones semejantes, y como su longitud de onda asociada para una determinada tensión aceleratriz es mucho menor que la de la luz ordinaria, cabía utilizarlos como tales radiaciones iluminantes.

El problema, como se comprende, estaba erizado de dificultades; la primera de ellas era encontrar campos electrostáticos o electromagnéticos que desviando los electrones de sus trayectorias los reuniese en puntos determinados, igual que una lente convergente hace concurrir en los focos los rayos luminosos. Afortunadamente, esta primera dificultad se resolvió de modo más sencillo de lo que se creyó al principio, pues en el caso más simple de un campo magnético uniforme los electrones describen trayectorias helicoidales que concurren en un punto común. Otra de las grandes dificultades consistía en la disminución de la distancia focal, muy grandes en las primeras construcciones, ya que cuanto más pequeña es ésta mayor será el aumento obtenido. Gracias a los trabajos de RUSKA (5), encerrando la bobina en una coraza de hierro, dejando una pequeña abertura central y poniendo piezas polares (fig. 1a), se

puede condensar más el campo, obteniéndose distancias focales de muy pocos milímetros. Tal es, a grandes rasgos, lo que constituye una "lente electromagnética".

De la misma manera que un microscopio ordinario de proyección en su forma más simple consta de una lente condensadora, otra objetivo y, finalmente, otra de proyección (figura 1 b, izq.), el microscopio electrónico magnético está formado por varias "lentes magnéticas", que desempeñan idénticos cometidos. En este caso, sin embargo, su construcción está condicionada por la naturaleza de los rayos electrónicos aquí utilizados. Este manantial electrónico está constituido por un cátodo frío; que emite haces electrónicos a una tensión elevada, los cuales, después de atravesar el diafragma anódico, se concentran sobre el objeto mediante una bobina condensadora (figura 1 b, dcha.); los rayos electrónicos que parten ahora de los diferentes puntos del objeto, por medio de una nueva pieza polar que actúa como objetivo, se reúnen, formando una primera imagen aumentada, la cual ampliada de nuevo por la lente magnética de proyección forma la imagen definitiva sobre una pantalla fluorescente, pudiendo observarse directa mente o recogerse en una placa fotográfica.

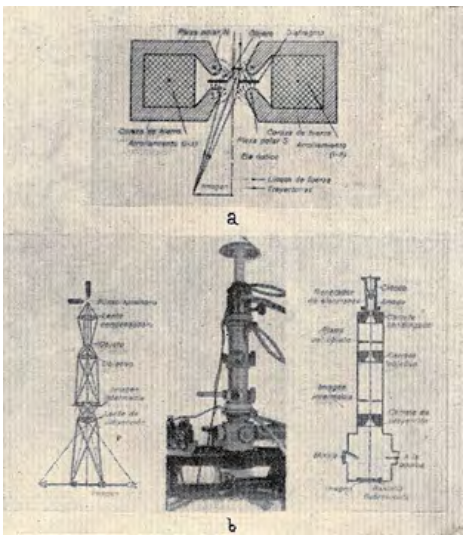

Fig.1 -a) Trayectorias que los electrones en una lente magnética acorazada, de distancia focal corta, según Ruska y v. Borries. -b) Primer hipermicroscopio de lentes electrónicas magnéticas y gran poder de resolución de E. Ruska (1933). Los dos esquemas laterales muestran, comparativamente, la formación de la imagen en el microscopio electrónico (derecha) y en el de luz ordinario (izquierda).

Ahora bien, para obtener una radiación electrónica lo más penetrante posible es preciso emplear una tensión aceleratriz muy elevada, de unos 80.000 voltios, y además que el recorrido de los electrones se verifique en el vacío, lo que obliga a que todo el aparato sea metálico y a vaciarlo con bombas de difusión de mercurio. Como al mismo tiempo las distancias focales de los sistemas electromagnéticos dependen tanto de la tensión de aceleración como de la intensidad de corriente en los mismos, es preciso mantener una extraordinaria constancia en ambas, mediante el empleo de tamices estabilizadores. Además, en los grandes aumentos las conmociones más pequeñas o la introducción de campos magnéticos variables débiles, como el campo terrestre, producen debilitamientos de la imagen, que no permiten obtener fotografías bien definidas; y si a esto se unen las dificultades inherentes a la preparación previa de los objetos para la observación, nos haremos cargo de

los múltiples inconvenientes que ha habido que vencer hasta llegar a resultados positivos. Todos ellos, sin embargo, han sido superadas tras un trabajo largo y penoso, pero actualmente el manejo del hipermicroscopio es relativamente fácil, cómodo y exento de peligro, no obstante utilizar tensiones que, en los más modernos, llega hasta 250.000 voltios. Las figuras 2 y 3 muestran los hipermicroscopios de RUSKA y van BORRIES, de la Siemens &. Halske, y el de von ARDENNE, en el laboratorio de investigaciones físicas de electrones, en Berlín.

Como no existe ninguna sustancia que se comporte frente a los electrones como el vidrio respecto a la luz, todo cuerpo ofrece una cierta resistencia a ser atravesado por los rayos electrónicos, resistencia directamente proporcional a la densidad y espesor del mismo. Esto quiere decir que la imagen obtenida con el microscopio electrónico nos da una representación de cómo está distribuida la densidad en el objeto, dándonos cuenta de la formación de la imagen, admitiendo que por los sitios de mayor densidad pasarán menos electrones al perderse por difusión, mientras que las partes menos densas serán atravesadas por más, produciéndose, en consecuencia, en las placas fotográficas ennegrecimientos inversos en relación a los espesores atravesados. En el microscopio electrónico se hace uso casi siempre de preparaciones muy finas, entre otras razones porque absorben una pequeña cantidad de radiación y el calor desarrollado es muy pequeño.

Más importante es el efecto nocivo que pueden tener el vacío y los electrones sobre los seres vivos. El primero, por sí solo, apenas si tiene influencia en las bacterias; no así con los electrones, que las matan invariablemente; pero este inconveniente no es exclusivo del supermicroscopio, ya que los tratamientos químicos previos de la microscopia ordinaria hacen lo propio en la mayoría de los casos.

El primer microscopio electrónico, construido por RUSKA (5) en 1932, no logra superar el poder resolvente del microscopio óptico; hay que llegar a 1938 para que RUSKA y von BORRIES, ya en la Siemens, alcancen los 10^{-5} mm., y un año más tarde consiguen las siete millonésimas de milímetro. A finales de 1939, von ARDENNE, del laboratorio antes citado, perfeccionando sus técnicas, consigue llegar a las tres millonésimas, lo que quiere decir que el poder de definición del microscopio óptico ha sido rebasado casi en dos órdenes de magnitud, pero al mismo tiempo, el mismo autor, logra por vez primera la obtención de imágenes electrónicas sobre fondo oscuro (6).

En los momentos actuales puede decirse que el aumento útil del microscopio electrónico ha llevado desde los 2.000 diámetros del microscopio de luz a los 30.000, que prácticamente corresponde a un poder de resolución de unas 10 mμ, lo cual no es todavía, ni con mucho, el limite teórico. En estos últimos años los progresos conseguidos se han orientado preferentemente hacia la investigación sistemática de las distintas causas de error en la formación de la imagen y su posible eliminación, única manera de lograr rendimientos útiles mayores.

La historia de la investigación microscópica demuestra con holgura que los progresos realizados en ella han dependido del rendimiento de los instrumentos de trabajo, y así como el perfeccionamiento técnico en la construcción del microscopio óptico, en los comienzos de nuestro siglo, llevó a un gran avance en los conocimientos acerca de los más pequeños seres vivos, cabe esperar ahora resultados análogos en el nuevo campo que se abre ante la microscopia electrónica.

La sola enumeración de los resultados conseguidos en esta primera época en que nos hallamos, en realidad de iniciación, constituiría una exposición monótona. Baste decir que al presente gran número de los problemas planteados a la microscopia óptica, al borde mismo de su divisoria con la electrónica, han sido aclarados, y los que no lo fueron, fue por falta de una técnica apropiada de observación. Otros problemas, en cambio, más adentrados en los feudos propios del hipermicroscopio, han dado resultados tan sorprendentes que constituyen sus grandes conquistas. Muy rápidamente esbozaremos algunas de ellas.

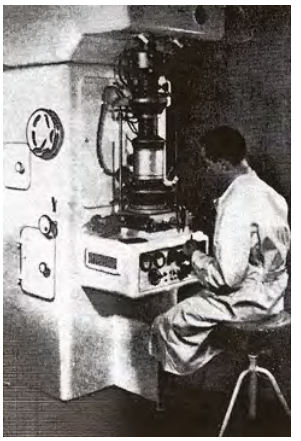

Fig. 2.-Hipermicroscopio según K. Ruska y B. v, Borries, de la Siemens & Halske A. G. Berlín, en su laboratorio para hipermicroscopia (1939).

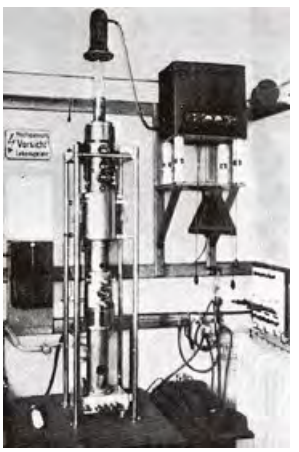

Fig. 3.-Microscopio electrónico universal de von Ardenne, para campo claro, campo oscuro y estereoscopia, con instalación de calentamiento hasta 2000º C. Aumento regulable de 5.000 a 500.000. Tensión hasta 220 kv. Del Laboratorio de Investigaciones Físicas de Electrones. Berlín-Lichterfesld-Ost. (1942).

Tres temas fundamentales han sido siempre objeto preferido de la microscopia ordinaria: uno, la investigación celular; otro, el descubrimiento de microbios, y el último, más reciente, la búsqueda, casi siempre infructuosa, de virus. Todo lo conseguido en estas tres cuestiones está en relación con la magnitud del campo visual, donde cae el objeto de estudio y así, los más abundantes y lejanos hallazgos pertenecen al dominio de la citología, le siguen los bacteriólogos, y, finalmente, apenas si había algo más que presunciones en el terreno de los virus. Al penetrar en los dominios del microscopio electrónico parecía lógico que tal relación se mantuviese, correspondiendo los más numerosos y daros resultados a la investigación celular; pues bien, no ha sido así, y hasta los momentos presentes, los grandes triunfos de la microscopia electrónica caen en los dos últimos campos. La razón estriba en las enormes dificultades de conseguir preparaciones para la investigación de células cuyo espesor permita la observación de su estructura, y de ahí que la casi totalidad de los interrogantes formulados de antiguo sobre la estructura del protoplasma, núcleo, cromosomas, sustancias intercelulares, etc., en los límites mismos del poder resolutivo del microscopio de luz, sigan culebreando en el aire sin haber sido apenas respondidos

No obstante, algo se ha logrado, y como muestra véanse las imágenes electrónicas representadas en las figuras siguientes: La Figura 4,a) corresponde a una preparación obtenida por JAKOB y MALH (7), con su microscopio electrostático a 4.000 aumentos, de los corpúsculos de la sangre de un enfermo de leucemia, en la que los glóbulos rojos aparecen hemolizados, siendo perfectamente visibles las membranas de dichos glóbulos, descritas por vez primera por RUSKA; en la parte superior de la misma preparación, y sobe unos eritrocitos, es visible un leucocito. En la misma figura, b, c, d, e y f), que hasta ahora no habían podido ser observados, desde su estructura granuloide hasta su papel de centro de coagulación, pasando por diversos estadios, tan notables, como los de la formación de seudópodos y vacuolas (8).

También se ha conseguido algo respecto la estructura de los cromosomas. La figura 5, a) representa la estructura fina de un haz de cromosomas del núcleo de un óvulo de ratona; mientras los bordes de los filamentos se dibujan claramente, la estructuración interna, a causa de la difracción espacial de los electrones, aparece muy borrosa. En cambio, en b) se reproduce una magnífica preparación, de von ARDENNE y FREKSA, de un cordón cromosómico de una célula de la mosca de los frutales (Drosophila melanogaster), con los nudillos de ácido nucleínico muy visibles, y apreciándose difícilmente en la parte inferior, como una especie de envoltura, debido probablemente a una hebra desplazada del haz central.

Por lo que se refiere a la investigación bacteriológica, a su vez han sido aclarados puntos que conciernen no sólo a la morfología bacteriana, sino a su estructuración y destrucción. Así se ha visto que algunas bacterias presentan una estructura interna muy perceptible (fig. 6, a y c); otras muestran, además, una estructura periférica, como el Typus gallinaceus (fig. 6, b); asimismo se ha reconocido que la presencia de flagelos en muchas bacterias es muy superior a

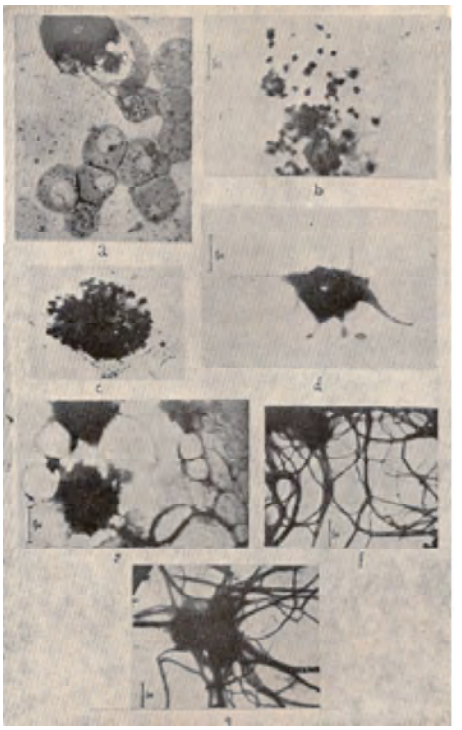

Fig. 4. –a)Glóbulos de sangre de un enfermo de leucemia mieloide, en los que es visible la membrana desscrita por primera vez por E. Ruska. En la parte superior de la prepararación, y sobre los eritrocitos bemolizados, se observa un glóbulo blanco. Jakob y Malh. AEG. 4.000: 1 –b) Porción granulada y no granulada de una plaqueta de la sangre. Siemens & Halske, 9.000 : 1 –c) Plaqueta de la sangre. Siemens. –d)Plaqueta del estadio de formación de seudópodos. Siemens & Halske 9.000 : 1. –e) Estructura fina de fibrina. Entramado preferentemente micelar. Aparecen muy claros los puntos de engarce de las micelas. Wolpers-Ruska-Siemens. –g) Plaquetas de la sangre como centro de coagulación. Obsérvese una yuxtaposición de fibrina y de haces de micelas. Wolpers-Ruska-Siemens.

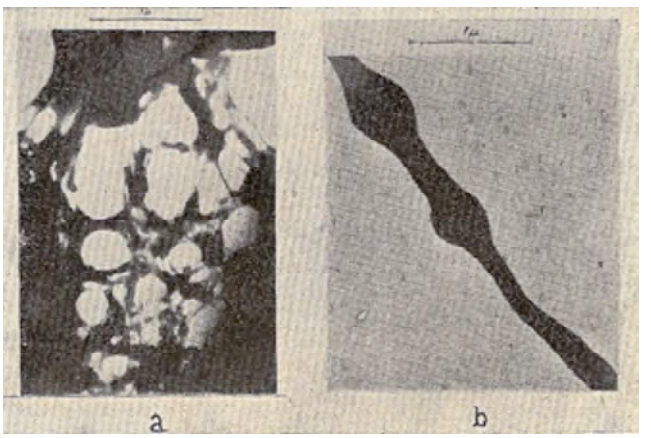

Fig. 5. –a) Estructura fina de una haz de cromosomas del núcleo de un óvulo de rata. Por v. Ardenne y Freska. –b) Cordón cromosómico de una célula de la Drosophila melanogaster, con nudos de ácido nucleínico. En la fotografía original se aprecia en la parte inferior del mismo, como una cubierta que parece envolverlo; probablemente se trate de un hacecillo lateral desplazado del haz central. D. v. Ardenne y Freska.

lo que se había sospechado (fig. 6, d, y 7, a), formando en algunas de ellas verdaderas marañas. Respecto a su destrucción, se han podido observar distintos estadios de ésta y la diferente resistencia que a la misma muestran diversas zonas del protoplasma (figura 7, c), observándose que, en general, precede siempre a tal destrucción el abandono por la bacteria de su cubierta, como descubre la magnífica preparación de JAKOB y MAHL (figura 7, b) de la AEG. Pero uno de los más rotundos éxitos en este campo ha sido la confirmación de la existencia de los "bacteriófagos", los pequeños corpúsculos considerados como enemigos de las bacterias, cuya realidad presentida no fue posible evidenciar hasta hoy. En la figura 7, d), se reproduce otra espléndida preparación de los citados JAKOB y MAHL, lograda en un estadio de la lucha de los bacteriófagos, visibles como diminutos curpusculillos ovales provistos de pequeña cola, contra un bacilo de SHIGA-KRUSE, ya casi destrozado.

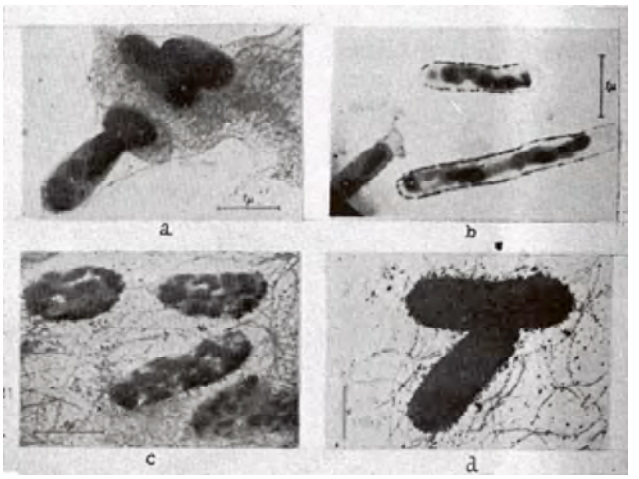

Fig. 6. –a) Estructura interna del *Bact. putrificus verricosus*. Jakob y Malh. 20.000 : 1. Aeg –b) Typus gallinaceus. Células con estructura periférica. Siemens & Halske. 14.000 : 1. –c) Estructura interna del Bact. proteus. Aunque se aprecia claramente granulaciones dentro del cuerpo de la bacteria, con ello no queda resuelto aún el viejo problema de la existencia en éstas de núcleos celulares. Tales estructuras se observan de preferencia en cultivos viejos. Jakob y Malh. AEG. 25.000 : 1. –d) Bacterias con flagelos. Es digno de notar, en contra de lo que se admitía generalmente, el gran número de éstos y sobre todo la gran cantidad de pequeños corpúsculos que los acompañan, los cuales se aglomeran notablemente en las proximidades del cuerpo de la bacteria. Jakob y Malh. AEG. 25.000 1.

Finalmente, respecto la investigación en el terreno de los virus, los primeros resultados han eliminado completamente el concepto de virus ultravisibles. Las especies de virus más pequeñas -las virus-proteínas-, si son correctas las medidas indirectas obtenidas por otros métodos, no deben ser notablemente inferiores a 10 mμ, límite actual del hipermicroscopio; por tanto, caen dentro de su campo visual. La dificultad grande está en que la investigación de los virus de las más distintas especies, implica especiales exigencias respecto de pureza de los

preparados, exigencias tanto mayores cuanto más pequeña es la especie del virus. Hasta ahora, los resultados más concluyentes se han obtenido con aquellas virus-proteínas cuya preparación en estado cristalino y de gran pureza era posible gracias a los trabajos de STANLEY (9), como pasa con los denominados "mosaico del tabaco" y el "X" de la patata; en cambio, en los virus de la viruela, mixoma, poliomielitis, glosopeda, etc., cuya obtención en grado de extrema pureza es todavía muy difícil, resulta prematuro emitir juicio firme sobre si las imágenes logradas corresponden o no a verdaderos virus, ya que las partículas de albúmina existentes fuera de las células y que impurifican los preparados, son muy semejantes. Colindante con este campo se halla ya el de algunas magnitudes moleculares; sobre este particular merecen mencionarse las primeras fotografías de moléculas obtenidas por van ARDENNE en 1940. y que se refieren a una hemocianina y a la edestina, como ilustra la figura 8, a y b).

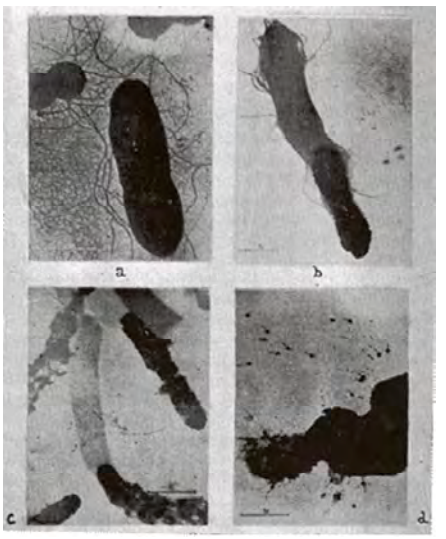

Fig. 7. -a) *Bacteria con flagelos*. Son perfectamente visibles el gran número de flagelos que envuelven la bacteria en una maraña. En la preparación son visibles un Bact. tetanus, al que corresponden los flagelos, y unos cocos del pus que muestran un borde muy limpio. Jakob y Malh. AEG., 37.000 : 1. –b) *Bact. tertius* escapándose de su cápsula. La imagen reproduce el instante en que el protoplasma celular abandona la membrana. Jakob y Malh. AEG. 19.000 : 1. –c) Destrucción de bacterias. Nótese que las bacterias han perdido su cubierta protectora. Probablemente entonces empieza la destrucción. Se aprecia claramente que los extremos de los cuerpos bacterianos no están tan descompuestos como el resto, probablemente debido a que estas zonas polares tienen una constitución más resistente. Jakob y Malh. AEG. 27.000 : 1. –d) *Bacteriófagos.* Bacteria de la disentería atacada por bacteriófagos. La preparación muestra al bacilo de Shiga-Kruse parcialmente destruido por el enjambre de bacteriófagos que, como pequeños corpúsculos ovales provistos de una minúscula cola, aparecen rodeándolo. Jakob y Malh. AEG. 28.000 : 1.

Naturalmente, quedan muchísimos problemas, en todos los campos, planteados a la microscopia electrónica, que el tiempo probablemente ha de resolver; entre ellos se encuentra el que se refiere a la propagación de los virus, que en la mayoría está íntimamente ligado,

posiblemente, a su evolución en el interior de la célula viva, pero para ello hay que comenzar por llegar al convencimiento de la existencia de virus intercelulares, cosa que hasta el presente no ha sido vislumbrada, como tampoco lo están los caminos que pueden conducir a dar respuesta a tantos interrogantes existentes.

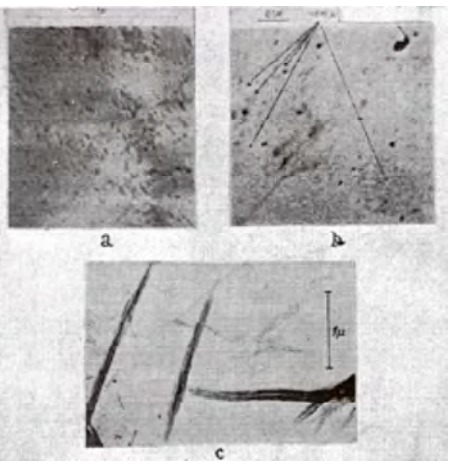

Fig. 8. -a) Primera fotografía de moléculas. Moléculas de Hemocianina por v. Ardenne y Freska. -b)Moléculas de Edestina sobre una capa de colodión, por v. Ardenne y Beische. –c) Proteína "cristalizada" del virus "mosaico del tabaco". Siemens. 16.000 : 1.

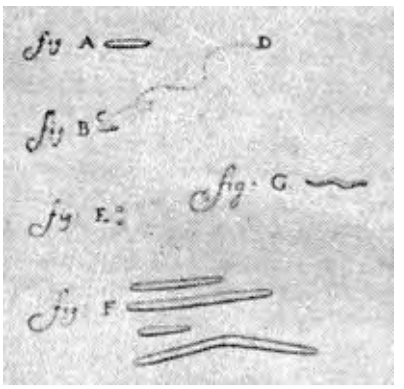

Fig. 9. Antigua representación de bacterias, según *Leeuwenhoek* (1683). Merece notarse ya en ella las formas fundamentales de bacilo (A), coco (1), y espirilo(G), así como el movimiento propio de algunas de éstas (B, C, D):

Cuando se piensa en los magníficos resultados conseguidos con el microscopio ordinario, no obstante su limitación, son muchos los que se preguntan si la nueva microscopia será tan fecunda. Seria prematuro responder categóricamente a tal pregunta, tanto en pro como en contra. Enjuiciándola, sin embargo, con serenidad recordemos, por una parte, que entre lo que el ojo percibe por sí solo y lo que ve con ayuda del microscopio hay un mundo tan vasto como el abarcado por el electrónico, y por otra, desde el descubrimiento de LEEUWENHOEK (figura 9) hasta los trabajos de esa brillante galaxia de sabios que se llamaron PASTEUR, KOCH, ROUX,

BEHRING, FERRAN y tantos más, mediaron casi trescientos años, frente a los cuales no son nada los dos lustros apenas que la hipermicroscopia cuenta en la Ciencia como método de trabajo. Quizás nada responda mejor a dicho interrogante que unas proféticas palabras de ABBE (4), escritas en 1878; casi a raíz de reconocer la imposibilidad de rebasar los límites de la microscopia óptica, y que encierran además una hermosa lección de confianza alentadora en el porvenir de la Ciencia; son éstas:

"Después de todo, lo que cae bajo el Círculo visual de nuestros conocimientos tiene un límite, impuesto a la capacidad de nuestros órganos de la visión por la naturaleza misma de la luz, límite que no podremos rebasar con los recursos que nos suministra el conocimiento actual de la naturaleza. Naturalmente, nos queda el consuelo de pensar que entre el Cielo y la Tierra hay todavía muchas cosas en las que nuestra ignorancia ni siquiera ha soñado. Quizás en el porvenir la inteligencia humana utilice procesos y fuerzas que le permitan, por otros caminos distintos de los de hoy, desbordar las barreras que ahora se nos muestran como infranqueables. Tal es mi sentir; pero también creo que aquellos artificios que en su día logran ayudar a nuestros sentidos en el conocimiento de los últimos elementos del mundo material, mucho más eficazmente que los actuales microscopios, seguramente no tendrán con éstos otra cosa de común que el nombre."

La Ciencia no tiene patrias; como el Sol, nace para todos; pero es muy cierto también que muchos capítulos de ésta nacen y se desarrollan dentro de unas fronteras gracias al genio de un hombre. Varios ejemplos pueden citarse, y entre ellos, sin duda, uno de los más característicos es el de la microscopia óptica, de tradición francamente alemana. Su continuación con el descubrimiento y perfeccionamiento del microscopio electrónico constituye, por si mismo, el homenaje más hermoso que la ciencia de un pueblo puede rendir a uno de sus sabios más representativos (10).

EN LA REGION DE LAS ONDAS ULTRASONORAS

Una mirada al campo de la Física basta para cerciorar como los distintos capítulos de ésta que se ocupan de la energía en sus diversas manifestaciones, al desplazarse hacia los dominios propios de la Química, forman con ella, los más firmes puntales de la Quimicafísica. El calor, la electricidad, la luz, hasta el magnetismo, al entrometerse en procesos químicos, dan origen a esas ciencias filiales que se llaman termoquímica, electroquímica, fotoquímica, magnetoquímica.

Sólo un capítulo de la Física, y por cierto uno de antecedentes más antiguos, la acústica,

permanece ajeno e indiferente, como islote desierto, ante ese impulso de establecer contacto con la Química. Mas la Ciencia moderna, en su afán insaciable de no dejar sin provecho la más pequeña aportación energética, sea cual fuere su manifestación, saca del olvido las vibraciones que constituyen el sonido -al fin y al cabo, fuentes de energía-, y del brote del nuevo vástago de la acústica, la "ultraacústica", o acústica del" ultrasonido", surgen en sus relaciones con los procesos químicos una serie de fenómenos que podrían ser las primicias de una nueva ciencia: la fonoquímica.

Las acciones fisicoquímicas que ejercen estos "ultrasonidos" en los diversos sistemas químicos son en extremo interesantes y su conocimiento es preciso para la comprensión de los efectos producidos por tales ondas en el mundo biológico, ya que la casi totalidad de éstos son consecuencia de los provocados en aquéllos.

Se conoce en acústica como ultrasonido el campo de vibraciones sonoras cuya frecuencia de vibración, muy rápida, rebasa los límites de percepción del oído humano. Los sentidos humanos, como se sabe, son en extremo limitados, y así como la luz visible constituye una minúscula faja, casi imperceptible, en la desmesurada extensión de las radiaciones electromagnéticas, la región auditiva del oído es también una estrecha porción del vasto campo de las ondas acústicas (11).

También como en la luz, todo lo que está fuera de esas fronteras es insensible para el sentido humano, y la región de; los sonidos *ínfra,* igual que la de los *ultra,* es tan inapreciable para su oído, como para su ojo lo son los rayos infrarrojos o los ultravioleta.

La anchura de esta zona de sonidos que el hombre puede percibir está comprendida, en números redondos, entre las 20 y 20.000 vibraciones por segundo, o, expresado de otra manera, entre los 0,02 y 20 kH. (kilohercios). Fuera de, ella no existe sonido para el hombre, aun cuando las vibraciones dancen a su alrededor y aunque haya otros organismos o artificios técnicos capaces de percibirlas o registrarlas. Algo semejante a lo que ocurre con las radiaciones luminosas, en las que si bien el hombre es insensible al infrarrojo y al ultravioleta, otros organismos y ciertas emulsiones fotográficas no lo son en cambio.

Seguramente las causas fundamentales por las que el sonido perceptible por el oído del hombre no ha encontrado en Química las aplicaciones de las otras formas de energía son dos. Una, la pobreza energética del sonido normal, que representada por su equivalencia en trabajo llega, en su máxima intensidad, a unas mil millonésimas de vatio (10^{-9} w/cm^2). Para hacerse cargo de lo que representa esta diminuta magnitud pensemos que si el sonido que yo emito en estos momentos, poco más o menos de la magnitud indicada, fuese absorbido totalmente, mediante un artificio cualquiera, por una capa de agua de un centímetro de espesor y pudiese ser transformado íntegramente en energía calorífica, para elevar su temperatura *un grado* sería preciso que os leyese este discurso durante unos cien años.

Evidentemente, hay sonidos mucho más intensos que la voz humana; su energía debe ser por consiguiente muy superior, pero no mucho más, como equivocadamente pudiera creerse, desde el punto de vista práctico. La intensidad del sonido producido al disparar un cañón, es un instante, y en la boca misma de fuego, un millón de veces superior al normal, es decir, ya llega a una milésima de vatio; la capa de agua del ejemplo citado elevaría un grado su temperatura solamente en una hora, pero si durante ella fuese ininterrumpido el estruendo del cañonazo. Pues bien, ni aun así; es más, ni aun utilizando las enormes cantidades de vibraciones acústicas derrochadas en estas gigantescas batallas que asuelan Europa y destruyen tanta vida humana, la energía acústica, transformada, sería capaz de provocar ninguna de las infinitas transformaciones que ordinariamente en química se engendran con otros medios energéticos.

La otra causa se debe a que las vibraciones sonoras normales son de muy baja frecuencia; es decir, muy lentas en comparación con las vibraciones normales de las moléculas, y por tanto quedan descartados de cualquier proceso molecular los efectos provocados por la resonancia.

Con los recursos actuales de que dispone la técnica moderna es posible rebasar fácilmente los confines de las ondas audibles y extender las ultrasonoras hasta el límite de los 500 millones de vibraciones por segundo, o sea los 500.000 kH. En esta vasta región de oscilaciones comprendida entre los 20 y los 500.000 kH., que significa unas 15 octavas por encima de los sonidos perceptibles, ya es factible penetrar en los dominios de las frecuencias moleculares (12).

Parece muy probable que en la naturaleza abunden estas ondas ultrasonoras más de lo que creemos y además haya organismos capaces de engendradas y de recogerlas. Sobre esto la investigación actual sabe muy poco, pero son bastantes los biólogos que atribuyen la facultad de entenderse en insectos y peces, a la producción y captación de estos ultrasonidos. Un hecho confirmado es que a menores dimensiones del emisor vibrante corresponde mayores frecuencias de vibración; no es descabellado, por tanto, suponer que ciertos minúsculos animales estén capacitados para emitir ondas de este tipo; el agudo chillido del ratón o el estridente y monótono "cántico" del grillo caen ya en el borde mismo de las vibraciones audibles.

Artificialmente hay muchos fenómenos en los que tales vibraciones se producen. Mecánicamente, la fricción de un rodamiento mal engrasado o la vibración de un silbato o sirena las originan. Ya KONIG (13), hace cuarenta y cinco años, demostró que diapasones de dimensiones reducidas engendran, frecuencia hasta de 90 kH.; mas las vibraciones acústicas así obtenidas, por su pequeña energía y fácil amortiguación, carecen de interés práctico alguno.

En la actualidad, para las aplicaciones técnicas de las ondas ultrasonoras, como las muy

divulgadas del reconocimiento de obstáculos submarinos, de la clase que sean, o para fines de investigación científica, son dos los métodos que fundamentalmente se utilizan. Uno tiene por base el fenómeno de la magnetoestricción; el otro, el de la piezoelectricidad. En ambos, oscilaciones eléctricas se transforman en vibraciones elásticas; esto es, acústicas.

El primer método se asienta en el efecto JOULE, o "magneto estrictivo", que consiste en someter una barrita de un cuerpo ferromagnético a la acción de un campo magnético alterno; al unísono de la imantación rítmica de la varilla metálica sufre ésta variaciones periódicas de longitud, que se traducen en vibraciones longitudinales elásticas. La máxima amplitud de vibración de esta barrita se alcanza cuando la frecuencia de la corriente eléctrica alterna coincide con la frecuencia mecánica propia de aquélla (14).

Mucho más importante es el segundo método, ya que con él se consiguen frecuencias hasta de varios cientos de millones de hercios. La piezoelectricidad, descubierta por los hermanos CURIE en 1881, consiste en que cristales con ejes polares (turmalinas, cuarzo, blenda, sacarosa, etc.), comprimidos o estirados mecánicamente en determinadas direcciones, se cargan eléctricamente en los extremos de los ejes. Como este fenómeno es recíproco, sometiendo un cristal a un campo eléctrico cuya dirección coincida con los ejes polares, experimenta a su vez deformaciones mecánicas, que se traducen en vibraciones elásticas. También en este caso la máxima amplitud de vibración se logra cuando coinciden las frecuencias propias del cristal y del campo eléctrico (15).

Con arreglo a este principio se construyen actualmente diversos aparatos, que difieren en su forma y dimensiones según las aplicaciones a que se les destine. Todos ellos constan de dos partes fundamentales: el generador de alta frecuencia y el emisor de ultrasonido, o vibrador de cuarzo. La figura 10 muestra un modelo de laboratorio en el que ambas partes aparecen separadas.

La parte más característica es el vibrador; su construcción, dimensiones y aspecto es muy distinto, según su destino, estando aquélla supeditada a una serie de dificultades que no siempre han podido ser soslayadas. Determinada clase de investigaciones, en especial en terreno biológico, no dieron éxito por falta de adecuadas disposiciones experimentales. Las figuras 11 y 12, b) reproducen algunos tipos de vibraciones (16).

Los efectos que las ondas ultrasonoras producen en el campo biológico son muy diversos, pero todos ellos se relacionan íntimamente con las acciones fisicoquímicas que originan aquéllas en su colisión con la materia en cualquiera de sus estados de agregación. Acciones mecánicas, térmicas, oxidantes; pulverizaciones y dispersiones de sólidos en líquidos, emulsiones de líquidos, coagulación de aerosoles, desgaseado y cavitaciones de líquidos, aflojamiento de ligaduras, he aquí una serie de fenómenos que las ondas ultrasonoras pueden provocar sobre aquello que actúe. Sí se tiene en cuenta esto y se piensa en los movimientos

extrañamente acelerados que ejecutan las partículas de los líquidos así irradiados; en las enormes diferencias de presión que a las pequeñas distancias de media longitud de onda se producen en una masa líquida y se recuerda asimismo que en la constitución de los organismos vivos intervienen sólidos. y líquidos en grados muy distintos de repartición, se comprende fácilmente la multiplicidad de hechos observables en el campo biológico, tanto animal como vegetal.

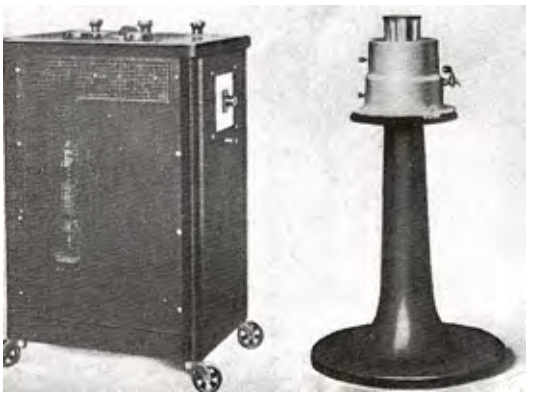

Fig. 10. Generador de alta frecuencia y vibrador de cuarzo para irradiación de ondas ultrasonoras, de la firma Dr. Steeg & Teuter, Bad Homburg..

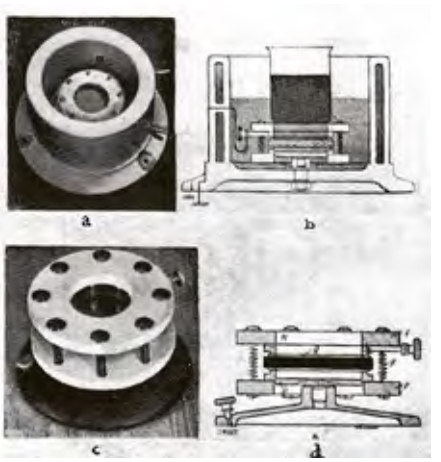

Fig. 11. –a y b) Aspecto y sección del recipiente y vibrador para ultrasonido. –c y d) Soporte del vibrador montado en sección.

Así los primeros ensayos de LANGEVIN y posteriores de WOOD y LOOMIS con animales pequeños, como peces, ranas, renacuajos, demuestran que, sometidos a un campo ultrasonoro, mueren o se paralizan. Un estudio más minucioso por DOGNON y BIANCANI (17) sobre el particular pone en evidencia que primeramente, al iniciarse la irradiación, se produce una excitación violenta del organismo, que puede acompañarse de convulsiones tetánicas. Si la

acción se hace duradera, o aumenta la intensidad de la radiación, se presentan fenómenos de parálisis, pero en general todos estos fenómenos desaparecen tan pronto cesa la acción del campo ultrasonoro.

De los estudios efectuados con células aisladas y con microorganismos puede concluirse que los efectos producidos son de dos clases: reversibles e irreversibles. Los primeros tienen lugar, con pequeñas intensidades, mientras no se rebase un valor umbral. Lo sorprendente es que después de haberse observado en el interior de las células verdaderos torbellinos, revolvimientos completos de líquidos intercelulares y hasta variaciones fisicoquímicas del protoplasma, pueda tener lugar la reorganización tan pronto cesa la acción del ultrasonido.

En cambio, procesos irreversibles se observan siempre que se utilizan grandes intensidades. Sin embargo, se ha podido fijar que no todas las células y microorganismos tienen igual sensibilidad; mientras los glóbulos rojos se destruyen fácilmente, las células hepáticas no ha sido posible destrozarlas aún. En cambio, algunos infusorios (Parameceum) se pulverizan fulminantemente por la acción de campos ultrasonoros intensos. La figura 12, a) reproduce las fases de destrucción de un paramecio, según MARINESCO (18), obtenida con un aumento de 300 diámetros mediante un campo ultrasonoro intenso. Todo el proceso tiene lugar en una fracción de segundo (19).

La explicación de todos estos efectos en células y pequeños organismos vivos tiene su raíz en el martilleo continuo que sufren las partículas líquidas por la acción de las vibraciones elásticas; sólo cuando hay gases en los líquidos protoplásmicos o se producen cavitaciones (20) por la diferencia de presión en distintos lugares de la masa liquida tienen lugar desgarramientos o verdaderas trituraciones de las células, como en tejidos vivos han podido evidenciar DOGNON y BIANCANI (17).

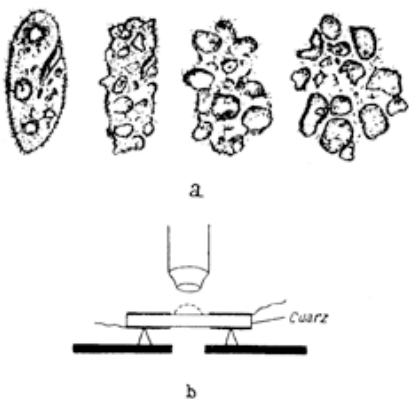

Fig. 12. –a) Destrucción de un Paramecio, según Marinesco, por la acción de las ondas ultrasonoras. –b) Disposición para observar al microscopio la acción de las ondas ultrasonoras.

Sería interminable enumerar los múltiples ejemplos que se amontonan ya en la bibliografía en este sector de la investigación biológica. Sólo he de añadir que el físico, el químico y el biólogo han de encontrar en él un recurso muy valioso para adentrarse en el conocimiento de ciertas moléculas o agrupaciones moleculares naturales, cuyo fraccionamiento es imposible por ningún medio mecánico ni químico. La vibración que imprime a estas un ultrasonido de determinada frecuencia disloca de tal modo las cadenas que forman los componentes fundamentales de aquéllas, que se rompen por los engarces de menos resistencia. Tal es el resultado obtenido por BROHULT con una hemocianina, de la que logró separar por este medio, dos fracciones de magnitudes 1/2 y 1/8 de la primitiva.

También en el terreno de las bacterias y los virus han sido aplicadas estas ondas de alta frecuencia; los resultados son muy desiguales en lo que concierne a su resistencia; mientras unas mueren rápidamente (bacilo tífico) algunas apenas si se destruyen, como los estafilo y estreptococos. Otras, en cambio, pierden sus propiedades características, como las bacterias fosforescentes, que una vez irradiadas dejan de ser luminosas. Unos resultados muy importantes, por las promesas que encierran, son los de FLOSDORF y CHAMBERS (21), que han demostrado por vez primera que, por la acción de las ondas ultrasonoras, es posible extraer de las bacterias sustancias lábiles, capitales para la formación de anticuerpos. En tal sentido, para la bacteriología e inmunología cabe esperar mucho en este nuevo campo de experimentación.

TRAS LAS HUELLAS EN EL ORGANISMO DE LOS ELEMENTOS "SEÑALADOS"

La radiactividad es uno de los grandes descubrimientos finales del pasado siglo. Vibraba aún en el ambiente la emoción producida por el de los rayos X, cuando este nuevo hallazgo envuelve otra vez al mundo en el estupor de lo maravilloso. Porque para las gentes ambos descubrimientos están rodeados de esa atmósfera de magia y misterio que distingue la ciencia imposible y fantástica creada por la imaginación, de aquella otra real y positiva de la vida corriente.

Por lo común, el descubrimiento científico raras veces salta al momento del laboratorio a la calle; llega a ella mucho tiempo después de haberse producido, como a nosotros el fulgor de una estrella. Y entonces aparece como hallazgo del día lo que en la serena quietud de los laboratorios ha ido amasando el esfuerzo paciente y penoso de unos hombres de infatigable voluntad. Cuando, por el contrario, el descubrimiento se vuelca inmediatamente sobre la atención popular y la conmueve hasta sus raíces es porque parece estar contenido en él algo de lo que la ambición humana busca infructuosamente siglo tras siglo en ese anhelo infinito de

alcanzar aquello que fuera el sueño dorado de la alquimia.

Con la radiactividad el hombre se enfrenta ante un fenómeno no sólo sorprendente, sino desconcertante. Por vez primera contempla el espectáculo de la destrucción de la materia en sus últimos sillares y asiste a estos cataclismos atómicos impotente para detenerlos o modificarlos.

Pronto un enjambre de experimentadores -a la cabeza los esposos CURIE, descubridores del radio- se internan en lo profundo del fenómeno, y poco a poco comenzamos a conocer el mecanismo de estas desintegraciones de la materia; su origen, sus leyes y una serie de hechos sorprendentes que no sólo conmocionan, sino revolucionan los viejos conceptos físicos del mundo. Y así aprendemos que el número de elementos radiactivos es muy escaso al lado de los que no lo son; que éstos son así porque su núcleo es estable; que la radiactividad no es más que la transformación espontánea de un cuerpo en otros con su cortejo de tres clases de radiaciones, dos corpusculares, la α y la β, y una electromagnética, la γ que; los rayos α son núcleos de helio, y los β, electrones; que las radiaciones γ son más penetrantes que los rayos X; que estas desintegraciones tienen lugar con una velocidad característica para cada elemento radiactivo; que entre el progenitor radiactivo y su prole hay relaciones genéticas fáciles de establecer; que con el descubrimiento de los isótopos se aclara y complica al mismo tiempo el viejo concepto de elemento químico, y, en fin, que por radicar el proceso radiactivo en el núcleo mismo del átomo, el hombre parece incapaz de contenerlo mediante influjos externos por intensos que sean.

Del hallazgo de todos estos hechos y de la casi unánime convicción de no poderlos superar se llegó, en plazo relativamente breve, a una especie de crisis en los dominios de la radiactividad. Hasta que de pronto surge el hecho sensacional: se descubre el proyectil que al dar en el corazón del átomo inicia su ruina, desmoronándolo poco a poco, gradualmente, casi espectacularmente. Y surge de un hecho conocido desde los primeros tiempos de la radiactividad y que, fuera de algunos experimentadores, apenas si había sido tomado en consideración; las propias partículas α proyectadas por los cuerpos radiactivos son las "bombas volantes", que al caer sobre la masa nuclear de un átomo lo destroza. Y así nace la "radiactividad artificial" en 1934, al descubrirse por los esposos JOLIOT el hecho de que el núcleo de un átomo estable, a los impactos de otros núcleos atómicos, da origen al isótopo radiactivo de un elemento que en la naturaleza no lo es.

Aparte el enorme interés físico que este descubrimiento tiene, no lo es menor desde el punto de vista biológico y clínico, ya que las aplicaciones médicas y biológicas del radio y otros radioelementos arrancan desde la cuna del descubrimiento. Estas aplicaciones, sin embargo, fueron casi exclusivamente terapéuticas, ya que al hacerse poco después el hallazgo de los indicadores radiactivos, la pretensión de perseguir en el organismo vivo las huellas de los elementos biogenéticos tuvo que abandonarse ante la escasez de radioelementos naturales.

Porque un elemento isótopo radiactivo mezclado, aun en ínfima proporción, a su elemento inactivo, significa marcar a éste con una señal tan acusada que, por escondido que sea el rincón del organismo donde se agazape, puede ser descubierto. De este modo, los átomos de los elementos biológicos "marcados" así, nos permitirán averiguar, cual aves anilladas, las rutas de su metabolismo.

La radiactividad artificial no sólo abre un ancho campo a la investigación biológica, sino que engranda y fortifica las posibilidades clínicas y terapéuticas de la natural. Tanto más cuanto los métodos que provocan la radiactividad artificial han mejorado tan notablemente en estos últimos tiempos, que la preparación de radioisótopos se hace cada vez más asequible.

Sin embargo, los estudios sistemáticos en el campo biológico, que requieren cantidades considerables de estos isótopos artificiales, siguen siendo patrimonio exclusivo de unos pocos laboratorios, especialmente norteamericanos, en los que la construcción del "Ciclotron" con sus grandes rendimientos, los hace posible. También en estos últimos años en Alemania se construyeron instalaciones que permitían disponer de cantidades bastante grandes de radielementos, aunque no en la proporción de las norteamericanas. Haremos una breve referencia de los resultados alcanzados en este sector de la investigación biológica, indicando antes, muy rápidamente, los fundamentos de la radiactividad artificial y alguno de los métodos utilizados para provocarla.

Ya se indicó que la radiactividad artificial estribaba en disparar partículas elementales sobre núcleos atómicos inertes; con ello, la pequeña fracción de este núcleo batida por el bombardeo se desmorona, dando un núcleo inestable que sigue derrumbándose y es, por tanto, radiactivo. De las numerosas clases de bombardeos nucleares que conducen a cuerpos radiactivos, sólo un pequeño número se verifican con rendimientos útiles, habiendo demostrado la experiencia que los resultados mejores se logran cuando se hace uso de neutrones (n) de mayor o menor velocidad, o deuterones (d) muy rápidos, esto es, iones del hidrógeno pesado acelerados intensamente. Todos estos procesos nucleares pueden expresarse en forma de ecuación química, siendo los tres tipos siguientes los más característicos:

$$\text{I.}\quad S + n \rightarrow As^{*} + \gamma$$
$$\text{II.}\quad As + n \rightarrow P^{*} + p$$
$$\text{III.}\quad P + d \rightarrow P^{*} + p \text{ (protón)}$$

procesos en los que el isótopo radiactivo resultante se representa por el símbolo con asterisco.

La interpretación de estos procesos es la siguiente: En el primero, un núcleo inerte de S (azufre) por impacto de un neutrón *rápido* (n) despide un protón (p), dando origen al núcleo

radiactivo P (fósforo), una unidad más pequeña en su número de orden que el del átomo primitivo. En el segundo, el bombardeo con neutrones *lentos* de un núcleo de As (arsénico) da rigen a radiaciones γ, formándose simultáneamente un *isóto*po *radiactivo* del mismo núcleo bombardeado, y finalmente, en el tercero, el cañoneo con deuterones muy acelerados lleva igualmente a núcleos radiactivos isótopos del núcleo castigado.

De aquí se deduce que para la obtención de cuerpos de radiactividad provocada es imprescindible la posesión de fuentes de neutrones y deuterones, cosa que la técnica moderna ha logrado realizar. Dos son en esencia los caminos que conducen a ellas; el primero utiliza los propios proyectiles que suministra la radiactividad natural, y el segundo, los iones producidos en la descarga a través de gases enrarecidos, acelerados mediante tensiones elevadas.

La primera fuente no requiere un instrumental aparatoso y puede proporcionarse con relativa facilidad. Además, su manejo es sencillo, no siendo preciso grandes precauciones; pero en cambio su eficacia está limitada a la cantidad de radioelemento natural disponible. Se basa en la reacción nuclear madre del descubrimiento -Be + $\alpha \rightarrow$ C + n que experimentalmente se realiza con los "cañones lanzaneutrones" (22), que emiten dichas partículas animadas de una gran velocidad, lo que las hace útiles para desintegraciones del tipo 1; si se quiere provocar una del tipo II, esto es, hacer uso de neutrones lentos, hay que frenarlas, y para ello se interpone en su camino una sustancia que contenga hidrógeno, como agua o parafina.

El segundo camino es menos asequible, pero más adecuado para la producción de cantidades grandes de radiactivos. Tiene por base las fuentes artificiales de deuterones de enorme aceleración, que la técnica moderna ha logrado producir. Bombardeando núcleos inertes de Be o Li con deuterones extraordinariamente rápidos se producen neutrones (23) que pueden utilizarse como se indicó anteriormente.

Los procedimientos que conducen a fuentes de partículas elementales capaces de proporcionar radioelementos en las cantidades precisas para los ensayos biológicos son varios, pero fundamentalmente se reducen a dos: el "Ciclotron" en primera línea y después los generadores electrostáticos de alta tensión

El primero, construido, en 1932, por LAWRENCE y LIVINGSTON, de la Universidad de Berkeley, California (Estados Unidos, fig. 13), permite obtener chorros iónicos (protones y deuterones) enormemente acelerados, con una energía cinética de 7 y 8 millones de voltio-electrones, y partículas α con 17 millones de V-e, es decir, doble energía cinética que las más rápidas partículas α naturales, bastando para ello tensiones de alta frecuencia de unos 100.000 voltios (24).

El segundo procedimiento, que era hasta ahora el instalado en Europa, se usa, preferentemente, en su forma de generador electrostático de alta tensión de VAN DE GRAAF

(fig. 14, b), cuyo principio es el mismo que el de una máquina de influencia. Con este sistema, una cantidad relativamente pequeña de electricidad se eleva mecánicamente (25) a la alta tensión deseada, en los condensadores gigantes, entre los cuales y la tierra se halla el tubo de aceleración que imprime a los deuterones la que se requiera. La figura 15 muestra otra instalación de ese tipo. Otro tipo de instalación es aquella en que la alta tensión se engendra mediante una conexión múltiple (figura 14, a).

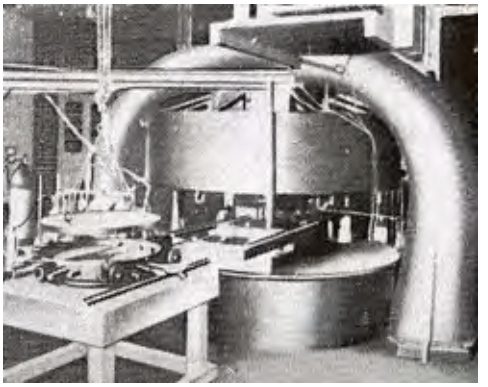

Fig. 13. "Ciclotrón", de E. O. Lawrence Y M.S. Livinstong, de la Universidad de Berkeley, California, capaz de producir iones de elevada velocidad y tensiones hasta de 14 millones de voltios. Son visibles las magnetos gigantes que originan la aceleración.

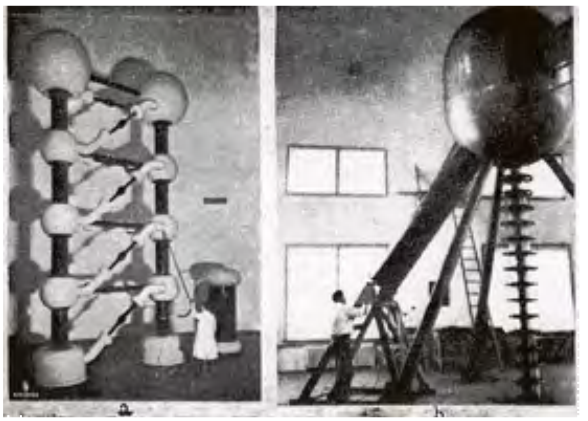

Fig. 14. –a) Instalación para la demolición atómica con multiplicación de tensión, del Instituto Max Planck, de Berlín-Dahlem, capaz hasta tres millones de voltios. Son perfectamente visibles, en posición diagonal, los tubos válvula de ventilación, de vidrio ennegrecido (montada por Siemens). –b) Generador electrostático de alta tensión, según van de Graaf, para 1,2 millones de voltios, del departamento de magnetismo terrestre de la "Institución Carnegie", de Washington. EE. UU.

El rendimiento en estos dos últimos sistemas es bastante menor que con el ciclotrón, ya que mediante con el generador de VAN DE GRAAF para tensiones de 600.000 a 1.000.000 de

voltios se obtienen intensidades de neutrones que corresponden de 100 a 500 mgr, de radio, con el ciclotrón se logran rendimientos hasta veinte veces superiores.

El instrumental necesario para la realización de medidas radiactivas es también muy variable, existiendo diversas disposiciones. Las utilizadas en las medidas propias de la radi-actividad natural son poco adecuadas, porque la intensidad de las radiaciones en la radiactividad artificial son mucho más; pequeñas, siendo posibles medidas electroscópicas sólo en casos rarísimos. Mejor es hacer uso de cámaras de ionización a presión, en conexión con un electrómetro sensible como indicador. Un método muy extendido es el del contador de GEIGERMULLER, hoy insustituible para el recuento de partículas (26) y muy sensible, no obstante su gran sencillez. En general puede decirse que todavía no ha sido construido un instrumento que responda a las más variadas exigencias de medición en los radiactivos artificiales, pero es de esperar que con el tiempo y al generalizarse más estos estudios, los aparatos utilizados no sólo serán más asequibles, sino su manejo será menos delicado que lo es actualmente.

La más conocida de todas las aplicaciones de la radiactividad natural es la médica. Desde el descubrimiento de la artificial se espera que los progresos ,en dicho terreno sean aún mayores, ya que las radiaciones de ésta no difieren en nada de las naturales. La dificultad más grande para su utilización terapéutica estriba, por ahora, en la difícil obtención de cantidades suficientes. Cierto que muchas acciones de intercambio y excitación, se pueden conseguir con dosis muy pequeñas de radiaciones, pero para un conocimiento más exacto de una actividad terapéutica, son precisas cantidades mayores. Es por ello por lo que la mayoría de las investigaciones de este tipo, que responden a ensayos sistemáticos muy largos y costosos, se realizan casi exclusivamente en Norteamérica, donde por disponer de instalaciones tipo Ciclotron se pueden obtener, radiosodio o radiofósforo en cantidades que equivalen en su acción radiante a muchos cientos de miligramos de radio. Como ejemplo de aplicaciones de este tipo, de la radiactividad artificial, se cita el del tratamiento con radiofósforo: de un enfermo de leucemia. cuyo cuadro sanguíneo mejoró notablemente. Debido a que el radiofósforo tiene una vida media relativamente corta, el tratamiento puede seguirse largo tiempo sin temor de una acumulación permanente de la radiación.

Pero si interesantes son las aplicaciones terapéuticas de la radiactividad artificial, no lo son menos las biológicas. Desde el punto de vista que orienta esta estampa, el problema de seguir el metabolismo en los seres vivos de sus elementos biológicos es de una enorme trascendencia, porque ha de conducir a muy seguras consecuencias. Este problema se halla íntimamente unido al método de los indicadores radiactivos desarrollado por HAHN, HEVESY, PANETH y otros. Consiste en añadir a un elemento inactivo o a una de sus combinaciones, una cantidad imponderable de su isótopo radiactivo; esta mezcla ya no puede separarse en modo alguno por métodos químicos, y en ella, como en cualquiera de sus fracciones, la relación radiación/cantidad en peso, o sea lo que se llama "actividad específica", se mantendrá siempre

constante. Dicho método ha tenido una gran importancia desde el punto de vista analítico, pero hoy, desde el biológico, lo tiene en grado sumo, puesto que si a una planta o un animal se les suministran materiales radiactivos y se ensaya, simultáneamente, la permanencia de la sustancia en las distintas partes del organismo o en distintas fracciones químicas, deduciremos de los resultados, la clase de distribución que ha tenido lugar y, por tanto, su participación en el metabolismo.

Experimentalmente esto se realiza: en las plantas, de modo que la sustancia radiactiva indicadora se mezcle con la sustancia nutritiva con que se alimenta, o lo que es más raro, introduciéndola directamente en el torrente circulatorio de la savia; en los animales, bien en la alimentación con el pienso, bien en inyecciones intravenosas o subcutáneas (27). Así por ejemplo, en los ensayos ejecutados por BORN y TIMOFFEF-RESSOWSKY (28) en ratones con dosis de arsénico en forma de As_2O_3 en solución acuosa y en cantidad de 0,05 mgr por inyección, después de un cierto tiempo se sacrificaron los animales y se hicieron medidas en distintos tejidos. Los resultados demostraron que, en contra de la general repartición en los tejidos, donde se observa una menor acumulación es en el cerebro y ganadas. Como el radio arsénico tiene una vida media muy corta, unas veintiséis horas, los ensayos han de hacerse en tiempos muy breves, antes de que desaparezca la actividad del elemento.

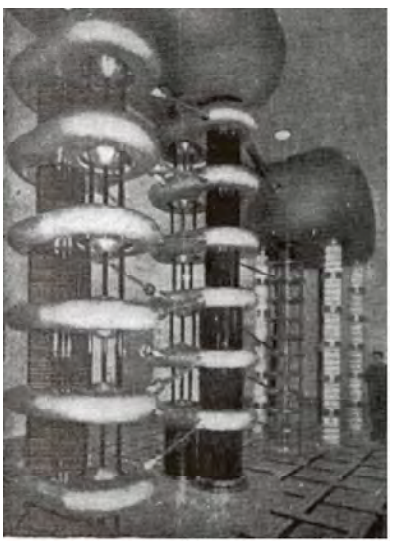

Fig. 15. Instalación para la producción de elementos radiactivos artificiales, del Instituto de Sanidad Pública de Roma. A la derecha, el tubo de vidrio en el que se realiza la aceleración de los iones; a la izquierda, las columnas generadoras de alta tensión (10.000.000 de voltios).

Más exactos son los ensayos sobre el metabolismo en determinados tejidos, en los que el cambio de átomos del mismo elemento puede estudiarse también mediante estos indicadores radiactivos. Con este método es posible seguir las huellas del elemento dentro del organismo; así, en plantas de tabaco tratadas durante veinte días con radiofósforo contenido en soluciones alimenticias, se mide la actividad de las hojas durante los ensayos; los resultados demuestran

que las hojas más jóvenes, cuyo crecimiento coincidió con la alimentación radiofosforada, acusan la mayor actividad. No obstante, como también las hojas más viejas la muestran; aun cuando durante el experimento no hayan crecido, hay que suponer que hubo en ellas un intercambio de átomos de fósforo

El metabolismo del fósforo en el organismo es uno de los que primero han preocupado a los investigadores, y he aquí uno de tantos experimentos verificados en esta dirección por ERBACHER. Fosfato sódico con radiofósforo como indicador, fue inyectado por vía intravenosa a ratas, que sacrificadas después de determinado tiempo, proporcionaron pruebas de distintos tejidos, en cada una de las cuales se determinó la relación radiofósforo/fósforo inactivo, cuyo valor es tanto más grande cuanto más elevada sea la velocidad del metabolismo en los respectivos tejidos. Los resultados de este autor demuestran que el valor de esta relación es muy superior en los tejidos blandos que en los óseos, y aun en éstos, el metabolismo parece verificarse más rápidamente en las epífisis que en las diáfisis. Una confirmación de esto lo acusan claramente las radiografías que reproduce la figura 16, obtenidas por ERBACHER en un hueso y un diente de ratas alimentadas con radiofósforo.

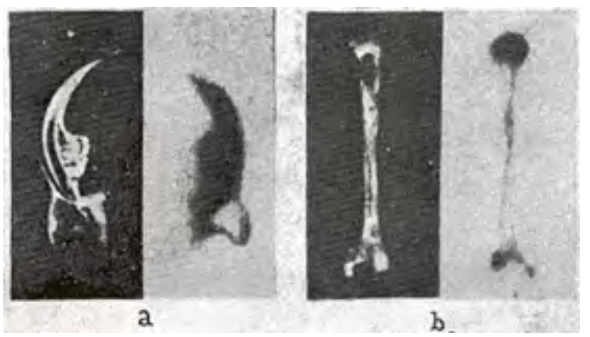

Fig. 16. –a) Fotografía y radiografía de un diente de rata que contiene radiofósforo. Según O. Erbacher. –b) Fotografía y radiografía de un hueso de rata que contiene radiofosforo. Según O. Erbacher.

Gracias a las detenidas investigaciones de HEVESY sobre el metabolismo del fósforo del esqueleto, se pueden hacer ya algunas afirmaciones respecto la velocidad de renovación del mismo. Manteniendo constante por adición permanente de radiofósforo el contenido en éste de la sangre, de la actividad específica (radiofósforo/fósforo inactivo) del tejido óseo se puede decidir el grado de renovación. Una renovación total tendría lugar cuan do las actividades específicas de los huesos y la sangre se hicieran iguales. Ensayos con conejos ha demostrado que a los cincuenta días se había renovado el 29 por 100 en las epífisis y sólo el 7 por 100 en las diáfisis.

Sería interminable seguir enumerando los múltiples temas que han sido abordados por la radiactividad artificial y las consecuencias deducidas. Pensemos que no se trata solamente de

investigar el intercambio de elementos aislados respecto al contenido del mismo en un determinado tejido. Hay una serie de cambios y trasposiciones cuyo conocimiento es fundamental en el metabolismo de ciertas combinaciones de importancia fisiológica, como los fosfátidos, por ejemplo. Además, ¿cuál es el mecanismo intimo de tantísima síntesis biológica? Notables son en esta dirección las síntesis de virus-proteínas radiactivas realizadas inoculando virus "mosaico de tabaco" a una planta nutrida desde varios días antes de la infección, con radiofósforo; extraídas las proteínas del virus desarrollado, acusaron una notable actividad, lo que prueba el intercambio del fósforo radiactivo. Ciertamente, no han de faltarle temas en este campo a la radiactividad provocada.

Pero al lado de estos problemas surgen otros de no menos interés biológico: el de poder "señalar" con estas marcas radiactivas las más pequeñas unidades biológicas. Son muy prometedores en esta dirección los ensayos intentados en el "señalamiento" de cromosomas. Los experimentos verificados con los núcleos gigantes de las células salivales de la famosa mosca Drosophila, permiten presumir que tales señalamientos son realizables, y esto abre, ante los ojos del biólogo, perspectivas maravillosas. Acaso sea éste el camino que nos descubra el secreto de los genes (29-39).

EN LOS DOMINIOS DE LOS GIGANTES MOLECULARES

No deja de ser un poco sorprendente que nuestro conocimiento del mundo material que nos rodea, no alcance el mismo grado de profundidad en todos sus frentes. Lo mismo que en las guerras modernas, éstos no suelen ser continuos, y al lado de cuñas de gran penetración aparecen entrantes cuya existencia apenas se concibe. Tal ocurre con nuestras conquistasen el mundo de los componentes de la materia: junto a pormenores tan bien conocidos como tamaño y peso de las últimas partículas elementales, los átomos, y aun sobre la magnitud y carga de los electrones, ambos en mundos de dimensiones tan alejadas del nuestro como este de Arturo, hay zonas mucho más cercanas a nosotros, en los verdaderos dominios de las magnitudes moleculares, de las moléculas más voluminosas, más gigantescas, las macromoléculas, cuyo conocimiento constituyen profundas fallas en el campo tendido entre la bacteria más pequeña y el átomo más voluminoso (31).

Quizás se deba a que no siempre lo más cercano es lo más fácil de conocer. Estas moléculas gigantes, tan gigantes que a veces una sola parece llenar el contenido protoplásmico de una célula, no obstante su magnitud, han guardado mucho tiempo, como las viejas pirámides, el secreto de su arquitectura. Ha sido en época relativamente reciente cuando se ha empezado a entrever algo sobre la constitución interna de las mismas, sobre su forma, sobre su magnitud, y

tales hallazgos, que ponen un hito en la historia de nuestro saber acerca de los gigantes polímeros naturales, se han logrado gracias al concurso de un método físico creado y desarrollado, también por un titán, pero de la fisicoquímica contemporánea, el profesor SVEDBERG, de la Universidad de Upsala.

La fuerza de la gravedad se deja sentir sobre todos los cuerpos de la superficie terrestre, tanto más cuanto mayor es la masa del cuerpo. Sin embargo, cuando esta magnitud alcanza dimensiones moleculares parece que deja de cumplirse esta ley inexorable. No es así: fijémonos en lo que ocurre en la atmósfera. Si se observa la repartición de las moléculas de oxígeno en las distintas capas del aire, veremos que es necesario un desnivel de 5.500 metros para reducir a la mitad la concentración del oxígeno. Si la molécula de éste tuviese por peso molecular, en lugar de 32, mil veces más, idéntica disminución de concentración resultaría para una diferencia de nivel de cinco metros y medio. La disminución de concentración con la altura es proporcional a la masa de la partícula; por tanto, parece posible determinar el peso de la misma a partir de estos equilibrios llamados de sedimentación.

En efecto, fundándose en estas consideraciones, PERRIN, a principios de este siglo, logró determinar el número de AVOGADRO a partir de los equilibrios de sedimentación de suspensiones de almáciga. Pero para la determinación de magnitudes moleculares, aun de las más gigantescas, la aplicabilidad del procedimiento queda muy reducida por la pequeña intensidad del campo gravitatorio terrestre. En las condiciones más favorables, de una masa molecular extremadamente elevada; la magnitud de los desniveles rebasaría las dimensiones experimentales habituales y la duración de los experimentos hasta alcanzar el equilibrio, los haría prácticamente irrealizables.

Sin embargo, la aceleración de la gravedad se puede aumentar notablemente hasta cierto punto. Basta crear un campo centrífugo intenso en el seno del sistema a sedimentar. Entonces la fuerza centrífuga rompe la resistencia que el medio ejerce sobre las partículas en suspensión y éstas sedimentan con mayor rapidez. Tal es el origen de las centrífugas ordinarias de laboratorio.

Cuando se trata de dimensiones moleculares, las centrífugas más potentes que construía la industria no intensificaban el campo gravitatorio lo bastante para dejar sentir su acción sobre las propias moléculas. Y aquí da comienzo la gran labor de SVEDBERG: construir una centrífuga no sólo superior a todas las conocidas en cuanto a intensificación del campo gravitatorio terrestre, sino excluir de ella, durante los procesos de sedimentación, las más pequeñas variaciones de temperatura que, al dar origen a corrientes de convección, anulan totalmente la difusión libre provocada por la fuerza centrífuga. Así nació en 1924 la primera ultracentrifuga, de unas 10.000 rotaciones por minuto y un campo centrífugo unas 5.000 veces la gravedad terrestre. Desde entonces hasta el presente los perfeccionamientos introducidos por SVEDBERG y su escuela, en los distintos modelos realizados con infatigable tenacidad, han

llevado a construcciones que alcanzan *el millón de veces* la gravedad de la Tierra.

No vamos a mencionar siquiera la serie de dificultades que tuvo que vencer hasta llegar a esos resultados, difíciles de superar hoy día, porque a ellos pone límite la resistencia de los materiales, ni particularidades en su construcción, que nos llevaría demasiado lejos (32); sólo haré hincapié en que las características propias de una ultracentrífuga estriban, más que en sus enormes velocidades de aceleración del campo gravitatorio, en la exacta constancia de la temperatura durante la rotación y la observación subjetiva o fotográfica de la sedimentación mientras ésta tiene lugar. Esto significa que al rotor (fig. 17, b y c), donde se alojan las células de centrifugación (la verdadera centrífuga), acompañan una serie de disposiciones mecánicas, eléctricas y ópticas capaces de accionar sus distintos mecanismos, evitar las elevaciones térmicas de los rodamientos mediante hidrógeno a baja presión y registrar fotográficamente el aspecto periódico del campo de sedimentación (33).

Para hacerse cargo de la complicación constructiva que representa una ultracentrifuga, reproducimos en las figuras 17, a, y 18 el aspecto de la ultracentrífuga para grandes aceleraciones de SVEDBERG, instalada en el Instituto Fisicoquímico de Upsala, y el de la americana extrarrápida de BEANS, BAUR y PICKELS, accionada por turbina de aire.

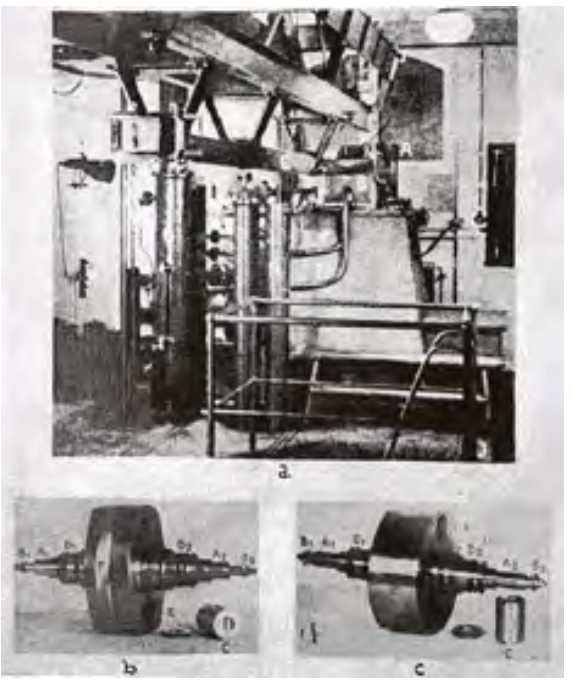

Fig. 17. –a) Vista de la instalación de una ultracentrifugadora de turbina de aceite, del Prof. Svedberg, en el Instituto Fisicoquímico de Upsala, Suecia. –b y c) Roctores y células de la ultracentrífuga anterior.

Fig. 18. Ultracentrifugadora extrarrápida, de Beamsbauer y Pickels, accionada por aire. Especialmente apropiada para investigaciones de virus.

En todas ellas las medidas se realizan con arreglo a dos métodos: el del equilibrio de sedimentación y el de la velocidad de sedimentación y las observaciones, mediante unos métodos ópticos que permiten obtener unas imágenes de la sedimentación (figs. 19, a y b, y 20), cuya transposición a diagramas, delata con toda claridad la magnitud y naturaleza de los componentes sediméntales (más detalles sobre el particular, en 32 y 34).

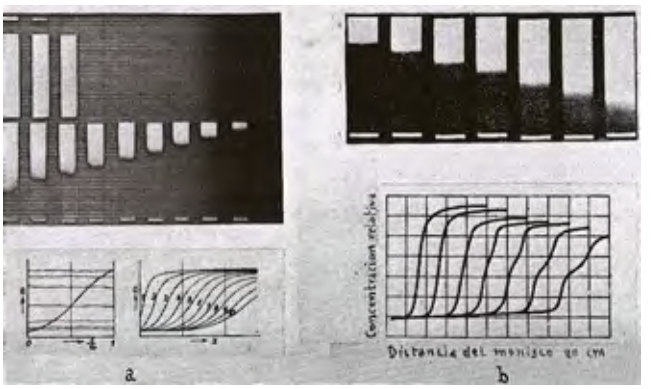

Fig. 19. -a) Fotograma de absorción con escala de concentraciones en la centrifugación de la carbo-oxihemoglobina en solución amortiguador de pH= 6.9 (arriba) y su representación gráfica (abajo). Según Graalen. –b) Imagen de sedimentación, A, y curva fotométrica, B, de una mezcla de sangres de Sepia y Octopus. Campo centrífugo, 78.000 g. Tiempo entre cada exposición, 5 min. El hecho que las zonas sean dobles demuestra que son dos tipos de hemocianinas con constantes de sedimentación diferentes. Según Sverdberg.

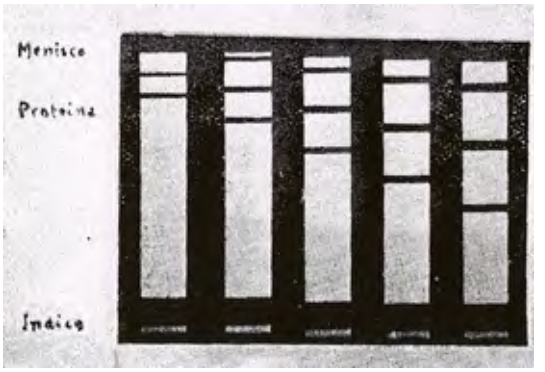

Fig. 20. Imágenes de sedimentación de la hemocianina del Límulus, obtenidas por el método de Toepler, en pH=6,8. Muestran la presencia de tres componentes. Campo centrífugo. 120.000 g.

Lo mismo que en las anteriores estampas, también sería aquí interminable referir los notables resultados obtenidos con el empleo de este método físico de investigación. Nos limitaremos solamente a reseñar algunos de los más característicos.

Aun cuando la ultracentrífuga fue concebida y realizada con el propósito de determinar la magnitud molecular de partículas coloides y su repartición en disoluciones coloidales, pronto fue extendido su núcleo a la investigación de partículas de proteínas, demostrándose fácilmente que, con mucha frecuencia, tales soluciones proteínicas eran monodispersas.

Tras una serie de trabajos realizados por SVEDBERG y colaboradores, poco después se llegó a la conclusión que el peso molecular de las proteínas podía en general considerarse como múltiplos de una unidad de masa de valor 35.000, y a fin de confirmar lo más posible esta hipótesis se extendieron las medidas a una serie grande de proteínas, medidas que en gran parle la confirmaron, pero al mismo tiempo, el hallazgo de algunas proteínas de peso molecular 17.000, hizo bajar el peso unidad a éste. Si como tal unidad se toma el valor 17.600, la casi totalidad de las proteínas estudiadas, un número considerable de proteínas respiratorias del reino animal de variadísimas especies, son múltiplos enteros de la serie 2, 4, 8, 16, 24, 48, 96 (168), 192, 384 y 576 del citado peso unidad.

Por otra parte, SVEDBERG y HEDENIUS, en sus investigaciones, han llegado al resultado verdaderamente sorprendente que el número de constantes de sedimentación de las numerosas proteínas investigadas es muy, pequeño, hasta el presente sólo 14 constantes distintas, lo que parece indicar que dentro de un grupo animal bien definido cada proteína tiene su constante de sedimentación bien definida (35). Indudablemente, esto debe obedecer a un principio general de construcción de la molécula proteica, caracterizado por el camino seguido por el organismo al sintetizarla. Por ello el propio SVEDBERG expresa esto diciendo

que" la molécula de proteína se edifica por agregación sucesiva de unidades determinadas, siendo estables muy pocos agregados". Cuanto mayor es el peso molecular del edificio tanto menores son las probabilidades de estabilidad, ya que a medida que aumenta el peso del conjunto se resquebraja éste al agrandarse las grietas existentes entre los componentes.

En otros campos de altos polímeros naturales, como féculas y celulosas, los resultados obtenidos no son tan completos porque las investigaciones no han sido tan sistemáticas como las emprendidas en el campo de las proteínas. En cambio, donde los resultados conseguidos con la ultracentrífuga, a más de sorprendentes, prometen ser muy halagüeños en el porvenir, es en el estudio de los sueros, tanto normales como patológicos, así como en el desentrañamiento de la estructura de los anticuerpos, y por tanto, en el de gran número de problemas afines de inmunología.

Ya en 1933 fue usada por vez primera la ultracentrífuga en la investigación sistemática de sueros de mamíferos, encontrándose que el suero normal humano y el del caballo se comportan de modo muy semejante, conteniendo, junto a moléculas de seroalbúmina, por lo menos dos componentes distintos de seroglobulinas. Posteriormente, MAC FARLANE ahonda en estas investigaciones, que repite incluyendo un suero más, el de vaca, hallando que los diagramas de sedimentación obtenidos, siempre en identidad de condiciones, son perfectamente reproducibles, mostrando una marcha semejante, aun cuando aparezcan en cada uno particularidades propias. Dichos diagramas acusan la presencia, en los sueros concentrados, de tres tipos de moléculas, tipos caracterizados por sus constantes de sedimentación, y además otros componentes que sedimentan con una velocidad dos o tres veces superior a las de las globulinas normales, componentes a los que MAC FARLANE ha designado como componente A, X y G, pudiéndoseles reconocer en el suero normal concentrado.

Igualmente han sido estudiados algunos sueros patológicos, apreciándose en ellos sin dificultad, notables diferencias en sus diagramas de sedimentación respecto los normales, acusando aquéllos, por lo general un aumento del componente G, si bien en otros casos cs indiscutible la existencia de otras moléculas nuevas. La figura 21 reproduce unos diagramas de sedimentación de un suero normal y otros patológicos; las diferencias son bien claras. De ello deduce MAC FARLANE que con ayuda de la ultracentrífuga es posible diferenciar unos de otro, y fundándose en esto, los trabajos actuales del mismo y de su escuela se encaminan a discernir hasta qué punto puede bastar un análisis de sedimentación a la ultracentrífuga para diagnosticar la naturaleza patológica de un suero.

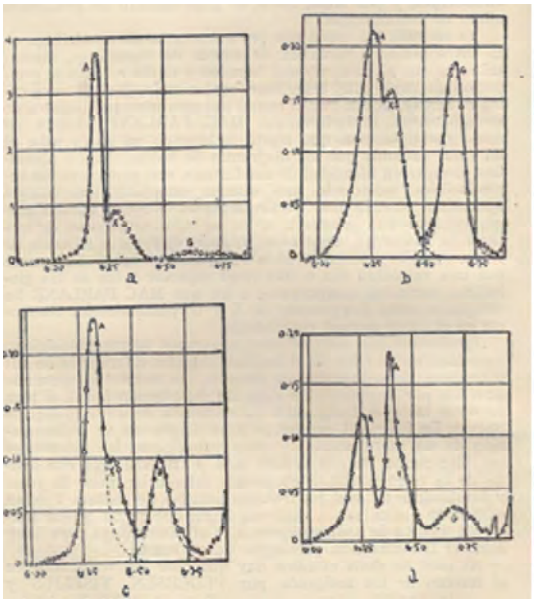

Fig. 21. –a) Diagramas de sedimentación de sueros patológicos. Suero normal humano. –b) Suero enfermo tuberculosis pulmonar. –c) Suero en carcinoma rectal. –d) tumor maligno conducto biliar.

Al lado de estos estudios hay que citar los verificados en el terreno de los antígenos por PEDERSEN, TISELIUS y otros; los que constantemente se realizan en el difícil e intrincado problema de los virus por ERIKSON-QUENSEL, STANLEY, etc.; en fin, todos aquellos que en diversos sectores de los dominios de los gigantes moleculares demuestran de continuo lo que debe la Ciencia al manejo de la ultracentrifugadora.

Pero también en este campo hay otro método que presta magníficos servicios en el papel de ir desglosando de estos conglomerados moleculares los diversos individuos que los forman. Me refiero al método electroforético, del que muy brevemente voy a ocuparme.

La emigración de partículas cargadas eléctricamente bajo el influjo de un campo eléctrico no es exclusivo, como se sabe, de los iones. También las micelas de una solución coloide, sometidas a la acción de una diferencia de potencial, se dirigen, según el signo de sus cargas, hacia los electrodos. La magnitud de este movimiento es proporcional a la intensidad del campo, o lo que es igual, para un campo constante, proporcional a la masa de la partícula. Basándose en este fenómeno han surgido métodos designados como cataforéticos, o, mejor, electroforéticos, cuyo perfeccionamiento ha permitido últimamente determinar la magnitud molecular de micelas de coloides superpolimeros.

En los casos más sencillos el método consiste en sumergir simplemente los electrodos en el líquido y observar directamente el transporte de las partículas, pero cuando el tamaño de estas se acerca a la magnitud molecular dicha observación no es posible. Ha sido a SVEDBERG a quien se debe la ingeniosa mejora de realizar la cataforesis en un campo alterno.

De este modo las partículas coloides ultramicroscópicas, al moverse de aquí para allí, dejan, iluminadas lateralmente sobre fondo oscuro, un rastro luminoso, de cuya longitud puede deducirse, conocida la frecuencia del campo, su velocidad de traslación y, por ende, su masa.

Dando a la célula electroforética una disposición y dimensiones apropiadas que permitan hacer la observación por métodos ópticos semejantes a los propios de la ultra centrífuga, TISELIUS ha conseguido en estos últimos tiempos resultados notables al aplicarlo al estudio de soluciones de proteínas (36). En la figura 22 se representa la disposición completa del aparato electroforético, con su banco óptico para el registro fotográfico y el aspecto de la célula de electroforesis, y en la 23, las imágenes electroforéticas obtenidas según el método seguido de observación (37).

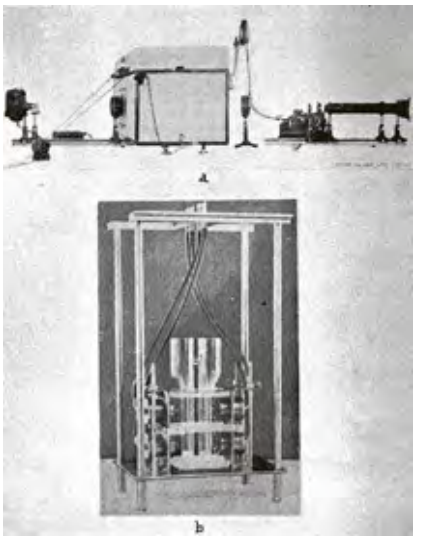

Fig. 22. –a) Aspecto del aparato electroforético, según Tiselius, completamente montado, con su disposición óptica para la observación, de la firma Adam Hilger, Londres. –b) Célula electroforética en su soporte, según Tiselius.

Para dar una idea, nada más, de algunos de los resultados a que ha conducido este nuevo procedimiento de investigación en el campo de las macromoléculas mencionaremos que TISELIUS, en el análisis de las proteínas de los sueros, ha demostrado claramente que no sólo es posible separar la albúmina de las globulinas, sino que en los sueros normales de caballo y conejo, su globulina no es una sustancia simple, sino que está formada por tres componentes, y también el mismo autor ha demostrado que en el suero antineumocócico de caballo existe un componente de globulina no presente en el suero normal, y a ellas hay que añadir que STENHAGEN demostró que el suero normal humano tiene una constitución electroforética semejante a la de los sueros normales de caballo y conejo. Donde aparecen diferencia esenciales es en los sueros patológicos, según pudieron demostrar BLIX, LONGSWORTH y otros; en todos ellos tiene lugar un cambio profundo en las proteínas del suero normal.

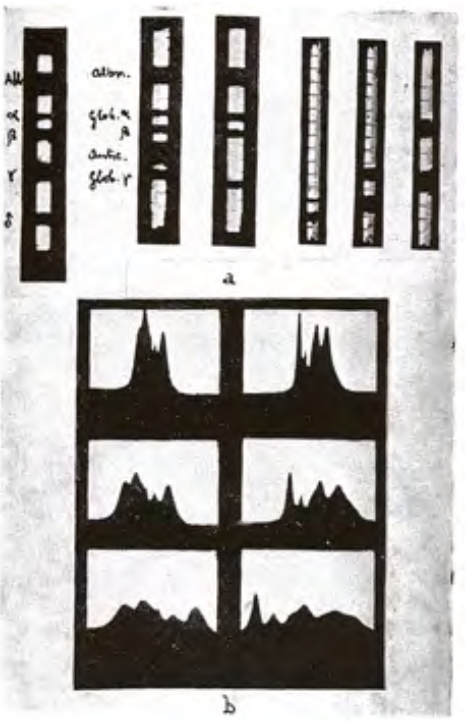

Fig. 23. –a) Fotografías de los límites de emigración del suero normal humano, de caballo y antineumocócico. Son perfectamente reconocibles en el suero normal, la presencia de cuatro proteínas bien definidas electroquímicamente, una albúmina y tres globulinas. –b) Imagen electroforética de un suero de caballo antidiftérico, según el método Svenson. Obsérvese las cuatro crestas correspondientes a las cuatro proteínas.

En fin, resumiendo, el método electroforético ha sido aplicado con éxito al estudio de los virus, al de mezclas de hemocianinas, al campo de las enzimas, a la degradación de albúminas, a las hormonas, etc., etc., y en todos ellos los resultados conseguidos demuestran que un procedimiento que nació como auxiliar de la investigación a la ultracentrífuga hoy, por su propia cuenta, conduce a conclusiones tan valiosas como las de aquélla (38).

CONCLUSIÓN

Voy a terminar, señores académicos. Comprendo que he abusado duramente de vuestra atención. Perdonadme. Fue mi propósito daros una idea de la significación que en la investigación biológica actual tiene el método físico, y en el deseo de haceros ver la amplitud del panorama me he excedido en demasía. Con todo, no he podido presentaras más que aquellos aspectos que, entre todos, me han parecido los más característicos; quedan, naturalmente, otros muchos procedimientos que, en mayor o menor escala, contribuyen también a la persecución de la verdad en el intrincado laberinto biológico; pero aunque no hayan sido mencionados, quedan registrados en el ánimo de todos.

Sin embargo, antes de concluir quisiera hacer algunas consideraciones respecto el juicio que se tiene de estos métodos físicos. Por lo general, hay sobre ellos una idea equivocada. O se les supone métodos de lujo, no indispensables por tanto para la investigación, o se les considera métodos dificilísimos, inaccesibles a la mayoría de los experimentadores. Tampoco falta, por el contrario, la creencia de considerarlos como métodos automáticos de descubrimientos científicos. Tales conceptos, en mi opinión, son erróneos. Cierto que el procedimiento físico en general, sobre todo del tipo de los estudiados, requiere, al lado de instalaciones muy costosas, una preparación y unas técnicas especiales que no todo el mundo puede poseer, pero esto, a lo sumo, quiere decir que su uso no podrá generalizarse y extenderse por los laboratorios de modo semejante a como lo han hecho polarímetros, colorímetros, fotómetros, potenciómetros, etc., esto es, el arsenal de aparatos que constituyen los métodos físicos menores. Precisamente la extraordinaria difusión de estos pequeños instrumentos físicos de corto alcance, pero excelentes auxiliares prácticos de laboratorio, difusión a la que han contribuido las casas constructoras facilitando su manejo hasta el punto de poder ser utilizados por operadores sin preparación especial ninguna, ha favorecido la creencia, un poco ingenua, de que era suficiente poseer un buen instrumento -cuanto más perfecto mejor-para que el descubrimiento surgiese por sí solo. Bastaba montar el aparato, colocar en él el objeto del ensayo, apretar un botón ,y ¡zas!, aparecía el descubrimiento. Sin negar que esto pueda ocurrir, por lo común no sucede.

Todos los hallazgos, grandes o pequeños, que hasta ahora se han hecho mediante estos métodos han requerido una condición previa, no siempre de rápida adquisición. La compenetración intima del operador con el aparato, esto es, el conocimiento hondo de sus fundamentos junto a sus técnicas de trabajo; ahora y siempre será actual la frase de GRUITHUISEN: "El aparato solo no es nada; detrás del instrumento ha de haber un buen ojo, y detrás del ojo, un cerebro".

Y precisamente donde puede aplicarse más plenamente esto, es a los nuevos artificios de la moderna investigación. Ellos requieren como ninguno, por parte de los operadores, unos co-

nocimientos y unas técnicas tan especiales que no se concibe puedan ser dominadas en toda su complejidad por cerebros polarizados en campos muy distantes. Cuando se contempla el lauediagrama de un cristal, una serie de espectrogramas de absorción de una sustancia, las imágenes de sedimentación de una mezcla de hemocianinas, las electroforéticas de un suero patológico o las curvas polarográficas de un suero de canceroso, por ejemplo. una persona ajena o poco avezada a tales técnicas, o no ve nada o sonríe burlonamente ante los entretenimientos de los sabios. En cambio, un ojo experto, adiestrado en tales representaciones, de un solo golpe prevé lo que dichas imágenes quieren decir, y con arreglo a procedimientos y cálculos ya muy genuinos, fija la posición de los átomos en la malla del cristal, confiere una estructura a una molécula, determina la magnitud de cada uno de los componentes de la mezcla centrifugada, o de los diagramas electroforéticos o polarográficos deduce las condiciones patológicas del suero.

De ello se infiere que para un profundo rendimiento del método físico en la investigación biológica se hace necesaria, casi imprescindible, la colaboración. La simple contemplación de las fotografías que representan los aparatos descritos, hipermicroscopio, ciclotrón, ultracentrífuga, etc., evidencian hasta la saciedad que al lado del físico, del ingeniero, del mecánico, etc., ha de estar el químico, el farmacéutico, el biólogo, el clínico, el médico. Sin duda, por esto, muchos de los más bellos trabajos de índole biofísica que se realizan actualmente en el mundo, llevan las firmas de diversos experimentadores, cada una de las cuales representa una rama de las que integran la colaboración.

Después de lo que antecede se podrá creer que el método físico, al profundizar y perfeccionarse más, está llamado a hacer desaparecer los otros métodos de investigación. De ninguna manera. El método físico necesita hoy y necesitará siempre para ser aplicado, el concurso de las técnicas propias de la ciencia que lo utilice. Para llegar a los últimos estratos de la observación física, el objeto de estudio ha de sufrir en todo caso, tal serie de tratamientos previos, que han de poner a prueba el arte sutil y la ciencia finísima de unos métodos de trabajo. Tal ocurre con la Química, que en esta noble emulación ha comenzado a perfeccionar al máximo sus métodos de purificación de sustancias, como demuestran las preparaciones de virus proteínas para su observación al supermicroscopio.

De todos los procedimientos que han sido tratados en estas estampas ninguno que sepamos se cultiva entre nosotros. En muchos países del mundo, ante lo que significan los progresos de la investigación, tales métodos se practican en diversos laboratorios; mas como la mayoría de tales instalaciones son muy costosas, pocos son los centros de investigación de un mismo país que los poseen todos. Por lo común, cada una de estas instalaciones se halla dispuesta en un determinado Instituto, según sn naturaleza, pero siempre al servido de cualquier clase de estudios (39).

Sería de desear que también en nuestra Patria sucediera lo propio. Es necesario, sea el que

fuere el Centro de estudios que los tuviere, que estas armas, hoy imprescindibles en la investigación moderna, estén a nuestro alcance. Ultracentrífugas, hipermicroscopios, generadores electrostáticos de alta tensión, cámaras de niebla; todos aquellos aparatos, en fin, sin los que ya no es posible seguir, sino muy de lejos, el avance vertiginoso de la Ciencia.

NOTAS Y BIBLIOGRAFIA

(1) JOSE Mª. ALBAREDA.-Discurso de recepción. Real Academia de Farmacia, 1943.

(2) P. JORDAN. - *Die Physik und das Geheimnis der organischen Lebens.* Vieweg & Sohn. Braunschweig, 1941. No obstante las gestiones realizadas, no ha podido llegar a nuestras manos esta obra. La alusión que se hace ha sido inspirada por el juicio crítico que del libro ha hecho A. Neuberg en la reseña bibliográfica del Koll. Zeit. *100,* 176 (1942).

(3) A. S. EDDINGTON. -. *Estrellas y átomos.* B. «Rey. Occidente», tomo XXV. Véase también H. REICHENBACH: *Átomos y cosmos;* ibídem, tomo XXXVI, y J. JEANS: *Nuevos fundamentos de la Ciencia.* Espasa Calpe, 1936, Madrid.

(4) E. *ABBE.-Die optischen Hüstmittel der Mikroskopie.* Vieveg & Sohn. Braunschweig, 1878.

(5) E. RUSKA.-Los primeros trabajos de Ruska y Knoll sobre microscopia electrónica datan del año 1927. Su primera patente alemana con v. Borries es del año 1932. Desde 1937 pertenecen a la Siemens & Halske, de Berlín.

(6) M. VON ARDENNE. *Elektronen Ubermikroskopie.* J. Springer. Berlín, 1940.

(7) Desde el año 1930, el Instituto de Investigación de la A. E. G., de Berlín, trabaja en microscopia electrónica, bajo la dirección del profesor Ramsauer, con la colaboración de especialistas como Bruhe, Malh, Jakob, Johanson, etc. En él se utiliza el microscopio electrostático, que en lugar de las lentes magnéticas de Ruska emplea las electrostáticas. En favor de este hipermicroscopio hablan la sencillez de su construcción y manejo, y en contra, la dificultad de conseguir buenos enfoques. Ver C. RAMSAUER: *Elektronenmikroskopie.* Springer Verlag. Berlín, 1942.

(8) Reproducidas de *Das Ubermikroskop als Forschungsmittel* Siemens & Halske. Berlín, 1941, y de v. ARDENNE, loc. cit. (6).

(9) W. M. *STANLEY.-Isolation of a Crystalline Protein Possesing the Properties* of *Tobacco-Mosaic Virus.* «Science» (Nueva York), 81, 644 (1935).

(10) Bibliografía en español sobre hipermicroscopia; véase diversos artículos de *Investigación y Progreso,* en especial t. XI, 1-2, 1940; XIII, 9-10, 1943; A. BRAVO: «Ion», 1941.-*Óptica electrónica geométrica* (Mapas de estudios europeos), edic. española. -JOSE Mª. OTERO: *Desarrollo, estado actual y posibilidades del microscopio electrónico,* «Arbor», 1, 1944. -A. BRAVO REY: *Hipermicroscopio,* Dossat, Madrid, 1944.

(11) En comparación, el campo auditivo es más amplio que el de la visión; aplicando a las vibraciones luminosas el mismo criterio que a las acústicas, el campo de las radiaciones visibles comprende sólo *una escala,* puesto que la frecuencia de los rayos violeta más extremos en doble que la de los rojos, mientras que en el sonido las vibraciones que el oído humano puede percibir comprenden unas *diez escalas.*

(12) Recordemos que expresadas estas magnitudes en longitudes de ondas el campo de λλ de los ultrasonidos comprende entre 1,6 cm y 0,6 X 10^{-4} cm. (0,6) para el aire, de 6-2, 4 X 10^{-4}cm. en los líquidos y en los sólidos de 20-8 X 10^{-4} cm., lo que quiere decir que las ondas ultraacústicas más pequeñas caen dentro del tamaño de las de la luz visible, de donde su influencia en procesos de excitación moleculares.

(13) R. KONIG.-*Ann. Phys.* 69, 626 (1899).

(14) La figura 24, izquierda, muestra el esquema del vibrador más sencillo de magnetoestricción de PIERCE. Una varilla de acero de unos 9 cm. de longitud y 1,2 de diámetro, sujeta mediante unas pinzas al soporte central, lleva al lado derecho la bobina L_1, que forma un circuito oscilante con el condensador C y la conexión de placa del triodo R. En el otro extremo se halla la otra bobina L_2 conectada a la rejilla y al cátodo de la misma válvula. El diámetro interior de las bobinas debe ser lo suficientemente holgado para permitir el desplazamiento longitudinal de la varilla. La aparición de vibraciones se acusa por las indicaciones del miliamperímetro A al aumentar la intensidad de corriente anódica. Como en general es sencillo producir corrientes alternas de frecuencia muy variable, se consigue fácilmente con los medios de la técnica actuales provocar resonancias entre las frecuencias eléctricas y las de las varillas, pudiéndose llegar hasta vibraciones acústicas de unos 60 kH. Las ondas son emitidas por las superficies planas externas.

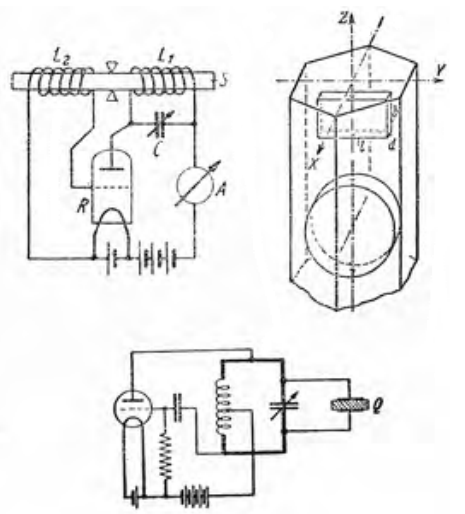

Fig. 24.

(15) Tallando en un cristal de cuarzo (fig. 24, derecha) una laminita normalmente a un eje

polar (en la figura, el X) se obtiene una placa piezoeléctrica; recubriendo sus dos caras más grandes con un depósito o guarnición metálica para formar los electrodos y aplicando a ellas un campo eléctrico alterno, la plaquita emite vibraciones elásticas, que alcanzan su máximo tan pronto la frecuencia propia del cristal y la eléctrica del campo coinciden. El esquema representa una de las más sencillas disposiciones de un emisor piezoeléctrico, yendo la plaquita de cuarzo conectada en paralelo, con el condensador.

(16) Como indican los esquemas de la figura 11, el vibrador de cuarzo d), con su armadura, protegido por el soporte c), se introduce dentro de la vasija a), recubriéndolo completamente de aceite u otro líquido apropiado. El papel de este líquido no es otro que transmitir las vibraciones a la vasija (ésta puede ser de vidrio, pero es mejor de «Calit»), que contiene la solución a irradiar.

(17) A. DOGNON y E. y H. BIANCANI. – *Ultrasons et biologie.* Gautiers & Villards. París. 1937.

(18) Tomada de E. HIEDDEMANN. - *Grundlagen und Ergebniss der Ultraschall-forschung.* Walter de Gruyter. Berlín, 1939.

(19) El vibrador de la figura 12, b, es muy apropiado para observaciones al microscopio. La plaquita de cuarzo actúa al mismo tiempo de porta y se halla recubierta por sus dos caras opuestas, menos en un círculo central, por las armaduras metálicas que actúan de electrodos.

(20) Se designan como «cavitaciones» en hidrodinámica los huecos que se producen en el interior de un líquido al ser batido repetidamente por un cuerpo duro, por ejemplo, una hélice, y se debe a la aparición de fuertes diferencias de presión. Este fenómeno se produce de preferencia en campos ultrasonoros muy intensos, formándose, las cavidades más bien en las superficies límites. Su formación está favorecida por la presencia de gases en los líquidos, que actúan en cierto modo en su masa como puntos de frágil resistencia.

(21) FLOSDORF y CHAMBERS.-Tomada de L. BERGMANN.- Der *Ultraschall.* VDI-Verlag. GMBH. Berlín, 1942.

(22) Se preparan introduciendo en un tubito de vidrio, que se cierra a la lámpara, una mezcla íntima fundida de polvo de berilio finísimo y radio o radioemanación, y en proporciones tales que exista un exceso elevadísimo de rayos por núcleo de berilio, a fin de asegurarse la producción de neutrones.

(23) Los dos procesos nucleares fundamentales para ello son:

$$\mathrm{Be} + \mathrm{d} \longrightarrow \mathrm{B} + \mathrm{n}$$
$$\mathrm{Li} + \mathrm{d} \longrightarrow 2\mathrm{He} + \mathrm{n}$$

(24) El fundamento del mismo consiste en acelerar repetidamente los iones mediante un

campo de unos 100.000 voltios. Para ello se hacen circular los iones por una serie de electrodos tubulares, a los que se aplica un campo alterno de tal frecuencia que cuando las partículas han recorrido un electrodo son más acelerados en el siguiente.

Con el fin de reducir las dimensiones, a causa de la gran amplitud de las trayectorias para grandes aceleraciones, se en corva el recorrido de las partículas mediante un campo magnético transversal, con lo que las trayectorias adoptan la forma de espiral. Consta el aparato (fig. 25, a) de una cámara de aceleración, formada por dos cajas semicirculares, a cada una de las cuales se aplica un polo de un generador de alta frecuencia. En el centro, entre las dos, se halla la fuente de electrones, un hilo incandescente los cuales engendran, por choques, iones, que al caer bajo la acción del campo eléctrico son acelerados en la dirección de uno de los hemiciclos. Como al mismo tiempo se encorvan por el campo magnético, llegan de nuevo al límite de separación, donde, si la frecuencia del campo variable es la adecuada, ,se aceleran nuevamente en la dirección del otro sector, y así sucesivamente. Como la velocidad se va haciendo cada vez mayor, su curvatura bajo el campo magnético es cada vez más pequeña, describiendo por tanto una espiral. Por último, se dejan salir las partículas de la caja laterálmente. Como datos curiosos citemos que el Ciclotrón instalado en la Universidad de Princeton (EE. UU.) tiene un caparazón de hierro que pesa 40 toneladas. Las bobinas magnetizantes llevan 83 toneladas de cobre; su campo magnético es de 18.000 gaus, y que son necesarios para su funcionamiento 40 kilovatios. Véase J. THIBAUD: *Vida y transmutaciones de los átomos.* Espasa-Calpe. Buenos Aires, 1939.

(25) El principio del generador electrostático de alta tensión de VAN DE GRAAP, idéntico al de una máquina electrostática de laboratorio, consiste en una esfera de aluminio gigante, hueca, montada sobre una columna aislante, y una banda de seda que se mueve mediante unas poleas (figura 25, b), encargada de transportar la electricidad producida por frotamiento a la esfera, la que mediante disposiciones adecuadas se carga positivamente, mientras la carga opuesta es transportada por una de las caras de la cinta hacia la tierra. Por lo común, tales instalaciones constan de dos columnas gemelas de condensadores, permitiendo alcanzar hasta tensiones de 10 millones de voltios.

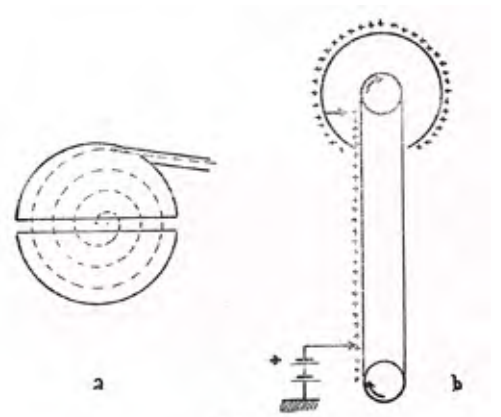

fig. 25

(26) El contador de GEIGER-MULLER consiste en un cilindro metálico, atravesado axialmente

por un hilo también metálico, ambos completamente aislados. Se establece entre ellos una alta tensión, regulando el potencial hasta aproximarse, a la tensión disruptiva, pero sin alcanzarla. Si ahora pasa entre ellos un corpúsculo ionizante (partículas α, electrones) se produce una descarga muy breve, que se puede hacer sensible mediante un electrómetro, un oscilógrafo, un altavoz, un contador mecánico, etcétera (fig. 26).

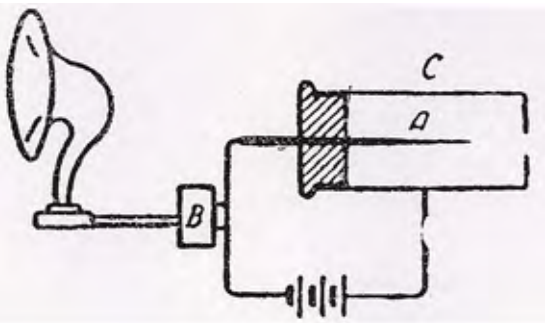

fig. 26

(27) TABLA 1. Contenido en radioarsénico de órganos de ratones muertos distintos tiempos después de suministrarles la dosis (según Born y Timoffeef:

ORGANOS	Valor medio de las actividades en 100 mgr. de órgano, por ciento de la actividad total del alimento. Tiempo en horas después de suministrado éste.			
	¾	½	3	6
Sangre	1,42	1,57	0,84	0,5
Pulmón	0,6	0,97	0,66	0,38
Hígado	0,62	0,69	0,57	0,23
Riñón	—	3,39	2,43	0,69
Bazo	0,74	0,45	0,53	0,24
Gláud. salivales	0,26	0,64	0,37	0,13
Org. sexuales	0,03	0,12	0,23	0,17
Cerebro	0,03	0,08	0,07	0,06

(28) P. M. WOLF y H. J. BORN. - *Darstellung und Anwendungen kunstlich radioaktiver Stoffe.* «Chem. Zeit.», 65, 405, 1941.

(29) Acaso sea por este procedimiento como pueda en el porvenir comprobarse de modo indudable el papel que cada gene tenga reservado ,en las leyes de la herencia, y hallen su fundamento seguro los curiosos y magníficos experimentos de MORGAN en la mosca Drosophila. La ley de Mendel, ley natural, cuyos cimientos sospechamos, se halla actualmente como la ley periódica de MENDELEJEF antes del hallazgo del número de orden. Ver T. H. MORGAN, C. B. BRIDGE S y A. H. STURTEVANT: *The Genetice of Drosophila,* 1925. H. S. JENNINGS: *Bases biológicas de la naturaleza humana.* Espasa-Calpe, Buenos Aires, 1942.

(30) Para más detalles sobre la radiactividad artificial consúltese: A. HAAS: *Die Umwandlungen der Chérnischen Elemente.* Walter de Gruyter, Berlín, 1935, y W. HANLE: *Künstliche radiaktivitat.* G. Fischer. Jena, 1939.

(31) TABLA II. Visión de conjunto de las dimensiones aproximadas de algunos objetos

microscópicos y submicroscópicos, según von Ardenne:

OBJETO	Magnitud en mm.
Núcleo celular (bulbo de cebolla). ...	10^{-2}
Glóbulos rojos de la sangre.....	5.10^{-3}
Cromosomas (bulbo de cebolla).....	$1,10^{-3} \times 5.10^{-3}$
Colibácilos	$3.10^{-4} \times 1,5.10^{-3}$
Virus de la psitacosis	3.10^{-4}
Coloides y coloides moleculares.....	de 10^{-4} a 10^{-6}
Virus «mosaico del tabaco»	$1,5.10^{-5} \times 1,5.10^{-4}$
Molécula de hemocianina	2.10^{-5}
Molécula de albúmina	$6.10^{-7} \times 2.10^{-6}$
Anillo de antraceno	10^{-6}
Atomo de plomo	2.10^{-7}
Atomo de hidrógeno	$1,1.10^{-7}$
Núcleo atómico	de 10^{-11} hasta 10^{-12}
Electrón	10^{-12}

32) TH. SVEDBERG y K. O. PEDERSEN. - *Die Ultrazentrifug.* Steinkopff. Dresde, 1940.

(33) La figura 27 muestra en esquema las distintas partes que constituyen una instalación de ultracentrífuga de turbina de aceite de Svedberg.

En ella pueden apreciarse las conducciones del hidrógeno a baja presión para evitar el calentamiento del rotor R, accionado mediante aceite a presión. Se representa también la disposición óptica de observación (estroboscopo), así como la cámara fotográfica y filtros ópticos.

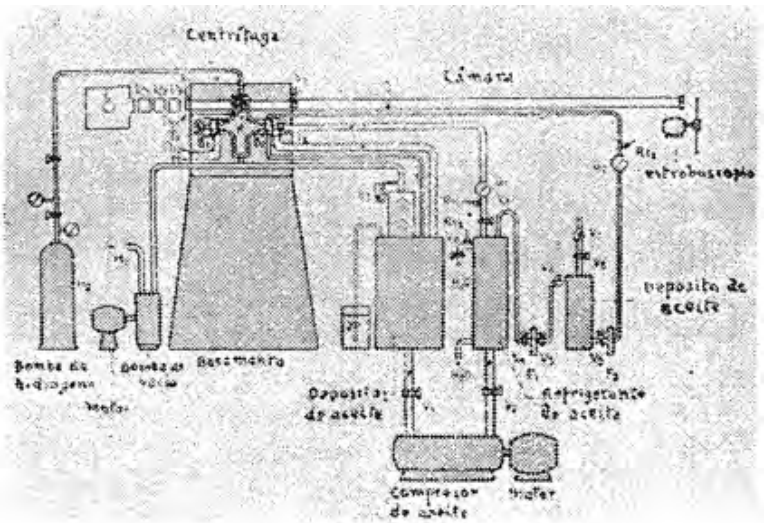

fig. 27

(34) Ver R. PORTILLO.-La *ultracentrifuga y sus aplicaciones en la determinación de magnitudes macromoleculares.* «Rev. Universidad de Madrid», 1943.

(35) TABLA III. Constantes de sedimentación y pesos moleculares de algunas proteínas, según Svedberg:

PROTEINA	$S=1\times10^{-13}$	PM hallado	PM calculado
Eritrocrurina (Lampetra)	1.8	17.100	
Lactalbúmina	1,9	17.400	17.000
Myoglobina	2,0	17.500	
Albúmina del Bac. Phlei.	1,8	17.000	
Eritrocrurina (Arca)	3,4	33,500	
Lactoglobulina	3,12	38.000	35.200 =
Pepsina	3,3	35.500	2 × 17.600
Insulina	3,5	35.000	
Ovalbúmina	3,55	40.500	
Hemoglobina (caballo)	4,4	68.000	
Hemoglobina (hombre)	4,4	63.000	70.400 =
Seroalbúmina (caballo)	4,4	70.000	4 × 17.600
Toxina diftérica	4,6	72.000	
Kanavalina	6,4	113.000	105.600 = 6 × 17.600
Seroglobulina (caballo)	7,1	150.000	140.800 =
Globulina del suero antineumocócico.	6,5	150.000	8 × 17.600
Myogeno A	7,8	150.000	
Phycoeritrina (Ceramium)	12,0	290.000	
Phycocianina (Ceramium)	11,4	275.000	282.000 =
Excelsina	13,3	295.000	16 × 17.600
Catalasa	11,3	250.000	
Hemocianina (Palinurus)	16,4	250.000	422.000 =
Hemocianina (Eledone)	10,6	460.000	24 × 17.600
Ureasa	18,6	480.000	
Hemocianina (Nephrops)	24,5	820.000	
Hemocianina (Helix nemoralis)	16,6	800.000	845.000 =
Globulina suero antieumocócico (ternera)	18,1	910.000	48 × 17.600
Eritrocrurina (Planorbis)	33,7	1.540.000	1.690.000 =
Hemocianina (Calocaris)	34,0	1.330.000	96 × 17.600
Eritrocrurina (Arenícola)	51,4	3.000.000	3.380.000 =
Eritrocrurina (Lumbricua)	60,9	2.950.000	192 × 17.600
Hemocianina (Helix pomatia)	98,9	6.700.000	6.760.000 = 384 × 17.600
Virus «Bushy-Stunt»	146,0	7.600.000	

(36) A. *TISELIUS.-Elektrophoretische Messungen am Eiweib.* «Koll Zeit.», 85, 129, 1938.

(37) A la primitiva y sencilla forma en U de los tubos electroforéticos ha sustituído actualmente la algo más complicada de Tiselius, cuya representación en sección ilustra la figura 28. La parte central, que constituye la región activa de las zonas de emigración, permite por su construcción variar sus dimensiones; ,es de vidrio y se dispone en el soporte de manera. que sea posible durante el ensayo la exacta, observación del mismo. El control de la temperatura debe ser muy riguroso. En el dibujo 110 figuran los electrodos.

(38) Para más detalles sobre los métodos de ultracentrifugación y electroforesis véase: SVEDBERG: *Les molécules protéiques.* Hermann, París, 1939; «Kolloid. Zeit.», 85, 100, 1938. H. THEORELL: *Die Elektrophoretischen Methodem.* Bamann-Myrback. *Die Methoden der Fermentforschung.* G. Thieme. Leipzig, 1.714, 1940.

(39) En estos últimos tiempos, la instalación de hipermicroscopios ha constituido acontecimiento de tanta importancia, que hasta la prensa diaria y la radio han dado la noticia cuando en determinado país se montaba alguno. En el continente europeo cuentan, fuera de los diversos existentes en Berlín, con uno al menos, los siguientes países, que sepamos: Italia (Milán), Suiza (Zurich) y Suecia (Upsala). Más profusión han alcanzado, aun que tampoco muy grande, las ultracentrífugas del tipo de SVEDBERG, existiendo varios centros europeos de

investigación, en especial de bioquímica, que las poseen. Menos difundidos, pero también ya en varios países del continente, como Francia, Alemania, Suiza, Italia y Portugal, se han montado instalaciones biológicas. El generador electrostático de alta tensión que representa la figura 15 corresponde a la instalación elegida para dicho fin en el Instituto de Sanidad Pública de Roma, en el cual colaboran físicos, químicos y médicos.