

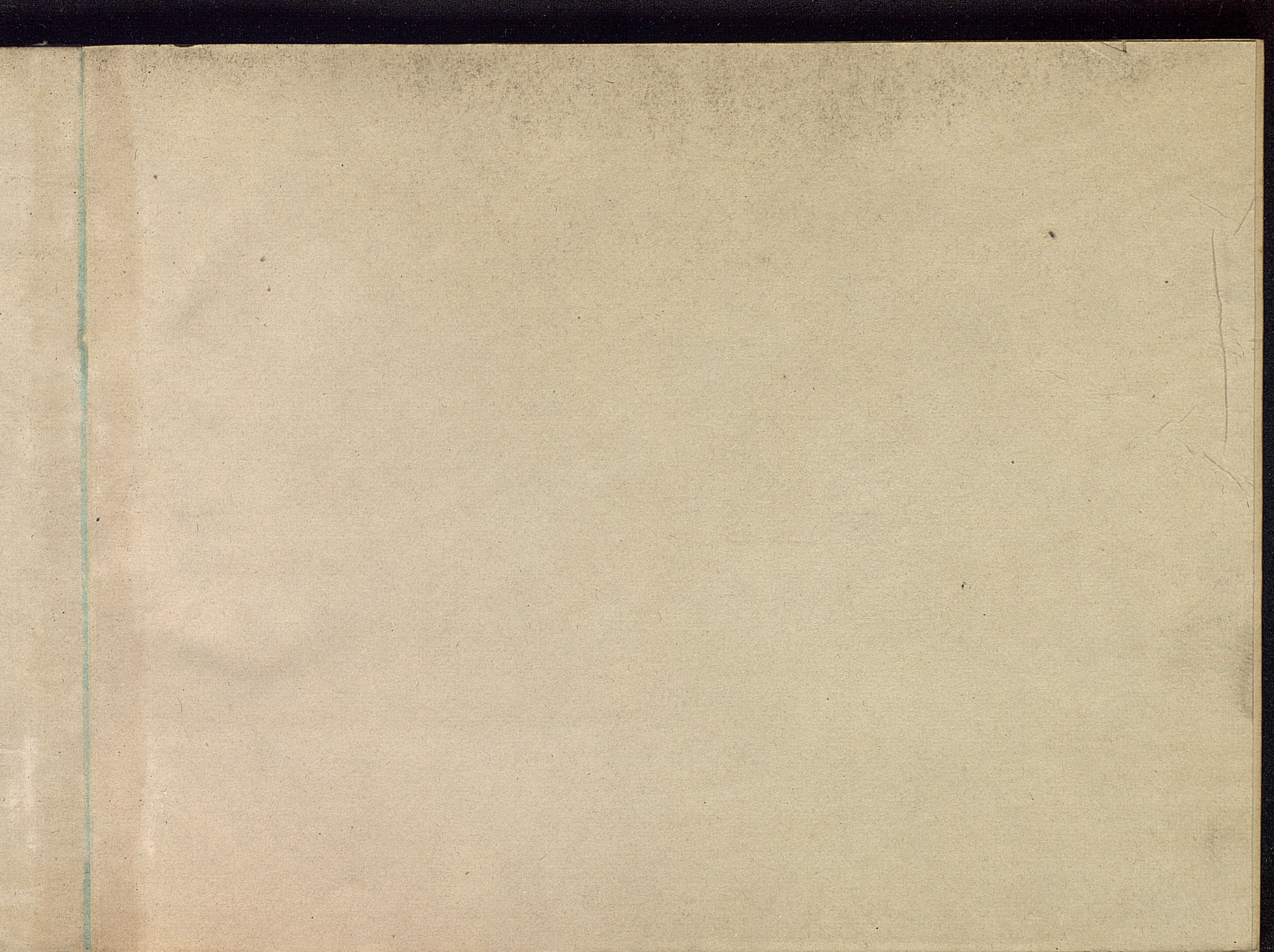
SOCIEDAD MALAGUEÑA
DE
Ciencias Fisicas
Y
Naturales.

Conferencia
Las Hidrogenasas
por
Don Adolfo La Blanca

4 Diciembre 1908.



4665



Las Hidrogenasas.

Las Hidrogenasas.
por

Don Adolfo La Blanca

4 Diciembre 1908.

Señores

Animado por la favorable acogida que os dignásteis dispensar á mi anterior Conferencia, vuelvo á presentarme ante vosotros con los alientos y confianzas que me inspiraron aquellas leales manifestaciones de cordial afecto que nunca olvidaré ni sabré agradecer en cuanto valen.

Ahora como entonces vengo aquí exento de pretensiones que en ocasión alguna abrigaría, y mucho menos en la presente, cuando estoy seguro que con las deficiencias de estos apuntes voy á someter á dura prueba la exquisita cortesía y reconocida benevolencia de tan ilustrado auditorio.

Condensar en pocas cuartillas los datos que hasta el presente existen acerca del novísimo grupo de diastasas conocidas con el nombre de Reductasas o Hidrogenasas, indicando los procedimientos usados para su investigación en los animales y ve-

getales, las funciones biológicas que desempeñan y la creciente importancia de su estudio, el objeto y fin que me propongo y que no sé si podré alcanzar tan cumplidamente como tenéis derecho a exigir y yo deseara.

Como preliminar casi indispensable al desenvolvimiento de mi tesis, debo dedicar algunos renglones a otro interesante grupo de fermentos solubles denominados oxidazas, de las cuales tendré que hacer frecuentemente mención en el transcurso de este trabajo, ya por las íntimas relaciones que guardan con el que me propongo estudiar, en lo que a su caracterización y funcionalismo se refiere, ya por la necesidad de establecer el paralelismo diferencial que existe entre las diastasas de oxidación y las de reducción comprendidas ambas, así como también las de hidratación y deshidratación, de coagulación y descoagulación, de recomposición y descomposición, bajo los diversos nombres genéricos de diastasas, zimazas o enzimas, entre los cuales algunos autores pretenden establecer distinciones.

No debiendo ocuparme de aquella clase de fermentos más que como

introduccion al estudio de las reductoras, he de limitarme a señalar los rasgos más importantes que las caracterizan y distinguen de las demás diastasas.

Las oxidaras, llamadas tambien por Bourquelot fermentos oxidantes directos, pertenecen como ya sabeis, al gran grupo de las diastasas y por tanto poseen las propiedades y caracteres que son comunes a todos los fermentos diastásicos, cuales son principalmente producir transformaciones infinitamente grandes con pesos infinitamente pequeños y presentar una actividad variable con la temperatura, alcanzando su maximum de accion entre los 40 y 45 grados, debilitándose gradualmente, a medida que aquella pasa de estos límites y anulándose por completo al llegar a los 100°.

Otras propiedades que comparten con las demás diastasas son la solubilidad en el agua, la de ser precipitadas de sus soluciones por la adiccion de alcohol y su fácil fijacion sobre precipitados que se formen en el seno del líquido acuoso que las contengan, siendo estos dos ultimos los que se aprovechan para aislarlos.

La naturaleza química de las oxidaras es, como la de todas las diastasas

ras, muy parecida a la de las albuminoides; no ha podido aún representarse por una fórmula su composición atómica, puesto que de ellas se sabe tan solo que contienen una sustancia análoga a las gomas, que en su composición elemental figuran con el carbono, el nitrógeno, el oxígeno, el hidrógeno y azufre, y que en las cenizas de algunas se encuentra el manganeso, a lo que se ha dado por Bertrand gran importancia, atribuyendo a dicho elemento la acción química especial que las caracteriza y las da nombre.

Pudieramos muy bien suponer, y así conviene hacerlo para explicar su funcionalismo, que están constituidas por un radical o núcleo, absolutamente desconocido; pero que debe ser de gran magnitud molecular, unido a un átomo de oxígeno en condiciones tales que fácilmente lo ceden cuando se hallan en contacto con cuerpos que tengan tendencia a combinarse con dicho gas, esto es, con aquellos que sean oxidables en las condiciones de medio y temperatura en que estas reacciones han de verificarse. Pero las oxidases no se limitan sencillamente a eso, sino que tan luego como han cedido su oxígeno, vuelven a tomarlo fácilmente del aire para después volverlo a ceder en igual-

forma repitiéndose estas transformaciones indefinidamente sin que su actividad se agote; son verdaderos vehículos que transportan de cada vez poca carga de oxígeno, pero que lo toman y ceden con facilidad mercedando al mismo tiempo sus viajes: pudiéramos comparar el papel de las oxidazas al que desempeña el óxido de cobalto en la obtención del oxígeno por los procedimientos de Fleitmann y de Winkler, o al del bioxido de manganeso en la descomposición del clorato potásico por el calor, atribuidos antes a la fuerza llamada catalítica.

Se encuentran las oxidazas tanto en los vegetales cuanto en los animales, universalmente repartidas, diversamente localizadas y desempeñando en ambos los acciosos que corresponden a su constitución y característica química que dejo indicadas. El fenómeno de la respiración, considerado no ya en su fase preparatoria cual es la función pulmonar, sino en la intimidad de los tejidos, que es donde se verifican esencialmente las oxidaciones, no es otra cosa que el resultado de una acción diastásica provocada y sostenida por las oxidazas que en todo el organismo se encuentran difundidas y que continúan o intermitentemente elaboran las células. De aquí el que también se llamen las oxidazas dia-

tasas de respiracion.

Los medios de que podemos servirnos para descubrir la presencia de una oxidasa son de dos ordenes: basados unos en reacciones coloreadas, otros en una transformacion del agente quimico empleado la cual sea facil de conyruar; en uno y otro caso la reaccion es debida al poderoxidante de la diastasa en cuestion. Pertenecen al primer grupo la tintura de guayaco o mejor la solucion alcoholica de guayacina, que en contacto de una oxidasa toma color azul; la solucion acuosa de guayacol, que pasa al amarillo rojizo, al rojo y al granate; la solucion de paraferulenodiamina, o reactivo de Röchman y Sinter que toma color violeta pasando despues al azul; la solucion de hidroquinona, que adquiere color rojo desquediendo al mismo tiempo un olor caracteristico por su transformacion en quinona, y el pirogalol, que pasa al rojo oscuro con formacion de precipitado. Estos reactivos se emplean ya poniendo algunas gotas directamente sobre la sustancia que se ensaya, si esta no tiene color, como puede operarse facilmente sobre el corte de una patata, ya colocando en un tubo de ensayo cuatro centimetros cubicos del liquido en que se investi-

ga la oxidasa y añadiendo diez gotas del reactivo; en ambos casos la coloración es instantánea con la tintura de guayaco, frotando algunos minutos en presencia con los demás reactivos citados.

Al segundo grupo pertenecen el aldehído salicílico que por oxidación se convierte en ácido salicílico, y el alcohol benzoílico que da lugar al ácido benzoico, ambos productos fáciles de caracterizar por sus reacciones especiales. Cuando se dispone de aparatos adecuados, puede medirse la cantidad de oxígeno absorbido en dichas transformaciones.

Por lo demás, estos procedimientos exigen la preparación especial de la sustancia que ha de ser objeto del ensayo, de cuyos detalles prescindiré porque transgrediría demasiado los límites que debo imponerme, y es ya tiempo de entrar de lleno en el asunto objeto de esta conferencia cuya excesiva aridez soy el primero en lamentar.

Es ley absolutamente demostrada, aplicable a todo orden de fenómenos físicos o químicos, que a cada acción corresponde una reacción; a la energía ac-

tual que aparece, una energía potencial que desaparece; a toda hidrogenación, una deshidrogenación concomitante; a toda oxidación una reducción consecutiva; cumpliendo siempre los fundamentales principios enunciados por Lavoisier y Julio Roberto Mayer que a la materia y a la energía se refieren y que recíprocamente se complementan. Recordado esto, si aplicamos dichos principios al asunto que nos ocupa, por lógica inferencia nos veremos forzados a deducir — subyugante de la misma, la cual por virtud de esta primera fase de aquel proceso químico, quedará transformada en una sustancia reducida; esto de puro evidente no sería preciso consignarlo, por tanto no exige demostración.

Pero dige al tratar de las oxidaras que estos cuerpos poseen en alto grado la facultad de ceder oxígeno y tomarlo después de cualquier material que lo contenga, y principalmente del aire; por consiguiente, aquella oxidara reducida no es una sustancia muerta que no goza de actividad, antes al contrario su energía erece, aunque cambiando de signo, necesita indispensablemente reeysar aquel gas que perdió, y en ese estado, cuya duración sera tanto más breve cuanto más fácil sea el libre acceso del aire, no sera ya simplemente una

substancia reducida sino que se habrá convertido en otra de función reductora muy exaltada, y apoderándose del oxígeno de los cuerpos que la rodean los disociará volviendo aquella a su primitivo estado y completando así el ciclo de sus transformaciones. Ved aquí como por un sencillo razonamiento venimos a admitir las acciones diastáticas reductoras al lado de las oxidantes e íntimamente ligadas con ellas.

De las consideraciones anteriores pudiera deducirse, como inmediata consecuencia, que diastáticas oxidantes y reductoras eran una misma cosa, que las unas procedían de las otras y que las diferencias de acción correspondían a los momentos precisos de su fase evolutiva en que nosotros las consideramos; pero esto no es así, y si empleé el anterior razonamiento no fue más que para sentar sólida base sobre la cual de deducción en deducción podamos venir a reconocer la necesidad de que existan real, efectiva e independientemente de las diastáticas de oxidación las diastáticas de reducción.

Permitiendo en dicho propósito, yo voy a recurrir ahora al criterio de las analogías, que si no tiene la suprema autoridad de los principios

incontrovertibles, ha servido en no pocas ocasiones para esclarecer ciertos hechos y hasta para asentar principios como el de las analogías botánicas y químicas del immortal Linné. Ensayemos, pues, la aplicación de dicho criterio en el presente caso; mas antes debo hacer una observación que no estimo impertinente, y es que, correspondiendo el tema de esta conferencia al terreno de la química biológica, al hablar de oxidaciones, reducciones y demás fenómenos, lo hago siempre con referencia a los seres vivos; con esta salvedad evitaré el causaros aún más conjeturas y aclaraciones.

Demostrada esta experimentalmente la existencia individual y distinta de las diastasas de hidratación y deshidratación, de coagulación y descoagulación, de recomposición y descomposición, cada una de ellas con su acción específica bien marcada y con tan manifiestos antagonismos entre sí como el que indican los nombres genéricos asignados a cada grupo, y aunque dentro de algunos de estos hay ciertas diastasas que en circunstancias especiales pueden producir opuestos efectos, no afecta eso en nada a la generalidad de las distinciones establecidas. Si reconocemos, pues, que para cada orden de fenómenos realizados por los me-

canismos dichos hay su diastasa correspondiente y admitimos como indubitable la existencia de las diastasas de oxidación, casi *a fortiori*; guiados por el criterio de las analogías, debemos suponer que tambien existen las diastasas de reducción.

Teóricamente notábase desde luego un vacío en la ciencia desde el momento que se conocieron las diastasas de oxidación: ese vacío ha venido a ocuparse muy recientemente; los resultados experimentados han confirmado esta vez, como otras muchas, las predicciones teóricas, por que las diastasas de reducción han sido encontradas, de ellas se han hecho ya importantes estudios, y aunque estos no gocen todavía del asentimiento unanime de los sabios, de esperar es que disipadas las prevenciones que siempre se oponen a toda idea nueva, el grupo de las reductasas se consolide en el terreno de la ciencia, y aumentando el número de las especies, profundizándose más y más en su estudio, llegarán a compartir con las oxidasas la importancia que les corresponde en la explicación de muchos fenómenos biológicos; tal es, al menos, mi firme creencia que intentaré llevar a vuestro ánimo si continuáis prestandome vuer-

tra paciente atención.

Los nombres de dos ilustres químicos, Key-Failhade y Porri-Escot, aparecen íntimamente unidos en el descubrimiento y estudio de las diarreas de reducción, llamadas también reductaras e hidrogenaras. El primero de aquellos, después de varias investigaciones acerca de la eliminación del azufre ingerido por la vía gástrica, de las cuales dedujo que siempre había formación de hidrógeno sulfurado, admitió en la célula viviente la existencia de una materia orgánica capaz de producir dicho sulfuro al hallarse en contacto con el azufre libre; a esa sustancia especial, que pudo aislar más tarde por procedimientos que describiré, le dio el nombre de Philothion, primera reductara conocida y de la que se ha hecho más completo estudio por los Autores citados. Algun tiempo después Porri-Escot señala otras dos hidrogenaras, las Lacquemas alfa y beta, nombres dados en honor de M. Lacquemín en cuyo laboratorio llevó a cabo sus trabajos de investigación el químico antes mencionado.

No debe pasar en silencio los trabajos de Olivier acerca del Philothion

publicados casi en los mismos dias que los de Rey-Faillade, al que sin embargo parece corresponder la prioridad del descubrimiento.

Querra el número de las diastaras de reduccion descubiertas hasta la fecha la Catalasa, dada a conocer por Oscar Laar, quimico de Tokio, como una oxidasa y que Porri-Escot ha demostrado ser una reductasa completamente análoga a la hidrogenasa tipo, que es de la única que voy a ocuparme y que ya digo se conoce con el nombre de Philothion; lo que de ella diga es aplicable, con ligeras modificaciones, a las demás reductasas conocidas, por lo menos en cuanto al mecanismo general de su acción.

Las reductasas o hidrogenasas son sustancias análogas a las oxidasas por lo que a su naturaleza albuminóide y a varias de sus cualidades físicas se refiere, pero opuestas por su función química: así que reducen los compuestos oxigenados; decoloran la solución de barniz de índigo y la tintura de tornasol; destruyen el color azul formado por la acción de las oxidasas, sobre la tintura de guayaco, y en general, impiden que se manifiesten las propiedades oxidantes de estas sobre los diversos reactivos que con el fin de-

caracterizarlas se emplean y que consigne al principio. Esta última circunstancia es muy importante, porque puede falsear los resultados que se obtengan en la investigación de las oxidasas si se opera en presencia de reductasas.

Además de su acción reductora directa, poseen otra indirecta, que consiste en ceder parte de su hidrógeno, cuyo elemento, adicionándose a una molécula orgánica, hace que esta resulte relativamente menos oxigenada; por este mecanismo transforman el índigo azul en índigo blanco. También pueden verificarse al mismo tiempo ambas reacciones; esto es, reducción e hidrogenación simultáneas; así obran sobre la nitrobenzina formando anilina, y tal vez a este orden sean debidas muchas de las transformaciones que provocan en los organismos.

Pero lo que más distingue a las diastasas de reducción es la propiedad de producir hidrógeno sulfurado a la temperatura ordinaria en contacto del azufre dividido, así como también hidrógeno seleniado en presencia del selenio en polvo; en ambos casos hallándose interme-

tos en el agua los energjos reaccionantes. No he de referir aquí los numerosos experimentos verificados para comprobar esta acción por los distinguidos químicos Rey-Failhade, Olivier, y Ferri-Escot; baste decir que fueron efectuados en condiciones tales que resultan al abrigo de toda crítica, y que el hecho quedó perfectamente demostrado confirmandose por consecuencia el significativo nombre de Philothion conque había sido designado por Failhade la reductora que él descubriera.

En el estado actual de nuestros conocimientos acerca de los fermentos solubles en general y de los reductores en particular, no podemos precisar cual sea su constitución química para expresarla en una fórmula, siquiera fuese empírica; oponerse a esto entre otras dificultades, la imposibilidad de aislar dichos principios en el absoluto estado de pureza que tales determinaciones exigen, y no siendo posible otra cosa, hemos de contentarnos con aventurar hipótesis que provisionalmente nos sirvan para dar una explicación algo aceptable de los principales fenómenos ocasionados por aquellas agentes.

Discutiendo en este sentido podríamos suponer que en las reductoras existe lo mismo que en las oxidaras, un radical muy complejo distinto del de estas, cuyo radical se encuentra aquí unido a dos átomos de hidrógeno; pero tan débilmente enlazados, que con suma facilidad se separan para unirse con aquellos cuerpos que lo soliciten, dando lugar a un compuesto más estable. Yo me atrevería a comparar las reductoras con los hidruros positivos, y a las oxidaras con los óxidos negativos más inestables de la química mineral.

Destihdrogenado el Philothion, vuelve a hidrogenarse regenerando el compuesto primitivo, que seguirá transformándose en igual forma indefinidamente si agentes o circunstancias anormales no destruyen o paralizan estas evoluciones; como lo hacen el calor y algunas sales metálicas. Ocurre inmediatamente preguntar de qué manantial se surtirá de hidrógeno la reductara, donde tomará los dos átomos del gas que perdió y que necesita para reconstituirse, para estar en condiciones de seguir ejerciendo su función diás-

tánica: cuestión es esta que sostiene vivas discusiones todavía y de la que me ocuparé más adelante cuando haya dado á conocer las más importantes reacciones originadas por la acción de las reductoras sobre compuestos de distinta naturaleza, porque entonces la aplicación será más fácil, aunque no sea completamente satisfactoria.

Dejando, pues, para luego el tratar de tan interesante asunto, voy á ocuparme ahora, del modo de aislar el Phosphonium y de la acción del mismo sobre diversos cuerpos, procurando deducir en cada caso las consecuencias que sean de aplicación inmediata al esclarecimiento de algunos problemas científicos o de orden puramente práctico.

Para aislar el cuerpo de que me ocupo no puede emplearse el procedimiento general de precipitación por el alcohol, porque se consigue difícilmente sino se encuentra en solución bastante concentrada; es preciso recurrir si se le quiere recoger bajo la forma sólida á producir un precipitado de fosfato de calcio en la solución donde se halle la reductora, la cual es envuelta en el precipitado del que luego se separa por la

acción de un ácido deshidrato, que disolviendo el fosfato deja el Phosphion en solución concentrada, o mejor dicho, en suspensión, siendo ya fácil el precipitarlo por el alcohol. Generalmente basta con preparar soluciones activas de hidrogenasa en cuestión; y para ello se toma levadura baja de cerveza y después de lavarla, se la mezcla con azúcar pulverizada, procurando enfriar la masa; la plasmolisis no tarda en iniciarse y, haciéndose cada vez más activa, acaba por producirse una lisis completa; conseguido esto se abandona por doce horas, previa la adición de un antiséptico que no se opone a que la murara y la rimasa de la levadura provoquen la fermentación alcohólica, terminada la cual se añade un poco de agua, se filtra, y el líquido obtenido será una solución bastante activa de Phosphion.

Examinemos ahora la acción de las reductasas sobre diversos cuerpos empezando por la que ejercen sobre el agua oxigenada. Este compuesto se altera desde luego por las diastasas en general, y si la reacción tiene lugar en presencia de la tintura de guayaco, esta toma co-

lor azul; las reductoras no se comportan del mismo modo, descomponen, sí, muy energicamente el agua oxigenada, pero la tintura dicha no azulca, sin duda porque la hidrogenasa impide la formación de la quayacorasida, que es el compuesto azul á que me refiero.

Observase en la descomposición del bióxido de hidrógeno por el Philothion que el desprendimiento de oxígeno, tumultuoso al principio, va debilitándose hasta amularse por completo, y para explicar esto admitiremos que se produce una verdadera combustión de la reductora y no que obra catalíticamente, ni aún dando á esta palabra el significado que hoy tiene en la ciencia.

Pensando Forri-Brot si la descomposición del agua oxigenada por la fitrina sería debida á una fracción diastásica, aisló una gran cantidad de fitrina que sometió después á la acción del agua, obteniendo un líquido que obraba sobre el agua oxigenada del mismo modo que el Philothion; deduciendo de sus numerosos y delicados experimentos que la sangre contiene una reductora, la cual es aprisionada en el

coágulo en virtud de la propiedad que tienen todas las diastasas de unirse a los precipitados, y por tanto que la acción de la fitrina sobre el bixido de hidrogeno es debida a la presencia de dicha reductasa.

De la propiedad que dejó indicada se desprende una importante consecuencia para la fisiología y la patología. En efecto, sabemos por Bamberger que en la célula viviente se forma agua oxigenada; nos consta además que dicho compuesto es un antiséptico tan poderoso que, obrando sobre las células, produciría su muerte; acción nociva que contrarrestan las reductasas descomponiendo el bixido de hidrogeno con producción consiguiente de oxígeno libre que contribuye a las oxidaciones constitutivas de la respiración celular.

Parando a la acción del Thiothion sobre algunas sales oxigenadas, nos encontramos con que Rey-Peilhade ha conseguido la reducción de los arseniados o arsenitos; Rabuteau la de bromatos y iodatos a bromuros y ioduros; Laurantin asegura que en la fermentación de los mostos el sulfato de cobre, que accidentalmente pueden conte-

ner, es reducido por la acción de una hidrogenasa, y Nartukoff conjun-
gía la reducción del sulfato de magnesio, proponiéndola como
medio para dosificar las reductasas.

En las fermentaciones provocadas para la obtención de al-
coholes industriales se conjunaba el desprendimiento de hidrógeno
sulfurado, que Torri atribuye a la reducción de los sulfatos por inter-
medio de las hidrogenasas; opinión que ha sido vivamente discutida
hace pocos meses en la Asociación Francesa de Químicos de las destile-
rias.

Por último, la formación de hidrógeno sulfurado en algunas
aguas donde viven sulfurarias ha sido atribuido por Olivier a
la acción de una diastasa reductora más o menos parecida al
Philothion.

La importancia teórica de estas reducciones de que me ocu-
po, sube de punto cuando se trata de los nitratos; por lo que de-
dicaré a esta cuestión algunos renglones más aún a riesgo de-

molestas demandado. Parece cosa comprobada la existencia de diastaras reductoras en las células vegetales, sobre todo en el período de su desarrollo, en las gemas embrionarias que se encuentran en las estremidades de los tallos y en todas las regiones de la planta donde el crecimiento es más activo, siendo precisamente en esos mismos puntos donde se hallan los nitratos segun las observaciones de Gold-vestki.

Con extraordinaria coincidencia hizo nacer la idea de estudiar la acción de las reductoras sobre los nitratos alcoholicos para deducir si en la reducción de estos por los vegetales cabia á aquellos importante papel. A dicho efecto preparó Porri cinco soluciones de nitrato de potasio con cantidades crecientes de esta sal, poniendo en cada una de aquellas cien centímetros cúbicos de solución concentrada de Phylottion preparado en la forma que ya dije. Pasados tres dias, pudo comprobar que en tres de los frascos se habia reducido á nitrato parte del nitrato; en los dos restantes no se encontraban indicios de nitrato

con las más sensibles reactivos de estos cuerpos; era porque la dosis de nitrato contenidos en ellos, que fueron cinco decigramos y un gramo respectivamente, obraban como paralizantes de la acción diastásica.

Aunque la reducción era manifiesta en los tres frascos del anterior experimento, quiso el citado químico llegar a efectuarla dentro de las mismas células, y para ello tomó un cultivo seleccionado de levadura baja de cerveza que puso en un líquido conteniendo azúcar, nitrato de potasio, y fosfato del mismo metal; terminada la fermentación recogió la levadura; la secó perfectamente por compresión ligera entre papel de filtro; deseguida provocó en ella la plasmolisis, y analizado el líquido obtenido, halló en él nitrato, nitrato, y sales amoniacales, con cuya experiencia quedó demostrado la formación de compuestos de reducción en el interior de las células; fenómeno que atribuyó a las reductasas; si bien reconoció que su experimento no estaba libre de crítica por haber operado en presen-

cia del azúcar, a cuya sustancia también pudiera atribuirse la reducción efectuada.

Por otra parte Thelous y Gerard han comprobado la transformación de los nitratos en nitritos por un extracto acuoso de riñón de caballo; habiendo efectuado sus experiencias en condiciones tales que no podía atribuirse la reacción a la presencia de microorganismo y si únicamente a una diastasa reductora.

En resumen, la reducción de los nitratos por las hidrogenasas entiendo que es un hecho demostrado: no me atreveré a decir lo mismo respecto a que la reducción de dichas sales por las plantas reconozca únicamente igual causa; pero creo que es asunto digno de estudiar, porque si no nos facilitase la clave completa de dicho fenómeno, serviría tal vez para contribuir a un esclarecimiento, o por lo menos, sería una hipótesis más que aspiraría con las de Schlasing, Mayer, Schmidt, Gautier, Bach, y otros, a explicar el mecanismo en virtud del cual llegan los vegetales a elaborar sus materias proteicas con-

el concurso principal, sino exclusivo, del ácido nítrico y del amoníaco.

El oxígeno libre obra también sobre el Philothion, como se demuestra abandonando al aire una solución de dicha sustancia, la cual acaba por perder su actividad; en tanto que otra conservada en una atmósfera de nitrógeno, se manifiesta activa por mucho tiempo.

Recordando ahora la fórmula empírica e hipotética que dije se podía asignar provisionalmente al grupo de diastases de que me ocupo, á saber, que estaban constituidas por un radical desconocido unido á dos átomos de hidrógeno, podemos representar la acción del oxígeno por una igualdad cuyo primer miembro estaría constituido por dicho gas y el Philothion, y el segundo por el radical ó residuo molecular deshidrogenado (que perdí) y una molécula de agua, formada á expensas del hidrógeno que perdí la reductasa. Pero en esa reacción vemos que el Philothion que.

da transformado en un agrupamiento molecular distinto del primitivo por tener dos átomos de hidrógeno menos; y entonces, o queda destruido causando por consiguiente su acción diastásica, o toma hidrógeno para reconstituirse y cumplir las acciones indefinidas que caracterizaron a todas las diastasas.

Esta es la cuestión que deje antes pendiente para abordar la luego que hubiere dado a conocer algunas de las propiedades de las reductasas y que ahora es ocasión de tratar. Que el Philothion se reconstituye parece ser cosa demostrada; pero ¿adonde recurre para tomar el hidrógeno que le falta? No puede tomarlo del aire, por que allí no existe al estado libre, y aunque existiese no se podría unirse directamente a él; yo creo que no, por que tan pronto lo hacen tan fácilmente otros cuerpos que tienen manifiesta tendencia a combinarse con dicho gas si una energía extraña no viene a facilitar esa combinación, o si no viene a favorecerla el estado nascente, cuando aun se ha constituido lo que llamamos hidró-

geno molecular. ¿De donde, pues, tomaran el hidrógeno las redu-
ctas? Yo no puedo decir más que la opinión de Rey-Faulhaud,
el cual supone que el Thiotion desthidrogenado descompone el agua
con el concurso de una sustancia oxidable, cuya naturaleza no dice,
pero que yo supongo pudiera admitirse que fuese una oxidasa
reducida; los elementos del agua se fijan sobre los cuerpos que han
provocado su descomposición; el oxígeno sobre la sustancia oxida-
ble; el hidrógeno sobre el residuo del Thiotion. Esta reacción
implica la posibilidad de que el hidrógeno nascente se una al resi-
duo molecular desthidrogenado, cosa que tiene fácil explicación por-
que ya sabemos que en ese estado especial tienen los gases una ten-
dencia a combinarse con otros cuerpos.

Desde luego que la teoría expuesta parece algo acomodaticia,
pero no debe considerarse como inadmisibile porque puede encon-
trar algun apoyo en las experiencias de Schloesing, las cuales
demuestran que en la fermentación de los estiercoles hay descompo-

sición del agua, cuyo oxígeno se une a diversos principios y el hidrógeno al carbono produciendo formeno. Por otra parte, Gautier dice que en algunas de las células vivientes de los animales las sustancias albuminoidas se descomponen del mismo modo que lo hacen al abrigo del aire bajo la influencia de los fermentos de la putrefacción.

De lo dicho respecto a la descomposición del agua se desprende una consecuencia inmediata y es que las reductasas pueden obrar como agentes indirectos de oxidación; lo que reviste gran importancia para explicar las oxidaciones que tienen lugar en la profundidad de los tejidos.

El manifiesto antagonismo que existe entre oxidasas y reductasas, justificado por las opuestas funciones químicas que desempeñan, nos lleva necesariamente a tratar de las acciones mutuas entre ambos grupos y, como consecuencia de este estudio, a ver si será posible que oxidasas o hidrogenasas coexistan en un mismo tejido sin destruirse.

Siendo las oxidaras, como ya dije, instancias que facilmente ceden un átomo de oxígeno y las hidrogenaras cuerpos reductores con dos átomos de hidrógeno débilmente unidos a un núcleo, nada más probable, dentro de las condiciones ordinarias de verificarse las reacciones, que ambas diastaras se destruyan mutuamente si se encuentran en las precisas proporciones para llegar a dicho estado final y no interviene agentes extraños; o bien ocurrirá que si alguna de las dos prepondera destruirá a la otra y el residuo no reaccionante imprimirá caracter oxidante o reductor al medio donde la reacción tenga su asiento; algo así como lo que ocurre cuando hacemos obrar un ácido sobre un álcali, que podemos obtener una solución neutra, o acida alcalina segun las proporciones que empleemos de los cuerpos citados. No se verifican las reacciones orgánicas, especialmente las que han lugar entre cuerpos de constitución tan complicada como las diastaras y de un funcionalismo tan especial, con la sencillez que se realizan las de los cor-

puertos inorgánicos, y aunque estas últimas no se sustraen a las diferentes circunstancias que pueden modificar sus afinidades, no llegan nunca a ser tan influenciadas como las orgánicas, por las diversas causas que pueden concurrir en sus metamorfosis; así, pues, no podemos llegar a producir reacciones entre oxidaras y reductaras con esa absoluta precisión con que realizamos las de saturación de un ácido por una base. Esto sentado, veamos lo que ha podido hacerse experimentalmente en averiguación de las acciones mutuas entre las dos opuestas diastaras.

Key - Faillade trituró finalmente un tegido que contenia oxidaras y reductaras, operando al aire, y observó que al poco tiempo la mezcla solo presentaba las propiedades oxidantes; las reductaras habian desaparecido o habian sido destruidas por las oxidaras por transporte del oxígeno atmosférico a las moléculas de aquellas;

Nuevas y decisivas experiencias, de cuya descripción prescindo, le condujeron a establecer las siguientes conclusiones: las reducta-

las no son destruidas por las oxidaras cuando el aire no interviene; las reductaras son destruidas lentamente por el oxígeno solo, sin la presencia de oxidaras, y los repetidos cuerpos son destruidos prontamente en presencia de las oxidaras y con el concurso del aire.

Pozzi quiso ver si podria verificarse la acción inversa, esto es, la destrucción de las oxidaras por las reductaras, poniendo estas últimas en cantidad excesiva y colocandolas en condiciones convenientes para que tal reacción se verificase, según dice, llegó a conseguir una acción paralizante sobre las oxidaras.

Como se producen estos fenómenos no se sabe; Poullade opina que es una verdadera combustión de la reductara; Pozzi cree más probable que se forme entre ambas diastaras una combinación muy inestable e insoluble, la cual se deposita sobre los materiales sólidos que encuentra, y que por acciones desconocidas puede destruirse tal combinación quedando ambas diastaras libres y en-

condiciones de ejercer sus respectivas funciones.

Tenemos por tanto, como consecuencia de todo lo anteriormente dicho, que oxidaras y reductoras pueden reaccionar mutuamente, pero que estas reacciones están supeditadas a circunstancias accesorias que las modifican o las impiden.

Ya que me voyo de las acciones reciprocas entre las respectivas diastaras, debo decir algo, no tanto como quisiera, del importante papel que entrambas juegan en la fabricacion y conservacion de los vinos.

Las dos diastaras existen en los mostos: lo demuestran concluyentemente en cuanto a las oxidaras las experiencias de Buchner, Martinat, Boffard, y Senichon, y, en tocante a las reductoras, las de Kerg-Falthead.

Prescindiendo ahora de buscar explicacion plausible a la coexistencia de ambos, el hecho en si es cierto; en cuanto a las procedencias respectivas parece ser que las oxidaras existen en-

gran cantidad en las uvas; las reducidas en menor proporción; pero que, al verificarse la fermentación, aumentan porque las células del fermento las producen y las dejan pasar al líquido; fenómeno osmótico que Van Lier niega en absoluto.

Durante la fermentación la mayor parte de la oxidasa desaparece, sobre todo si aquella se verificó en las debidas condiciones; pero si así no fue o si por causas ignoradas al vino, una vez hecho, contiene un considerable exceso de oxidasa, estas provocarían indefectiblemente esa alteración especial que con frecuencia sufren dichos caldos y que se manifiesta, sobre todo en los tintos, por un enturbiamiento persistente seguido de una desdoración que llega a ser completa, y adquiriendo el líquido todos los caracteres de los vinos añejos, en cuanto al sabor y al aroma. Es que la oxidasa, que así se llama esa diastasa, especial, enjuera por destruir los taninos, las materias colorantes, que son la parte más débil; si-

que luego con los alcoholes, cuya esterificación favorece; quemiqueras parte de la glucosa, y, en una palabra, envejece rápidamente al vino con el concurso del oxígeno atmosférico y el eficaz auxilio de la luz y del calor: esta es la alteración que los franceses llaman la casse y que no sé si entre nosotros tendrá tan breve nombre.

Pues bien, esa enfermedad reconoce por causa mediata un defecto en la proporción de las reductaras; falta debida a que la fermentación no se ha completado bien y las células de la levadura no han elaborado suficiente reductara o no han podido dejarla difundir en el líquido a través de sus paredes; por el contrario, cuando aquellos actos se han cumplido con la debida regularidad y en el vino existen las reductaras, estas se encargan de obrar sobre la oxidasa y anular su acción específica por cualquiera de los mecanismos que al efecto se quiera suponer y el vino queda libre de sufrir tal enfermedad.

Renuncio a enumeraros los trabajos y opiniones de enólogo

gos tan renombrados como Gouiran, Gautier, Malverino, Villon, y baseme a proposito de la enfermedad mencionada, porque un justísimo temor me aconseja no extenderme más en este asunto.

Comprobada experimentalmente la posibilidad de acción recíproca entre las dos diastatas, se ofrece desquida la duda de si podrán existir reunidas en un mismo órgano, tejido o célula, sin anularse total o parcialmente: la cuestión en la actualidad, después de prolijas investigaciones en los tejidos animales y vegetales, se considera como resuelta en sentido afirmativo; expresando de claro cuenta de esos trabajos porque harían interminable el mio agotando al mismo tiempo nuestra paciencia; así que me limito a consignar los resultados, que después de todo están conformes con las frases de Duclaux. "No se pueden separar las acciones oxidantes de las reductoras; las oxidaras de las desoxidaras."

Como los problemas científicos, cuando no están suficientemente dilucidados en su origen, forman un verdadero encañamiento de dudas, surge ahora preguntarse si oxidaras y reductasas son elaboradas por unas mismas células o por otras distintas más o menos cercanas; si obraran simultáneamente en un mismo punto, o si separadamente en distintas regiones, o en momentos distintos: todas estas cuestiones se encuentran sometidas a la discusión de los sabios.

Pudiera admitirse que las células elaboran unas u otras diastasas alternativamente a compás de las necesidades del organismo; pero esta es una suposición que carece de fundamento sólido, aunque bien pudiera hallar algunos en otros hechos de esa índole observados en los vegetales.

Yo me atrevería a buscar la explicación del porqué oxidaras y reductasas, contenidas en una misma célula, pueden existir sin reaccionar, en las leyes que rigen a los equilibrios qui-

nicos, leyes que aplicadas al caso no podran desarrollarse con verdadera claridad, porque exigen el conocimiento profundo de los cuerpos en presencia y de las condiciones especiales del medio donde la reaccion se verifica. Esto no obstante, fijemos la atencion en una sola de aquellas influencias que modifican las reacciones, en la presión; y, recordando las observaciones de Walther Spring, nos hallamos con que cuando de la acción mutua entre dos cuerpos puede resultar aumento de volumen, la reacción se dificulta y hasta llega a impedirse por un exceso de presión: así, por ejemplo, el zinc y el ácido sulfúrico no reaccionan a 30 atmosferas; el hidrógeno sustituye a la plata en sus sales; el azufre monosimétrico se transforma en rombico a 96° y 16 atmosferas, mientras que a la presión ordinaria la transformación es inversa; por último, vendrian en apoyo de mi opinión las observaciones de Paul Bert, el cual ha demostrado la influencia que ejerce el aire comprimido en las fermentaciones diastasicas; que-

las combustiones orgánicas disminuyen extraordinariamente a poco que se eleve la presión, y que la oxidación de los tejidos se ~~detiene~~ por completo cuando la presión llega a cierto límite. Ahora bien, en la acción de las oxidaras sobre las reductaras ha de producirse vapor de agua y por consiguiente la reacción dicha irá acompañada de un aumento de volumen; no podríamos admitir que la presión osmótica producida por los líquidos del organismo sea la encargada de evitar que esas reacciones se verifiquen o por lo menos de modificarlos?

Terminada la enumeración de las principales propiedades de las reductaras, añado, algunas indicaciones a las que ya dejó hechas acerca de la importancia de su papel en la economía animal.

La doble acción reductora y oxidante (y oxidante) indirecta que distingue a las hidrogenaras, es ya motivo suficiente para que su estudio despierte tan vivo interés como el de las oxidaras con las cuales concurren a los actos de la respiración y de la nutrición.

distintos tan solo por los órganos donde esas funciones se inician en los animales superiores, pero que se confunden y complementan donde verdaderamente se realizan, esto es, en las células.

Los fenómenos de oxidación que se producen en el organismo son ~~drada~~ sin duda alguna los factores más importantes, pero no los únicos del dinamismo vital; los de hidratación y desdoblamiento, de deshidratación y de interés contribuyen eficazmente a dicho fin y preceden siempre, según opina Gautier a los de oxidación y reducción, los cuales se efectúan sobre los productos resultantes de aquellos actos preparatorios, para dar lugar en último término a los que son eliminados como residuos excrementicios de las células, y a aquellos que, retenidos en estas por más o menos tiempo, han de contribuir a la neoformación que constituye la característica de la vida.

Pero estas oxidaciones de que hablo verifican principalmente en la superficie exterior de las células, mientras que las reduccio-

nes se inician en el mismo protoplasma celular, que es precisamente donde abundan las reductasas, encargadas sin duda de originar allí, en unión de otras diastasas, los trabajos de transformación que anteceden á las funciones oxidativas.

añadimos como adición á todo lo dicho el testimonio de Hoyer - Seyler, que dice actúan las reductasas sobre la oxihemoglobina apoderándose de dos átomos de su oxígeno, uno de los cuales forma agua con el hidrógeno de la reductasa, en tanto que el otro oxida energicamente á los cuerpos que se encuentran en su presencia; que también, y por igual modo, la molécula de oxígeno ambiente se esconde en sus dos átomos constitutivos, los cuales se reparten y obran como queda dicho; por último, recordemos la acción mutua entre oxidasas y reductasas donde estas pueden considerarse como un poder moderador de la acción de aquellas, y después de estas consideraciones y otras muchas que estorran ya acudiendo á nuestra imaginación, convendría conmigo en que-

el estudio de las funciones diastáticas reductoras es uno de los más interesantes con que nos brinda hoy la química biológica y de la cual ha de surgir algún día la explicación de muchos fenómenos fisiológicos y patológicos que aún permanecen ignorados o mal conocidos.

Si yo no temiera pasar por exaltado partidario de estas nacientes ideas, y mi palabra tuviera la autoridad científica necesaria para que fuese tomada en cuenta, me atrevería a decir que de los equilibrios entre las funciones diastáticas en general, y en especial entre las de oxidación y reducción, depende la normalidad que llamamos estado fisiológico; mientras cualquier desequilibrio entre dichas funciones puede ser causa de un estado patológico especial, correlativo a la función diastática que en aquel trastorno resulte preponderante. Así, por ejemplo, un predominio de las oxidadoras, ya por su cantidad ya por una exagerada actividad de sus funciones, dará por resultado más rá-

pidas y profundas oxidaciones con elevación consiguiente de temperatura, que bien pudiera ser la fiebre; un aumento de las reductasas podría ocasionar una destrucción más o menos lenta de la hemoglobina, que sería precursora de varias afecciones graves; por el contrario la falta o escasez de hidrogenasas llevaría consigo la destrucción de las células por acumulación del agua oxigenada que constantemente se forma en los tejidos y que las reductasas se encargan de decomponer, y por fin, incompletas reacciones de las que a unas y otras diastasas están encomendadas, originarían tal vez productos de transformación intermedia que, o no abasteceran a las necesidades del organismo, o lo que es peor, pudieran ser de tal naturaleza que obrasen sobre aquel como verdaderos venenos.

Si estas ideas que aquí para inter nos me permito estimar inadmisibles, no me llamara la atención; para aspirar a otra cosa les faltan muchas condiciones que yo no he podido comunicarles; tan solo espero que no se consideren faltas de lo-

gica, porque entiendo que se desprenden fácilmente del estudio de las funciones diastásicas, y porque están inspiradas en las célebres frases del gran Claudio Bernard "La enfermedad no es otra cosa que el estado fisiológico modificado o corrompido."

Lo que s sostengo desde luego con firme convicción es que el calor animal no depende exclusivamente de las oxidaciones de toda índole, sino que también de las reducciones y demás fenómenos diastásicos, todos los cuales al presente son considerados como exotérmicos, sin que por esto se niegue la posibilidad de que los haya también endotérmicos; creo que la hemoglobina no es la principal encargada de producir las oxidaciones celulares, porque debiendo su propiedad de fijar el oxígeno a su esqueleto ~~mineral~~, o sea al hierro que contiene, este metal no se halla en la cantidad necesaria para aportar al organismo todo el oxígeno que necesita consumir; entiendo que no basta tampoco al efecto la mera teoría que supone al azufre experimentando oxidaciones

y reducciones a la manera del hierro para concurrir con este a las acciones oxidantes; por tanto, y probada la existencia de oxidaras y reductaras en la sangre y en los tejidos del organismo, estas son las especialmente encargadas de producir las oxidaciones en las células, función que desempeñan en la forma que las caracteriza, esto es, obrando en pequenitas cantidades y transformándose indefinidamente.

A primera vista nos llama la atención que muchas de las reacciones que dejo mencionadas se verifiquen por la intervención de esos pequeños agentes ^{o en} y condiciones que distan bastante de ser violentas, antes al contrario, sumamente delicadas y sin fenómenos visibles, pero juzgamos así por que estamos acostumbrados a que para producir artificialmente en nuestros laboratorios análogas reacciones necesitamos servirnos de poderosos agentes o de energicos reactivos, y educada en ese sentido nuestra inteligencia, le queda trabajo reducirse a los estrechos límites en que esas mismas

reacciones se verifican en los seres vivos; no podemos acomodarnos á que se facilite la realización de un fenómeno enriqueciendo las causas productoras; no de otro modo que las sudor-manos de un forjador se acomodan difícilmente á trabajar en el delicado mecanismo de una balanza de precisión.

Dije antes, y debo apresurarme á rectificar, que las reacciones intra-orgánicas no se aprecian por manifestaciones visibles, y claro está que en rigor no es así; ¿que exteriorización más visible que la misma vida de los seres con sus diversas modalidades de energía? Lo que ocurre realmente es que, ante la desproporción que media entre el efecto y la causa en las funciones diastáticas, necesitamos de todo nuestro convencimiento científico para no dudar de que esas reacciones se realicen y que las combustiones orgánicas y demás transformaciones tan importantes y profundas ocasionadas por las diastáticas en general y por oxidarías y reductorías en particular sean las principales productoras del calor, del movimiento y de la vida; es que consideramos aisla-

mente en su extremada pequeñez cada una de las moléculas que concurren á dichas funciones y no la integración de aquellas á la que debe referirse el aspecto exterior del fenómeno; es que no tenemos en cuenta que son archimicroscópicas, si, pero numerosas masas que en las resoluciones químicas chocan sin cesar; se modifican sin destruirse, produciendo en sus incesantes colisiones ultratransfinitísimas calorías que no serian apreciadas por el más delicado aparato, pero que, sumadas, se hacen sensibles al más grosero termómetro; enal débiles corrientes termoeléctricas, que apenas desvían la aguja galvanométrica, pero que convenientemente asociadas le obligan á describir extenso arco; polinomos, en fin, de fraccionarios terminos, afectados de un multiplicador cuyos ceros positivos pudieran escribirse por millones; tal es, señores, el verdadero aspecto bajo el cual deben considerarse las acciones físico-químicas mantenedoras de la energía vital.

Y esas delicadísimas reacciones cuya intimidad escapa

a nuestros sentidos, tienen su origen allá en el protoplasma celular, sirviéndole de retortas las células mismas; y de recipientes los tejidos; de laboratorios los órganos; de combustibles las grasas y los hidratos de carbono; de válvulas de escape apropiados conductos y especiales glándulas, y de movable edificio cuya estabilidad depende del ordenado funcionamiento de aquellos aparatos, el admirable conjunto que constituye y realiza la existencia individual de las especies vivas.

Sublime es el armónico mecanismo del Universo, así en el mundo de lo inmensamente grande, como en el de lo infinitamente pequeño; grandioso es el espectáculo de la inmensidad planetaria que el hombre se esfuerza en penetrar alcanzando en su labor gloriosos triunfos; pero más grande, más inmenso, más incomprendible e inescrutable es el mundo de las células vivientes; primer eslabón de la cadena biológica; manifestación primaria de la vida; tránsito evolutivo, dígamele así, de la cantidad

negativa a la positiva, de la inercia al movimiento, de la persistencia inactiva a la continua transformacion creadora. Esto no obstante, si la Astronomia armada de sus potentes telescopios ha podido admirarnos indicando la presencia de ignotos astros y marcando las trayectorias que describen muchos, la biotquímica, llevando en una mano el microscopico y en la otra los reactivos, va penetrando tambien, paso tras paso en la oscuridad que envuelve a los fenomenos vitales, y de esperar es que, siguiendo en esa marcha progresiva, llegue un dia en el que, merced a sus descubrimientos podamos representar por sencillas igualdades químicas lo que todavia se nos presenta como un sistema de ecuaciones exponenciales indeterminadas.

Pero de tales progresos realizados y justamente esperados a la química pretension de penetrar en el secreto intimo de la vida, en el insoslayable arcano de su principio esencial, hay una inmensa distancia que no podra nunca salvarse, y enano el ex-

espíritu investigador del hombre en cuya frente reverberan los
 vivos destellos del luminoso foco de las ciencias se lanza sin freno
 a buscar la solución de tan intrincados problemas, lejos de hallar-
 la su razón se ofusca; su inteligencia se oscurece, y le impelen
 por extraviados senderos que al fin y al cabo le conducen al cam-
 po estéril del nulo escepticismo; entonces allí reconoce a veces su
 error, torna si puede, al fértil terreno donde la ciencia y la fe
 crecen unidas y convencido de la limitación de sus facultades,
 levanta a lo alto su mirada en busca de la amada verdad que
 peregrina y encontrándola tan solo allá en los espacios infini-
 tos donde se estrellan las encrencadas olas de la soberbia y vanidad
 humanas, cae noblemente de hincos exclamando; Qui solo, ohi-
 Dios, que creaste los cielos y la tierra, puedes ser el autor de tanta y
 tanta maravilla.

He dicho.

