

El complejo anatoxina diftérica-lecitina como antígeno

Por CESAR E. PICO y FERNANDO MODERN

1) La acción de la lecitina sobre la toxina diftérica fué estudiada por DE WAELE¹, LAROCHE y GRIGAUD², DOLL y UNGERMANN³ y otros autores. Todos convienen en asignar a este fosfátido una virtud activante sobre los fenó-

menos de intoxicación. DE WAELE y LAROCHE y GRIGAUD encuentran, no obstante, que a grandes dosis la lecitina puede tener efectos neutralizantes y, en todos los casos, como establecieron LAROCHE y GRIGAUD, se puede demostrar las propiedades adsorbentes y fijadoras del lipóide con respecto a la toxina diftérica.

2) Con estos antecedentes nos propusimos investigar detenidamente el papel desempeñado por la lecitina en los fenómenos tóxicos e inmunológicos de la difteria. Los experimentos emprendidos tienen una finalidad más vasta que la deducible de los resultados comunicados ahora; pero nos ha parecido que los hechos ya establecidos, por su interés, eran dignos de una publicidad preliminar.

3) Comenzamos por examinar el comportamiento de las mezclas toxina-lecitina respecto a sus propiedades tóxicas:

Técnica. — Disolvíamos en éter una cantidad determinada de lecitina (Poulenc); añadíamos agua en cantidad tal que la cantidad de lecitina suspendida en este vehículo alcanzase la concentración de 4 % y evaporábamos el éter mediante una corriente de aire burbujeante en el seno del líquido. Esta suspensión acuosa de lecitina al 4 % fué usada en todos nuestros experimentos.

Mezclada en proporciones variables la suspensión de lecitina con diferentes cantidades de toxina, comprobamos siempre un efecto neutralizante en relación directa con el volumen de suspensión lecitínica utilizado. La mezcla fué probada en chanchitos de 250 g de peso, más o menos, y por vía subcutánea. El efecto neutralizante se reveló, sea por un retardo leve o considerable de la muerte, o bien por la supervivencia de los animales inyectados con dosis seguramente y hasta múltiple mortales en los testigos. Jamás observamos, procediendo como se ha dicho, una activación del tóxico; pero debemos advertir que nunca usamos dosis menores a 2 miligramos de lecitina, diluída convenientemente, y frente a $\frac{1}{2}$, 1 y 2 dosis mortales mínimas.

4) Los complejos neutros (respecto a la supervivencia de las cobayas) de lecitina-toxina pueden, de acuerdo con nuestros experimentos, hacerse letales mediante la simple dilución de la mezcla en solución fisiológica. Todo sucede como si la lecitina operase por la concentración intensa de su masa sobre cantidades seguramente mortales de toxina diftérica.

5) La fijación de la toxina sobre la lecitina nos indujo a inquirir la índole de dicho complejo. Pensamos que pudiera tratarse de un antígeno complejo en el sentido de LANDSTEINER y SIMMS⁴. Ya SACHS, KLOPSTOCK y WEIL⁵, en 1925, refirieron haber encontrado las propiedades del «haptene» en la lecitina mezclada con sueros porcinos, y, si bien esos ensayos fueron objetados por LEVENE, LANDSTEINER y VAN DER SCHEER⁷, BELFANTI⁸, F. KLOPSTOCK⁹, PLAUT y RUDY¹⁰, quienes obtuvieron resultados negativos en muestras distintas y más puras de lecitina, otros autores como G. DESSY¹¹ utilizando lecitina de soja, y más tarde WEIS y BESSER¹² y HERTA MAIER¹³ mediante la distearil-lecitina químicamente pura de GRÜN demostraron la acción antigénica de este lípido unido al suero de cerdo.

Para nosotros el problema, era otro: ¿la lecitina es capaz de formar un antígeno complejo con la toxina o la anatoxina diftérica y no ya con las proteínas del suero porcino? Y en caso afirmativo, ¿este complejo es susceptible de modificar la respuesta antitóxica ante el antígeno?

Inmunizamos, pues, por vía endovenosa a un pequeño lote de conejos con mezclas a partes iguales de anatoxina diftérica con suspensión de lecitina al 4 %.

Las inyecciones se hicieron cada 3-4 días en las siguientes dosis: 2 cm³ de la mezcla antedicha, la cual dosis se repitió posteriormente cinco veces; luego se inyectó 3 cm³ y, finalmente, se hicieron 3 inyecciones de 5 cm³ cada una. Como testigos se inyectaron otros animales con mezclas de lecitina y caldo, a partes iguales, y en la misma forma que se ha mencionado.

El suero de los conejos inyectados con anatoxina y lecitina reveló propiedades precipitantes bien notables frente a suspensiones de lecitina en solución fisiológica. El suero de los animales testigos dió resultado francamente negativo.

En el curso de nuestros ensayos comprobamos que una suspensión de lecitina Poulenc al 4 % y diluída luego al $\frac{1}{30}$ en solución fisiológica fenolada al 5 % permite revelar el fenómeno con suma nitidez. A 1 cm³ de esta dilución añadíamos 2-3 gotas del suero y los resultados aparecían con bastante presteza.

Debemos consignar el hecho de que los sueros obtenidos con mezclas de anatoxina y lecitina Poulenc floccularon también las suspensiones de lecitina Merck efectuadas en la forma mencionada.

6) Finalmente comprobamos que las muestras de anatoxina-lecitina o bien la inyección separada de ambas sustancias en el chanchito (anatoxina por vía subcutánea y lecitina por vía intramuscular) producen una elevación notable del tenor de antitoxinas en la sangre. Así, p. ej., mientras los testigos inmunizados con 2 inyecciones de 1 cm³ de anatoxina, distantes entre sí por un intervalo de 21 días, dan 1 U. A. por cm³ de suero (método de RÖMER y de EHR- LICH), los chanchitos inoculados con anatoxina y lecitina dan, por término medio, hasta 5 U. A. La medición del valor antitóxico se efectuó 1 mes después de la última inyección.

7) Próximamente comunicaremos los resultados de otras investigaciones acerca de este interesante tema.

BIBLIOGRAFIA

- ¹ DE WAELE, *Zeitsch. f. Immunit.*, 1909, Bd. III, Heft 5, p. 478-503.
- ² LAROCHE y GRIGAUD, *Ann. Ins. Pasteur*, 1-11, T. 35, p. 892.
- ³ DOLL y UNGERMANN, cit. por Vital Brasil. *Brasil Médico*, 1927, p. 743.
- ⁴ LANDSTEINER y SIMMS, *J. Exp. Med.*, 1923, Vol. 38, p. 127.
- ⁵ SACHS, KLOPSTOCK y WEIL, *Deutsch. med. Woch.*, 1925, n° 15 y 25.
- ⁶ SACHS y KLOPSTOCK, *Bioch. Zeitsch.*, Bd. 159, 1925, p. 491.
- ⁷ LEVENE, LANDSTEINER y VAN DER SCHEER, *J. Exp. Med.*, 1927, Vol. 46, p. 197.
- ⁸ BELFANTI, *Zeitsch. f. Immunität*, Bd. 56, 1928, p. 449.
- ⁹ F. KLOPSTOCK, *Z. F. Bakt., I Orig.*, Bd. 104, 1927, p. 435.
- ¹⁰ PLAUT y RUDY, *Zeitsch. f. Immunit.*, Bd. 73, 1932, p. 385.
- ¹¹ DESSY, *Boll. Ist. Sier. Mil.*, Vol. 7, 1928, p. 599.
- ¹² WEIL y BESSER, *Klin. Woch.*, 1931, n° 42.
- ¹³ H. MAIER, *Zeitsch. f. Immunit.*, 1933, Heft 1-2, p. 1.