



LABORATORIO PUEBLA

MECANISMO DE ACCION DE LOS POLISACARIDOS BACTERIANOS BIBLIOGRAFIA COMENTADA Dr. NESTOR O. ZUNINO

Cuando describimos los mecanismos de acción de los polisacáridos bacterianos, necesariamente tenemos que decir que actúan estimulando el sistema reticulo- endotelial . (trabajos demostrados por Delauney/1943)

Como este sistema se encuentra distribuido en todos los órganos y tejidos, es factible observar efectos producidos por estos polisacáridos bacterianos, que no solamente tienen que ver con una hapteno especificidad, es decir la capacidad de responder inmunológicamente según la constitución química del hapteno (reacción antígeno - anticuerpo), sino con efectos derivados de una estimulación global.

Por ejemplo, si inyectamos polisacáridos de Escherichia Coli, el sistema inmunológico responderá produciendo anticuerpos anti E. Coli, pero también, por la estimulación global antes citada , aumenta el poder fagocitario de los polimorfonucleares neutrófilos frente a Brucela, como queda demostrado con la siguiente experiencia.

Se incubó sangre citratada humana frente a una suspensión standard de Brucela abortus pH = 7, durante 30 minutos a 37 grados centígrados, posteriormente se hace un extendido, se colorea, y se cuentan las bacterias fagocitadas por los neutrófilos, se hace un promedio y se obtienen 20 bacterias por neutrófilo. A continuación repetimos la experiencia con sangre proveniente de un individuo tratado con polisacárido de Escherichia coli, haciendo el promedio, nos encontramos con 30 a 35 bacterias fagocitadas por neutrófilo. Podemos concluir que aumenta el índice opsonó - citofágico como característica importante de los polisacáridos bacterianos.

También podemos observar acciones que son características para cada uno de los polisacáridos bacterianos. Ejemplos:

El polisacárido de Pseudomona aeruginosa estimula el aumento de la neutrofilia, produce eosinopenia, e incrementa la Leukergia (término incorporado por los franceses para definir la calidad del neutrófilo por encima de la cantidad)

Es conocida la acción del Polisacárido de Pseudomona sobre el estado de macrocondensación de los mucopolisacáridos del tejido conectivo, como factor importante bioplástico estimulando los fibroblastos.

A nivel renal, aumenta considerablemente la diuresis. En caso de bloqueo renal por accidente transfuncional, la administración de polisacáridos de Pseudomona restaura la diuresis normal mucho tiempo antes que en casos en los que no se administró el compuesto (Puebla y Col.) (1)

Sobre los bronquios, en estados alérgicos, asma etc., aumenta la capacidad respiratoria.

El polisacárido de Estreptococo, el polisacárido de Estafilococo, y en general los polisacáridos elaborados a partir de bacilos Gram + , se expresan en el sistema Kupfer del hígado.

El polisacárido de BCG, actúa como coadyuvante dirigiendo su acción hacia los linfocitos B.

El polisacárido de Brucela aumenta el tactismo leucocitario, aumenta la producción de interferón inespecífico, y estimula el eje hipofiso-adrenal (Pandolfo y Ruso) (2)-

Como conclusión podemos decir, que nuestros polisacáridos bacterianos en general, poseen una acción hapténogénica, y en particular, ciertos efectos que derivan de la clase de bacterias utilizada, en la técnica de obtención y purificación de los distintos compuestos.

Con respecto a la composición química de los polisacáridos bacterianos, difieren según sea la cepa utilizada, obteniéndose de las bacterias Gram+ , compuestos de relativamente bajo peso molecular, correspondiendo a cadenas triholósicas y tetraholósicas, existiendo en casi todos los casos. una amino hexona. Las bacterias Gram - , dan compuestos mucho más complejos, con restos nucleicos y fosforilados.

Westpal y Luderitz (3) han estudiado estos derivados bacterianos denominándolos "simplejo - lipopolisacárido- proteico- lipoidico". Los valores promedio derivados de estos estudios son:

POLISACARIDOS FOSFORILADOS	-----	45 - 60 %
FOSFOLIPIDOS A	-----	5 - 15 %
PROTEINAS	-----	15 - 20 %
FOSFOLIPIDOS B	-----	15 - 20 %

El principio activo elaborado por nuestro laboratorio, responde en líneas generales a los conceptos enunciados, pero por la sucesivas etapas de purificación (tecnología propia), se llega a un compuesto de muy bajo tenor en proteínas. Esto fue demostrado y comprobado químicamente por la profesora Graciela Leyton R. en el Instituto Bacteriológico de Chile, Departamento de Físico Química, 1966, y recomprobado por el centro de Química Aplicada (CEQUIMAP) dependiente de la Universidad Nacional de Córdoba, en el trabajo : "Análisis de Carbohidratos y ácidos grasos en extracto concentrado de Pseudomona aeruginosa, Septiembre de 1994.-

POLISACARIDOS BACTERIANOS, SU IMPORTANCIA COMO TERAPEUTICA

En la década pasada, la lucha contra el 'SIDA' centralizó su acción en medicamentos que retardan la proliferación del virus (HIV)

Los años 90 comienzan con otros criterios, y los esfuerzos se orientan a la alternativa inmunológica.

Nosotros proponemos una alternativa que se basa en no desaprovechar la capacidad defensiva del organismo, es decir, estimular y poner en funcionamiento todo su sistema inmunológico, a fin de que pueda reaccionar contra el virus de la inmunodeficiencia adquirida y evitar el progreso de las infecciones asociadas.

Para proponer la aplicación de los polisacáridos bacterianos en esta nueva alternativa terapéutica, creemos importante recordar ciertos fundamentos sobre la constitución química bacteriana y sobre algunos conceptos de inmunidad.

La aplicación práctica de estos conceptos, data de las primeras décadas de este siglo y han contribuido no solo a la clasificación de grupos y tipos de especies bacterianas patógenas, sino que también han permitido ampliar el campo de la medicina preventiva y curativa de las enfermedades infecto-contagiosas, y cuadros de fondo inmunoalérgicos.

Según Heidelberg (4), las bacterias son verdaderas colecciones de antígenos de la mas variada estructura química, entre las que se puede recordar la existencia de dos grandes grupos : antígenos completos o funcionales, y antígenos incompletos o haptenos. Al inyectar por vía parenteral una emulsión bacteriana en un animal, se producen en éste, diferentes anticuerpos correspondientes cada uno de ellos a cada tipo de antígeno , sea este completo o incompleto.

Entre los antígenos incompletos o haptenos se encuentran los polisacáridos bacterianos, y a su capacidad de combinación específica, se atribuye la benéfica acción desensibilizante de ellos, hecho que constituye la base de la "Haptenoterapia"

El profesor Rolf Meir (5) en Londres, destaca en primer lugar, la acción quimiotáctica de dichos compuestos, es decir, la atracción que ellos ejercen sobre los leucocitos in vivo, y que atribuye a la acción directa de quimiotoxinas. En estudios sistemáticos utilizando preparaciones de polisacáridos de bacterias Gram positivas y negativas, Meir y Schar (6), comprobaron que tanto estos, como los polisacáridos de origen animal, mostraban esta actividad quimiotáctica, siendo los mas activos, aquellos provenientes de tumores, placenta e hígado, pero también se atribuyó esta reacción, a un factor plasmático. Butler y Thomas (7) (1956), observaron que en animales tratados con polisacáridos, se produce un aumento de la migración leucocitaria, con evidente estímulo de la fagocitosis in vitro.

El estudio de la acción de estos mismos compuestos sobre las células mesenquimáticas in vivo in vitro, ha llevado a plantear la hipótesis de que ellos serian de importancia, en un especial proceso de diferenciación de ciertas células del mesenquima, demostrándose in vitro la transformación de fibroblastos en fagocitos móviles.

En conexión con estas propiedades, diversos investigadores han estudiado el efecto de los polisacáridos sobre la resistencia a las infecciones bacterianas y virales, con el resultado de que algunos de ellos, especialmente los obtenidos de bacterias Gram (-) , son capaces de activar las funciones defensivas del organismo que no son del tipo específico.

Experimentalmente, se ha logrado esclarecer que esta activación está en relación con el efecto que los polisacáridos bacterianos tienen sobre el sistema de la properdina, descubierta y perfectamente demostrada por Pillemer (8).

El sistema de la properdina, es un mecanismo natural inespecífico, considerado como uno de los mas importantes y eficaces en la defensa contra los virus, bacterias, etc.

La properdina es una glucoproteína beta de alto peso molecular, baja movilidad electroforética y rica en contenido de glicina.



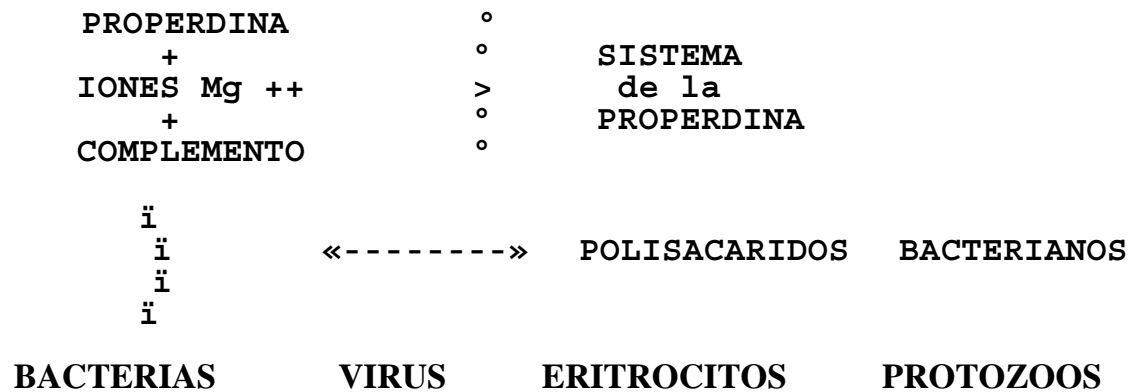
LABORATORIO PUEBLA

Para referirnos al sistema de la properdina, necesariamente tenemos que recordar que su actividad está ligada a la vía alterna del sistema del complemento.

El sistema del complemento está formado por proteínas, algunas con actividad enzimática, inhibidores, estimuladores, iones Ca^{++} y Mg^{++} . La síntesis de muchos de sus componentes, está codificada por genes ubicados en el cromosoma número 6.

No vamos a describir la secuencia de reacción que se produce, pero sí recordar que la actividad del complemento puede ponerse de manifiesto por la vía clásica, desencadenada por reacciones antígenos-anticuerpo, o por la "vía alterna", que no requiere de reacciones antígenos-anticuerpo y en donde se encuentra presente la properdina.

La secuencia de reacción, desempeña un papel fundamental en la capacidad defensiva del huésped, con la formación de factores biológicamente activos para destruir células, bacterias, inhibir virus, etc.



The nature of Properdin system and its interaractions with polysaccharide complexes -ann. New York.acad.- Sc.66. 233 (1956) (9)

Podemos concluir:

que este sistema incrementa la resistencia a las infecciones por bacterias, está involucrado en la lisis de los linfocitos, inactiva infecciones a virus, y destruye protozoos.

Está demostrado, que los polisacáridos bacterianos son los agentes que más fuertemente estimulan el sistema de la properdina in vivo (10).

De especial interés, han sido los estudios de los polisacáridos bacterianos sobre los fenómenos alérgicos y shock anafiláctico, comprobándose su acción desensibilizante en este último, contra el fenómeno de Arthus, y también contra el fenómeno de Sanarelli y Schwartzman. Los efectos antianafilácticos y antialérgicos especialmente de los polisacáridos extraídos de bacterias Gram- , como el de *Pseudomona aeruginosa*, son totalmente activos en estos aspectos.

Los trabajos realizados por Puebla y Col. (11,12,13,14,.) confirman estas actividades y han aprovechado con éxito su acción terapéutica en numerosos casos.

Habiéndose logrado eliminar la acción pirogógica de los polisacáridos bacterianos, nosotros atribuimos las acciones antialérgicas de éstos, a un mecanismo de desensibilización (haptenerapia) y de activación de los sistemas inespecíficos y específicos de defensa, que se encuentran inhibidos en los procesos de hipersensibilidad retardada, presente en las infecciones de larga duración, en las virosis, y en la mayor parte de las enfermedades infecto-contagiosas.

Tanto en relación con estos efectos como en su acción sobre el metabolismo en general, y su incidencia sobre el tejido conectivo, que se traduce en una mayor polimerización de los componentes tipo mucopolisacáridos, con un mejor equilibrio de la relación entre

fibroblastos y la sustancia intercolágena. Los autores Argentinos (11, 12, 13, 14,) atribuyen sus beneficiosos efectos terapéuticos, a la acción tipo cortisona de los polisacáridos bacterianos.

Se ha comprobado además, que los polisacáridos bacterianos tienen un beneficioso efecto sobre el equilibrio hídrico, peso corporal, control de lípidos del torrente sanguíneo, activación de la fibrinólisis, acción antiflogística, etc. Todo esto demuestra la acción general de los polisacáridos bacterianos sobre el metabolismo.

Dada la multiplicidad de acciones biológicas y farmacológicas de los polisacáridos bacterianos que se manifiestan en clínica, en una variedad de efectos terapéuticos, nos a parecido útil hacer referencia en forma esquemática, a los diferentes terrenos en que se manifiesta la multifacética actividad de ellos.

En el terreno de la inmunidad, los polisacáridos bacterianos actúan estimulando las defensas inespecíficas y bloqueando la actividad antibactericida del suero, que se presenta en pacientes con procesos crónicos.(15)

Desde el punto de vista de la inmunidad se pueden considerar tres aspectos principales.

1) EN EL ASPECTO CELULAR, ellos intervienen estimulando la fagocitosis, lo que se evidencia con la neutrofilia que producen, es decir, el incremento que experimentan los neutrófilos en su número, se traduce en un mayor poder fagocitario del organismo, y por otra parte, la capacidad que éstos compuestos presentan de intervenir en transformaciones celulares, como de fibroblastos a fagocitos móviles. A su vez es interesante recalcar la acción quimiotáctica de los polisacáridos a que se ha hecho referencia, que estimulan los procesos fagocitarios.

2) EN EL ASPECTO HUMORAL, se ha comprobado experimentalmente que polisacáridos de diverso origen (levaduras, bacterias) tienen la propiedad de elevar el sistema de la properdina ya explicado anteriormente. Se agrega a este mecanismo, el bloqueo que los polisacáridos bacterianos ejercen sobre ciertas inmunoglobulinas del tipo A ó factores de antidesfensa.(16)

Los fenómenos enunciados en estos dos aspectos, es decir, celular y humoral de la inmunidad, constituyen la base de resistencia inespecífica que conducen, en gran parte, a establecer la resistencia natural frente a infecciones bacterianas y virales.

3) Finalmente, la aplicación de los polisacáridos en su calidad de haptenos desensibilizantes, ha llevado al tratamiento mencionado como HAPTENOTERAPIA.

Se ha comprobado en la práctica médica (Puebla y Col.) (11, 12, 13, 14), la benéfica acción de la desensibilización por haptenerapia de los polisacáridos bacterianos, hechos ratificados por investigadores chilenos.(17)

Otro de los mecanismos a tener en cuenta en la aplicación de los polisacáridos bacterianos, es su capacidad de incrementar la producción de Interferón inespecífico en el huésped.

El Interferón es una proteína que tiene la propiedad de inhibir la replicación viral, y es producida como respuesta primaria a dicha infección viral.

Al cabo de 12 a 48 horas después que los títulos virales han alcanzado su máxima expresión, se produce el Interferón en el organismo infectado, y la multiplicación del virus disminuye rápidamente.

Los anticuerpos no aparecen en la sangre, sino hasta varios días después de que la producción del virus ha sido abatida. Esta relación corporal sugiere fuertemente que el Interferón desempeña un papel importante en la defensa del organismo contra las infecciones virales.

Los interferones son específicos de la especie de huésped, en cambio la actividad del Interferón es inespecífica para el virus determinado.

El Interferón puede inhibir la replicación de una amplia variedad de virus.

Cuando el interferón se adosa a las células, antes que la infección tenga lugar, hay una inhibición notable de la replicación viral, mientras que la función celular se conserva constante.

El Interferón no actúa directamente sobre el virus como los agentes virales, sino que lo hace indirectamente por fijación a los receptores específicos (determinantes antigénicos) de membrana, e induciendo la producción de enzimas celulares, que posteriormente bloquean la replicación del RNA viral, dentro de la proteína viral.

Podemos expresar que por lo menos serían 3 las vías enzimáticas por las cuales se produciría dicho bloqueo.

1) Una proteinocinasa que puede fosforilar e inactivar un factor de iniciación celular, previniendo así la formación de un complejo de preparación necesaria para la síntesis de proteínas virales.

2) Una Oligonucleotidasa - sintetasa necesaria para la formación del ácido oligoadenúlico que activa una endonucleasa celular que degrada el RNA

3) La inhibición de la elongación de la cadena peptídica, mediante la producción de una deficiencia en el RNA t.



LABORATORIO PUEBLA

Es de destacar que los polisacáridos bacterianos que mas inducen la producción de Interferón inespecifico en el organismo, es el producido por el polisacárido de Brucela abortus bang 19.

Se ha demostrado que los inductores de Interferón, pueden reducir la cantidad de virus unas cien veces, por lo que nosotros estimamos como muy positiva, la terapéutica basada en polisacáridos bacterianos (Brucela abortus bang 19), como método eficaz en la prevención y/o propagación de infecciones virales.

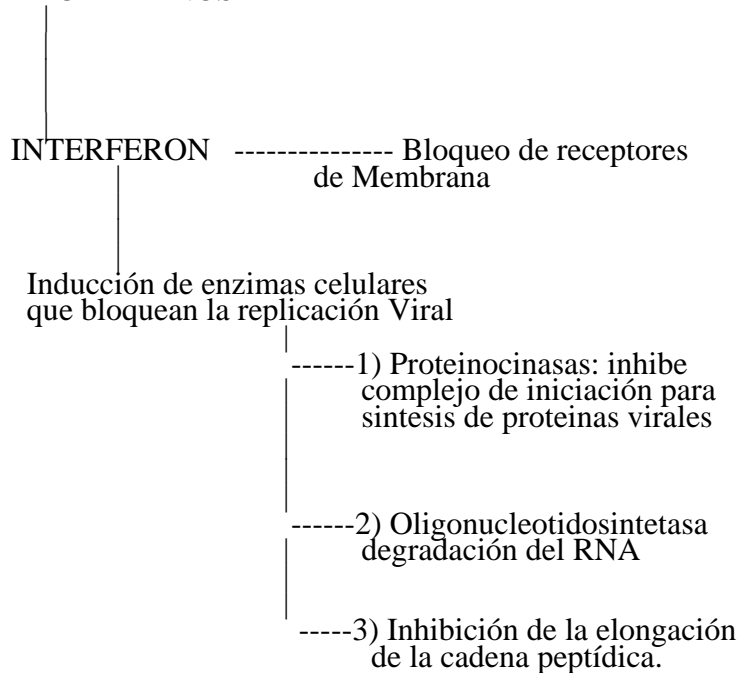
En lo referente a las distintas terapéuticas, el descubrimiento del virus de la inmunodeficiencia adquirida, a relanzado la investigación sobre los medicamentos antivirales. Algunos inhiben la retrotranscriptasa de los retrovirus, otros bloquean inicialmente el ciclo de replicación viral a nivel de la síntesis de las proteínas del virus.

Los resultados de los ensayos clínicos son alentadores, por los que suponemos que una medicación antiviral es necesaria ante semejante enfermedad, aunque está demostrado que no es suficiente, en vista y a causa de la importancia de la inmunodrepsión que genera.

Una restauración de la inmunidad con inmunoestimulantes (Polisacáridos Bacterianos, Interferón, Interleuquinas 1, 11, ..) ,seria una posible solución en una segunda etapa de la terapia.

Estos inmunoestimulantes, dadas todas sus propiedades antivirales e inmuno moduladoras, deberian ser utilizados como terapéuticas complementarias.

POLISACARIDOS BACTERIANOS



Hemos hablado y explicado lo referente a la acción de los polisacáridos bacterianos, como así también sobre todo lo concerniente a la importancia de la presencia de Interferón en el organismo.

Con respecto a inmunoestimulantes del tipo de la Interleucina 1 y 11, se está realizando un estudio de las mismas en nuestro laboratorio, avalado por el hecho que los polisacáridos bacterianos aumentan la población de linfocitos T 4 normales, responsables de la producción de IL 2, y de los macrófagos responsables de elaborar II 1.

Oportunamente se publicarán con amplitud los estudios realizados con sus respectivas citas bibliográficas.

BIBLIOGRAFIA

- 1) PUEBLA L. C. Y COL.- Acción de los polisacáridos bacterianos de Pseudomona aeruginosa sobre diversas enfermedades. El día Médico (1957)
- 2) PANDOLFO G. Y RUSO R.. Investigación sobre polisacáridos de brucela (Br.abortus),estudios inmunoalèrgicos. Apartado La semana Medica (1967)
- 3) WESTPHAL O. LUDERITZ O.- Investigación quimica de los lipopolisacáridos de las bacterias Gram negativas (1954)
- 4) HEIDELBERGER M.- Polysaccharides in biology (1955) the Josiah Macy Jr. Foundation
HEIDELBERGER M.- and MARKOWITZ H.- Chemical modifications of the specific polysaccharide of type 111 pneumococcus and their immunològical effects.(Am. Chem. Soc. 76.1313 (1954)
HEIDELBERGER M. ADAMS J. and DISCHE Z.- Fractionation of arabic gum by chemical and immunological procedures. - Am Chem. Soc. 78.2853 (1956)
- 5) ROLF MEIR.- Symposium Ciba Foundation
- 6) MEIR R. Y SCHAR B.- Experiencia 9 :93 1953 ref. de polisacáridos en biologia.
- 7) BUTLER U. y THOMAS G.- Munch med. Wchrft 98.1240 1956 ref. en(6)
- 8) PILLEMER L.- The nature of the properdine system and its interactions with polysaccharide complexes. --Am. .New York Acad. Soc. 66 -2233 (1956)
- 9) PILLEMER L.- ref. en (8)
- 10) PILLEMER L.- Polysaccharides in biology (1956)
- 11) PUEBLA L.C. y col.- Tratamientos en dermatopatías con un derivado de Pseudomona aeruginosa. VII jornadas Argentinas de Pediatria.(1956)
12) PUEBLA L.C. y col.- Tratamiento de enfermedades de tipo alèrgico con un preparado extraido de Pseudomona aeruginosa. IV sesiones científicas- Soc. Arg. de Pediatria - (1955)
- 13) PUEBLA L.C. DECCA E.F.- Controles bioquimicos practicados en pacientes tratados con polisacaridos de Brucela. - Clinica Regional del sud - Rio Cuarto - Córdoba, Argentina.
- 14) PUEBLA L.C. y col.- Experiencias en Clinica Médica. Comunicación personal.
- 15) WAISBREM B.A. Y BROWN I.- A factor in the serum of patients with persisting infections that inhibitis the bactericidal activity of normal serum against the organism that is causing the infections.(J of Immunol. 97, 431 (1966)
- 16) WAISBREM B.A. Y BROWN I.- REF. en (15)
- 17) RIVERA R.- Comunicación preliminar .-Chile 1968
- 18) DELAUNAY A. BAZIN S. ET FAUVE R.- la notin de terrain en microbiology a la lumiere des docouvertes VII Facteur cellulares facteurs humoraux dans la production des phenomenes dohypersensibilitè tuberculosse. - La presse medicale 1964.
- 19) DENNER H.O.- Funcionamiento Renal. Jornadas de Pediatria. - Mar del Plata 1959.
- 20) MICROBIOLOGIA MEDICA Jawetz E. Melinick J.L Adelberg E.A. 1983.



LABORATORIO PUEBLA

- 21) 1º SEMINARIO CUBANO SOBRE INTERFERON , Madrid 1985.
- 22) GLEDHIL A.W.-Endotoxinas Bacterianas -1964 Instituto de Microbiología. - The State University of New Jersey.
- 23) MONTAGNIER L.- "A New human T Limphotropic retrovirus." - Harba Laboratory 1984.
- 24) SIDA ET SYNDROMES APPARENTES . Com. medical 1984
- 25) MONTAGNIER L.- lymphadenopathy associated virus and its ethyological role in AIDS 1985.
- 26) LANDSTEINER K.- Specificity of Serológica Reactions. -1936 Baltimore, Mariland.
- 27) VIDELA Z.P.- Comunicación personal. -Hospital San Borja, Chile 1968.
- 28) BENAIN F. REPETO D.- Cicatrices Hipertróficas.- Jornadas de Cirujia Plástica, primer premio medalla de oro 1961.
- 29) KABAT E.A. Y MAYER M.M.- Inmunoquímica experimental. (trad. por Dr. G. Leyton R.- La Prensa Medica Mexicana 1968.