BIO-PATOGENIA DE LA DIFTERIA

GERMEN Y TOXINA

Por HECTOR DASSO

La infección diftérica en el hombre constituye un proceso biológico común, es decir, semejante al producido por otros agentes infecciosos, caracterizándose porque responde a la ley general para todas las infecciones, que los fenómenos patológicos sólo aparecen después de un cierto tiempo de incubación, cualquiera sean las dosis tóxicas empleadas.

Es en ese período de incubación donde se peptizan las sustancias extrañas incorporadas al organismo, sean ellas gérmenes o toxinas, para quienes no establecemos diferenciación, porque su constitución es idéntica y porque son idénticos los anticuerpos a que dan lugar. Hasta hoy se han considerado distintos los fenómenos que se observan como consecuencia de la adaptación por el organismo, de gérmenes patógenos que no producen toxinas en los medios de cultivo, a la de aquéllos provocados por los que producen toxinas en los medios líquidos de cultura, « y de allí la idea de que en el proceso diftérico el organismo se encuentre abocado a un veneno que como cualquier sustancia tóxica de la farmacopea, enferma o mata, por lo que se ha dado en llamar intoxicación, sin sospechar siquiera que, *en este último caso, las células de tejido mueren por falta de intercambio, mientras que en el primero, se alteran o mueren por un intercambio que podría llamarse metabólico de su nutrición propia* ».

En la difteria, el germen donde se localiza (faringe, larin-

ge, etc.) pulula y elabora al mismo tiempo la toxina correspondiente. Esta toxina que llamamos *toxina naciente*, al igual que el germen, experimenta transformaciones fundamentales por la acción fagocitaria del organismo que los hospeda. La multiplicación del germen *in situ* y la elaboración concomitante de la toxina, se realiza de la misma manera que en los tubos de cultivo, diferenciándose de éstos, en que la intervención del organismo con su aparato fagocitario modifica la constitución originaria del germen y de la toxina, dando lugar a la formación de los anticuerpos conocidos. Esta reacción fagocitaria está fatalmente ligada frente a cualquier cuerpo extraño introducido en el organismo (germen o toxina), y sólo así es posible explicar la aparición de elementos que inmunizan (haptinas) o que enferman (lisinas).

Ehrlich en su extraordinaria concepción pretendió considerar la reacción de la toxina y la antitoxina, como una verdadera neutralización, tal cual lo hacen un ácido y una base puestos en contacto, o lo que es lo mismo, identificó las reacciones observadas en los tubos con el complejo encadenamiento de fenómenos que se desarrollan en el organismo, aunque sin ofrecer la experiencia que demuestre la existencia de la toxina *en natura* en el interior de los tejidos, para probar que allí puede neutralizarse con la antitoxina al igual que en el tubo de ensayo.

Por otra parte, Donitz, Morgenroth, Berhaus y otros, demostraron con sus experiencias, que *la toxina que penetra en el torrente circulatorio, desaparece rápidamente y pocos minutos después no se la encuentra en el organismo con los caracteres de tal.*

La toxina diftérica como los microorganismos que la originan, deben sufrir transformaciones (peptización), para dar origen con los leucocitos que la fagocitan a los dos anticuerpos llamados haptinas y lisinas, siendo estos últimos los únicos capaces de fijarse en el protoplasma de las células de parénquima — porque son sustancias dializables — las que sufren por su acción deletérea las modificaciones estructurales y funcionales que constituyen la enfermedad. Teniendo presente todas estas transfor-

maciones, no es posible considerar correcto, llamar intoxicación al proceso diftérico.

Y continuando con la toxina diftérica, recordaremos que ésta no es más que el producto del metabolismo de los gérmenes que se desarrollan en medios de cultivo líquidos apropiados.

Al ser inoculada en la piel de los animales de experimentación, subcutáneamente o en las cavidades serosas, la dosis mínima mortal, provoca después de un lapso de tiempo más o menos largo, alteraciones locales que son caracterizadas por fenómeno de inflamación local, que descripta por Méndez hace muchos años en sus conocidos « cuadros de la infección », fueron más tarde confirmadas por Ricker, Aschoff, Lubarsch, Marchand y otros. A la lesión local, siguen los síntomas de perturbaciones generales, que finalizan con la muerte del animal.

Las observaciones de todos los síntomas, como el de las lesiones anátomo-patológicas de los órganos, si bien conservan sus características para ciertas toxinas, son a la vez *idénticas* a las que provoca el germen que les dió origen, probándose con ello la semejanza del modo de ser del germen o toxina en el organismo que las adapta.

Germen o toxina deben ser fagocitados para constituir los anticuerpos que hemos mencionado (haptinas y lisinas) y que poseen propiedades que las distinguen. Son las lisinas las únicas patógenas. Poseen un ciclo de acción mucho más complejo que el de las haptinas. Se recordará que esta última realiza un ciclo pequeño que tiene por centro el fagocito y por puntos extremos, el antígeno que le da origen y el nuevo antígeno que lo atrae, mientras que la lisina, originada también en el fagocito se difunde por todo el organismo vehiculizada por la sangre, fijándose en las células de parénquima con sorprendente avidez, cualidad que dificultó su comprobación experimental, basándose su existencia en la hipótesis y en la observación clínica, hasta que el descubrimiento de la *anafilaxia* por Richet, brindó en el análisis de esos fenómenos biológicos la ansiada prueba. Hoy se agregan nuevos hechos, y del estudio

de la composición química de las albúminas y de las toxinas, han surgido pruebas de laboratorio que confirman ampliamente la existencia de estas lisinas de Méndez.

Fijadas las lisinas en las células por su acción deletérea alteran su estructura sufriendo las gradaciones descritas por Virchow como tumefacción turbia, infiltración grasosa, degeneración grasa, y que va desde la leve modificación anatómica hasta la muerte celular. Funcionalmente representan las distintas modalidades de la enfermedad que exteriorizan todo un cortejo de síntomas, tales como fiebre, hipotensión, taquicardia, albuminuria, etc., que pueden también persistir hasta la muerte del individuo.

Es decir, entonces, que por la fijación de la lisina, la célula de parénquima puede caducar, morir o bien puede reaccionar alcanzando de nuevo su integridad anatómica y funcional, apareciendo recién el nuevo producto conocido desde los célebres descubrimientos de Behring con el nombre de *antitoxina*.

La lisina, una vez formada se encadena totalmente a la célula de parénquima y no halla durante su existencia como tal, ningún cuerpo con propiedades de neutralizarla, por lo que no se discute ya, que la *Antitoxina* tiene sólo acción neutralizante sobre la toxina *naciente*.

« Desde que toxina y gérmenes provocan igual alteración local y general, es porque la irritación provocada para su adaptación por el organismo es igual, lo que no puede negarse en virtud de los hechos de todos conocidos. La fagocitosis de los coloides (la toxina es una solución colóidea) y aun de los líquidos con sustancias en suspensión, está ampliamente demostrada por los procedimientos de coloración vital.

« Las células del organismo podemos agruparlas en las que fagocitan y en las de parénquima. Las primeras sólo adaptan las partículas coloides, la segunda sólo las dializables. »

La composición de las toxinas explica el error que subsiste aún hoy de considerar a la toxina *en natura* como causa de *intoxicación* olvidando tal vez que esa toxina *en natura* desaparece

del torrente circulatorio apenas penetra en el organismo (Donitz, Morgenroth) cuando se inyecta la dosis mínima mortal, pudiendo sólo encontrársela cuando se emplean dosis múltiples. Es que en este último caso circula como cuerpo extraño dentro del organismo y no es adaptable por falta de peptización, comprobándose por el hecho de que el animal de experiencia inyectado con dosis múltiple mortal, perece en el mismo lapso de tiempo que el inyectado con la dosis mínima mortal, significando así que la dosis eficiente es sólo aquella que ha podido ser adaptada, mientras que el exceso circula como cuerpo extraño dentro del organismo o se lo encuentra en el cadáver.

Con los gérmenes virulentos sucede exactamente lo mismo al emplearse las dosis mínima y múltiple mortal.

Suele observarse un fenómeno *in vitro* semejante al proceso de desintegración que sufren los coloides en el organismo, al aparecer toxinas con efecto directo sobre las células parenquimatosas que reproducen experimentalmente la enfermedad y el *choc* anafiláctico descrito en la teoría *biológica argentina* y sirviendo de prueba la existencia de las lisinas de Méndez. Estas lisinas *in vitro*, aisladas de los otros componentes *no son neutralizadas por la antitoxina*. Y es por otra parte una prueba más de que la antitoxina tiene acción sobre la *toxina naciente*.

Veamos ahora cómo considera Méndez la composición de la toxina diftérica, después de los resultados experimentales obtenidos en las investigaciones realizadas con la colaboración de mi compañero el doctor Lucio A. García. « Del cultivo en caldo de bacilos diftéricos (toxina) se puede separar químicamente dos grupos de cuerpos que he denominado *albúminas-antígeno* y *lisinas diftéricas*. Las primeras, en solución en el agua, precipitan con el suero diftérico *in vitro* de igual manera que la toxina original. Dan reacción de albúminas nativas con sus reactivos químicos. Inyectados bajo la piel de un chanchito provocan tumefacción *in situ* formada por edema, exudado hemorrágico con fagocitos abundantes y algunos macrófagos. El exudado constituido en su mayoría por macrófagos constituyen algunas placas

lechosas. La inyección endovenosa no da *shok* ni produce trastornos inmediatos. Mata en el mismo tiempo que la misma dosis subcutánea.

« La *lisina diftérica* no da reacción de albúmina con Siegler, ácido sulfo salicílico y Tamret. No da precipitado con el suero diftérico específico. Da reacción positiva a la Ninhydrina. Inyectada por vía endovenosa al conejo o intracardiaca al chanchito, produce un *choc* anafiláctico mortal, o fenómenos anafilácticos según las dosis y la actividad de la toxina de origen. Bajo la piel no produce edema. Inyecciones repetidas y espaciadas en el conejo traen la muerte en quince o veinte días ofreciendo a la autopsia una degeneración parenquimatosa del miocardio, hígado y riñones, a veces transudado serofibrinoso en el peritoneo. *Inyectando la lisina mezclada con antitoxina después de permanecer por tiempo variable en contacto a 37°*, se produce el « *shok* » como con la *lisina sola*.

« Separada así la parte tóxica de la toxina, de su parte específica, se tiene el problema facilitado para comprender el fenómeno de su peptización, *que se verifica de la misma manera que la de un germen virulento cualquiera*, por medio de la fagocitosis. Este hecho viene a cimentar completamente las ideas sostenidas desde veinte años por la teoría. En efecto, se tiene que albúminas no tóxicas en el estado en que son inyectadas, experimentan, dentro del animal transformaciones idénticas a las que sufre cualquier germen no tóxico en iguales condiciones. Es decir, que en el proceso de su desagregación llegan hasta los productos inferiores que conocemos bajo el nombre de amino-ácidos, tal cual se comprueba en el medio de cultivo de ciertos microorganismos. Por la experimentación referida anteriormente se puede inyectar dichas sustancias separadas y observar sus distintos efectos. Cuando se aplican las *albúminas-antígeno*, la degradación llega hasta el límite de los amino-ácidos y se tiene el cuadro patológico análogo al provocado por el germen o la toxina completa original.

« Cuando se aplica el componente que sólo contiene los amino-

ácidos (lisinas) sólo se provoca un estado patológico sin pródomos y por consiguiente sin estado inmunizatorio anterior. Estas experiencias establecen bien determinadamente, que el proceso inmunizatorio y el proceso de enfermedad propiamente dicho, son distintos. Si el primero es indispensable para adquirir la enfermedad en el mayor número de casos se debe a que los agentes patógenos causantes de esa mayor parte de casos, se encuentran en la naturaleza en estado de albúminas nativas y muy raras veces contienen, como en las ponzoñas, el grupo patógeno de amino-ácidos preformados. Luego el organismo animal en el período inmunizatorio elabora un producto debido a la cópula (si así puede llamarse provisoriamente) de las albúminas heterólogas que se le introducen con las propias de él, como lo hacen las albúminas de determinados gérmenes, con las albúminas que componen el medio de cultivo. La prosecución de la desagregación del complejo así formado, es nada más que el proceso biológico propio a estos coloides».

Para describir figuradamente la evolución que sufre dentro del organismo, Méndez considera a éste como «un vaso dividido en dos cavidades por una membrana permeable a los cuerpos difusibles. La primera cavidad estaría representada por las cavidades que ocupa la sangre, la linfa, el plasma en su más lato sentido y la segunda por el protoplasma de la célula de tejido cuya superficie limitante representa la membrana que separa a ambas. Este ejemplo sencillo, cuando se trata de la evolución de una única sustancia de origen como es lo que pasa con un cultivo puro *in vitro*, se complica sobre manera cuando dentro del vaso de doble cavidad (organismo), las sustancias de origen son múltiples y la evolución de cada una se desarrolla al lado de las otras, efectuando el ciclo propio de los más distintos grados de su desenvolvimiento. A esto hay que añadir el complejo de la masa de coloides así constituida que experimenta por sus cualidades físicas fenómenos varios, entre los cuales conocemos algunos por sus manifestaciones, como ser el de absorción y el de difusión.

« Los productos que dializan al través de las membranas son las lisinas de la teoría, idénticas a las *lisinas diftéricas* del medio de cultivo: 1° por las reacciones químicas; 2° por las propiedades físicas; 3° por su acción patógena.

« El nuevo conocimiento de la composición de la toxina demuestra que los dos grupos de sus componentes *in vitro*, el de las albúminas-antígeno es común para los cultivos en medios líquidos de todos los microorganismos, mientras que un cierto número de ellos son capaces de continuar más allá de la desagregación de las albúminas del medio nutritivo hasta los peptideos inferiores (lisinas).

« Esta cualidad que se debe a la diferencia de estructura de los gérmenes (ecto y endoplasma), le es propia a todos, sin excepción, cuando actúan dentro del organismo. Así, por ejemplo, el bacilo de la difteria tiene la cualidad de desagregar las albúminas en todo el ciclo, tanto *in vitro* como *in vivo*. El bacilo del carbunco desagrégalas hasta un cierto punto del ciclo *in vitro*, mientras que *in vivo* la desagregación es de todo el ciclo. De modo que uno y otro en su patogenia obran de la misma manera. Pero esto no se debe al germen en sí mismo sino a la naturaleza del organismo animal que permite la evolución de sus albúminas hasta la desagregación completa. De modo que el elemento principal patogénico propiamente dicho, reside en el grupo de las albúminas-antígeno representante del germen en su totalidad. Las lisinas (grupo amino-ácidos) de determinados cultivos cuando se le inyecta directamente al animal, vienen a ser productos artificiales para éste, y actúan como cualquier veneno farmacológico, que enferma o mata sin incubación y no inmunizan. Se objetará que en la práctica está demostrado hasta la evidencia, que la inmunización se logra, por ejemplo, en los animales proveedores de suero antidiftérico, por la inyección de toxinas activísimas; sí, pero es porque éstos reciben junto con las *lisinas diftéricas*, las *albúminas-antígeno-diftéricas*, que son las únicas productoras de haptinas. La investigación futura encarrilada en este nuevo orden de experimentación, demostrará

que por la inoculación de las lisinas solas, *no se obtendrá la inmunidad* y sí una enfermedad como la producida por cualquier veneno químico, fundamentalmente hablando.

Por los hechos anotados se deduce que no existe diferencia entre la difteria (*enfermedad tóxica*, según los clásicos) y las llamadas enfermedades *septicémicas*, puesto que las reacciones orgánicas que provoca son idénticas en ambas.

Por otra parte es dable admitir que si en las llamadas septicemias, la antitoxina no aparece en la curación, en las toxémicas, su presencia no debe ser indispensable para ese mismo fin, desde que en ambas, el proceso biológico del organismo es exactamente igual.

En resumen : el proceso diftérico en el enfermo se inicia con fagocitosis, que transforma al *antígeno* (germen y toxina) en productos fisio-patológicos (haptinas) y en productos patológicos (lisinas), que producen en ciclos distintos, la inmunización y la enfermedad respectivamente. El primer ciclo peptiza al antígeno gradualmente, el segundo lo hace alterando las células de parénquima, provocando la enfermedad y aun la muerte.

En los casos de curación, aparece en la sangre la antitoxina, que experimentalmente puede demostrar la propiedad *sui generis* de neutralizar la toxina *in vitro* y de lo que se dedujo igual resultado en el animal y de allí su aplicación terapéutica, sin tenerse en cuenta el encadenamiento complejo que se inicia en el contagio y termina en la producción de la antitoxina, como tampoco se tuvo en cuenta que en los individuos tratados por antitoxina (medicación pasiva), se producen reacciones idénticas a la de los tratados por una medicación activa.

Tal fué el origen de las investigaciones de Méndez, que terminaron con la obtención de la Haptinogenina diftérica, que no es más que un líquido de cultivo, conteniendo en suspensión bacilos de Löffler, privados de toda acción patógena, y que introducidos en el organismo obran activamente, determinando desde el primer momento la formación de haptinas, que se inician a expensas de los gérmenes aportados por ella misma, y se

continúan produciendo sucesivamente a expensas de los existentes dentro del organismo infectado, encarrilando el proceso de la curación.

Con estos antecedentes, debemos aceptar que el suero antitóxico y la Haptinogenina curan la difteria, por un procedimiento biológico idéntico, « cuyos factores son fenómenos *activos* del organismo, como nos lo enseña la teoría biológica argentina y no *pasivo*, como lo pretende la teoría sustentada por Ehrlich » (Méndez).

Desde 1917, con mi ilustre maestro Julio Méndez, hemos comprobado la eficacia incuestionable de la Haptinogenina diftérica en el tratamiento biológico de la difteria y en 1924, Ramón, del Instituto Pasteur de París, logra inmunizar con su *anatoxina*, confirmando, como el autor argentino, que no era indispensable el suero antitóxico, para conferir resistencias específicas para la difteria. Y Ramón lo confirmará del todo, cuando logre obtener una anatoxina capaz de curar, no perdiendo la esperanza de que será dentro de plazo más o menos breve.

En resumen, debemos aceptar : 1° que la antitoxina del suero no actúa en la curación de la difteria y sólo sobre la toxina naciente; 2° que la difteria se cura sin antitoxina (para los lectores que se interesen, les recomiendo la copiosa bibliografía existente sobre el tratamiento de la difteria por la Haptinogenina diftérica); 3° que los elementos curativos que introduce el suero en el organismo son *heterogéneos*, mientras que los que provocan la Haptinogenina son *isógenos*, a cuya diferencia se debe « la precoz, fundamental y persistente reacción curativa de la Haptinogenina frente a la retardada, artificial y transitoria reacción del suero » (Méndez).

La teoría biológica argentina logra con la curación de la difteria por la Haptinogenina, la prueba concluyente que demuestra que es uno solo el procedimiento que rige en las llamadas toxemias y septicemias.

BIBLIOGRAFIA

JULIO MÉNDEZ Y LUCIO A. GARCÍA, *Haptinogenina diftérica*, 1920.

JULIO MÉNDEZ, *Sobre la teoría biológica de la inmunidad*, 1923.

HÉCTOR DASSO, *Inmunidad y terapéutica esencial*, 1924.

ABSTRACT

Bio-pactogenia of Diphtheria-germen and toxin, by Dr. Hector Dasso, Vice-President La Plata's University and Dean and Professor of Bacteriology La Plata's School of Medicine.

1st The antitoxin of the serum does not effect the cure of diphtheria, but acts only on the originating toxin ;

2nd That diphtheria is cured without anti-toxina (for those readers who are interested in the subject, the existing abundant Bibliography and the treatment of diphtheria by diphtheric Haptinogenina is referred to);

3rd That the curative elements, which the serum introduces in the organism are heterogeneous, while these that the Haptinogenina provokes are isogeneous, to which difference is due the precocious, fundamental, and the persistent curative reaction of the Haptinogenina, in front of the retarded, artificial, and transitory reaction of the serum (Mendez). The argentine biological theory attains with the cure of diphtheria by Haptinogenina, the concluding proof, which demonstrates that it is the only procedure which prevails or governs in the so-called toxemias and septicemias.