

INFLUENCIA DE LA GAMMA-GLOBULINA HUMANA SOBRE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE LAS PENICILINAS

Por M.^a T. Alemany
F. Salto

Son numerosos los trabajos (1-5) que estudian las interacciones de la albúmina, tanto con las penicilinas naturales como con las semisintéticas. Sin embargo, no hemos encontrado en la bibliografía datos sobre las interacciones de la gamma-globulina con las penicilinas semisintéticas. Un doble motivo aconseja insistir sobre el estudio de la interacción gamma-globulina/penicilina. En primer lugar, porque el conocimiento de estas interacciones podría contribuir al esclarecimiento de las reacciones alérgicas de las penicilinas y, por otro lado, el hecho de que se haya popularizado la forma farmacéutica penicilina con gamma-globulina.

Material y métodos.

Para el estudio de la influencia de la gamma-globulina sobre la actividad biológica de las penicilinas hemos seguido el método de Joos,⁶ utilizándose el *Staphylococcus aureus*, coagulasa-negativo, ATCC 6020, que es muy sensible a la penicilina y no aglutina durante el análisis en presencia de gamma-globulina. El medio de cultivo utilizado es el Brucella (Albimi Labs., Inc.) y las diluciones correspondientes se hicieron en Bacto-Peptona 1 % - Cloruro sódico 0,5 %.

Las penicilinas G y oxacilina proceden de Antibióticos, S. A.

La gamma-globulina humana utilizada fue suministrada por los Laboratorios Cutter, con una pureza del 95 % por electroforesis. Las soluciones de gamma-globulina se hicieron en disoluciones reguladoras de fosfatos 0,05 M, a pH 6.

Una mezcla integrada por 5 ml. de una disolución reguladora de fosfatos 0,05 M, a pH 6, que contiene cantidades fijas de gamma-globulina y cantidades variables de penicilina y 5 ml. del cultivo bacteriano en fase logarítmica de crecimiento, se incuban durante 4,5 horas, midiéndose seguidamente su absorbancia (A) en un espectro-fotómetro Coleman, a 600 m μ en tubos de 18 × 150 mm. El inóculo bacteriano se prepara por dilución de un cultivo de 18 horas a 1/40 en el medio de cultivo y después de 80 minutos de incubación, dilución a una absorbancia de 0,0025 A ($5 \cdot 10^6$ bacterias/ml.). Todas las incubaciones se hicieron a $37^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$.

El tanto por ciento de inhibición se calcula multiplicando por 100 la diferencia entre 1,00 y el cociente de la absorbancia (A) de los tubos que contienen antibiótico dividido por la media de las absorbancias de los tubos de control sin antibiótico. Tanto la muestra como los controles se hicieron por triplicado, utilizando luego los valores medios. El espectro-fotómetro se ajusta a cero con tubos sin bacterias, pero con los demás componentes iguales.

Los experimentos de diálisis se realizaron con tubo de celofán de Unión Carbide, siguiendo el método de KEEN.³ La valoración de oxacilina dentro y fuera del saco de diálisis, una vez alcanzado el equilibrio, se hicieron mediante el método microbiológico.⁷

Resultados y discusión.

Los tantos por ciento de inhibición del crecimiento del *Staphylococcus aureus* por la penicilina G y por las mezclas de penicilina y gamma-globulina están representados en la gráfica 1. Como puede observarse, son una función lineal del logaritmo de la concentración del antibiótico en los límites trabajados. La figura 2 recoge los tantos por ciento de inhibición en función del logaritmo de la concentración de oxacilina.

En las gráficas 1 y 2 queda bien patente que en presencia de gamma-globulina se necesitan concentraciones mayores de antibiótico para producir el mismo tanto por ciento de inhibición. Si postulamos, de acuerdo con R. W. Joos,⁶ que esta bajada de la actividad en presencia de gamma-globulina es debida a que existe una interacción gamma-globulina/penicilina y que la unión de la penicilina a la gamma-globulina va acompañada de la pérdida de la actividad de aquélla, la cantidad de antibiótico unido será igual a la cantidad total de antibiótico añadido, menos la cantidad requerida para dar el mismo tanto por ciento de inhibición en ausencia de gamma-globulina. El tanto por ciento de penicilina ligada se calcula dividiendo la cantidad unida por la cantidad total de penicilina añadida y multiplicada por 100. La tabla I recoge algunos de los valores encontrados, si tomamos como cierto el postulado anterior.

TABLA I

Concentración de gamma-globulina 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$				Concentración de gamma-globulina 800 $\mu\text{g}/\text{ml}$			
Conc. Pen. G $\mu\text{g}/\text{ml}$	% Penic. ligada	Concentr. Oxacilina $\mu\text{g}/\text{ml}$	% Penic. ligada	Conc. Pen. G $\mu\text{g}/\text{ml}$	% Penic. ligada	Concentr. Oxacilina $\mu\text{g}/\text{ml}$	% Penic. ligada
0,05	38,0	0,3	19,5	0,05	50,0	0,2	—
0,06	36,0	0,4	20,0	0,06	50,0	0,3	87,3
0,07	34,3	0,5	20,0	0,07	50,0	0,4	87,5
0,08	35,0	0,6	20,0	0,08	50,0	0,5	88,0
0,09	34,4	0,7	24,2	0,09	46,7	0,6	88,1
0,10	32,0	0,8	24,2	0,10	47,0	0,7	88,7

Para las penicilinas G y oxacilina los tantos por ciento de penicilina ligada a la gamma-globulina son prácticamente constantes. Las líneas de las figuras 1 y 2 son paralelas. Sin embargo, el tanto por ciento de unión por unidad de proteína añadida no es constante.

Por otra parte, es dudoso que la influencia de la gamma-globulina sobre la actividad biológica de las penicilinas pueda interpretarse como debida a una unión de la gamma-globulina con la penicilina, ya que los experimentos de diálisis realizados por nosotros parecen indicar que esta unión prácticamente no se produce. Los resultados del estudio de la posible unión de la gamma-globulina con la oxacilina, por el método de diálisis,³ están recogidos en la tabla II. Como puede verse, las concentraciones de oxacilina en el interior del saco de diálisis (disolución de proteína) y fuera son muy semejantes.

TABLA II

pH	Concentración de Oxacilina en la disolución reguladora con el 10 % de gamma-globulina	
	(Interior del saco de diálisis)	(Fuera del saco de diálisis)
3 (x)	290 $\mu\text{g}/\text{ml}$	260 $\mu\text{g}/\text{ml}$
5 (x)	316	301
7 (x)	315	312
9 (xx)	288	276

(x) Disolución reguladora de fosfatos 0,05 M.

(xx) Disolución reguladora de boratos 0,05 M.

RESUMEN

Se estudia la interacción de la gamma-globulina con la penicilina G y la oxacilina, encontrándose que aquélla disminuye la actividad biológica de las penicilinas. Sin embargo, esta disminución probablemente no deberá interpretarse como unión simple gamma-globulina-penicilina, ya que ésta, o no existe, o es lo suficientemente débil para que no se ponga de manifiesto por el método de diálisis.

RÉSUMÉ

On a étudié l'interaction de la gamma-globuline avec la pénicilline G et l'oxacilline, et on a trouvé que la première diminue l'activité biologique des pénicillines. Cependant, cette diminution ne devra probablement pas être interprétée comme une simple union gamma-globuline - pénicilline, puisque cette union n'existe pas ou, si elle existe, elle est suffisamment faible pour ne pas être détectée par la méthode de dialyse.

SUMMARY

We have studied the interaction of Gamma-Globulin with Penicillin G and Oxacillin and we have found that Gamma-Globulin diminishes the biological activity of Penicillins. However, this diminution should not probably be interpreted as a simple union Gamma-Globulin - Penicillin, since said union does not exist or, if it exists, it is sufficiently weak so as not to be detected by dialysis method.

BIBLIOGRAFIA

1. J. V. BENNETT and W. M. KIRBY (1965).—J. Lab. Clin. Med., **66**, 721.
2. P. M. KEEN, (1965).—J. Pharmacol. Chemother., **25**, 507.
3. P. M. KEEN, (1966).—Biochem. Pharmacol., **15**, 447, 1966.
4. W. SCHOLTAN, (1968).—Antibiot. Chemother., **14** 53, 1968.
5. E. L. QUINN, (1964).—Postgrad. Med. J., **40**, 23, 1964.
6. R. W. JOOS and W. H. HALL, (1969).—J. Pharm. Exp. Ther., **166**, 113, 1969.
7. E. P. ABRAHAM, E. CHAIN, C. M. FLETCHER, H. W. FLOREY, A. D. GARDNER, N. G. HEATLEY and M. A. JENNIGS, (1941).—Lancet, **2**, 177, 1941.

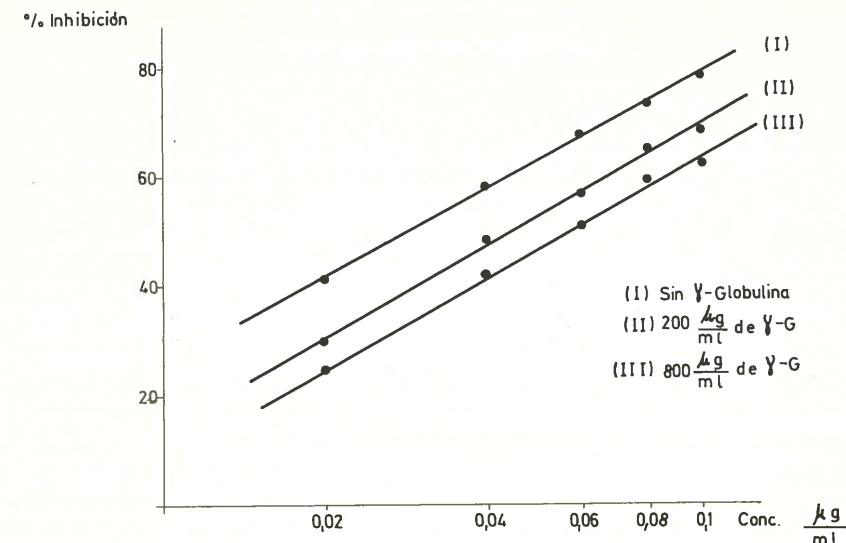


Figura 1

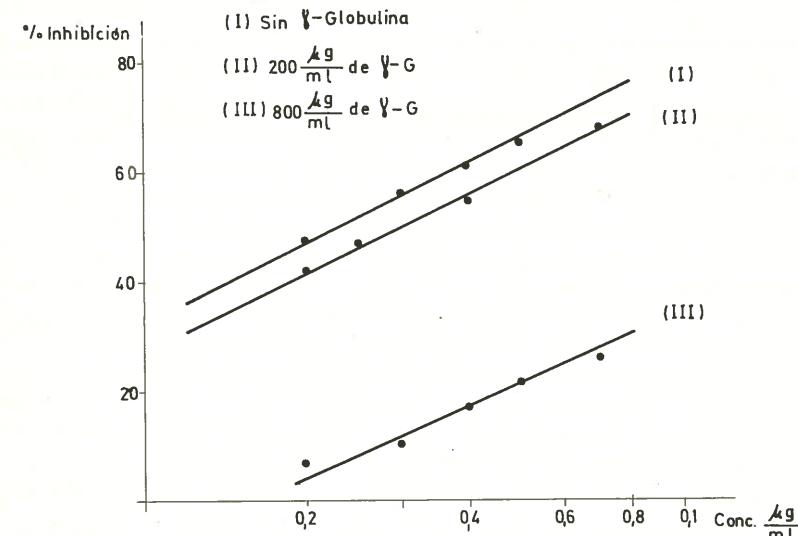


Figura 2