ciencia & industria farmacéutica

Marzo 1986 Vol. 5 (2ª época) nº 3

Trabajo de revisión

C.I.F. 5 (2.ª ép.), 90-101 (1986)

Departamento de Farmacia Galénica. Facultad de Farmacia. Universidad de Navarra
Servicio de Farmacia. Hospital Civil de Bilbao *

Pirógenos, naturaleza y actividad biológica [1]

por **P. Ygartua, C. Lacasa** * y **F.A. Vega**

R E S U M E N

Se expone una revisión de los pirógenos exógenos más importantes, principalmente endotoxinas o lipopolisacáridos de las bacterias Gram-negativas y de sus actividades biológicas, entre ellas la producción de fiebre a través de la liberación de mediador endógeno; así como la importancia farmacéutica de los pirógenos.

Palabras clave: Pirógenos. Endotoxina. Fiebre. Lipopolisacárido.

S U M M A R Y

The most important exogenous pyrogens, mainly endotoxins or lipopolysaccharides from Gram-negative bacteria, are reviewed. Also, their biological activities, such as the production of fever by release of endogenous mediator are described with relation to its pharmaceutical implications.

Key words: Pyrogens. Endotoxin. Feber. LPS.

1. Aspectos generales

Según Personeus (1973) (88), el término pirógeno fue aplicado por primera vez por Burdon-Sanderson en 1876 a un extracto de carne pútrida, productor de fiebre. En los comienzos del siglo XX, al aumentar la administración intravenosa, se observó un aumento de las reacciones febriles severas.

Los términos «fiebre proteínica», «fiebre del suero», «fiebre del salvarsan» y «fiebre del agua del mar» se asociaron frecuentemente con los primeros inyectables. Los estudios experimentales de Jona (1916), Muller (1911), Schmidt (1920) y Rhymer (1919) demostraron que sólo las soluciones estériles y libres de endotoxina no eran pirogénicas, no daban reacciones febriles (Peersoneus, 1973) (88).

Seibert (1923, 1925) (100, 101) demostró que la fiebre por inyección tenía una etiología atribuible a productos bacterianos termoestables. Rademaker en 1930 (92) confirmó el trabajo de Seibert y publicó un conjunto de instrucciones para preparar soluciones libres de pirógenos. Co Tui y Schrift en 1942 (28) demostraron la diferente capacidad de los microorganismos para producir pirógenos; Probey y Pittman (1945) (91) aislaron microorganismos de sangre y demostraron su capacidad pirogénica. El mecanismo de la acción pirogénica, no se conoce con seguridad.

Actualmente se distingue entre:

a. Endotoxinas (LPS) lipopolisacáridos procedentes de la membrana externa de bacterias Gram-negativas, que son los pirógenos más importantes; y exotoxinas, toxinas pirogénicas, polipeptídicas excretadas al medio por las bacterias Gram-positivas (Dony, 1979) (40).

b. Pirógenos exógenos, los LPS o endotoxinas y otras muchas sustancias que proceden de fuera; y pirógenos endógenos, (EP) proteínas producidos por los leucocitos.

2. Membrana externa de las bacterias Gram-negativas

En la figura 1 se representa de forma esquemática las cubiertas de las bacterias Gram-negativas y Gram-positivas.

Lugtenberg y Van Alphen (1983) (73) describen con detalle la situación actual de la investigación de los componentes de la membrana externa, su aislamiento y organización molecular. Aquí interesa una visión general, con más detalle de los lipopolisacáridos. Existen todavía numerosos problemas por dilucidar en el es-

[1] Recibido el día 1 de noviembre de 1985.

clarecimiento de la configuración, situación, funciones, etc., de cada componente en las diferentes bacterias Gram-negativas y sus mutantes.

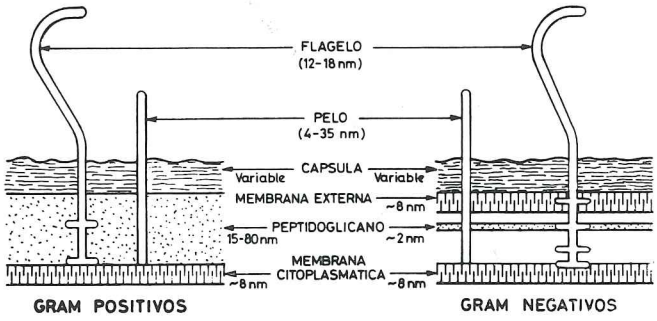


Figura 1

Comparación de la estructura de las cubiertas de las bacterias gram-positivas y gram-negativas (Ingraham et al, 1983) (58).

3. Lipopolisacáridos

La configuración del LPS de **Salmonella typhimurium** se representa en la figura 2. Consta de una parte hidrófoba, llamada lípido A y una parte hidrófila, un polisacárido formado por un núcleo unido al lípido A y una cadena externa, llamada antígeno «O». Los LPS de las Enterobacteriáceas contienen como azúcares específicos, ácido 3-dioxi-D-manooctolusónico (KDO) y L-glicero-D-manoheptosa (Galanos et al, 1977) (47).

Las colonias de los mutantes sin antígeno «O», tienen aspecto rugoso, (R); las cepas salvajes, aspecto liso (S). Hay una gran variedad de LPS con modificaciones de la parte nuclear e incluso sin KDO. También varía el número de unidades (desde ninguno a más de 40) de 3 a 6 azúcares que forman el antígeno «O» (Goldman y Leive, 1980) (51). Estas diferencias permiten la identificación de serotipos y otras técnicas serológicas. El método clásico para el aislamiento de los LPS es el de fenol-agua (Westphal et al, 1952) (109), (Westphal y Jann, 1965) (110): tratamiento de las bacterias secas

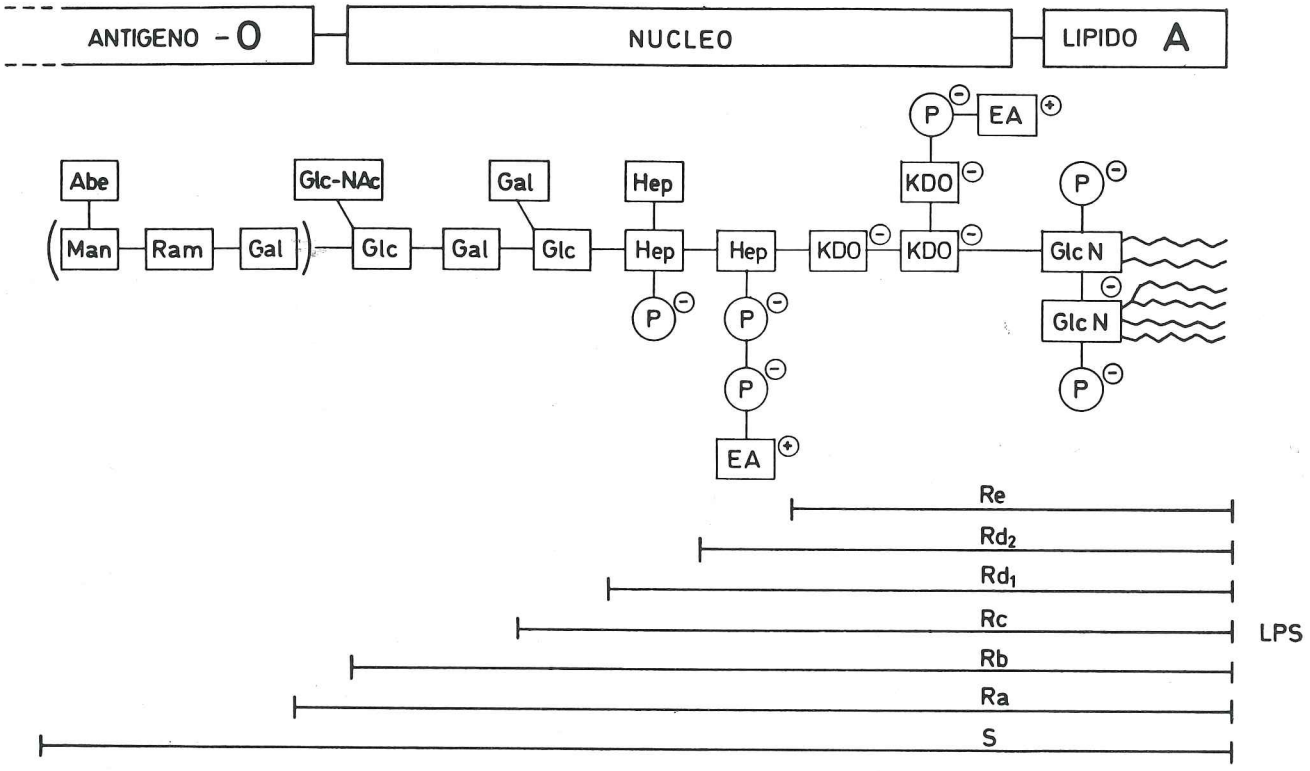


Figura 2

Representación esquemática de los varios LPS producidos por las cepas lisas (S) de Salmonella typhimurium *y por varios mutantes rugosos (R) (Lugtenberg y Van Alphen, 1983, modificado) (73). Man, manosa; Ram, ramnosa; Gal, galactosa; Abe, abecuosa; Glc, glucosa; Hep, L-glicero-D-manoheptosa, KDO; ácido 2-ceto-3-deoxioctolusónico; GlcN, glucosamina; GlcNAc, N-acetil-D-glucosamina; EA, etanolamina.*

con fenol al 45 % durante cinco minutos a 68°. Con pequeñas modificaciones de este método se obtienen los LPS con mayor grado de pureza. Hay otros métodos como la separación con EDTA o butanol acuoso pero proporcionan preparaciones muy contaminadas con proteínas. Los LPS tienen gran afinidad para cationes de calcio y magnesio (Leive, 1975) (68).

Debido a su naturaleza ambifílica, pueden presentar diferentes estados de agregación según su contaminación con proteínas que se pueden distinguir por micros-

copía electrónica: aparece el LPS como túbulos, láminas o esferas (Lugtenberg y Van Alphen, 1983) (73). El lípido A puede ser obtenido por hidrólisis ácida suave del LPS. Rietschel et al (1984) (94) dicen que la mayoría de los lípidos A tienen un esqueleto formado por un disacárido de D-glucosamina de unión β (1'-6) con dos grupos fosforilos (figura 3). Los R que aparecen en la figura, son conocidos en parte para los siguientes: **Escherichia coli K-12, Vibrio cholerae, Yersinia enterocolitica, Proteus mirabilis, Salmonella minnesota, Chromobacterium violaceum, Rhodospirilum tenue, Fusobacterium nucleatum, Acinetobacter calcoaceticus** y **Xanthomonas sinensis.** R1, R2 y R3 pueden ser H o radicales nitrogenados no acilados, D-arabinosa y fosfato; R5 y R6 son diferentes grupos acilados de cadena larga, lipófilos; R4 el ácido 3-deoxi-D-manooctolusónico (KDO) que une el lípido A en el LPS (Rietschel et al, 1984) (94).

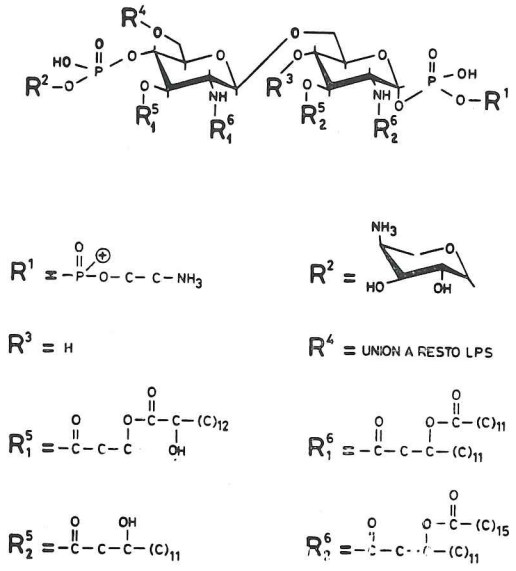


Figura 3

Estructura más frecuente del lípido A (modificada de Rietschel et al, 1984) (94).

Proteínas. A diferencia de la membrana citoplasmática, la membrana externa contiene tan sólo un reducido número de especies diferentes de proteínas. En condiciones normales de cultivo tres o cuatro proteínas representan el 90 % de su contenido proteico total y son conocidas como proteínas principales de membrana externa. En E. coli son: las póricas o proteínas matriciales (figura 4, PP), la proteína OmpA de función no bien determinada (figura 4, A) y la lipoproteína de Braun (figura 4, LP), la más abundante en toda la bacteria y que por estar constantemente unida al peptidoglicano (figura 4, PG) contribuye a mantener la integridad estructural de la membrana interna.

Entre las dos membranas hay un espacio llamado periplásmico (PPS); en él se encuentran libres diversos enzimas y proteínas de captación de sustratos (BP), combinados con los sistemas de transporte de la membrana citoplasmática.

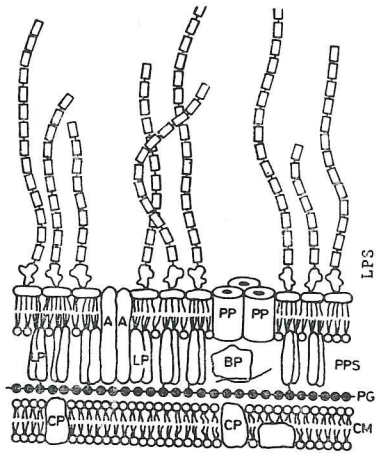


Figura 4

Organización molecular de la membrana de Enterobacteriáceas. CM (membrana citoplasmática), PPS (espacio periplásmico o periplasmic space), BP (proteínas de captación de sustrato), C P(proteína de transporte o carrier protein), (Mannel y Mayer, 1978) (74). No se representa el antígeno común de Enterobacteriáceas (ver texto y figura 1).

4. Pirógenos exógenos

Son los LPS y otras sustancias procedentes del exterior del huésped. Hoy se ha establecido con claridad que el pirógeno exógeno produce fiebre por su capacidad para inducir la síntesis y liberación de pirógeno endógeno (EP) de las células fagocíticas del huésped (Dinarello y Wolff, 1978) (36). En la tabla I se resumen los principales pirógenos exógenos.

Virus. Varios virus Coxsackie y Echo así como diferentes vacunas virales, producen fiebre (Linnemann et al, 1974 (70); Buynak et al, 1969) (23). Para producir fiebre el virus debe tener también capacidad hemaglutinante (Kanoh y Kawasaki, 1966) (62).

Bacterias Gram-positivas. Pueden producir fiebre por uno de los tres mecanismos siguientes:

Fagocitosis de los organismos intactos por los leucocito, lo cual induce la síntesis de EP, al igual que las partículas microbinas la inducen por sí mismas (Atkins y Freedman, 1963) (5).

Producción y liberación de exotoxinas solubles; en el caso de los estafilococos se han aislado dos polipéptidos pirogénicos en conejo en dosis de 1-10 mcg/kg y en el caso de los estreptococos, grupo A, la toxina eritrogénica con cuatro tipos antigénicamente diferentes, que producen fiebre por liberación de EP (Dinarello y Wolff, 1982) (39).

Respuestas tóxicas o inmunológicas del huésped a componentes pirogénicos de la pared celular como los peptidoglicanos que como los LPS de los Gram-negativos producen fiebre, desencadenan la reacción de Schwartzman, inducen resistencia no específica a la infección y colapso cardiovascular a dosis altas; pero

Pirógeno exógeno	Sustancia pirogénica	Mecanismo inducción pirógeno endógeno
Virus	Virus completo	Infección celular
	Hemaglutinina	Función hemaglutinante
Bacterias Gram-positivas	Bacteria completa	Fagocitosis
	Peptidoglicanos	Toxicidad?
	Acidos teicoicos	Antígeno? Toxicidad?
	Exotoxinas	Toxicidad
	Enterotoxinas	Toxicidad
	Proteínas	Antigénico
	Toxinas Eritrogénicas	Toxicidad
Bacterias Gram-negativas	Bacteria completa	Fagocitosis
	Peptidoglicano	Toxicidad?
	LPS	Toxicidad y Antigénico
	Lípido A	Toxicidad
Micobacterias	Bacteria completa	Fagocitosis
	Peptidoglicanos	Toxicidad?
	Polisacárido (OT) [1]	Antigénico
	Proteínas (OT y PPD) [2]	Antigénico
Hongos	Organismo completo	Fagocitosis
	Polisacárido capsular	Toxicidad
	Proteínas	Antigénico
Antígenos no microbianos	SAB [3]	Mediada por anticuerpos
	SAH [4]	»
	BCG [5]	Mediada por células
	Ovoalbúmina	»
	Penicilina	Mediada por anticuerpos
Esteroides pirogénicos	Etiocolanolona	?
	5-β-Androstano-3-α-ol-17-ona	?
	5-β-Pregnano-3-α-ol-20-ona	?
	Acido litocólico	?
Polinucleótidos	Poli I: Poli C [6]	Doble cadena RNA
Antineoplasicos	Bleomicina	Rotura DNA?
Alcaloides de plantas	Colchicina	Impiden la formación del microtúbulo
	Vinblastina	
Adyuvantes	MDP [7]	Toxicidad ?

1 OT (old tuberculin, tuberculina antigua)
2 PPD (protein derivative, derivado proteico purificado)
3 SAB (bovin serum albumin, seroalbúmina bovina)
4 SAH (human serum albumin, seroalbúmina humana)
5 BCG (bacilo de Calmette-Guerin)
6 poli I: poli C (ácido poliinosínico-policitidílico)
7 MDP (muramil dipéptido)

Tabla I

Pirógenos exógenos que inducen la producción de pirógeno endógeno (Dinarello y Wolff, 1982) (39).

existe especificidad inmunológica para los distintos peptidoglicanos en la reacción febril, mientras que la pirogenicidad del LPS bacteriano es generalmente no específica (Rotta, 1975) (95).

Otros componentes de la pared celular de las bacterias Gram-positivas que también producen fiebre son los ácidos teicoicos (Atkins y Morge, 1967) (7), proteínas y polisacárido que forman complejos con anticuerpos específicos, produciendo fiebre (Bodel y Atkins, 1965) (15).

Bacterias Gram-negativas. Los LPS son pirógenos potentes. El mecanismo por el cual los LPS activan los leucocitos fagocíticos para producir EP no está bien dilucidado (Dinarello y Wolff, 1982) (39) (ver después).

Micobacterias. El EP en la tuberculosis puede producirse por la interacción entre el microorganismo y las células fagocíticas que parasita, el granuloma reactivo o la reacción sistémica a los productos de la micobacteria. Para estudiar el mecanismo de producción de EP se han inyectado i.v. a conejos y cobayas infectados con BCG (bacilo de Calmette-Guerin), preparaciones de tuberculina antigua (OT) que es un filtrado de **Mycobacterium tuberculosis** autoclavado, que contiene componentes de la pared celular, polisacáridos y proteínas, y de derivado proteico purificado (PPD) que contiene sobre todo proteínas. La capacidad de OT y PPD para producir fiebre se ha relacionado con el estado de hipersensibilidad del huésped (Hall y Atkins, 1959) (56). Parece que los anticuerpos a la tuberculina pueden sensibilizar el granulocito, el cual a su vez libera EP cuando es activado por OT (Atkins y Heijn, 1965) (6).

Hongos. Las infecciones locales no dan fiebre, las sistémicas sí, por ejemplo las infecciones pulmonares por **Coccidioides inmitis** o criptococos. La fiebre puede estar producida por las células o por los productos fúngicos (Salvin et al, 1965) (98).

No se produce tolerancia con inyecciones repetidas de células, sino que aumenta la respuesta febril (Braude et al, 1960) (20). Productos fúngicos sí producen tolerancia. De los criptococos se han aislado dos fracciones pirogénicas: un polisacárido capsular, pirogénico en conejo por estímulo de los fagocitos y una fracción proteica que produce fiebre por mecanismo antigénico, pues sólo la produce en conejos previamente sensibilizados a productos de los criptococos (Haley et al, 1966) (55).

Antígenos no microbianos. Se han diferenciado dos fenómenos: la fiebre mediada por anticuerpos, en la cual es necesario que esté presente un anticuerpo específico para la pirogenicidad del antígeno; se ha demostrado en estudios con albúmina sérica bobina (BSA) (Farr, 1959) (42), la albúmina sérica humana (HSA) (Mott y Wolff, 1966) (79) y la penicilina (Chusid y Atkins, 1972) (25). Un segundo tipo de fiebre mediada por células sensibilizadas, producida por ovoalbúmina (Atkins y Francis, 1973) (8).

Esteroides pirogénicos. La etiocolanolona es un esteroide pirogénico en humanos pero no en conejos: produce fiebre. escalofríos, mialgias y dolor en el lugar de la inyección con un período de latencia de 8 a 12 horas (Wolff et al, 1967) (112).

La incubación de etiocolanolona con leucocitos produjo liberación de EP (Bodel y Dillard, 1968) (16).

Polinucleótidos. El ácido poliinosínico-policitidílico (poli I:C), un RNA sintético, es un potente pirógeno en animales y humanos y si se inactiva por ribonucleasa pierde su capacidad pirogénica (Nordlund et al, 1970) (82).

Colchicina y vinblastina. Aunque no producen fiebre en animales y conejos, inducen la formación de EP por los fagocitos sanguíneos «in vitro». Se sugiere que el mecanismo podría ser la inhibición de la formación de los microtúbulos celulares (Bodel, 1976) (18).

Bleomicina. Produce reacciones febriles agudas después de la inyección i.v. y es pirogénica en conejos (Rudders, 1972) (97).

Adyuvantes. Se ha identificado una subunidad de peptidoglicano de **Mycobacterium smegmatis** y se ha sintetizado: N-acetilmuramil-L-alanil-D-isoglutamina (MDP) y tiene las propiedades inmunológicas del adyuvante de la micobacteria. El MDP induce la síntesis de EP en fagocitos. La estructura mínima esencial para pirogenicidad parece ser el dipéptido L-alanil-D-isoglutamina; la molécula completa es un pirógeno más potente (Dinarello y Wolff, 1978) (36), (Masek et al, 1978) (76).

5. Pirógenos endógenos

Son proteínas producidas por los leucocitos y llamadas pirógeno leucocítico (LP) o pirógeno endógeno (EP). Estos términos incluyen múltiples péptidos del sistema reticuloendotelial de origen celular (Gander, 1982) (49).

La comprensión del papel del EP ha sido lenta a causa de la dificultad de su análisis. Los primeros métodos se derivaban del método en conejos de la USP pero era difícil medir la respuesta a una dosis dada de EP pues variaba en distintos grupos de conejos. Además la contaminación del EP con LPS, puede enmascarar las respuestas (Atkins y Bodel, 1974) (9). Se ha desarrollado un método de radioinmunovaloración que hará más sencilla la comprensión del mecanismo de producción de fiebre (Dinarello et al, 1977) (35).

Hahn et al (1967) (54); Atkins y Bodel (1974) (9) observaron que el pirógeno endógeno se producía por los fagocitos que tienen receptores para inmunoglobulinas y complemento, exudados peritoneales y macrófagos del pulmón. Actualmente se admite que el EP se produce por una activación debida a la endotoxina, bacteria o fagocitosis de partículas inertes y síntesis de RNA y proteínas en los leucocitos (Dinarello, 1980) (37). Parece que los EP del hombre o del conejo contienen dos proteínas pirogénicas. Una de 15.000 dalton, que predomina en las células del exudado peritoneal del conejo y la otra, una proteína de 45.000 dalton aislada de los monocitos humanos (oBdel, 1970) (17). Murphy et al (1981) (80) identificaron pirógenos endógenos en conejos: uno de ellos es una proteína con un punto isoeléctrico (pI) de 7.3 y el otro, un conjunto de proteínas con valores de pI de 4.5 a 5. El pirógeno

de pl 7.3 contenía un grupo —SH que era esencial para su actividad biológica. Ambos pirógenos daban resultados negativos en el análisis LAL (lisado de amebocitos de **Limulus polyphemus).**

Después de treinta años de investigación, no se han identificado completamente los mediadores endógenos; se obtienen con muy bajos rendimientos de células fagocíticas vivas (Beisel, 1983) (12). Flynn et al (1982) (43), encontraron en placenta humana fagocitos mononucleares que pueden mejorar los rendimientos de mediadores.

6. Efectos de los pirógenos endógenos

En estados febriles se produce un aumento de la proteolisis desencadenado por el EP al estimular la producción de PGE2. Estas observaciones se han realizado incubando músculos de rata con EP y midiendo el grado de proteolisis por las concentraciones de aminoácidos libres en el medio (Baracos, et al, 1983) (10); (Clowes et al, 1983) (27).

La liberación del mediador activa un mecanismo para generar los aminoácidos libres necesarios para las defensas del huésped. En casos de traumatismo severo, infección o inflamación, el aumento de la proteolisis muscular es necesaria para la supervivencia (Powanda y Beisel, 1982) (90).

Beisel (1983) (12) indicaba otras acciones de los mediadores endógenos demostradas en cultivos celulares o preparaciones tisulares: liberación de neutrófilos por la médula ósea, captación hepática de hierro, cinc y aminoácidos, síntesis hepática de enzimas intracelulares y proteínas quelantes de metales, y estimulación de fagocitos y linfocitos.

Hoffman-Goetz (1981) (57) estudiaron la capacidad del EP humano, obtenido de pacientes malnutridos con marasmo (deprivación calórica) o **kwashiokor** (malnutrición proteica), de inducir fiebre en conejos. El EP obtenido de los pacientes con malnutrición proteica produjo menos fiebre en los conejos, que el obtenido de los pacientes tratados con nutrición parenteral total y que el obtenido de personas sanas.

Sugerían que la síntesis de EP por los leucocitos puede ser inhibida por circunstancias que interfieren la síntesis de RNA y proteínas. Estos resultados pueden explicar impresiones clínicas anecdóticas que sugerían que la sepsis por Gram-negativos puede cursar de forma afebril en niños malnutridos (Scrimshaw et al, 1968) (99), (Brenton et al, 1967) (21).

7. Actividad biológica de las endotoxinas (LPS)

Las características físicas, químicas y biológicas de los LPS de las Enterobacteriáceas han sido descritas

Actividades	estructura responsable	referencias
Tóxicas		
Aborto	?	(93)
Adipsia, afagia, diarrea	?	(75)
Agregación plaquetaria	lípido A	(29)
Necrosis médula ósea	lípido A	(45)
Citotóxica macrófagos	?	(66)
Disminución peso timo	?	(11)
Hipoferremia	?	(61)
Hipotensión	lípido A	(105)
Toxicidad letal	lípido A	(45)
Leucopenia y leucocitosis	lípido A	(69)
Gelificación LAL	?	(114)
Aumento pirogenicidad de BCG	lípido A	(45)
Efecto Schwartzman	LPS completo	(48, 64)
Aumento toxicidad BCG	lípido A	(46, 87)
Necrosis tumoral	lípido A	(81)
Meningitis aséptica	?	(31)
Peritonitis aséptica	?	(63)
Pirogenicidad	lípido A	(72)
Inhibición fibrinolisis	?	(30)

Tabla II

Actividades biológicas del LPS de enterobacterias (Moreno, 1980) (76); (Colucci et al, 1985) (30); (Clowes et al, 1983) (27); Karanicolas (1977) (63).

No tóxicas		
a) inmunológicas		
Capacidad adyuvante	lípido A	(103)
Mitógena linfocitos B	lípido A	(24)
Unión a membranas celulares	lípido A	(60)
Aumento fagocitosis	?	(60)
Antígeno específico de grupo	núcleo-lípido A	(54, 49)
Síntesis IgG en ratas recién nacidas	lípido A	(67)
Activación policlonal células B	lípido A	(2)
Activación macrófagos	lípido A	(1)
Antígeno específico de especie	cadena «O»	(89)
Antígeno timo-independiente	polímero LPS	(75)
b) protección no específica		
Aumento resistencia	lípido A	(46)
Protección frente a rayos X	núcleo	(84)
Tolerancia a la endotoxina	lípido A	(53)
Aumento proteolisis	?	(27)
c) inducción de sustancias biológicamente activas		
Activación sistema adenilciclasa	lípido A	(60)
Aumento reactividad a epinefrina	lípido A	(46)
Producción interferon	?	(115)
Factor activador de leucocitos	?	(50)
Producción de kinina	?	(107)
Síntesis de prostaglandinas	lípido A	(33)
Liberación cortisol endógeno	?	(11)
Liberación hidrolasas lisosomales	?	(26)
Liberación vasoaminas	?	(106, 60)
d) acción sobre proteínas séricas		
Unión a proteínas séricas	?	(85)
Activación complemento vía clásica	lípido A	(32)
Activación complemento vía alternativa	cadena «O»	(78)
Activación factor Hageman	lípido A	(60)
Activador del plasminógeno	lípido A	(46, 60)

Tabla II (continuación).

en diferentes revisiones (Galanos et al, 1979) (48), (Nowotny, 1966) (83), (Weckesser et al, 1979) (108). La diversidad de actividades biológicas de los LPS se recogen en la tabla II; dependen de las propiedades físicas y químicas de la preparación de LPS y del método experimental utilizado.

La mayoría han sido descritas para unos pocos tipos bien conocidos de LPS **(Salmonella** y **E. coli)** y en un número limitado de sistemas biológicos (ratones y conejos). Por esta razón es difícil tener una perspectiva clara de todas las actividades que pueden producir (Moreno, 1980) (77); algunos están relacionados con mediadores endógenos, como la activación del sistema de complemento (Ward y Johnson, 1975) (107), activación del sistema de coagulación (Galanos, 1975) (46) y liberación de EP de los leucocitos (Atkins y Francis, 1973) (8). El papel de los LPS en la patogenia está poco definido (Berry, 1975) (14), (Kass et al, 1973) (65); (Shands, 1975) (102).

Cuando se destruye el lípido A por hidrólisis alcalina, se pierde la actividad endotóxica del LPS (Nowotny et al, 1975) (84); cuando se aísla por hidrólisis ácida suave y se solubiliza con una proteína como albúmina sérica bovina (BSA), la mayoría de sus acciones biológicas son comparables a las del LPS completo; sólo unas pocas se han asociado al antígeno «O» o al núcleo.

8. Actividad pirogénica

La respuesta febril típica en conejos al LPS comienza 15-30 minutos después de la inyección i.v. La fiebre es bifásica con dos picos: el primero se produce 90 minutos después y el segundo pico mayor a las 3 horas. Si se disminuye la dosis puede producirse una fiebre monofásica (Wolff et al, 1965) (111).

En el hombre, más sensible que el conejo, la fiebre es monofásica (Greisman y Hornick, 1969) (52); (Wolff et al, 1973) (113) proporcional a la dosis de LPS con un período de latencia después de la inyección i.v. de 90 a 120 minutos, durante el cual se puede sentir frío por la disminución del flujo periférico (Buskirk et al, 1965) (22); el máximo se produce a las 3-4 horas de la inyección y la disminución se nota a las 7 horas. También se produce un aumento del metabolismo (Dinarello y Wolff, 1982) (39).

La fiebre está mediada por una sustancia circulante lábil al calor, el pirógeno endógeno (EP) (Atkins y Wood, 1955, a, b) (3, 4); (Berheim et al, 1979) (13). El sistema reticuloendotelial (RES) contiene la mayor parte de LPS después de la inyección i.v.

El LPS inyectado penetra en el hígado, 50 % al cabo de un minuto, 90 % a los 5 minutos (Braude et al, 1955; Rowley et al, 1956) (19, 96) y activa las células de Kupffer para producir EP (Dinarello et al, 1968) (34). El control de la temperatura y la iniciación de la fiebre se localizan en el hipotálamo anterior preóptico PO/AH (Berheim et al, 1979) (13). Las microinyecciones de EP en este área producen fiebre, mientras que las inyecciones hechas en el tejido hipotalámico contiguo tienen poco o ningún efecto sobre la temperatura del organismo (Lipton y Kennedy, 1979) (71).

Actualmente se admite que el EP actúa en receptores específicos en el PO/AH donde se sintetiza nueva prostaglandina E2 (PGE2) que produce hipertermia (Stitt, 1973) (104). Este mecanismo se ha confirmado por la observación de que antipiréticos como el ibuprofeno (inhibidor de la prostaglandin-sintetasa), reduce los niveles de PGE2 en cortes de hipotálamo anterior y corteza cerebral estimulados por EP (Dinarello y Berheim, 1981) (38).

9. Importancia farmacéutica

Es bien conocida la importancia de los pirógenos en inyectables. Las bacterias vivas son más pirogenicas que las destruidas por el calor; pero el proceso de destrucción por calor libera las sustancias pirogénicas rápidamente. El crecimiento bacteriano en una solución fisiológica la hace más pirogénica, debido a un aumento de productos metabólicos y a otros factores (Personeus, 1973) (88). El LPS resiste el autoclave, los disolventes orgánicos, los ácidos, el etanol y otros productos esterilizantes (Elin y Wolff, 1973) (41). Pearson y Weary (1982) (86) compararon la pirogenicidad de endotoxinas de referencia con endotoxinas de gérmenes aislados en las plantas de fabricación; concluían que estas últimas eran menos potentes en conejos y por LAL. Por tanto las endotoxinas de referencia servirán como estándar, pero no absoluto.

BIBLIOGRAFIA

1. Alexander P., Evans R.: Endotoxin and double stranded RNA render macrophages cytotoxic **Nature New Biol. 232,** 76-78 (1971).
2. Anderson J.O., Sjoberg O., Moller G.: Induction of immunoglobulin and antibody synthesis in vitro by lipopolysaccharides. **Eur. J. Immun. 2,** 349-353 (1972).
3. Atkins E., Wood W.B.: Studies on the pathogenesis of fever. I. The presence of transferable pyrogen in the blood stream following the injection of typhoid vaccine. **J. Exp. Med. 101,** 519-528 (1955a).
4. Atkins E., Wood W.B.: Studies on the pathogenesis of fever. II. Identification of an endogenous pyrogen in the blood stream following the injection of typhoid vaccine. **J. Exp. Med. 102,** 499-516 (1955b).
5. Atkins E., Freedman L.R.: Studies in staphylococical fever. I Responses to bacterial cells. **Yale J. Biol. Med. 35,** 451-471 (1963).
6. Atkins E., Heijn C.: Studies on tuberculin fever. III Mechanism involved in the release of endogenous pyrogen in vitro. **J. Exp. Med. 122,** 207-235 (1965).
7. Atkins E., Morge S.I.: Studies in staphylococcal fever. VI Responses induced by cell walls and various fractions of staphylococci and their products. **Yale J. Biol. Med. 39,** 297-311 (1967).
8. Atkins E., Francis L.: Role of lymphocytes in the pyrogenic response: comparison of endotoxin with especific and nonspecific mitogen, concanavalin A. En Kass E.H. y Wolff S.M. (ed), «Bacterial lipolysaccharides», Univ. Chic. Press, Chic., Lond. (1973), p. 264-275.
9. Atkins E. y Bodel P.: Fever. En Zweinfach, Grant, Mc Clusky (ed). «The inflammatory process». Acad. Press, New York, 1974.
10. Baracos V., Rodeman H.P., Dinarello C.A., Goldsberg A.L.: Stimulation of muscle protein degradation and prostaglandin E2 release by leukocytic pyrogen (interleukin-1). **N. Engl. J. Med. 308,** 553-558 (1983).
11. Baroni C.D., Ruco L., De Franceschi S., Ucini S., Adorin L., Chen D.: Biological effects of E. coli lipopolysaccharide (LPS) in vivo. I. Selectionin the mouse of thymus of killer and helper cells. **Immunology 31:** 217-224(1976).
12. Beisel W.R.: Mediators of fever and muscle proteolysis. **N. Engl. J. Med. 308,** 586-587 (1983).
13. Berheim H.A., Block L.H. and Atkins E.: Fever: Pathogenesis, pathophysyiology and purpose. **Ann. Int. Med. 91,** 261-270 (1979).

14. Berry L.J.: Metabolic effects of endotoxin. En D. Schlessinger (ed) «Microbiology». Amer. Soc. Microbiol., Washington D.C. (1975), p. 315-319.
15. Bodel P. y Atkins E.: Studies in staphylococcal fever. V Staphylococcal filtrate pyrogen. **Yale J. Biol. Med. 38,** 282-298 (1965).
16. Bodel P., Dillard M.: Studies on steroid fever I Production of leukocyte pyrogen in vitro by etiocholanolone. **J. Clin. Invest. 48,** 107-117 (1968).
17. Bodel P.: Studies on the mechanism of endogenous pyrogen production. I Investigation of new protein synthesis in stimulated human blood leukocytes. **Yale J. Biol. Med. 43,** 145-163 (1970).
18. Bodel P.: Colchicine stimulation of pyrogen production by human blood monocytes. **J. Exp. Med. 143,** 1015-1056 (1976).
19. Braude A.I., Carey F.J., Zalesky M.: Studies with radioactive endotoxin. **J. Clin. Invest. 34,** 858-865 (1955).
20. Braude A.I., Mc Connell J., Douglas H.: Fever from pathogenic fungi. **J. Clin. Invest. 39,** 1266-1276 (1960).
21. Brenton D.D., Brown R.E., Wharton B.A.: Hypothermia in kwaskhiorkor. **Lancet, 1,** 410-413 (1967).
22. Buskirk E.R., Thompson R.H., Rubenstein M., Wolff S.M.: Heat exchange in men and women following intravenous injection of endotoxin. **J. Appl. Physiol. 19,** 907-913 (1965).
23. Buynak E.B., Weibel R.E., Whitman J.E., Stokes J. Hilleman M.R.: Combined live measles, mumps and rubella virus vaccines. **JAMA 207,** 2259-2262 (1969).
24. Chiller J.M., Skidmore B.J., Morrison D.C., Weigle W.O.: Relationship of structure of bacterial lipopolysaccharides to its function in mitogenesis and adjuvanticity. **Proc. Nat. Acad. Sci. 70,** 2129-2133 (1973).
25. Chusid M.J., Atkins E.: Studies in the mechanism of penicillin-induced fever. **J. Exp. Med. 136,** 227-240 (1972).
26. Cline M.J., Melmon K.L., Davis W.C., Williams H.E.: Mechanism of endotoxin interaction with Human leukocytes. **Br. J. Haematol. 15,** 539-547 (1968).
27. Clowes G.H.A. Jr., George B.C., Villee C.A. Jr. Saravis C.A.: Muscle proteolysis induced by a circulating peptide in patients with sepsis or trauma. **N. Engl. J. Med. 308,** 545-552 (1983).
28. Co Tui y Schrift M.H.: Production of pyrogen by some bacteria. **J. Lab. Clin. Med. 27,** 569-575 (1942).
29. Cohen P., Gardner R.A.: Thrombocytopenia as a laboratory sing and complication of Gram-negative bacterial infection. **Arch. Intern. Med. 117,** 113-124 (1966).
30. Colucci M., Paramo J.A., Collen D.: Generation in plasma of a fast-acting inhibitor of plasminogen activator in response to endotoxin stimulation. **J. Clin. Invest. 75,** marzo 1985 (en prensa) (1985).
31. Cooper J.F., Harbert J.C.: Endotoxin as a cause of aseptic meningitis after radionuclide cisternography. **J. Nuclear Med. 16,** 809-813 (1975).
32. Cooper M.J., Morrison D.C.: Binding and activation of the first component of human complement by the lipid A region of lipopolysaccharides. **J. Immunol. 120,** 1862-1868 (1978).
33. Dey D.K., Feldberg W., Wendlandt S.: Lipid A and prostaglandin fever. **J. Physiol. 239,** 102 (1974).
34. Dinarello C.A., Bodel P., Atkins E.: The role of the liver in the production of fever and in the pyrogenic tolerance. **Trans. Ass. Am. Physicians 81,** 334-344 (1968).
35. Dinarello C.A., Renfer L., Wolff S.M.: The production of antibody against human leukocytic pyrogen. **J. Clin. Invest. 60,** 465-472 (1977).
36. Dinarello C.A. y Wolff S.M.: Pathogenesis of fever in man. **N. Engl. J. Med. 298,** 607-612 (1978).
37. Dinarello C.A.: Endogenous pyrogens in fever. En Lipton J.M. (ed). Raven Press, New York 1980.
38. Dinarello C.A. y Berheim H.A.: Ability of human leukocytic pyrogen to stimulate brain prostaglandin synthesis «in vitro». **J. Neurochemistry, 37** 702-708 (1981).
39. Dinarello C.A., Wolff S.M.: «Exogenous pyrogens». En «Pyretics and antipyretics». **Handb. Exp. Pharm. 60** (1982), 73-112.
40. Dony J.: Les endotoxins et leurs effects biologics. **J. Pharm. Belg. 34,** 127-133 (1979).
41. Elin R.J., Wolff S.M.: Bacterial endotoxins. En «Handbook of microbiology». Laskin A.I., Lechevalier H.A. (ed). CRL Press, Cleveland, p. 215-239, 1973.
42. Farr R.S.: Fever as a manifestation of an experimental allergy. **J. Allergy 30,** 268-269 (1959).
43. Flyn A., Finke J.H., Hilfiker M.L.: Placental mononuclear phagocytes as a source of interleukin-1. **Science 218,** 475-477 (1982).
44. Galanos C., Luderitz O., Westphal O.: Preparation and properties of antisera against lipid A component of bacterial lipopolysaccharides. **Eur. J. Biochem. 24,** 116-122 (1971).
45. Galanos C., Rietschel E.T., Luderitz O., Westphal O.: Biological activities of lipid A complexed with bovine serum albumin. **Eur. J. Biochem. 31,** 230-233 (1972).
46. Galanos C.: Physical state and biological activity of lipopolysaccarides. Toxicity and immunogenicity of the lipic A component. **J. Immun. 149,** 214-229 (1975).
47. Galanos C., Luderitz O., Reitschel E.T., Westphal O. Newer aspects of the chemistry and biology

of bacterial lipopolysaccharides with special reference to their lipid A component. **Int. Rev. Biochem.,** Biochemistry of lipids, II, **14,** 239 (1977).

48. Galanos C., Luderitz O., Westphal O.: Preparation and properties of a standardized lipopolysaccharide from Salmonella abortus equi (rous-pyrexal). **Zbl. Bakt. Hyg.,** 243, 226-244 (1979).
49. Gander G.W. «Endogenous pyrogens». En Pyretics and antipyretics. **Hand. Exp. Pharm. 60,** p. 113-123 (1982).
50. Gery I., Gershon R.K., Waksman B.H.: Potentiation of T Lymphocytes response to mitogens. II The responding cell. **J. Exp. Med. 136,** 128-142 (1972).
51. Goldman R.C., Leive L. **Eur. J. Biochem. 107,** 145-153 (1980).
52. Greisman S.E., Hornick R.B.: Comparative pyrogenic reactivity of rabbit and man to bacterial endotoxin. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 131,** 1154-1158 (1969).
53. Greisman S.E., Hornick R.B.: Endotoxin tolerance. En Beers R.F., Basset J. (ed). «The role of immunological factors in infectious, allergic and autoimmune disease». Raven Press, New York, p. 43-50, 1970.
54. Hahn H.H., Chas D.C., Pastel W.B., Wood W.B. Jr.: Studies on the pathogenesis of fever. XV The production of endogenous pyrogen by peritoneal macrophages. **J. Exp. Med. 126,** 385-394 (1967).
55. Haley L.D., Meyer R., Atkins E.: Studies in cryptococcal fever. II Response of sensitized and unsensitized rabbits to various substances derived from cryptococcal cells. **Yale J. Biol. Med. 39,** 165-185 (1966).
56. Hall Ch. Jr., Atkins E.: Studies on tuberculin fever. I The mechanism of fever in tuberculin hypersensitivity. **J. Exp. Med. 109,** 339-359 (1959).
57. Hoffman-Goetz L.: Febrile and plasma iron responses of rabbits injected with endogenous pyrogen from malnourished patients. **Am. J. Clin. Nutrit. 34.** 1109-1116 (1981).
58. Ingraham J.L., Maaloe O., Frederick C.: «Growth of the bacterial cell». Neidhart, Sinauer Ass., Sunderland, Mass., p. 1-20, 1983.
59. Johns M.A., Bruins S.C., McCabe W.R.: Inmunization with R mutans of Salmonella minnesota. II. Serological response to lipid A and the lipopolysaccharide of the mutants. **Infect. Immun. 17,** 9-15 (1977).
60. Kabir S., Rosenstreich D.L., Mergenhagen S.L Bacterial endotoxins and cell membranes. En J. Jeljaszewicz T. Wadstrom (ed) «Bacterial toxins and cell membranes». Academic Press, N.Y. p. 59-87, 1978.
61. Kampschmidt R.F., Upchurch H.F.: Effects of bacterial endotoxin on plasma iron. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 110,** 191-193 (1962).
62. Kanoh S. y Kawasaki H.: Studies on myxovirus pyrogen. I. Interaction of myxovirus and rabbit polymorphonuclear leukocytes. **Biken J. 9,** 177-184 (1966).
63. Karanicolas S.: Epidemic of aseptic peritonitis caused by endotoxin during chronic peritoneal dialisis. **N. Engl. J. Med. 296,** 1336 (1977).
64. Kasai N.: Chemical studies on the lipid component of endotoxin with special emphasis on its relation to biological activities. En Nowotny A. (ed). «Molecular biology of Gram-negative bacterial lipopolysaccharides». **Ann. New York Acad. Sci. 153,** p. 486-507, 1966.
65. Kass E.H., Porter P.J., Mc Gill M.W., Vivaldi E.: Clinical and experimental observations of endotoxemia. En Kass E.H. (ed). «Bacterial lipopolysaccharides». Univ. Chic. Press Chic. Lond. p. 291-294, 1973.
66. Kessel R.W.I., Braun W.: Cytotoxicity of endotoxin in vitro. Effects on macrophages from normal guinea pigs. **Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci. 43,** 511-522 (1965).
67. Kolb C., Pauli R.D., Weiler E.: Induction of IgG by lipid A in the newborn mouse. **Med. 139,** 467-471 (1974).
68. Leive L. **Biochem. Biophys. Res. Commun. 21,** 290-296 (1975).
69. Leong D., Díaz R., Milner K., Rudbach J., Wilson J.B.: Some structural and biological properties of Brucella endotoxin. **Infect. Immun. 1,** 174-182 (1970).
70. Linnemann C.C., Steichen J., Scherman W.G., Schiff G.M.: Febrile illness in early infancy associated with Echo virus infection. **Pediatrics, 84,** 49-54 (1974).
71. Lipton J.M., Kennedy J.I.: Central thermosensitivity during fever produced by intra-PO/AH and intravenous infections of pyrogen. **Brain Res. Bull. 4,** 23-24 (1979).
72. Luderitz O., Galanos C., Lehmann V.: Lipid A chemical structure and biological activity. **J. Infect. Dis. 128,** 9-21 (1973).
73. Lugtenberg B., Van Alphen L.: Molecular architecture and funtioning of the outer membrane of Escherischia coli and other Gram-negative bacteria. **Biochim. Biophys. Acta 737,** 51-115 (1983).
74. Mannel D., Mayer H.: **Eur. J. Biochem. 86,** 361-370 (1978).
75. Marshall M.T.: Effects of endotoxin on appetite and alimentary function in mice. En M. Landy, W. Braun (ed) «Bacterial endotoxins». Inst. Microbiol. Rutgers, The State University, New Brunswick, N.J., p. 198-204, 1964.
76. Masek K., Kadlecova O., Petrovicky P.: Pharmacological activity of bacterial peptidoglycan: the effect on temperature and sleep in the rat. **Toxicon** (Suppl.) **1,** 991-1003 (1978).

77. Moreno E.: Purification, chemical characterization and biological activity of Brucella lipopolysaccharide. PhD Thesis. University of Wisconsin. Madison, p. 107-109, 1980.
78. Morrison D.C., Kline L.F.: Activation of the clasical and properdin pathways of complement by material lipopolysaccharides (LPS). **J. Immunol. 118,** 362-369 (1977).
79. Mott P.D., Wolff S.M.: The association of fever and antibody response in rabbits immunized with human serum albumin. **J. Clin. Invest. 45,** 372-379 (1966).
80. Murphy P.A., Cebula T.A., Windle B.E.: Rabbit macrophages secrete two biochemically and immunologically distinct endogenous pyrogens. **Infect. Immun. 34,** 177-183 (1981).
81. Nigan V.N.: Effect of core lipopolysaccaride from Salmonella minnesota mutants on the survival times of mice bearing Ehrlich tumor. **Canc. Res. 35,** 628-633 (1975).
82. Nordlund J.J., Wolff S.M., Levy H.B.: Inhibition of biologic activity of poli I: poli C by human plasma. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 133,** 439-444 (1970).
83. Nowotny A.: «Molecular biology of gram-negative bacterial lipopolysaccharides». **Ann. New York Acad. Sci., 133,** 1966.
84. Nowotny A., Bohling V.H., Chang L.: Relation of structure to function in bacterial endotoxins. VIII Biological activities in a polysaccharide rich fraction. **J. Immunol. 115,** 199-203 (1975).
85. Oroszlan S., McFarland V.M., Mora P.T., Shear M.J. :Reversible inactivation of an endotoxin by plasma proteins. En Nowotny A. (ed) «Molecular biology of gram-negative bacterial lipopolysaccharides». **Ann. New York Acad. Sci., 133,** p. 622-628, 1966.
86. Pearson F.C., Weary M.E.: Relative potency of environmental endotoxin as measured by the Limulus amebocyte lysate test and the USP rabbit pyrogen test. En Watson et al. (ed) «Endotoxins and their detection with the Limulus amebocyte lysate test», Alan R. Liss, p. 65-67, 1982.
87. Peavy D.L., Baughn R.E., Musher D.M.: Effects of BCG infection on the susceptibility of mouse macrophages to endotoxin. **Infect. Immun. 24,** 59-64 (1979).
88. Personeus, G.R.: Pyrogen testing of parenteral pharmaceutical. En Cooper, M.S. (ed) «Quality Control in the Pharmaceutical Industry», vol. 1, p. 240, 1973.
89. Poe W.J., Michael J.G.: Separation of the mitogenic and antigenic responses to bacteria lipopolysaccharide. **Immunology 30,** 241-247 (1976).
90. Powanda M.C., Beisel W.R.: Hypothesis: Leukocyte endogenous mediator / endogenous pyrogen / lymphocyte-activating factor modulates the development of non specific and specific immunity effects nutritional status. **Am. J. Clin. Nutr. 35,** 762-768 (1982).
91. Probey, T.F., Pittman M.J.: The pirogenicity of bacterial contaminants found in biologic products. **J. Bact. 50,** 397 (1945).
92. Rademaker L. **Ann. Surg. 92,** 195 (1930).
93. Rieder R.F., Thomas L. Studies on the mechanism involved in the production of abortion by endotoxin. **J. Immunol. 84,** 189-193 (1960).
94. Rietschel E.T., Wollenberg H.W., Russa R., Brade H., Zahringer U.: Concepts of the chemical struc. of lipid A. **Rev. Infect. Dis. 6,** 432-438 (1984).
95. Rotta J.: Endotoxin-like properties of the peptidoglycan. Z. **Immunitaetforsch. Immun. Biol. 149,** 230-244 (1975).
96. Rowley D., Howard J.G., Jenkins C.R.: The fate of 32P-labeled bacterial lipopolysaccharide in laboratory animals. **Lancet 270:** 366-368 (1956).
97. Rudders R.A.: Treatment of advanced malignant lymphomas with bleomycin. **Blood 40,** 317-332 (1972).
98. Salvin S.B., Peterson R.D.A., Good R.A.: The role of the thymus in resistence to infection and endotoxin toxicity. **J. Lab. Clin. Med. 65,** 1004-1022 (1965).
99. Scrimshaw N.S., Taylor C.E., Gordon J.E.: «Interactions of nutrition and infection». Geneva, WHO Scientic Monograph. (1968).
100. Seibert, F.B.: Fever-producing substance found in some distilled waters. **Amer. J. Physiol. 67,** 90 (1923).
101. Seibert F.B.: The cause of many febrile reactions following intravenous injections. **Amer. J. Physiol. 71,** 621 (1925).
102. Shands J.W.: Endotoxin as a pathogenic mediator of gram-negative infection. En D. Schlessinger (ed) «Microbiology». Amer. Soc. Microbiol. Washington D.C., pgs. 330-335, 1975.
103. Skidmore B.J., Chiller J.M., Morrison D.C., Weigle W.O. Immunologic properties of bacterial lipopolysaccharides (LPS): correlation betwen the mitogenic adjuvant and immunogenic activities. **J. Immunol. 114,** 770-775 (1975).
104. Stitt J.T.: Prostaglandin E1: Fever induced in rabbits. **J. Physiol. 232,** 163-179 (1973).
105. Ulevitch R.J. y Cochrane C.G.: Role of complement in lethal bacterial lipopolysaccharide induced hypotensive and coagulative changes. **Infect. Immun. 19,** 204-211 (1978).
106. Urbascheck B., Nowotny A.: Endotoxin tolerance by detoxified endotoxin. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 127,** 650-654 (1968).
107. Ward P.A., Johnson K.J. Effects of endotoxins on serum mediators (complement, kinin, and clotting systems). En D. Schelessinger (ed), «Microbiology». Amer. Soc. Microbiol. Washington D.C., p. 327-329, 1975.

108. Weckesser J., Drews G., Mayer H.: Lipopolysaccharides of photosynthetic prokaryotes. **Ann. Rev. Microbiol. 33,** 215-239 (1979).

109. Westphal O., Luderitz O., Bister F. **Z. Naturforsch. 7,** 148-155 (1952).

110. Westphal O. y Jann K.: En «Methods of carbohydrate chemistry» Whistler R.L. (ed) Academic Press, New York, p. 5, 83-91, 1965.

111. Wolff S.M., Mulholland J. H., Ward S.B.: Quantitative aspects of the pyrogenic response of rabbits to endotoxin. **J. Lab. Clin. Med. 65,** 268-276 (1965).

112. Wolff S.M., Kimball H.R., Perry S., Root R., Kappas A.: The biological properties of etiocholanolone. **Ann. Intern. Med. 67,** 1268-1295 (1967).

113. Wolff S.M., Kimball H.R., Marshall J.R. The effects of hydrocortisone and estrogen on experimental fever induced by etiocholanolone. **Ann. Intern. Med. 67,** 1268-1295 (1973).

114. Yin T.E., Galanos C., Kinsky S., Bradshaw S.W. Sarmiento M.E.: Picogram sensitive assay for endotoxin: Gelation of Limulus polyphemus blood cell lysate induced by purified lipopolysaccarides and lipid A from Gram-negative bacteria. **Biochim. Biophys. Acta, 261,** 248-289 (1972).

115. Youngner J., Kerngold D., Chen J.: Involvement of a chemical moiety of bacterial lipopolysaccharide in production interferon in animals. **J. Infect. Dis. 128,** Supplement. (1973).