

IDEAS SOBRE LA EXCITACION CELULAR
EN LA ANAFILAXIA*

DR. FRANCISCO ALONSO DE FLORIDA

POR SER éste un trabajo de ingreso a esta H. Academia expondré ante ustedes una vista amplia de los resultados, puntos de vista y proyecciones futuras de ciertas investigaciones en las que recientemente hemos hecho algún progreso el Dr. Félix Córdoba y el que habla en los laboratorios de Fisiología y Bioquímica de la Facultad de Medicina.** Creo que un enfoque general del problema, integrado con la literatura, permitirá formarse un juicio más fiel de nuestras miras y alcances que la reseña más o menos pormenorizada o escueta de algún aspecto concreto de la investigación y dejamos las cuestiones de metodología rigurosa para las publicaciones a que hubiere lugar en las revistas especializadas.

La marcha de las investigaciones requieren técnicas y conocimientos de la inmunquímica y de la fisiología, y es por eso que la participación del Dr. Córdoba es esencial y le agradezco cumplidamente haberme permitido presentar algunos datos obtenidos en colaboración. Sin embargo, no compartimos necesariamente la totalidad de los conceptos que expongo y, por tanto, asumo la responsabilidad completa de ellos.

* * *

La teoría celular de la anafilaxia,^{1,2} que es el punto de partida de la mayoría de los estudios modernos, sostiene que la unión del antígeno con el anticuerpo, este último fijo a los tejidos, produce la activación de ciertas células y, como consecuencia, una serie de alteraciones fisiológicas. Las modificaciones funcionales que se producen en el organismo conducen a graves desviaciones de la homeosta-

* Trabajo de ingreso a la Academia Nacional de Medicina, presentado por su autor en la sesión ordinaria del 11 de septiembre de 1964.

** Las Sritas. Edna Berumen y Magdalena Olmedo y los Sres. Pablo Rivera, Leoncio Blanco R., Guillermo Ninomiya y Luis Ize, estudiantes de medicina, han trabajado con entusiasmo y eficiencia en aspectos concretos de las investigaciones.

sia que a menudo terminan con la muerte (choque anafiláctico). La teoría humoral^{3, 4} que supone la producción de sustancias tóxicas mal definidas, que llevadas por la sangre, actúan a distancia produciendo un daño en los tejidos, se ha abandonado casi por completo por ser insuficiente frente a las exigencias que se derivan de los resultados experimentales de sensibilización *in vitro* o *in vivo* con anticuerpos homólogos o heterólogos⁵⁻⁹ y sobre todo, en vista de los experimentos de Schultz¹⁰ y de Dale¹¹ quienes a principio del siglo descubrieron la contracción anafiláctica del músculo liso *in vitro*.

El mecanismo de la excitación celular por efecto de los agregados antígeno-anticuerpo plantea en el momento presente una serie de problemas que pueden sustanciarse en dos cuestiones fundamentales. Una es la relativa al impacto que tiene la reacción antígeno-anticuerpo sobre la estructura y dinámica de las moléculas participantes¹² y la segunda, directamente relacionada con la anterior, que se refiere al modo o mecanismo que pudiera explicar cómo la modificación molecular determina la respuesta celular.⁹ Seguramente la unión del antígeno con el anticuerpo trae un disturbio en la distribución de la energía del sistema molecular que actúa como estímulo que pone en marcha los procesos celulares. Visto el problema desde este último ángulo, cae claramente dentro del campo de la excitabilidad celular en general. En el presente trabajo se harán algunas consideraciones sobre la naturaleza del proceso de excitación que conduce a la reacción anafiláctica.

HIPÓTESIS DE LA HISTAMINA

Un hecho importante en el desenvolvimiento de las ideas sobre anafilaxia fue el descubrimiento de la liberación de histamina por efecto de los antígenos en los animales sensibilizados.¹³ Además, el hecho de que la histamina pueda reproducir muchos de los síntomas de la anafilaxia cutánea inmediata, la contracción del músculo liso del cobayo y la vasodilatación,¹³ condujo de una manera natural a la idea de que la reacción antígeno anticuerpo ejerce sus efectos sobre los tejidos de manera indirecta, mediante la liberación de la amina por ciertas células, principalmente las células cebadas.^{14, 15} La sustancia, una vez libre en los espacios intercelulares, sería la responsable de las manifestaciones características de las respuestas en otras células del tejido.

La hipótesis de la histamina, nombre que se da a esta línea de pensamiento, ha prevalecido como núcleo de los estudios sobre anafilaxia durante más de treinta años. Sin embargo, en el momento presente ya no es sostenible debido a que es incapaz de conciliarse con una serie de resultados experimentales que se han venido acumulando en su contra. A continuación se enumeran algunos entre los más significativos.

1. No siempre es posible establecer una relación de causa a efecto entre el desprendimiento de histamina en los tejidos y la reacción anafiláctica, en particular la contracción del músculo liso. El cobayo, por ejemplo, que es un animal que se ha estudiado extensamente respecto a diversas reacciones tisulares anafilácticas, es muy sensible a la histamina.^{1, 13} Unos cuantos nanogramos por mililitro en el baño de diversos tejidos *in vitro* son capaces de producir contracciones (Tabla I). En cambio el músculo liso de la rata, sólo ocasionalmente se

TABLA I

CONCENTRACION DE HISTAMINA QUE PRODUCE UNA RESPUESTA DEL 50% DE LA MAXIMA TENSION LOGRADA CON CONCENTRACIONES EXCESIVAS, EN DIVERSOS TIPOS *IN VITRO* DEL COBAYO

| Tejido | Concentración ng/ml |
|------------------|------------------------|
| Intestino | 23 |
| Tenia del colon | 155 |
| Utero virgen | 190 |
| Anillo traqueal | 955 |
| Vesícula seminal | 3090 |

contrae en presencia de la amina. Más frecuentemente responde con relajación, pero lo común es una completa insensibilidad. Es importante anotar que no obstante la insensibilidad del músculo liso de la rata a la histamina, el músculo sensibilizado se contrae en presencia del antígeno¹⁶ y los tejidos contienen células cebadas con histamina, la cual se libera durante el choque anafiláctico¹⁷ del animal y de manera localizada en la piel en la reacción de la anafilaxia cutánea pasiva.¹⁸ Por consiguiente, aparece claro que en este roedor los fenómenos de liberación de histamina y de contracción muscular en la anafilaxia obedecen a la misma causa pero no dependen el uno del otro.

2. La relación entre la respuesta anafiláctica de contracción y la liberación de histamina es incierta aún en el cobayo, especie que se caracteriza por su gran reactividad a esta sustancia. El útero *in vitro* de cobayos sensibilizados activamente contra ovoalbúmina y tratados por inmersión, durante tiempos relativamente prolongados, en soluciones concentradas de histamina, se desensibilizan contra las dosis ulteriores de la amina, según el conocido fenómeno de la taquifilaxia. Después del tratamiento, las dosis altas de histamina producen, como en la rata, relajamientos en lugar de contracciones o simplemente el efecto es nulo. Empero, el músculo no pierde su capacidad de contraerse por la acción de la ovoalbúmina. Por tanto, si sostenemos que la histamina es la única sustancia que se libera durante la reacción de Schultz-Dale en el útero de cobayo, debemos admitir que, o bien, la histamina endógena es diferente de la histamina aplicada a la superficie celular o, lo que resulta más razonable, la ingerencia

de esta sustancia en el mecanismo de contracción anafiláctica no es esencial.¹⁹

3. Un dato de nuestro laboratorio también apunta a la discordancia que existe entre el efecto del antígeno en el músculo liso y la acción de la histamina. El músculo liso de los anillos traqueales o del intestino de cobayos con inmunidad activa responden ocasionalmente a las dosis más débiles de antígeno con inhibición en lugar de contracción, no obstante que, en condiciones normales, no es posible obtener relajamientos de la misma magnitud con la histamina. El alargamiento se observa de manera particularmente definida en los anillos traqueales,

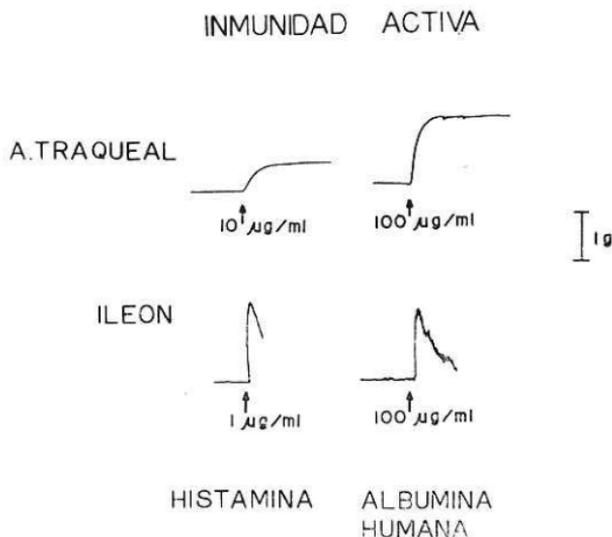


FIG. 1. Registros isométricos de un anillo de la tráquea y de un segmento de íleon terminal de un cobayo con inmunidad activa contra albúmina humana. Las concentraciones de histamina señaladas para cada estructura producen habitualmente contracciones óptimas. Una concentración idéntica de albúmina humana da una contracción mayor que la histamina en el músculo traqueal y menor en el intestinal.

una vez desensibilizados cuando se da el antígeno *in vitro* por segunda vez (Fig. 2).

4. La comparación entre dos tipos de músculo liso del cobayo, el traqueal y el intestinal, tampoco resiste la exigencia que debemos hacer a la hipótesis de la histamina respecto a la existencia de un paralelismo entre la cantidad de histamina que se libera y la magnitud de la respuesta anafiláctica que se obtiene. La figura 1 muestra resultados nuestros de las respuestas isométricas de un segmento de íleon terminal y de un anillo traqueal del cobayo sensibilizado activa-

mente contra albúmina humana. Las respuestas a la histamina se obtuvieron en ambas estructuras con concentraciones superiores a las que producen contracciones máximas (o con mayor precisión, con las dosis que dan lugar a los puntos de la parte asintótica de la curva dosis-respuesta), $10 \mu\text{g/ml}$ en el anillo

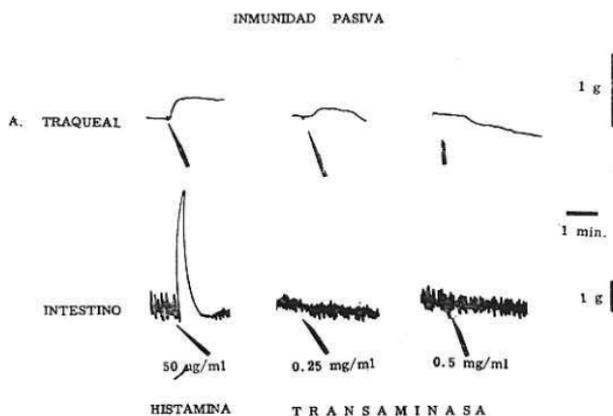


FIG. 2. Registros isométricos de un anillo traqueal y una porción de íleon terminal de un cobayo normal que fueron sensibilizados por inmersión en suero de conejo anticorazón de cerdo sin diluir y a 4°C durante aproximadamente 10 horas. Las dosis de histamina administrada son muy superiores a las que producen las contracciones máximas. La primera dosis de antígeno produce una contracción en la tráquea y una ligera inhibición en el intestino. La segunda dosis da inhibición en ambas estructuras.

traqueal y $1 \mu\text{g/ml}$ en el íleon. Sin embargo, la tensión que se desarrolla en el músculo traqueal con el antígeno es considerablemente superior a la tensión que se produce con la histamina. El íleon terminal, en cambio, desarrolla una fuerza ligeramente menor que la que corresponde a la histamina. El experimento señala dos hechos interesantes: primero, la histamina no es capaz en el caso del músculo

TABLA II

RESPUESTAS ANAFILACTICAS DE TENSION EN TEJIDOS CON INMUNIDAD ACTIVA *IN VITRO*, MEDIDAS EN LA CONCENTRACION (ng/ml) DE HISTAMINA NECESARIA PARA PRODUCIR UNA TENSION EQUIVALENTE

| Antígeno | A. Traqueal | Íleon |
|--------------------------|-------------|-------|
| Ovoalbúmina | 10,000 | 22.9 |
| Albúmina Bov. | 230 | 12.5 |
| γ -Globulina Hum. | 200 | 3.1 |
| Ferritina | 200 | 2.3 |
| Hemocianina | 950 | 3.1 |

Cada par procede del mismo animal y recibe la misma dosis de antígeno.

traqueal de reproducir cuantitativamente el efecto antigénico (es decir, la reactividad del tejido es distinta en uno y otro caso) y segundo, la sensibilidad inmunológica del músculo traqueal y del intestinal es distinta en términos de la histamina necesaria para reproducir la respuesta. Este segundo hecho también se ilustra en la tabla II, en donde se representan algunos valores de respuestas anafilácticas del músculo traqueal y del íleon terminal *in vitro* que se obtuvieron de animales con inmunidad activa a varios antígenos. Cada comparación se realiza en pares de estructuras procedentes del mismo animal y puestas frente a la misma dosis de antígeno. Por necesidad, hubo que limitarse únicamente a aquellas respuestas de los anillos traqueales cuya magnitud fuera menor que la máxima contracción que es posible obtener con la histamina. Claramente se ve que en las circunstancias señaladas, las dosis de histamina equivalentes a la respuesta anafiláctica son mucho mayores en el músculo traqueal que en el intestinal. Las grandes diferencias en el acortamiento de Schultz-Dale entre los segmentos de íleon y los anillos traqueales, medido en equivalentes de histamina, se debe en parte a la notable diferencia en la sensibilidad del músculo liso de las estructuras a la amina. Como se ve en la tabla I el intestino es unas 40 veces más sensible que la tráquea.

Ya que la histamina parece ser el único mediador posible de la reacción de Schultz-Dale en los anillos traqueales y en el íleon,²⁰ y la cantidad de histamina que se desprende en la reacción anafiláctica es sensiblemente similar en ambas estructuras, como muestra la tabla III, los resultados señalados pueden interpretarse de dos maneras alternativas, como en el caso del músculo taquifiláctico a la histamina. O bien se supone la existencia de mecanismos que hacen más efectiva la histamina liberada endógenamente que la administrada desde el exterior, particularmente en la tráquea en comparación con el íleon; o bien se

TABLA III
CANTIDAD DE HISTAMINA QUE SE OBTIENE POR DIFUSION
DE FRAGMENTOS DE TEJIDOS DE COBAYOS SENSIBILIZADOS

| Tejidos | Histamina (ng/g) |
|------------------|------------------|
| Tráquea | 500 |
| Íleon | 600 |
| Íleon sin mucosa | 500 |

Datos de Bloklehurst.²⁰

admite el carácter inesencial de la liberación del mediador en el desarrollo de la reacción de Schultz-Dale.

5. En los tejidos con inmunidad pasiva tenemos resultados semejantes, es decir, la respuesta de los anillos traqueales es mayor a los agentes inmunológicos, que la respuesta del íleon. En la figura 2, por ejemplo, el anillo traqueal es capaz

de responder al antígeno específico, en este caso transaminasa a una concentración de 250 $\mu\text{g}/\text{ml}$, en tanto que el ileon permanece inactivo cuando se pone en presencia de la misma concentración de antígeno. Los experimentos mencionados no discriminan, sin embargo, si la capacidad de mayor respuesta en el músculo traqueal se debe a una fijación más eficaz del anticuerpo o a una sensibilidad mayor del tejido. Las comparaciones de Boréous²¹ entre el ileon y el útero nos conducen a la misma conclusión.

6. La tabla IV contiene los valores de las latencias de los distintos fenómenos que intervienen en la contracción muscular, según la hipótesis de la histamina. Véase que la latencia global, representada por el tiempo que toma el inicio de la contracción muscular, es menor que el tiempo requerido para completar el daño celular y la liberación de histamina. Por consiguiente, resulta imposible que, cuando menos al comienzo la contracción pueda atribuirse al daño celular y la liberación subsiguiente de histamina en las células cebadas, pues, como se ve claramente, no da tiempo a completar la secuencia de los fenómenos que se suponen previos al acortamiento. No obstante, es posible que sobre la con-

TABLA IV
LATENCIAS DE LOS EFECTOS DEL ANTIGENO EN LAS CELULAS CEBADAS
Y EN EL MUSCULO LISO

| <i>Fenómeno</i> | <i>Latencia segundos</i> | <i>Autor</i> |
|-------------------------|--------------------------|----------------------|
| Daño celular | 15 | Mota ⁴¹ |
| Liberación de histamina | 15 a 30 | Schild ⁴⁰ |
| Contracción | 5 a 10 | Dale ⁴¹ |

tracción muscular iniciada por otro mecanismo, se agregue el efecto de la histamina ya que la duración de la contracción muscular es mucho más larga que cualquiera de las latencias señaladas.

7. Congruente con lo que llevamos dicho, la farmacología nos provee con un gran volumen de datos acordes en destacar que las reacciones anafiláticas que se obtienen con una variedad de sistemas antígeno-anticuerpo, en diversos animales de experimentación, tejidos y circunstancias, muestran una gran resistencia a ser suprimidas con los antihistamínicos, inclusive aquellas situaciones en donde se demuestra la liberación de histamina, en tanto que los mismos agentes son muy efectivos como bloqueadores de la acción de la histamina.⁹

8. Asimismo, después de administrar potentes liberadores de histamina,²⁵ como es el compuesto 48/80, que agota las reservas de histamina en los tejidos, no por eso se evita la reacción anafiláctica del músculo liso y otros tejidos.²²

9. Finalmente, se hace necesario señalar que la liberación de histamina no es específica de las reacciones anafiláticas. Existe en la literatura un cierto número de datos que revelan su presencia en cuanto se produce un daño tisular inespecífico como en la respuesta triple de Lewis y Dale.¹ Pero más significativo es aún su aparición como resultado de la actividad normal y enérgica de los tejidos.^{13, 26}

Se ha intentado explicar, dentro de la hipótesis de la histamina, el hecho de que la amina administrada desde fuera a los tejidos *in vitro* sea incapaz de reproducir cuantitativamente muchos de los resultados de la acción antigénica.^{23, 24} En efecto, la histamina se desprende en el seno de los tejidos desde una fuente en que se encuentra sumamente concentrada, quizás 10^{-2} y actúa inmediatamente sobre las fibras musculares más próximas, para después difundirse alrededor según un gradiente de concentración. Es imposible, según este punto de vista, alcanzar en el seno de los tejidos, administrando la histamina en el baño de las estructuras *in vitro* las concentraciones que se logran con la histamina liberada endógenamente durante la respuesta anafiláctica. La alta concentración del mediador en los espacios intercelulares explicaría la ineficacia relativa de los antihistamínicos así como las discrepancias cuantitativas que resultan de comparar la acción en diversas estructuras. Sin embargo, no obstante que esta idea ha sido fundamental para mantener viva la hipótesis de la histamina, no explica satisfactoriamente algunos de los inconvenientes mencionados; cuando menos no aclara la persistencia de la reacción antigénica en los tejidos del cobayo taquifiláctico a la histamina, la ausencia de acción de la histamina en la rata y la persistencia de la reacción anafiláctica en los tejidos en los que la histamina se ha agotado por la acción del compuesto 48/80.

OTRAS SUSTANCIAS MEDIADORAS DE LA REACCIÓN ANAFILÁCTICA

En vista de los serios inconvenientes que confronta la hipótesis de la histamina, se han buscado y encontrado otras sustancias que se han supuesto mediadoras de la acción anafiláctica. Las nuevas hipótesis que postulan nuevas sustancias encuentran obstáculos igualmente importantes y aún mayores que la hipótesis de la histamina.

La producción de una sustancia que determina una reacción de contracción lenta y persistente del músculo liso, llamada sustancia de reacción lenta²⁷⁻³³ se produce al perfundir con el antígeno específico el pulmón de cobayos, conejos, monos y el hombre. Esta sustancia, considerada como un mediador, ofrece una explicación para algunas de las reacciones que no se entienden en el marco de la hipótesis de la histamina. Sin embargo, otras como la anafilaxia de la rata, animal que no produce la sustancia de reacción lenta, quedan sin aclaración satisfactoria. En el cobayo cuyo pulmón sensibilizado es una estructura que,

frente al antígeno específico, produce abundantemente la sustancia de reacción lenta, no la produce en las mismas circunstancias ni en el ileon ni en la tráquea, no obstante que estas estructuras se contraen energicamente en presencia del antígeno.²⁰

La liberación de serotonina en la anafilaxia³⁴ se ha demostrado de una manera concluyente en el caso de plaquetas *in vitro* o cuando se inyecta el antígeno a conejos, pero no se ha decidido de manera clara su participación en otros tejidos. Hay, no obstante, algunos reportes que sugieren que la anafilaxia de la piel y otros tejidos de la rata pueden bloquearse por los agentes que interfieren con la acción de la serotonina; sin embargo, el útero de rata es muy sensible a la serotonina, pero los antagonistas de esta sustancia no reducen la reacción anafiláctica,³⁵ de manera que la serotonina no puede considerarse el mediador. Tales agentes son, por otra parte, capaces por sí mismos de liberar serotonina y otras sustancias activas como histamina, epinefrina, nor-epinefrina, etcétera. Underfriend y Waalkes³⁴ piensan, al respecto, que todavía se requiere mucho más conocimiento a propósito del modo de acción de los bloqueadores de la serotonina antes de que puedan ser utilizados con provecho como herramientas en los estudios de anafilaxia.

UN ESQUEMA SOBRE EL MECANISMO DE ACCIÓN DE LA ANAFILAXIA

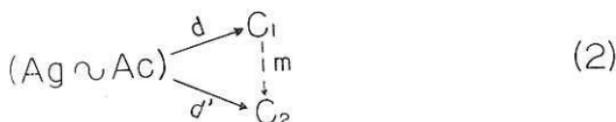
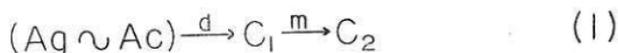
Además, de estos trabajos, existen otros que hablan de la participación de la bradicinina, la sustancia P, la irina, la heparina, la epinefrina y otras que pudieran estar involucradas de algún modo en la reacción anafiláctica.⁹ Esta abundancia de sustancias, hace sumamente incierta y confusa la idea de un mediador químico en las reacciones anafilácticas. Si todavía se recurre a la hipótesis de un mediador es sin duda porque no existe un cuerpo congruente de ideas que la modifiquen, la amplíen o la sustituyan de manera de adecuar la totalidad de los resultados experimentales significativos.

Se acepta de manera general, que los agregados antígeno anticuerpo actúan directamente, sin ser mediados por ningún otro fenómeno, sobre las células cebadas. De la misma manera puede sostenerse, pues no existe ninguna razón en contra, que las acciones de esos agregados puedan ser múltiples a la vez que directos o inmediatos (por contraposición a mediatos), en otras muchas células.

Así como se afirma que el efecto es directo sobre una célula cebada, puede igualmente serlo sobre el epitelio de los capilares, en un glóbulo rojo, en una fibra muscular o en una neurona. El tipo de actividad que se obtenga en cada caso dependerá de la manera peculiar, individual de responder de cada célula, de manera análoga a la estimulación fisiológica, la cual producirá contracción en un músculo, secreción en una glándula o impulsos propagados en un nervio,

dependiendo, no de la calidad del estímulo, sino de la naturaleza de la célula en cuestión.

La hipótesis de la histamina o de cualquier otro mediador puede resumirse en el esquema 1. En donde Ag representa el antígeno; Ac , el anticuerpo; C_1 la célula efectora primaria (célula cebada) donde el efecto es directo y C_2 , una célula efectora secundaria que responde al mediador. El disturbio de la energía representado por la línea ondulada desencadena la secuencia de reacciones. Los efectos están representados por las flechas, en donde d representa el efecto directo o "daño" en la célula y m al mediador de los efectos secundarios (histamina).



El bloqueo del efecto d o m indistintamente debe suprimir la reacción por completo, cosa que, como hemos visto, no sucede en el caso del mediador.

El esquema 2 que presentamos, es una transformación muy sencilla que no obstante logra conciliar enteramente la teoría celular con los hechos experimentales. La acción de los agregados se efectúa independientemente y directamente (d y d') sobre cualquier tipo de célula representadas por C_1 y C_2 ; por ejemplo sobre una célula cebada y sobre una fibra muscular lisa respectivamente. Sin embargo, la célula C_1 liberará un mediador m que, a su vez, ejerce una acción sobre la célula C_2 y suma sus efectos con la acción directa d' del agregado antígeno-anticuerpo. Por otra parte la magnitud de m es variable (línea punteada) según el caso particular de que se trate. Puede ir desde cero hasta un valor relativo mayor que d' y tener, entonces, o muy escasa importancia o una gran ingerencia en la respuesta global de la célula. En el caso del cobayo, por ejemplo, m representa a la histamina, la cual tiene una importancia grande en la contracción del músculo liso. En el caso de la excitación del músculo liso de la rata, por el contrario el valor m es, seguramente, muy pobre, nulo o bien representa otro mediador tal como la serotonina. Fácilmente se ve por qué los

antihistamínicos tienen un efecto igualmente variable, según el sistema inmunológico, el tejido o la especie de que se trate. La efectividad dependerá en cada caso del valor relativo de m . Además m puede representar varios mediadores (m_1, m_2 etc.). Si por ejemplo la célula C_1 , es como hemos supuesto una célula cebada, m_1 , representaría la histamina, m_2 la heparina, m_3 , la sustancia de reacción lenta etc. Todas estas sustancias, en efecto, se sabe que se producen en las células cebadas.^{14, 23} Por último m , puede representar otro tipo de efectos. Se ha postulado por ejemplo, con base en ciertos estudios farmacológicos, que la reacción se ejerce directamente sobre las terminaciones nerviosas del sistema nervioso autónomo, situadas intramuralmente en el músculo liso, y que la estimulación de los nervios provoca la contracción muscular siguiendo los procesos bien conocidos en fisiología.³⁶ En este caso C_1 son las terminaciones; m la propagación de impulsos, liberación del transmisor en las terminaciones, etc. y C_2 , es la fibra muscular lisa.

EL SITIO Y MECANISMO DE LA EXCITACIÓN ANAFILÁCTICA

Ninguno de los dos esquemas, empero, dice una palabra a propósito de la cuestión fundamental que planteamos al principio, a saber: ¿Cómo se ejerce el efecto de los agregados sobre la célula? o ¿Cuáles son los cambios que conducen a la activación celular? En la hipótesis de la histamina el problema no se resuelve, puesto que si bien se intenta explicar la actividad en ciertas células como un resultado de la acción del mediador, queda por explicar cuáles son los mecanismos que conducen a la estimulación de la célula cebada y a la liberación del mediador. Frecuentemente se habla de "daño" celular, pero a nadie escapa la ambigüedad del término, desde el punto de vista funcional. El problema es un misterio en el presente, pero existen algunos estudios abocados a su solución.

Hay ciertos datos que, en efecto, señalan la superficie celular como el sitio de fijación de los anticuerpos y el lugar donde se inicia la activación celular; por ejemplo, las células cebadas sensibilizadas liberan histamina en presencia del antígeno siempre y cuando estén intactas.^{37, 38} La destrucción de las células mediante la subdivisión del tejido en fragmentos demasiado pequeños disminuye la cantidad de histamina liberada, hasta el punto que la desintegración de la mayoría o totalidad de las células, la suprime por completo. La falla no se debe a algún tipo de unión química firme que pudiera existir entre la histamina y los gránulos, porque, por el contrario, puede demostrarse que la administración del antígeno a pulmones sensibilizados determina un agotamiento de las reservas en las partículas intracelulares.³⁸ Es muy probable, por consiguiente, como lo sugieren Humphrey y Mota,³⁹ que la reacción se origine por la reacción del antígeno con el anticuerpo en la superficie celular. En apoyo de esta idea, están asi-

mismo, las cortas latencias que requieren la liberación de histamina⁴⁰ y el daño celular⁴¹ (Tabla IV).

Kallos⁴² encuentra que, por lo que se refiere a la reacción de Schultz-Deaie, los tejidos sensibilizados contra varios antígenos de diverso peso molecular, desde albumina de huevo hasta hemocianina, responden con contracciones que no varían significativamente en la latencia, lo cual indica, sin duda, que no se hace necesaria la penetración de las moléculas del antígeno al interior de la célula para producir un efecto, puesto que de ser así deberían presentarse latencias proporcionales al peso molecular. Sin embargo, por otra parte Leahotan y Hasik⁴³ encontraron que el antígeno homólogo produce contracciones visibles de las fibras de actinmiosina del miocardio, útero y estómago de conejos y cobayos sensibilizados, lo cual nos sugiere que el antígeno pudiera actuar directamente en el interior de la célula y activar el sistema contráctil sin la participación del fenómeno de membrana. Esta importante observación no invalida, empero, la posibilidad de una acción sobre la membrana celular, ni tampoco la posibilidad de que en las células íntegras el antígeno actúe primordial o exclusivamente en la superficie celular.

No obstante que no conocemos el mecanismo de membrana que a su vez desencadena los procesos intracelulares en la anafilaxia, tiene cierta base el suponer que son los cambios en conductancia y polarización eléctrica de la membrana el origen de la excitación celular. Esta hipótesis puede ser analizada experimentalmente con los métodos electrofisiológicos a nuestra disposición. De comprobarse esta idea, tendría importancia no sólo para explicar los fenómenos de la anafilaxia sino, desde un punto de vista más general, querría decir que la excitación por medio de ciertas drogas y de los transmisores químicos, por una parte, y de los agentes inmunológicos, por otra, obedece a procesos fundamentales análogos. De hecho hay ciertas indicaciones muy sugerentes de que el comportamiento de ambos fenómenos es similar. Tanto el sistema transmisor-receptor como el sistema antígeno-anticuerpo, probablemente actúan en la superficie celular, ambos son compuestos inestables y presentan el fenómeno de desensibilización. Los fenómenos de movilización iónica de la membrana durante el proceso de excitación en las neuronas y fibras musculares, constituyen en esencia cambios en la permeabilidad específica del ión sodio o cloro que acarrear modificaciones en la hidratación celular y, por otro lado, muchas de las reacciones anafilácticas o inmunológicas en los microorganismos, los epitelios, las células cebadas, etc. se caracterizan por una fase de turgencia. No deja de llamar la atención, en fin, la preponderante ingerencia del calcio en ambos tipos de fenómeno.^{44, 46}

Los conceptos emitidos aquí no se contraponen de modo inevitable con las ideas referentes a los procesos bioquímicos involucrados en la cadena de reacciones que conducen a la respuesta celular. Por el contrario podrían contribuir a comprender mejor su significado en la reacción global del tejido. Seguramente

participa el complemento y sistemas enzimáticos diversos⁹ que se han estudiado principalmente por medio de inhibidores. Pero esos estudios no elucidan el mecanismo de la excitación celular propiamente dicho, cuando menos en el caso de la reacción de Schultz-Dale. El glóbulo rojo y la célula cebada cursan un proceso irreversible de destrucción. En el centro del pensamiento bioquímico actual^{47, 48} está la idea de una acción lítica de las enzimas sobre la superficie celular. Pero la reacción del músculo liso es un fenómeno en cierta forma reversible. Aunque hay la desensibilización inmunológica, la fibrilla no se daña, puesto que es capaz de mostrar contracciones ulteriores frente a la histamina y otras sustancias. Debemos reconocer que si bien existen muchos datos experimentales referentes al estudio de la anafilaxia a los niveles molecular, celular orgánico etc., hace falta integrarlos en una teoría única que nos permita entender este complejo problema.

BIBLIOGRAFÍA

1. Dale, H. H.: *The Mechanism of Anaphylaxis*. En *An Autum Glening*. Pergamon Press, Londres, 1954.
2. Dale, H. H.: *Croonian lecture: The biological significance of anaphylaxis*. Proc. Roy. Soc. (London), *91*: 126-146, 1920.
3. Boyd, W. C.: *Fundamentals of Immunology* (3rd ed.) New York: Interscience Publishers, Inc., 1956.
4. Dale, H. H. and C. H. Kellaway: *Anaphylaxis and anaphylatoxins*. Phil. Trans. Roy. Soc. Ser. *211*: 273-315, 1922.
5. Manwaring, W. H.: *Der physiologische Mechanismus des anaphylaktischen Shocks*. Zs. Immunitätsforsch., *8*: 1-23, 1910.
6. Dean, H. R., Williamson, and G. L. Taylor: *Passive anaphylaxis following the immediate injection of antigen after antiserum*. J. Hyg. *36*: 570-587, 1936.
7. Hartley, P.: *Passive sensitization in vitro*. Congr. intern. microbiol. *3*: 343, 1939.
8. Halpern, B. N., P. Liacopoulos, M. Liacopoulos-Briot, R. Binaghi, and F. Van Neer. *Patterns of in vitro sensitization of isolated smooth muscle tissues with antibody*. Immunology *2*: 351-362, 1959.
9. Mongar, J. L., and Schild, H. O.: *Cellular mechanisms in anaphylaxis*. Physiol. Rev. *42*: 226-270, 1962.
10. Schultz, W. H.: *Physiological studies in anaphylaxis. II. Reaction of smooth muscle from guinea pigs rendered tolerant to large doses of serum*. J. Pharmacol. *2*: 221-229, 1910.
11. Dale, H. H.: *The anaphylactic reaction of plain muscle in the guinea-pig*. J. Pharmacol. and Exper. Therap. *4*: 167-215, 1913.
12. Najjar, V. A.: *Some Aspects of antibody-antigen reactions and theoretical considerations of the immunologic response*. Physiol. Rev. *43*: 243-262, 1963.
13. Dale, H. H.: *The pharmacology of histamine*. Ann. N. Y. Ac. Sc. *50*: 1017-1028, 1960.
14. Riley, J. J.: *The Mast Cells*. Edinburgh: Livingstone, 1959.
15. Mota, I.: *Mast Cells and anaphylaxis*. J. Physiol. *140*: 6P, 1958.
16. Kellaway, C. H.: *The anaphylactic reaction of the isolated uterus of the rat*. Brit. J. Exp. Path. *11*: 72-80, 1930.
17. Mota, I.: *Action of anaphylactic shock and anaphylatoxin on mast cells and histamine in rats*. Brit. J. Pharmacol. *12*: 453-456, 1957.
18. Brocklehurst, W. E., Humphrey, J. H. and Perry, W. L. M.: *The role of histamine in cutaneous antigen-antibody reactions in the rat*. J. Physiol., *129*: 205-224, 1955.
19. Schild, H. O.: *The reaction of guinea-pig uterus immersed in a histamine solution to histamine and anaphylaxis*. J. Physiol. (London) *86*: 51-53, 1936.

20. Brocklehurst, W. E.: *The release of histamine and formation of a slow-reacting substance (SRS-A) during anaphylactic shock*. J. Physiol. 151: 416-435, 1960.
21. Borçous, L. O.: *Quantitative differences between guinea-pig ileum and uterus in the Schultz-Dale reaction*. Acta Physiol. scand. 52: 320-327, 1961.
22. Mongar, J. L., and H. O. Schild: *A comparison of the effects of anaphylactic shock and of chemical histamine releasers*. J. Physiol. (London) 118: 461-478, 1952.
23. Schild, H. O.: *Mechanism of the anaphylactic reaction as studied by means of inhibitors*. Mechanisms of Hypersensitivity. Boston: Little, Brown & Co., 1959. p.p. 243-258.
24. Dale, H. H.: *Some chemical factors in the control of the circulation*. Lancet i: 1285, 1929.
25. Paton, W. D. M.: *Compound 48/80: a potent histamine liberator*. Brit. J. Pharmacol. 6: 499-508, 1951.
26. Kahlson, G.: *A place for histamine in normal physiology*. Lancet i: 67-71, 1960.
27. Kellaway, C. H. and Trethewie, E. R.: *The liberation of a slow reacting smooth muscle stimulating substance in anaphylaxis*. Quart. J. Exper. Physiol. 30: 121-145, 1940.
28. Brocklehurst, W. E.: *Occurrence of an unidentified substance during anaphylactic shock in cavy lung*. J. Physiol. (London) 120: 16-17, 1953.
29. Brocklehurst, W. E.: *Response of cavy ileum to (SRS-A) from lung of man and of cavy*. J. Physiol. (London) 128: 1P, 1955.
30. Brocklehurst, W. E.: *A slow-reacting substance in anaphylaxis (SRS-A)*. Ciba Foundation symposium on histamine. London: Chrchill, 175-179, 1956.
31. Brocklehurst, W. E.: *The release of histamine and formation of a slow-reacting substance (SRS-A) during anaphylactic shock*. J. Physiol. (London). 151: 416-435, 1960.
32. Chakravarty, N.: *The occurrence of a lipid-soluble smooth-muscle stimulating principle (SRS) in anaphylactic reaction*. Acta. Physiol. scand. 48: 167-177, 1960.
33. Chakravarty, N. K., and B. Uvnäs: *Histamine and a lipid-soluble smoothmuscle stimulating principle (SRS) in the anaphylactic reaction*. Acta Physiol. scand. 48: 302-314, 1960.
34. Underferried, S. and Waalkes, T. P.: *On the role of serotonin in anaphylaxis*. In: Mechanisms of Hipersensitivity. Edited by Shafer, J. H., Lo Grippo, G. A. and Chase, M. W. Boston and Toronto: Little, 219-226, 1959.
35. Brocklehurst, W. E.: *The action of 5-HT on smooth muscle*. 5-Hydroxytryptamine. London: Pergamon Press, 172-176, 1958.
36. Geiger, W. B. and Alpers, H. S.: *Mode of action of antigen and other smooth-muscle stimulation*. Science. 125: 1141, 1957.
37. Copenhaver, J. H., Nagler, M. E., and Goth, A.: *The intercellular distribution of histamine*. J. Pharmacol. 109: 401-406, 1953.
38. Mongar, J. L., and H. O. Schild. *Effect of antigen and organic bases on intracellular histamine in guinea-pig lung*. J. Physiol. (London) 131: 207-219, 1956.
39. Humphrey, J. H., and I. Mota: *The mechsanim of anaphylaxis: specificity of antigen induced mast cell damage in anaphylaxis in the guinea pig*. Immunology. 2: 31-43, 1959.
40. Schild, H. O.: *Histamine release in anaphylactic shock from various tissues of the guinea-pig*. J. Physiol. (London) 95: 393-403, 1939.
41. Mota, I.: *Effect of antigen and octylamine on mast cells and histamine content of sensitized guinea-pig tissues*. J. Physiol. (London) 147: 425-436, 1959.
42. Kallos, P.: *Schweiz. Ztschr. f. Allerg. Path. u. Bakt. 1: 192-200, 1938.*
43. Lehoton, O., and Hastk A.: *Anaphylactic contraction of actinomyosin fibre. Anaphylakliká kontrakria aktomyoznovóho vlákná*. Bratisl. Lek. listy 39: 600-610, 1959.
44. Mongar, J. L., and H. O. Schild.: *The effect of calcium and pH on the anaphylactic reaction*. J. Physiol. (London) 140: 272-284, 1958.
45. Levine, L., Cowan, K. M., Osler, A. G., and Mayer, M. M.: *The essential role of calcium in complement fixation*. J. Immunol. 71: 367-373, 1953.
46. Bard, P.: *Medical Physiology* (Eleventh Edition) St. Louis: Mosby Co. 1961.
47. Lepow, I. H.: *Complement A Review (Including Esterase Activity) Mechanisms of Hypersensitivity*. Boston: Little, Brown & Co., 1959, p.p. 267-279.
48. Uvnäs, B.: *Mechanism of histamine release*. Proc. XXII International Congress. Leiden. Vol. I, Part. I, p.p. 106-114, 1962.

COMENTARIO AL TRABAJO "IDEAS SOBRE LA EXCITACION
CELULAR EN LA ANAFILAXIA"*

DR. ALBERTO GUEVARA ROJAS

EN SU PRIMERA contribución académica como miembro de nuestra Corporación, el señor doctor Francisco Alonso de Florida nos informa sobre su reciente dedicación al estudio de los fenómenos de sensibilización celular y de los procesos que ponen en marcha las manifestaciones de la reactividad selectivamente aumentada de ciertas estructuras corporales, frente a los agentes químicos específicos en la anafilaxia.

Al subrayar nuestra ignorancia de los factores que realmente se ponen en juego en esa peculiar respuesta a la reacción antígeno-anticuerpo, el autor renueva nuestra incertidumbre acerca de la histamina, esa ubícua hormona local cuyo verdadero papel fisiológico queda todavía por precisarse y hasta cuya participación en el acceso anafiláctico (como lo señala el doctor De Florida) no está exenta de dudas, por más que al introducirla en las venas sea capaz de imitar el acceso anafiláctico.

Hay en esta comunicación, en cierta forma, como una reminiscencia de la admonición cotidiana "Señor: ¡Acuérdate de los Atenienses!", que debía impedir que el persa se entregara al reposo; pero en contraste con el heleno legendario, el doctor De Florida nos anuncia el éxito incipiente de sus observaciones que, según insinúa, están encaminadas a poner en claro: 1) si el sitio donde se inicia la alteración que pone en marcha la contracción extrema y sostenida de la musculatura de los bronquios en el cobayo, la de la vena suprahepática en el perro y la de la arteria pulmonar en el conejo, durante el acceso anafiláctico, es la superficie celular o el propio dispositivo proteínico contráctil, y 2) la naturaleza y la acción específica del agente que se origina en la reacción inmunológica, causa de dicha alteración.

En este esfuerzo para despejar tan persistentes incógnitas, el autor se adhiere con razón a la hipótesis ortodoxa, de que el proceso excitatorio muscular se inicia

* Leído en la sesión ordinaria del 11 de septiembre de 1963.

en la superficie celular con los cambios habituales en el potencial eléctrico, la distribución iónica y la permeabilidad. Postula además que en esos cambios pueden intervenir, además de la histamina, otros agentes que actuarían sobre el propio músculo o sobre alguna estructura vecina. A este respecto me parece pertinente recordar una afirmación de Dale, que en cierta forma coincide con la idea del doctor De Florida. Al comentar a Rocha e Silva durante la discusión general que cerró el Simposium sobre Histamina efectuado en 1955, decía Sir Henry: "Bien, eso me demuestra que la anafilatoxina —y acepto sin discusión las pruebas del Profesor Rocha e Silva— está liberando mucha histamina; pero la está liberando en tejido pulmonar tan distante de los bronquiolos, que esa histamina sólo produce un débil efecto comparado con el de la que se está liberando en el seno mismo del tejido contráctil, o en su vecindad inmediata. Y ésto sólo fortifica mi propia convicción, formada hace años, de que la "anafilatoxina" es un cebo que nos aleja del concepto real del fenómeno que todavía me parece ser que, en el cobayo, el rasgo principal del choque anafiláctico es que el músculo liso mismo es sensibilizado por el anticuerpo y reacciona directamente con el antígeno". (Wolstenholme y O'Connor, 1956). La energía que interviene en el desarrollo de la reacción antígeno-anticuerpo en la anafilaxia por lo menos, es en sí un reto a la imaginación y los recursos del investigador y su estudio quizá diera una pista para aclarar los problemas que interesan al doctor De Florida. En los estados alérgicos, como en las demás manifestaciones de hipersensibilidad tisular, tal cosa tendría una trascendental repercusión.

El interés que de seguro suscitó esta noche en diversos sectores de nuestra corporación el trabajo de ingreso del doctor De Florida, se justifica por los tópicos que incluye y que he procurado resumir. Por fortuna, no hay peligro de que ese interés mengüe su intensidad, gracias a la afortunada previsión que se percibe en lo breve del tiempo asignado a este comentario. Ciertamente, ajeno como soy al campo en que hoy se espigó, carezco de información de primera mano. Pero en otros colegas abunda, por su experiencia en los variados aspectos del proceso excitaritorio y del de la hipersensibilidad, lo que nos permitirá aprender cuando se establezca el diálogo entre el fisiólogo y el bioquímico por un lado y el inmunólogo, el alergólogo, etc., por el otro.

De todos modos, ha sido para mi especialmente satisfactorio ocupar hoy esta tribuna para refrendar cordialmente nuestra bienvenida al nuevo miembro de esta Academia.

BIBLIOGRAFÍA

- Wolstenholme, G. E. W. and O'Connor, C. M.: *Histamine*. J. & A. Churchill Ltd. London, 1956. Pág. 454.