

ACERCA DE LA HIPOTESIS DE LA MEMBRANA EN LA ANAFILAXIA¹

DR. FRANCISCO ALONSO DE FLORIDA²

SE HAN avanzado desde principios de siglo dos hipótesis para explicar las reacciones de la anafilaxia y la alergia en general, y la reacción de Schultz-Dale en particular. Estas hipótesis son aparentemente distintas y hasta opuestas, pero como se verá en el curso de este trabajo es posible conciliarlas.

Una de ellas, que llamaré hipótesis del mediador, es la prevalente en la literatura moderna¹ y sostiene que la activación del músculo liso se produce indirectamente en respuesta a sustancias activas biológicamente (histamina, acetilcolina, serotonina, bradicinina, sustancia de reacción lenta, etc.) las cuales se desprenden en el seno de los tejidos seguidamente de la acción de la combinación: antígeno-anticuerpo sobre las células cebadas u otros sitios, mal definidos, entre las fibras musculares. No está claro en la hipótesis si tales sustancias o mediadores de la anafilaxia son un producto de secreción o si resultan de la destrucción o lisis de los elementos que las contienen. Además, la hipótesis del mediador encuentra dificultades ló-

gicas para explicar un cierto número de datos experimentales, que enseguida se resumen en los siguientes puntos: *a)* no siempre es posible establecer una correlación cualitativa, y otros en casos cuantitativa, entre las sustancias que se liberan, o la cantidad en que se liberan, en un tejido determinado y por otra parte, la reactividad y sensibilidad farmacológica del tejido en cuestión a esas sustancias (véase Austen y Humphrey);² *b)* se adolece asimismo de una correlación temporal del curso del desprendimiento de esas sustancias y la velocidad con que se produce la reacción anafiláctica;³ *c)* se puede producir el bloqueo de la acción farmacológica de un supuesto mediador por medio del uso del antagonista apropiado o de la taquifilaxia del propio mediador, sin que ello evite, por otra parte, la respuesta anafiláctica de una manera completa;¹ y finalmente³ *d)* el agotamiento del supuesto mediador por medio de agentes farmacológicos, como es el compuesto 48/80, no es capaz de abolir la reactividad a los agentes farmacológicos.⁴

La otra es la hipótesis de la membrana, término destinado por Doerr⁵ a precisar que la combinación antígeno-

¹ Trabajo presentado en la sesión ordinaria del 26 de julio de 1967.

² Académico numerario. Facultad de Medicina. Universidad Nacional Autónoma de México.

anticuerpo pudiera ser capaz de desencadenar la respuesta muscular directamente en la superficie de las fibras o en las células de otro tipo, sin la participación de un mediador. Claro es que aún dentro de la hipótesis del mediador, forzosamente ha de suponerse algún elemento celular donde se ejerce primariamente el efecto inmunológico y ya Doerr señalaba que existen otros casos, como las reacciones con suero anti-Forssman, la parálisis de protozoarios con el antisuero correspondiente o la hemólisis inmune, donde debe considerarse *a priori* como superflua la mediación química de las respuestas, pues el antígeno es parte constituyente de la membrana celular afectada. Más modernamente se pueden esgrimir asimismo los resultados de Mihailovic y col.⁶ quienes encontraron la despolarización y el bloqueo de la conducción en el nervio de langosta tratado *in vitro* con su anticuerpo. Pero el mismo Doerr admitía algún tiempo después que, al no haber dado indicaciones más precisas acerca de la naturaleza del proceso involucrado, sino que por haberse limitado, apoyándose en Dale⁷, a señalar la posibilidad de una perturbación de las condiciones de dilución de los coloides, fue la razón de que la hipótesis del mediador se haya mantenido en el primer plano de la atención. Afirmación que sigue siendo válida hasta el momento actual, pues si bien la hipótesis del mediador, deja de lado el mecanismo mismo de la acción de los agregados del antígeno y el anticuerpo, por lo menos da lugar a la caracterización cuantitativa de los fenómenos, mediante los

experimentos de medición de las sustancias activas liberadas y su correlación con las respuestas biológicas globales. Pero a mí me parece que otro impedimento intelectual al progreso de la hipótesis de la membrana, aún mayor que el señalado por Doerr, ha sido la idea, implícita o explícita en la mayoría de las publicaciones, desde el comienzo hasta nuestros días, de que toda acción de la combinación antígeno-anticuerpo que tiene una respuesta, ésta se manifiesta de una u otra manera por alteraciones "citotóxicas" visibles al microscopio. Mongar y Schild¹ por ejemplo, en una revista reciente, rechazan la posibilidad de la acción directa de la combinación en la superficie de las fibras musculares lisas, basándose tan solo en la ausencia de los sedicentes cambios citotóxicos en las mismas. Tal idea es sin embargo, del todo apriorística, pues si bien la destrucción celular es un fenómeno cierto en la hemólisis inmune, en la lisis de las células cebadas, etc., es igualmente probable que ello representa el efecto extremo de las concentraciones máximas y que las dosis menores tengan efectos completamente reversibles correspondiendo a una función continua.

Por consiguiente, parece útil especificar la hipótesis de la membrana conforme a los siguientes postulados:

a) La acción de los agregados antígeno-anticuerpo se efectúa en la superficie de las células en general (protozoarios, células cebadas, eritrocitos, fibras musculares y otras).

b) El mecanismo de acción es iónico; es decir, la combinación antígeno-

anticuerpo determina la apertura de "poros" que dan paso a ciertos iones de modo selectivo, según el sistema inmunológico y el sistema biológico en juego, y como consecuencia producen despolarización o hiperpolarización.

c) Los cambios iónicos acarrearán un cierto desequilibrio osmótico que puede en circunstancias extremas, dar lugar a la hidratación, turgencia y ruptura celular.

d) Los cambios en polaridad y conductancia ponen en marcha el mecanismo contráctil o secretor, según la naturaleza de las células o también el mecanismo de inhibición, conforme a los sistemas en operación.

e) Las sustancias activas que se desprenden o liberan en el tejido pudieran sumar sus efectos con la acción directa de los agregados antígeno-anticuerpo sobre las fibras musculares u otras células.

Así caracterizada la hipótesis de la membrana encuentra apoyo en un gran número de hechos experimentales de la literatura que me abstendré de referir aquí y salva los obstáculos señalados arriba para la hipótesis del mediador, pues esta última no viene sino a señalar un caso particular de un mecanismo más general y, en fin, es susceptible de analizarse experimentalmente en forma cuantitativa y al nivel celular. A continuación me referiré más bien a ciertos intentos realizados en nuestro laboratorio encaminados a analizar la hipótesis de la membrana por lo que se refiere principalmente al efecto que la combinación antígeno-anticuerpo pro-

duce sobre los tejidos llamados excitables.

EXPERIMENTOS

La reactividad farmacológica y las desensibilizaciones específica e inespecífica. Es bien sabido que las dosis sucesivas del antígeno específico administrado al músculo liso *in vitro*, sensibilizado inmunológicamente, determinan la pérdida de la sensibilidad a las dosis subsiguientes del mismo antígeno (desensibilización específica), de modo que una concentración del antígeno suficientemente grande puede acarrear la pérdida total de la capacidad del tejido a las respuestas anafilácticas.⁸ No obstante, es igualmente conocido que el músculo no sufre deterioro alguno, ni en su capacidad contráctil ni en su sensibilidad farmacológica. En efecto, sus respuestas a la histamina antes y después de producir una o varias contracciones anafilácticas no disminuye, según nuestros experimentos,⁹ sino que por el contrario se ha encontrado que el promedio de la magnitud de las respuestas a las dosis de histamina administradas con antelación a las dosis de antígeno fueron menores que las respuestas a la misma dosis de histamina añadidas al baño después de obtenidas las respuestas inmunológicas. El aumento no debe atribuirse necesariamente a algún cambio producido en el transcurso de las respuestas anafilácticas pues tenemos indicaciones que el fenómeno se presenta después de administrar una única dosis inicial suficientemente grande de histamina, aún cuando no se dé antígeno alguno.

Otro posible mecanismo es el agotamiento del mediador químico. Y en efecto, este fue originalmente invocado por Lewis¹⁰ para explicar la desensibilización inespecífica que es posible observar en las reacciones cutáneas de los sujetos alérgicos. Una vez provocada la reacción cutánea con el alérgeno específico, otros estímulos habitualmente urticariógenos como por ejemplo el calor, se tornan incapaces de propiciar la respuesta. De manera análoga, según Dale⁸ y otros el útero o el intestino de cobayos que se habían preparado con dos antígenos de especificidad distinta, pueden desensibilizarse total o parcialmente a uno de los antígenos después de haber desencadenado una reacción con el otro. Por nuestra parte⁹ hicimos un estudio con el objeto de tener una idea cuantitativa del fenómeno en una serie grande de anillos traqueales de cobayos sensibilizados por la inyección intravenosa, tanto de sueros de conejo, anti-ferritina como anti'albumina humana. Los resultados demuestran una desensibilización inespecífica que alcanza de un 20 a un 30% de la respuesta inicial, cuando se utilizaban dosis máximas de los antígenos administrados *in vitro*. El orden en que se administran los antígenos no parece ser significativo. La desensibilización específica fue en las mismas circunstancias de un 100%. La disminución de la magnitud de las respuestas es por consiguiente atribuible en un 20 ó 30% al agotamiento del mediador y en una medida aproximadamente igual es posible, por consiguiente, que intervenga el efecto mediador de todas las respuestas en nues-

tras circunstancias experimentales. Cabe entonces la posibilidad que el resto de la respuesta sea debido al efecto directo de la combinación antígeno-anticuerpo sobre las fibras musculares. La desensibilización se debería entonces en gran parte, no al agotamiento del mediador, sino a un fenómeno molecular semejante a la taquifilaxia o desensibilización de los efectos farmacológicos. Es decir, podríamos pensar que se debe a que la vida media de la combinación antígeno-anticuerpo es mayor que la vida media durante la cual la misma combinación tiene efectividad o actividad intrínseca. Si la combinación se ha formado, pero ya no es efectiva un cierto tiempo después, las nuevas concentraciones de antígeno encontrarán las moléculas de anticuerpo ocluidas.

Para abundar en este último punto referiremos otro experimento nuestro:⁹ bajo determinadas condiciones experimentales es posible ver la reacción anafiláctica cruzada de los tejidos *in vitro*. Por ejemplo, el músculo diafragma denervado del cobayo^{11, 12} preparado por la inyección de albúmina de huevo, es capaz de responder a la albúmina humana. Pero el músculo traqueal del cobayo sensibilizado contra albúmina de huevo puede manifestarse aparentemente insensible a la reacción cruzada con albúmina humana. No obstante, una dosis de albúmina humana, puede desensibilizar parcialmente el tejido a una dosis posterior de albúmina de huevo. Es claro entonces que, en esas circunstancias no podemos argüir agotamiento del mediador, pues no ha habido el efecto biológico que se esperaba

de su presencia en el seno del tejido desde la primera dosis condicionante. El fenómeno es sólo explicable, por consiguiente, postulando que las moléculas de albúmina humana son capaces de combinarse con las moléculas antialbúmina de huevo y ocultarlas, pero que la combinación no tiene actividad intrínseca, en las circunstancias particulares de ese experimento. ¿Por qué en unas circunstancias sí hay efectividad y en otras no?, es una pregunta difícil de contestar sin caer en estériles especulaciones. Pero desde luego cabe mencionar dos elementos de diferencia que podrían ser significativos. Estos son: la naturaleza distinta de los tejidos involucrados y el modo de inmunización, pasivo en unos experimentos, activo en los otros.

La reacción anafiláctica del nervio. Ya hemos dicho que Mihailovic y col. descubrieron la reducción del potencial de reposo y el bloqueo paulatino del potencial de acción en el nervio de la langosta como resultado de añadir al baño el anticuerpo anti-nervio de langosta. Se trata entonces de una reacción en donde el antígeno preexiste en las células como un componente normal de las mismas. Nosotros¹² hemos encontrado el efecto de la reacción antígeno-anticuerpo en la anafilaxia estricta del nervio frénico del cobayo sensibilizado activa o pasivamente y donde la fijación del anticuerpo es secundaria y el antígeno se administra al baño. En estas circunstancias se observan efectos variables con la primera dosis que pueden consistir ya en aumento de la polaridad, bien en disminución de la misma,

Las dosis subsiguientes determinan la desensibilización del tejido, pero no es infrecuente que la segunda o tercera dosis produzcan una inversión en el signo de la respuesta respecto a los efectos de la primera dosis. Además se ha visto que la hiperpolarización es más frecuente en los nervios cuando se emplea el sistema de albúmina humana y la despolarización es más frecuente cuando se usa el sistema de albúmina de huevo.

Rara vez se ve la descarga de potenciales de acción autosostenida y únicamente cuando se priva a la solución salina del calcio.

El hecho tiene importancia porque ateniéndonos a la hipótesis del mediador habría que postular dos tipos de mediadores, uno para cada signo de la respuesta, que se secretasen de manera selectiva conforme al sistema inmunológico empleado y a las circunstancias de sensibilidad creadas por la activación previa. Pero además, porque los nervios en general son estructuras con muy pobre susceptibilidad a las aminas biogénicas y a los agentes farmacológicos en general, con la excepción de los anestésicos locales. Y aún estos actúan a dosis relativamente altas.

*La respuesta anafiláctica de la fibra muscular estriada y denervada.*¹⁴ El músculo diafragma denervado del cobayo, da respuestas anafilácticas^{11, 12} *in vitro*, de igual modo que el músculo liso. Este hecho ha facilitado ciertos estudios electrofisiológicos destinados a analizar la hipótesis de la membrana. Así se ha hecho posible el registro intracelular y la aplicación restringida

del antígeno por medio de micropipetas (microválvula). El registro intracelular y la administración del antígeno al baño ponen de manifiesto una respuesta eléctrica que se realiza en tres etapas: oscilaciones de muy pequeña magnitud, despolarización, y finalmente descargas de potenciales de acción. La aplicación del antígeno con la micropipeta y el registro intracelular también revelan una despolarización de muy corta duración, que cuando alcanza cierta magnitud se asocia a la descarga de potenciales de acción. La magnitud de la respuesta disminuye con la distancia al sitio de la aplicación del antígeno. También disminuye con la misma distancia, el tiempo de alzado de la curva de despolarización. Estos dos fenómenos son continuos, siguiendo una curva regular que seguramente es función de la difusión del antígeno en el líquido que baña al tejido. Tales curvas de difusión indican con seguridad que no se interpone, entre la micropipeta que surte el antígeno y el electrodo de registro, ningún elemento responsable de la respuesta eléctrica. Pues si algún elemento apareciese en el área de descarga de la pipeta, por ejemplo una célula cebada que secretase el mediador en respuesta al antígeno, entonces debería verse un quiebre en la curva. O dicho de otra manera, si tales elementos celulares y las sustancias que cedidas al tejido fueran los responsables de la respuesta eléctrica, el procedimiento debería detectar sitios o manchas en donde la respuesta fuera más intensa, en comparación con los lugares circunvecinos. El fenómeno parece deberse, por consi-

guiente, al efecto directo del antígeno sobre el anticurpo anclado a la superficie de las fibras musculares.

REFERENCIAS

1. Mongar, J. L. y Schild, H. O.: *Cellular mechanism in anaphylaxis*, Physiol. Rev. 42: 226, 1962.
2. Austen, K. y Humphrey, J. H.: "*In vitro*" studies of the mechanism of anaphylaxis, Adv. Immunol. 3: 1, 1963.
3. Paton, W. D. M.: *The relation of histamine liberation and anaphylaxis*, Proc. III. Intern. Congr. Allergol. París, 1958, pp. 433.
4. Mongar, J. L. y Schild, H. O.: *A comparison of the effects of anaphylactic shock and of chemical histamine releasers*, J. Physiol. 118: 461, 1952.
5. Doerr, R.: *Las investigaciones sobre inmunidad. VII La anafilaxia*, 1a. Ed. española. Madrid. Revista de Occidente, 1954.
6. Mihailovic, L., Jankvic, B. C., Beleslin, D., Milosevic y Cupic, D.: *Effects of antilobster nerve antibody on membrane potentials of the giant axon of "Polinurus vulgaris"*, Nature, 206: 904-1965.
7. Dale, H. H.: Croonian: *The biological significance of anaphylaxis*, Proc. Roy. Soc. B 91: 126, 1920.
8. Dale, H. H.: *The anaphylactic reaction of plain muscle in the guinea-pig*, J. Pharmacol. 4: 167, 1913.
9. Gijón, E., Contreras, R., Córdoba, F. y Alonso de Florida, F.: Observaciones inéditas.
10. Lewis, T.: *The blood vessels of the human skin and their responses*.
11. Alonso de Florida, F., del Castillo, J., González, G. C. y Sánchez, V.: *Anaphylactic reaction of denervated skeletal muscle in the guinea-pig*, Science, 147: 115, 1965.
12. Alonso de Florida, F., del Castillo, J., González, G. C. y Sánchez, V.: *On the pharmacological and anaphylactic responsiveness of denervated skeletal muscle of the guinea-pig*, Brit. J. Pharmacol., 25: 610, 1965.
13. Gijón, E., Ninomiya, G., Córdoba, F. y Alonso de Florida, F.: Observaciones inéditas.
14. Alonso de Florida, F., del Castillo, J., García, X. y Gijón, E.: Observaciones inéditas.