

CONTRIBUCIONES ORIGINALES

**INVESTIGACION DE ANTICUERPOS PARA LA ASPIRINA  
POR EL METODO DE FIJACION EN SUPERFICIE**

MAXIMILIANO RUIZ CASTAÑEDA,\* † ISABEL SYMES GRACIA, †  
LUIS GÓMEZ-OROZCO § † y HUMBERTO ORTEGA GÓMEZ †

*Se ha sugerido por algunos autores que las reacciones adversas provocadas por aspirina obedecen a manifestaciones de orden inmunológico, lo que por otra parte con base en suficiente experiencia, ha sido puesto en duda y aún francamente rechazado. Sin embargo, reacciones tales como asma, hipotensión y otras manifestaciones no pueden ser atribuidas a origen diferente de lo que ocasiona la mayoría de situaciones atópicas.*

*Considerando que las discrepancias citadas pueden depender de falta de procedimientos suficientemente sensibles para reconocer algunas reacciones antígeno-anticuerpo, se intentó aplicar el método de fijación en superficie, que la experiencia ha mostrado ser prueba fácil de ejecutar y suficientemente sensible para revelar reacciones con antígenos preparados con bacterias y protozoarios. Utilizando este método en reacciones con aspirina se observaron resultados prometedores.*

*Veinte pacientes reconocidos clínicamente como susceptibles a la aspirina dieron pruebas positivas en tanto que de 100 sueros de niños sin antecedentes alérgicos conocidos, solamente*

\* Académico honorario.

† Hospital Infantil de México.

§ Académico numerario.

siete mostraron reacción de fijación de moderada intensidad. Pruebas practicadas con 100 sueros de personas adultas revelaron solamente cuatro pruebas positivas.

Por los resultados referidos en la presente nota puede considerarse que los casos de hipersensibilidad a la aspirina pueden relacionarse a mecanismos inmunológicos del mismo orden que los que ocurren en otras situaciones alérgicas.

La revisión bibliográfica parece sugerir que, hasta la fecha, no se ha presentado prueba indudable de que se produzcan reacciones antígeno-anticuerpo, con aspirina a menos que esta droga sea incorporada a proteínas que modifican su constitución, haciéndola incorporable al complejo inmunológico. Esta circunstancia ha sido referida por Weiner y col.<sup>1</sup> quienes conjugan la aspirina con proteínas tales como albúmina de huevo y globulina-gamma de diverso origen. Mediante los compuestos resultantes han conseguido sensibilizar glóbulos rojos y con éstos practicar pruebas de aglutinación con sueros preparados en conejos con los mismos conjugados y, llegar a obtener reacciones que consideran significativas con suero de pacientes hipersensibles a la aspirina. Otro procedimiento desarrollado por Hoigne y col.<sup>2</sup> en que se aprovechan modificaciones nefelométricas en el suero de pacientes al agregar el alérgeno, vienen a ser, con lo referido por Weiner, las contribuciones más sugestivas sobre la hipótesis de un mecanismo inmunológico de posible reconocimiento por pruebas practicadas *in vitro*. Empero, trabajos elaborados por Yurchak y col.<sup>3</sup> así como por el grupo de Hernández-García<sup>4</sup> conducen a conclusiones opuestas. Yurchak ha sometido a prueba los diversos procedimientos para investigar la presencia de fenómenos inmunológicos utilizando conjugados de aspirina, pero las pruebas intradérmicas re-

sultaron negativas al igual que las pruebas de hemaglutinación, en contraste con lo referido por Weiner. Tampoco lograron confirmar los trabajos de Halpern<sup>5</sup> sobre la acción de la aspirina sobre los linfocitos de pacientes hipersensibles a esa droga y si alguien ha logrado observar reacciones positivas empleando técnicas de inmunofluorescencia, tampoco lo consiguieron.

Concretando esta introducción a las citas que nos parecen más significativas, cabe añadir lo expuesto por Hernández-García y col., quienes obtuvieron resultados negativos en pruebas de transmisión pasiva según los métodos de Prausnitz-Küstner y el de Lefwich. Por lo observado por ambos grupos, los autores se inclinan a considerar que en la hipersensibilidad a la aspirina no intervienen mecanismos inmunológicos de tipo similar a los que se presentan en accidentes típicamente alérgicos.

Sobre la frecuencia de la hipersensibilidad a la aspirina según la edad de los pacientes, los autores consultados dan la impresión de que opinan que es en la edad adulta cuando tal accidente puede observarse con mayor frecuencia, por lo que nos ha parecido de particular interés lo encontrado en el Servicio de Alergia del Hospital Infantil de México, en que no ha sido raro atender niños hipersensibles a esa droga.

En nota publicada en la GACETA MÉDICA DE MÉXICO,<sup>6</sup> así como en un trabajo

presentado al Simposio de Amibiasis de 1975, uno de nosotros dio a conocer una aplicación del método de "fijación en superficie" (F.S.) al diagnóstico de la amibiasis invasiva. Este procedimiento que por primera vez fue dado a conocer en 1950<sup>7</sup> y desde entonces ha sido utilizado para reconocer casos de brucelosis, tifoidea y tifo exantemático<sup>8</sup> y cuya utilidad práctica ha sido confirmada, entre otros por Gutiérrez<sup>9</sup> y Brandao<sup>10</sup> es una prueba en que se utilizan antígenos preparados con cuerpos bacterianos previamente teñidos, con el fin de que sirvan de indicador de los resultados de la reacción. Empero, para el diagnóstico de la amibiasis no fue posible utilizar antígenos teñidos ya que éstos por sí solos se fijan al papel, por lo que hubo necesidad de recurrir a un procedimiento indirecto.

Brevemente, un recurso para utilizar el método de F.S. como prueba preliminar consiste en mezclar suero y antígeno en cantidades no mayores de 0.005 ml. sobre láminas de vidrio, absorbiendo el material con tiras de papel filtro y procediendo al revelado de la reacción según se indica en los trabajos citados. Un recurso similar ha sido aprovechado para investigar diversas combinaciones antígeno-anticuerpo así como la posible antigenicidad de la aspirina.

### Material y método

Se han estudiado 20 sueros de casos sospechosos de sufrir trastornos provocados por hipersensibilidad a la aspirina, todos menores de 12 años. Como material para pruebas de control se ha dispuesto de 100 sueros provenientes de los laboratorios de rutina del Hospital Infantil, sin relación con el servicio de alergia. Se han sometido a prueba igualmente 100 sueros prove-

nientes del Centro Médico Nacional del Instituto Mexicano del Seguro Social, servicio de amibiasis; sueros positivos para toxoplasmosis del Instituto de Enfermedades Tropicales así como del servicio de oftalmología del Hospital General, S.S.A., y sueros de donadores al banco de sangre del Hospital Infantil. Para estas pruebas no se ha empleado plasma o suero inactivados.

La prueba de fijación se ha practicado con soluciones de aspirina recogidas del sobrenadante de mezclas de 0.5 g. de aspirina en 4 ml. de agua destilada conservadas a temperatura del laboratorio durante 24 horas. El papel filtro ha sido Whatman No. 1 para electroforesis y los reactivos para tinción de proteínas y fijación, los mismos empleados para el diagnóstico de la amibiasis.

Las pruebas se controlan con sueros positivo y negativo así como con mezclas de los mismos sueros con solución salina. El papel filtro con el material absorbido se somete al proceso de tinción y diferenciación bajo la acción del lavado con agua de la llave. Suele ser necesario prolongar ese lavado hasta conseguir la decoloración de todos los controles negativos, siendo a veces útil someter el papel a rápido tratamiento con solución de NaOH al 1/1 000 con el fin de acelerar la decoloración. Sin embargo, un lavado excesivo suele borrar los controles positivos o dejarlos débilmente teñidos por lo que conviene tratar el mismo papel con bromofenol y alcohol ácido, repitiendo el lavado.

Hay que advertir que como toda prueba rápida, la F.S. está expuesta a causa de error dependiente, principalmente de la mayor o menor experiencia del operador, por lo que es recomendable repetirla tantas veces como sea necesario y someter la

interpretación de los resultados a lo que sugiera la situación clínica de cada caso en estudio.

## Resultados

Los primeros intentos para investigar reacción antígeno-anticuerpo con aspirina se llevaron a cabo empleando un crudo conjugado con suero humano. Se practicaron pruebas con tres sueros de niños hipersensibles a esa droga con resultados que fueron concordantes con la sospecha clínica. En pruebas subsecuentes con el mismo material, pero empleando aspirina pura, los resultados fueron igualmente satisfactorios. Con este reactivo se encontró que otros 17 sueros provenientes de casos sospechosos de hipersensibilidad a la aspirina dieron pruebas positivas de intensidad de fijación graduada de ++ a ++++, que fueron repetidas varias veces y debidamente controladas según se indica en líneas anteriores. Al someter a prueba los 100 sueros de niños no relacionados con el servicio de alergia se registraron siete pruebas de intensidad no mayor de ++. No se dispuso de información clínica referente a estos casos. Por lo que se refiere a pruebas con sueros de adultos se obtuvo 4 por ciento de reacciones positivas.

## Discusión

Dada la discrepancia de opinión de investigadores que se consideran respaldados por suficiente experiencia, nos ha parecido de interés lo que hemos observado empleando como técnica de investigación de reacciones inmunológicas el método de fijación en superficie que en situaciones diversas ha permitido revelar unión anti-

geno-anticuerpo que no se había podido reconocer empleando procedimientos convencionales. No se puede seguramente considerar que la aspirina actúe directamente como reactivo antigénico, pero se tiene la impresión de que los resultados obtenidos con el material que se ha dado a conocer no pueden deberse a simple casualidad. Es posible que algo ocurra al poner la droga en contacto con el suero y de que, en forma todavía no explicable, altere la composición de las inmunoglobulinas que como se ha demostrado tienen tendencia a fijarse sobre el papel cuando han sido expuestas al correspondiente antígeno.

Si los resultados obtenidos con el material que se presenta en esta nota llegan a ser debidamente confirmados, esto vendría a constituir un argumento de apoyo a lo observado por Weiner y por Hoigne. Por lo pronto nos adherimos a la opinión de quienes consideran el fenómeno de la hipersensibilidad a la aspirina con sus consecuencias clínicas como resultado de un verdadero mecanismo inmunológico de origen y efectos similares a los que ocurren en diversos procesos atópicos.

La revisión bibliográfica disponible parece considerar como poco frecuentes los casos de hipersensibilidad en menores de 10 años y hasta se asegura que las consecuencias de la intolerancia a la aspirina ocurren de preferencia en la edad adulta. Carecemos de informes sobre lo que pueda haberse observado en servicios de alergia locales que atienden a personas adultas, pero no deja de impresionar la relativa alta frecuencia de casos observados en niños según referimos en este trabajo.

Por lo que se refiere a las causas que provocan la retención del colorante en las pruebas positivas y su eliminación parcial

o total en mezclas de sueros negativos con ácido acetil-salicílico es asunto que no estamos en condiciones de explicar.

#### REFERENCIAS

1. Weiner, L. M.; Rosenblatt, M. y Howes, H. A.: *The detection of humoral antibodies directed against salicylates in hypersensitive states*. J. Immunology. 90:788, 1963.
2. Hoinge, R.: Citado y comentado por Oehling y colaboradores, en *Diagnóstico en alergias medicamentosas*. Simposio Nacional sobre alergia medicamentosa. Editor: L. Botet, Lang y Cía. Madrid, 1971, p. 113.
3. Yuchak, A. M.; Wicher, K. y Arbesman, C. E.: *Immunologic studies on aspirin*. Jour. Allergy. 56:245, 1970.
4. Hernández García, J.; Rubio Sotrés, M.; Carnés Isidro, J. y Ortega Núñez, A.: *Reacciones*

*de intolerancia al ácido acetil-salicílico (aspirina)*, mismo simposio (2), p. 229.

5. Halpern, B.; Ky, N. T. y Amache, N.: *Diagnosis of drug allergy in vitro with the lymphocyte transformation tests*. Jour. Allergy. 40:168, 1967.
6. Ruiz-Castañeda, M.: *Investigación de anticuerpos amibianos por "fijación en superficie"*. GAC. MÉD. MÉX. 110:121, 1975.
7. Ruiz-Castañeda, M.: *A new method of detecting certain immunologic reactions*. Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 73:46, 1950.
8. Ruiz-Castañeda, M.: *Reacciones serológicas para el diagnóstico de reacciones febriles*. Bol. Méd. Hosp. Infantil, México. 18:63, 1961.
9. Gutiérrez, G.: *Seroepidemiología de la amibiasis, tifoidea, brucelosis y hepatitis B en la República Mexicana*. GAC. MÉD. MÉX. 111:85, 1976.
10. Brandao, C. S. H.: *Reacción de fijación en superficie como método diagnóstico de la fiebre tifoidea*. Bol. Méd. Hosp. Infantil, México. 29:413, 1972.

## LA PRIMERA APLICACION DE SALVARSAN

El Día 25 de Noviembre de 1910 se reunieron en el Anfiteatro del Hospital General, un gran número de Médicos de lo más notable de nuestra Facultad; la cita dada por el Dr. Licéaga fué á las 11 a M.; se trataba de aplicar por la primera vez en México, el famoso Método de Ehrlich para la curación de la Sífilis; el Sr. Castañares, químico, preparó el medicamento y los Doctores Cicero y Barreda leyeron las historias de los enfermos y después fueron inyectados por el Dr. López.

Dijo el Dr. Licéaga:

Si me ha parecido conveniente reuniros con el objeto de presenciar esta primera aplicación del remedio en México, no es con la pueril vanidad de dar solemnidad á este acto, sino para que cada uno de los presentes se convenza de que la técnica es delicada y de que se necesitan manos hábiles para ejecutarla.

Algún periódico de la Capital dijo que tenía yo en mi poder 2500 dosis del remedio y que el Consejo de Salubridad iba á repartirlo gratuitamente. . .

Por este motivo me he creído obligado á llamaros á presenciar este acto, para demostrar que este remedio (que efectivamente ha sido pedido por el Consejo de Salubridad) no podrá ser distribuído libremente. La aplicación se hará en hospitales en donde los enfermos puedan ser observados constantemente por personas de indiscutida competencia, que no sólo sean capaces de reconocer los accidentes que pudieran sobrevenir, sino de remediarlos y de comprobar la eficacia de la preparación. (Licéaga, E.: *El número 606*. GAC. MÉD. MÉX. Vol. 5, tercera serie, pág. 505, 1910.)