FRANCISCO ALONSO DE FLORIDA**

MECANISMOS
DE ACTIVIDAD
CELULAR EN
LA ANAFILAXIA
DEL MUSCULO*

LA REACCIÓN antígeno-anticuerpo se destaca normalmente por una clara "adecuación" a la naturaleza nociva del estímulo. Los anticuerpos, en efecto, interfieren con la acción tóxica de algunos compuestos o con la acción patógena de los microorganismos. La propiedad de unirse los antígenos con los anticuerpos hace posible la función protectora.

Pero en ciertas circunstancias, la combinación tiene también la capacidad de estimular la actividad de algunas células propias del organismo, en ocasiones de manera tan extensa, vigorosa e incoordinada que resultan reacciones orgánicas que alteran la homeostasia normal y frecuentemente ocasionan la muerte. Magendie descubrió la reacción en el conejo en 1839 y Portier y Richet¹⁸ vieron el fenómeno en el perro más de 60 años después. Más tarde Richet¹⁹ le dió el nombre de *anafilaxia* debido al hecho de que los autores utilizaron en sus estudios una proteína tóxica (actinocongestina) extraída de las anemonas de mar y a que creyeron que la reacción se debía a una exageración de sus efectos farmacológicos. Todavía en la actualidad se habla de que la administración del antígeno "hipersensibiliza" al animal a las inyecciones ulteriores del mismo antígeno. Sin embargo, se sabe que la esencia del fenómeno inmunológico es que el animal no se sensibiliza en un sentido cuantitativo, sino que adquiere una nueva cualidad frente al antígeno, la cual se denota mejor por el término *alergia*. Pero este último se reserva comunmente para las manifestaciones más restringidas de un fenómeno inmunológico semejante, que habitualmente acontece de manera natural en el hombre.

* Trabajo presentado a la Sociedad Médica de Puerto Rico el 14 de noviembre de 1964, durante la estancia del autor como Profesor Visitante en el Departamento de Farmacología, Escuela de Medicina Tropical, San Juan, Puerto Rico.

** Departamento de Fisiología, Escuela de Medicina U. N. A. M. Ciudad Universitaria.

En lo que sigue me referiré únicamente a la propiedad que tienen el antígeno y el anticuerpo de activar ciertas células del organismo. Me concretaré principalmente a exponer algunas ideas y experimentos sobre las respuestas anafilácticas del tejido muscular. Pero creo que, cuando menos como primera aproximación, algo de lo que se sabe y mucho de lo que se aprenda en futuras investigaciones en esas estructuras, pudiera servir para progresar en el estudio de la anafilaxia y la alergia en general. Así mismo pudiera rebasar los límites de la inmunología y utilizarse provechosamente para el conocimiento de otras cuestiones en el campo de la biofísica.

A principios de siglo independientemente Schultz¹⁹ y Dale¹⁰ hicieron uno de los descubrimientos más importantes en el avance del estudio de la anafilaxia, la alergia y la biología en general. Encontraron que el músculo liso del cobayo sensibilizado mediante una inyección de suero heterólogo, se contraría *in vitro* al agregar al baño el antígeno específico; es decir, al añadir el propio suero heterólogo. Además la dosis o las dosis iniciales, cuando eran suficientemente grandes o se daban repetidamente desensibilizaban al tejido; es decir, éste perdía su capacidad de reaccionar frente al antígeno¹⁰. La respuesta era indudablemente inmunológica como demostró posteriormente Hartley¹⁴ puesto que la contracción anafiláctica también se obtenía en los tejidos de animales que no se habían inyectado con el antígeno sino que se incubaban durante algunas horas, en presencia del anticuerpo contenido en antisueros específicos.

El descubrimiento de la reacción de Schultz-Dale dió al traste con las teorías que sostenían que la combinación inmunológica daba lugar a la producción de anafilatoxina que según se creía, era llevada por la circulación y producía a distancia sus efectos.

Desde muy al principio en el curso de la evolución de las ideas sobre la anafilaxia se afirma que la reacción antígeno-anticuerpo provoca la liberación o desprendimiento de histamina en el seno de los tejidos y ésta, al difundirse; determina la contracción del músculo liso y otras reacciones inmediatas^{6, 13, 20, 21}. Luego se vió que otros tejidos, dependiendo muchas veces de la especie, no obstante que producen histamina, no reaccionan a ella y de ahí que se haya invocado otras muchas sustancias como mediadoras de las reacciones anafilácticas⁵.

Sin embargo, ya Dale¹¹ había señalado en 1920 que si bien dichos mediadores pueden ser responsables, cuando menos en parte, de la contracción anafiláctica, es igualmente posible que la combinación del antígeno con el anticuerpo actúe directamente sobre las fibras musculares

lisas mediante algún proceso biofísico. Dale propuso como explicación, conforme con el conocimiento de aquel tiempo, la participación de cambios coloidales en las proteínas contráctiles. Pero conforme con el conocimiento actual podría pensarse más bien en cambios en la conductancia eléctrica de la membrana que a su vez pusieran en marcha el proceso contráctil, mediante un mecanismo semejante al de la acción de los transmisores del sistema nervioso. Esta línea de pensamiento nos conduciría a encontrarnos con una analogía asombrosa entre lo que se sabe del mecanismo de acción de los agregados droga-receptor y transmisor-receptor, por una parte, y antígeno-anticuerpo por otra. Analogía que discutiré en otra ocasión.

La hipótesis de la histamina y de las otras sustancias mediadoras se ha encontrado con grandes dificultades. La literatura ofrece numerosos ejemplos en donde tal tesis falla por completo.^{1, 16} Sin embargo, no me detendré a dar una lista de ellos. Me limitaré a mencionar uno de los resultados obtenidos en mi laboratorio en México en colaboración con Córdoba² y luego confirmado en Puerto Rico en colaboración con del Castillo y su grupo.

Los anillos traqueales y en menor medida los segmentos de ileon obtenidos en los animales sensibilizados enérgicamente, dan reacciones de relajación, seguidas o no de contracción, frente al antígeno específico. El fenómeno es particularmente frecuente y notable en los tejidos previamente tratados con dosis de antígeno que desensibilizan incompletamente el tejido. Ahora bien, la histamina y la sustancia de reacción lenta se desprende de los anillos traqueales y del ileon del cobayo durante la reacción anafiláctica⁸. Pero puesto que éstas no producen disminución del tono en circunstancia alguna, las relajaciones anafilácticas no pueden explicarse dentro de la hipótesis de un mediador, a menos que se suponga la existencia de un hipotético factor inhibidor que habría que buscar afanosamente.

La otra posibilidad alternativa, es la acción directa mencionada. Pero ésta no se ha investigado a pesar de haber transcurrido más de 50 años desde el importante descubrimiento de Schultz y Dale. Un impedimento intelectual que ha interferido con el avance del conocimiento de la anafilaxia y la alergia es, a mi manera de ver, suponer a *priori*¹⁵ que toda reacción tisular inmunológica se manifiesta necesariamente como daño o destrucción celular. La lisis celular aparece implícita o explícitamente como causa de la anafilaxia en la mayoría de las publicaciones que se ocupan del asunto. Como el daño no se ve en las preparaciones histo-

lógicas de células musculares, se ha supuesto que estas no se afectan directamente y de ahí se salta a postular la necesidad de algún mediador. Sin embargo, experimentos de Córdoba y míos⁹ indican que una tira de tejido que se sensibiliza contra varios antígenos cuyas estructuras moleculares son claramente distintas, puede responder *in vitro* independientemente a cada uno de ellos, sin interferir con el efecto subsiguiente de los restantes. Si el efecto fuera irreversible, es decir, si hubiera destrucción, debería ocurrir una interdependencia de las acciones entre los distintos antígenos dados en sucesión. La acción intensa de un antígeno debería evitar totalmente el efecto ulterior de los otros. Si, por otra parte, dos antígenos tienen una estructura similar, uno puede interferir con la acción del otro como demuestran nuestros experimentos⁴ pero ello seguramente se debe a que ambos compiten por la unión con el mismo anticuerpo. La destrucción que a menudo se ha visto en otras estructuras y con varios sistemas inmunológicos seguramente refleja casos extremos de excitación⁷.

En vista de todas las consideraciones anteriores, hace algún tiempo inicié, como ya dije antes, ciertos estudios con el propósito de someter a un análisis experimental la posibilidad de que la reacción antígeno-anticuerpo actúe a través de producir modificaciones en la dinámica iónica de la membrana celular. Según este punto de vista las sustancias, que indudablemente se liberan durante la reacción anafiláctica en otras células no musculares del tejido, sumarían sus efectos sobre la membrana celular, con la acción directa de los agregados antígeno-anticuerpo. Técnicamente es fácil detectar los cambios eléctricos aparejados al paso de los iones a través de la membrana. La dificultad estriba en discriminar hasta qué punto los efectos son debidos a la acción inmunológica y cuanto al efecto farmacológico. El asunto no se ha resuelto, pero resumiré los trabajos realizados.

Uno de los primeros resultados demostraron que el antígeno produce hiperpolarización en el nervio³, la cual es una manifestación de un fenómeno inhibitorio en la membrana. Pero otra vez, cabe la duda de que algún compuesto, por ahora misterioso, se desprendiese por efecto de la reacción inmunológica y actuase en el nervio produciendo inhibición.

Del Castillo, en sus estudios de la transmisión neuromuscular¹² había utilizado con mucho éxito la aplicación de sustancias polares con micropipetas a porciones restringidas de una célula arrastrándolas con corriente eléctrica. Teóricamente el procedimiento puede aplicarse a las proteínas debido a la naturaleza anfotérica de éstas. De lograrse sería po-

sible activar una sólo célula en cada ocasión, excluyendo otras, como los mastocitos, que son el origen más factible de la histamina y otros mediadores. Además, el estudio del curso temporal de las respuestas arrojaría mucha luz sobre el problema.

Se hicieron en efecto, intentos con diversos músculos lisos, pero los resultados no fueron concluyentes debido a la pequeña talla de las células musculares lisas. Las dificultades técnicas que se presentaron fueron muchas, pero destaca el hecho de que la descarga de las pipetas se ejercía no en una célula, sino en una región del tejido. Fue entonces patente que, para proseguir los trabajos hacía falta contar con células mayores, y a la vez capaces de sensibilizarse y responder al antígeno *in vitro*. El músculo esquelético denervado del cobayo satisfizo estos requerimientos según pudimos ver⁴.

El músculo estriado denervado se parece funcionalmente al liso por la inestabilidad eléctrica de la membrana y su organización funcional que permite cierto grado de sincronía en la contracción de las fibras y en la descarga de señales eléctricas propagadas (potenciales de acción). Este parecido puede ahora extenderse a su comportamiento inmunológico. El músculo denervado y sensibilizado por vía activa o pasiva responde, en efecto, al antígeno específico con contracción, se desensibiliza parcial o totalmente dependiendo de la dosis administrada y da reacciones cruzadas con proteínas estructuralmente parecidas al antígeno específico.

Se cuenta pues, con una preparación útil para los estudios electrofisiológicos. Los experimentos están en curso y por el momento puedo anticipar lo siguiente: La respuesta anafiláctica de la membrana celular de las fibras, esqueléticas denervadas se caracteriza por un aumento progresivo de la inestabilidad eléctrica de esas estructuras que culmina con la descarga de potenciales de acción a frecuencias crecientes. Las descargas de potenciales de acción determinan la contracción.

Falta por averiguar, sin embargo, si las células musculares responden individualmente a la proteína antigénica.

REFERENCIAS

1. Alonso-de-Florida, F.: *Gaceta Médica de México*, 94: 1027, 1964.
2. Alonso-de-Florida, F., y Córdoba, F.: En prensa: *Arch. int. Pharmacodyn.*
3. Alonso-de-Florida, F., *Libro Conmemorativo del Primer Centenario de la Academia de Medicina*, México, P. 197, 1964.

4. Alonso-de-Florida, F., del Castillo, J. González, C. C. y Sánchez, V. En prensa: *Science*.
5. Austen, K. F. and Humphrey, J. H. *Advanc. Immunol.*, 3:1, 1963.
6. Bartosh, R., Feldberg, W. and Nogel, E., *Arch. ges. Physiol., Pflüger's*, 230: 129, 1932.
7. Barsos, F., Dourmanshkin, R. R. y Humphrey, J. H., *Nature*, 18: 25, 1964.
8. Brocklehurst, W. E., *J. Physiol.*, 151: 416, 1960.
9. Córdoba, F. y Alonso-de-Florida, F., Resultados sin publicar.
10. Dale, H. H., *J. Pharmacol. exp. Therap.*, 4: 517, 1913.
11. Dale, H. H., *Proc. Roy. Soc. B*91, 126, 1920.
12. del Castillo, J., *Res. Publ. Ass. Nerv. Ment. Dis.*, 38: 90, 1961.
13. Dragsted, C. A. and Gebauer, *Am. J. Physiol.*, 101: 29, 1932.
14. Hartley, P. *Congr. inter. microbiol.*, 3: 343, 1939.
15. Mongar, J. L. and Schild, H. O., *Physiol. Rev.*, 42: 226, 1962.
16. Paton, W. D. M., *Proc. III inter. Congr. Allergol. Paris*, 1958, p. 433.
17. Portier et Richer, *Comp. red Soc. biol.*, 54: 170, 1902.
18. Richer, C., *La anaphylaxie*, París, 1912.
19. Schultz, W. H., *J. Pharmacol. exp. Therap.*, 4: 517, 1913.
20. Spinelli, A., *Bull, sez ital. soc. internat. microbiol.*, 4: 257, 1932.
21. Wachstem, M., *Arch. ges. Physiol. Pflüger's*, 231: 24, 1932.