

BIBLIOTECA IBYS DE CIENCIA BIOLÓGICA

*

R. DOERR

Las investigaciones sobre inmunidad

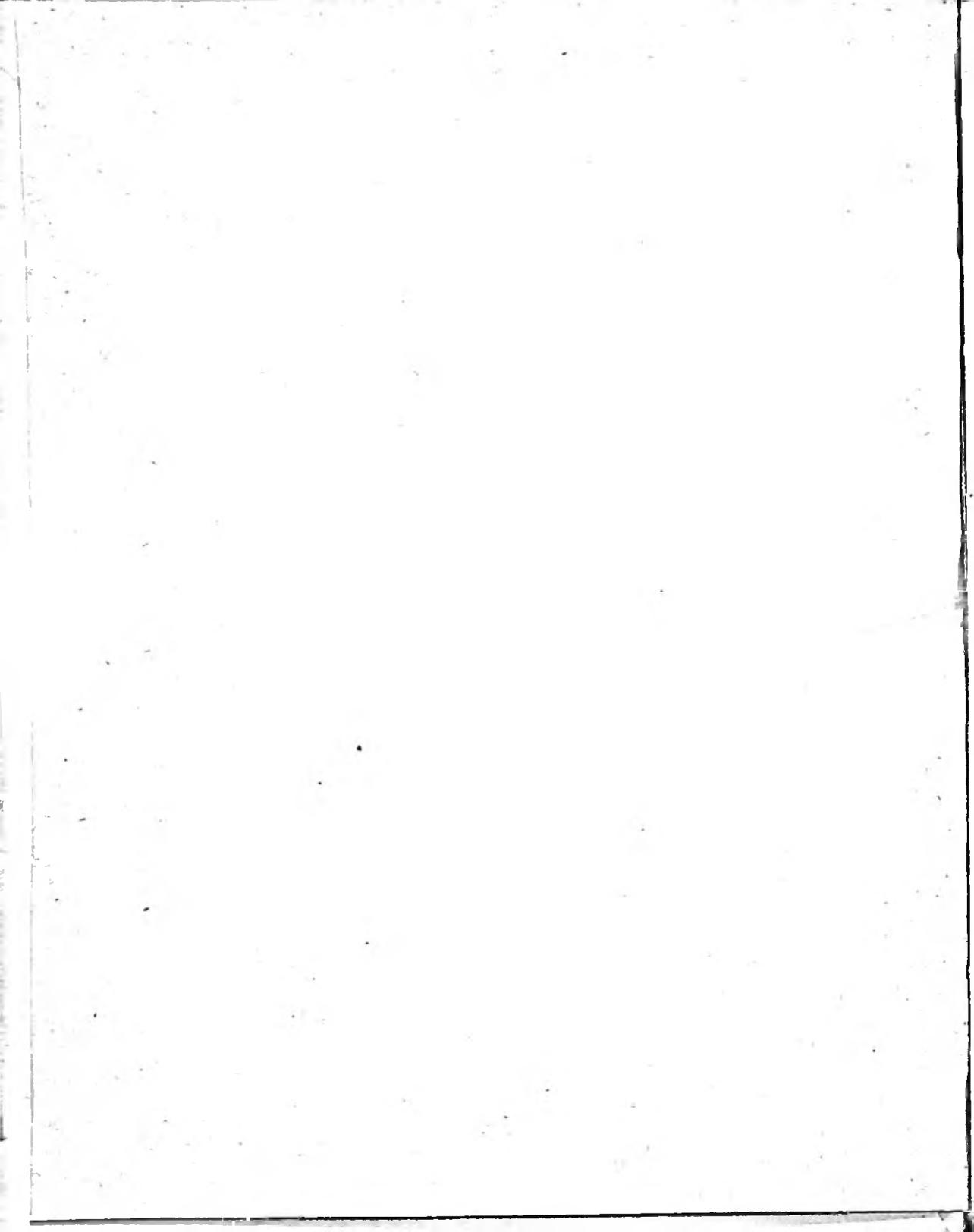
TOMO SEPTIMO

LA ANAFILAXIA

SEGUNDA PARTE



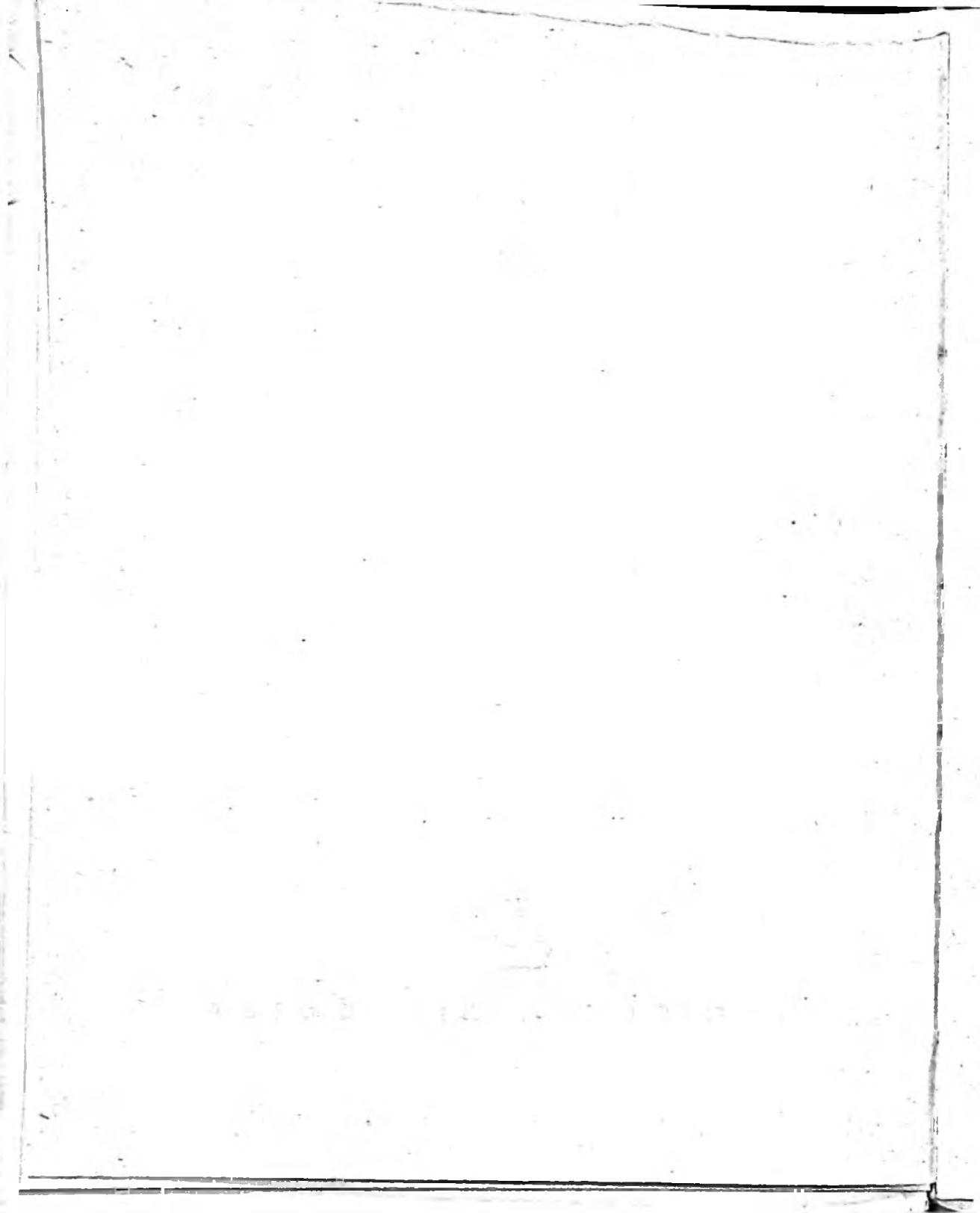
Revista de Occidente
MADRID



B I B L I O T E C A I B Y S



D E C I E N C I A B I O L Ó G I C A



LAS INVESTIGACIONES SOBRE INMUNIDAD

(TOMO SEPTIMO)

LA ANAFILAXIA

(SEGUNDA PARTE)

LAS INVESTIGACIONES SOBRE INMUNIDAD

RESULTADOS Y PROBLEMAS
RECOGIDOS EN MONOGRAFIAS

DIRIGIDAS POR EL
PROFESOR R. DOERR
Basilea

TOMO PRIMERO
LOS ANTICUERPOS
(PRIMERA PARTE)

TOMO SEGUNDO
EL COMPLEMENTO

TOMO TERCERO
LOS ANTIGENOS

TOMO CUARTO
LOS ANTICUERPOS
(SEGUNDA PARTE)

TOMO QUINTO
HABITUACION A VENENOS NO ANTIGENICOS

TOMO SEXTO
LA ANAFILAXIA
(PRIMERA PARTE)

TOMO SEPTIMO
LA ANAFILAXIA
(SEGUNDA PARTE)

LA ANAFILAXIA

SEGUNDA PARTE

POR

ROBERT DOERR

Basilea

Traducción de la edición original alemana por

F. CORDÓN

Jefe del Laboratorio de Bioquímica del Instituto Ibya

CON SEIS FIGURAS

Revista de Occidente

Bárbara de Braganza, 12

Madrid

Copyright by
IBYS, S. A.
Madrid • 1954

Imp. Viuda de Galo Sáez, Mesón de Paños, 6. Tel. 21-19-44. Madrid.

En la Biblioteca Ibys de Ciencia Biológica nos proponemos editar una serie de obras en que se recojan las disciplinas fundamentales de las ciencias biológicas.

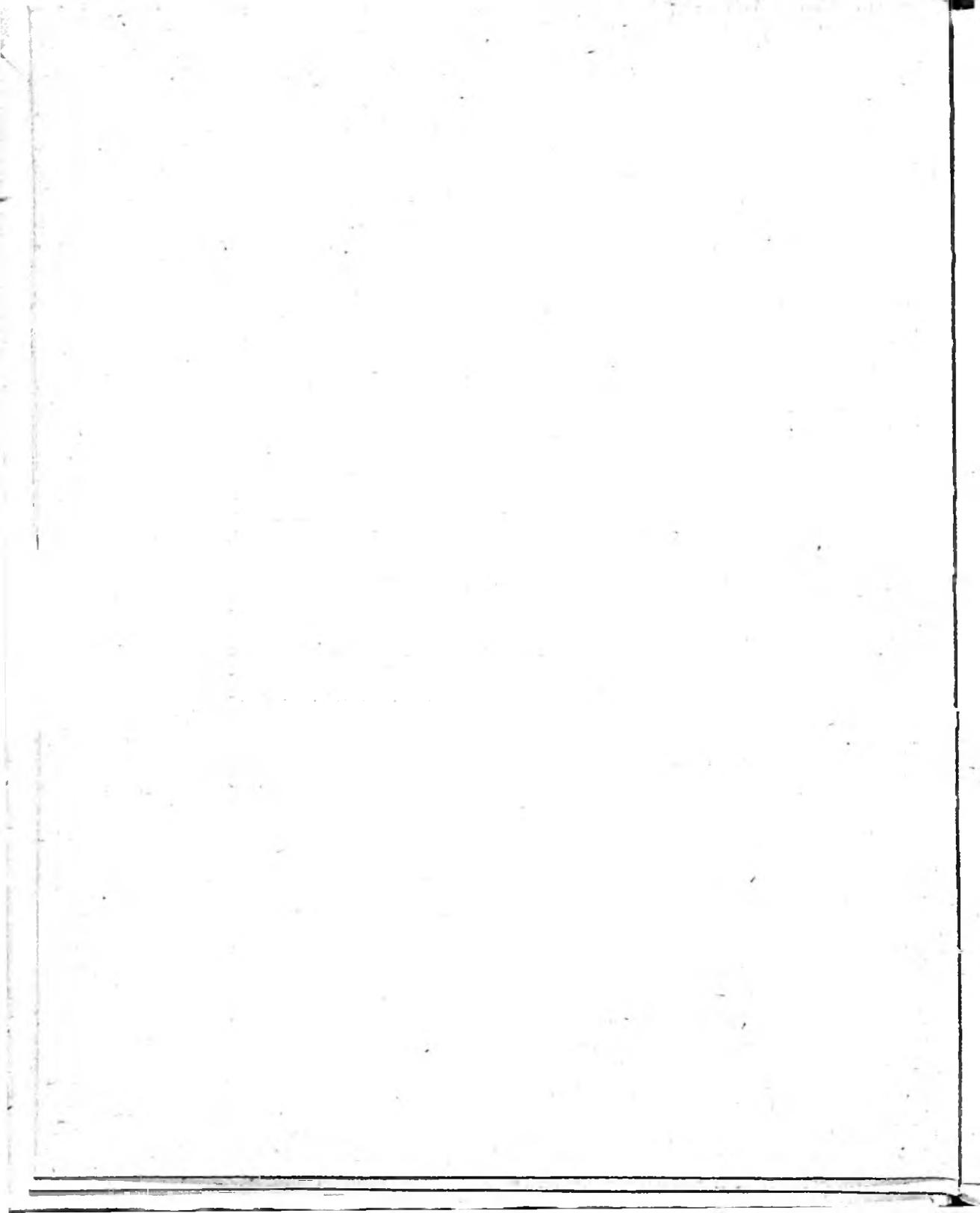
Sólo se incluirán tratados de máxima autoridad, que, además, expongan con todo rigor crítico el estado actual de la pertinente rama científica, de modo que los conceptos e hipótesis no aparezcan desvinculados de los hechos que han forzado su nacimiento, y así el lector estudioso pueda penetrarse fácilmente del grado de certidumbre y generalidad de las teorías vigentes.

En definitiva, la Biblioteca Ibys constará únicamente de obras que, por lo científico de su exposición (purgada en lo posible del dogmatismo casi inevitable en los manuales de texto), descubran, entre el cúmulo de adquisiciones objetivas, los problemas que esperan solución del investigador atento y libre de prejuicios. Esperamos contribuir con ella a desarrollar entre nosotros la afición por la experimentación biológica, y a ayudar a que Médicos, Farmacéuticos, Veterinarios, Naturalistas, Ingenieros Agrónomos, etc., puedan elevar hasta una consideración científica los problemas que les plantea la práctica diaria.

Las dos empresas que aúnan sus esfuerzos en esta Biblioteca han sentido su necesidad desde puntos de vista muy distantes, pero convergentes, y esperan interesar en ella a un círculo de lectores escogidos, cada vez más amplio.

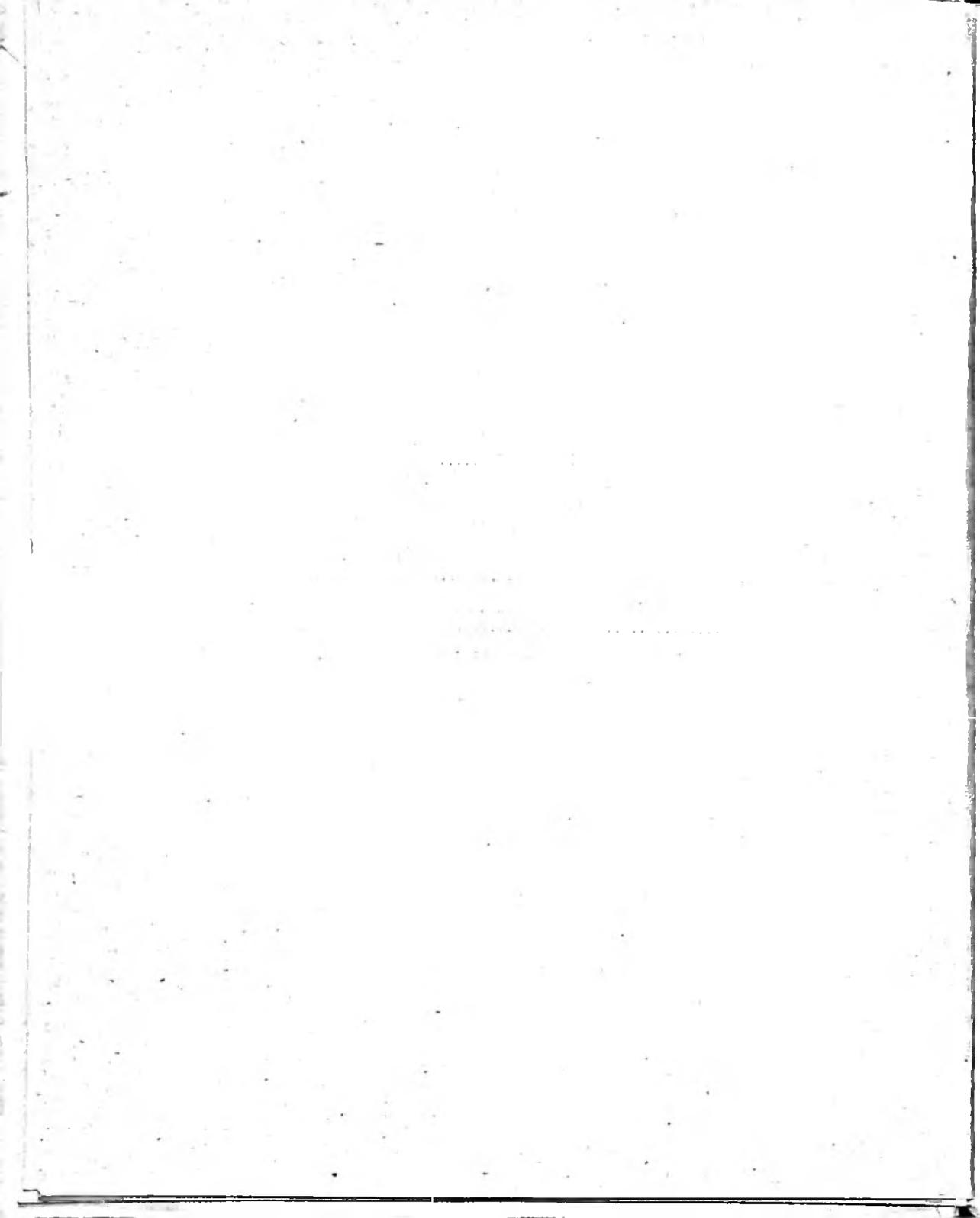
REVISTA DE OCCIDENTE

INSTITUTO DE BIOLOGÍA Y SUEROTERAPIA
IBYS



INDICE

	PÁGS.
PALABRAS PRELIMINARES	1
CAPÍTULO PRIMERO.—La hipótesis de la histamina.....	9
La toxicidad de la histamina para distintas especies animales.....	28
A. J. BRONFRENBRENNER	30
B. La lisolecetina	32
C. Las proteasas como factores principales en el proceso de liberación de histamina a partir de los tejidos que la contienen.	34
Resumen	57
CAPÍTULO II.—La hipótesis de la acetilcolina.....	61
Resumen	86
CAPÍTULO III.—La prueba de SCHULTZ-DALE.—Límites de su fuerza demostrativa.—Fuentes de error	88
CAPÍTULO IV.—La reacción antígeno-anticuerpo	94
APÉNDICE	101
BIBLIOGRAFÍA	103
INDICE ALFABÉTICO DE MATERIAS.....	111



PALABRAS PRELIMINARES

Para conseguir un punto de partida racional para exponer el problema del mecanismo de las reacciones anafilácticas puede plantearse una antítesis que expondremos contraponiendo dos citas.

En su obra de conocimiento general *The chemical aspects of immunity* (1925, pág. 208), escribe G. H. WELLS: "...we cannot escape the fact that the manifestations of anaphylactic shock resemble in all respects those of an acute intoxication".

R. DOERR (1929 b, pág. 747), por el contrario, opina "que la contracción, casi sin incubación, de la musculatura lisa del útero de cobayos sensibilizados que se produce cuando ésta se pone en contacto con antígeno (ensayo de Schultz-Dale) da la impresión de que es superflua la hipótesis de un veneno como agente intermediario entre la reacción antígeno-anticuerpo y el efecto estimulante y de que un proceso físico pudiera bastar para explicar la secuencia del estímulo".

Las cosas han llegado a un punto en que es forzoso admitir que en el fondo de las reacciones anafilácticas existe una reacción antígeno-anticuerpo. El hecho de que el estado de anafilaxia activa se provoque por la acción de antígenos proteicos típicos y de que ofrezca la especificidad que caracteriza las reacciones antígeno-anticuerpo, el fenómeno de la anafilaxia pasiva, y, por último, la posibilidad de una desensibilización específica no permiten dudar de ello. Las reacciones antígeno-anticuerpo no son, sin embargo, procesos químicos, sino físicos, y la concepción de que su manifestación patológica se efectúe por mediación de un veneno que no existe previamente, obliga a explicar satisfactoriamente la relación entre el proceso físico y la aparición de un veneno que implica o parece implicar un acontecimiento químico.

Notemos, entre paréntesis, que las consideraciones anteriores poseerían también validez, aun cuando en las reacciones anafilácticas par-

ticipara el complemento. En oposición a datos anteriores [véase R. DOERR (1947, pág. 20)], F. HAUROWITZ y MUTAHHAR YENSON (1943) han observado que los precipitados inmunes experimentan un aumento de peso por la fijación de complemento, y por ello consideran justificado admitir una vez más como probable el carácter fermentativo del complemento, tan pronto afirmado como combatido. Prescindiendo de que en este caso se trata de una opinión no demostrada, el problema de la acción fermentativa del complemento, como ya se ha señalado, es ajeno al problema que se discute. Pues el complemento no participa de modo decisivo en las reacciones anafilácticas, y el intento de apartarse de los argumentos que permiten sentar firmemente esta conclusión negativa [LOUIS SCHWAB y colaboradores (1950)] ya se consideró en la primera mitad de la monografía sobre anafilaxia (DOERR, 1950, pág. 92 y s.). Existe, pues, para todas las teorías del veneno el postulado de tender el puente entre el carácter físico de la reacción antígeno-anticuerpo y la formación de un veneno químicamente definido.

Este puente se intentó tender en un principio en sentido espacial localizando la toxogénesis en las células que reaccionaban en el insulto anafiláctico. La reacción entre antígeno y anticuerpo, se opinaba que debe estar "ligada a la célula"; es decir, que uno de los componentes ha de encontrarse en el lugar de formación del veneno en el momento de administrar el otro componente. Como venenos que tener en cuenta se emprendió inmediatamente la investigación de sustancias que existieran en las células del tejido del choque, sea como tales o en forma de sustancias previas fácilmente transformables; en primer lugar, histamina o sustancias análogas a la histamina, o, según D. DANIELOPOLU (1943), acetilcolina. Decisivo para la elección era, junto a la posibilidad de su aislamiento de tejidos normales [C. A. BEST, H. H. DALE, H. W. DUDLEY y W. V. THORPE (1927)], la semejanza farmacodinámica de su acción con el cuadro de síntomas del choque anafiláctico, y ya en una fase ulterior de esta dirección científica, la demostración de que aparezca o aumente de concentración en la sangre de los animales de experimentación que reaccionan anafilácticamente.

El carácter de ligadas a la célula de las reacciones anafilácticas antígeno-anticuerpo, que debe considerarse como base de todas las hipótesis del veneno, puede apoyarse en el hecho, establecido por numerosos autores y en distintos animales de experimentación, de que la concentración de anticuerpo en la sangre circulante no determina la intensidad de la reacción desencadenante, y, con frecuencia, incluso

está en razón inversa con tal intensidad. Pero, por otra parte, la teoría intracelular está lastrada de muchas contradicciones. Los tejidos del choque difieren de una especie animal a otra. Por ejemplo, en el cobayo, el fenómeno patológico se produce casi exclusivamente por contracciones de los músculos lisos (al menos en lo que se observa en el choque agudo de este animal). Lo que sabemos respecto al lugar de producción de los anticuerpos hace sumamente improbable localizar la producción del anticuerpo en los músculos lisos; más bien hay que admitir que se producen en un lugar alejado de éstos y se fijan secundariamente en la musculatura lisa, y que este fenómeno se produce únicamente en el cobayo, pues, aun cuando en otras especies animales también participe el músculo en la patogénesis del choque, se trata de los músculos lisos de otros órganos (del pulmón, del hígado, de los vasos); dicho con otras palabras: si bien el tejido del choque circunstancialmente es el mismo, difieren los órganos del choque. Es evidente que por peculiaridades de la especie no puede explicarse la diversidad de los tejidos del choque y de los órganos del choque, y que tal diversidad coincida más o menos completamente con los puntos de ataque de los venenos del choque histamina o acetilcolina, pues el *primum movens*, la causa inicial de la liberación del veneno, debe ser la reacción del anticuerpo. Cuando las reacciones anafilácticas se efectúan por el contacto del antígeno con órganos aislados— por ejemplo, con el pulmón, el cuerno de útero o el intestino de cobayos sensibilizados, con el hígado de perros preparados, etc.—los anticuerpos deben encontrarse en el lugar que reacciona para que se produzca la forma de reacción patológica propia de la especie. Resulta también claro que anticuerpos producidos en cierto lugar por diversas especies animales han de anclarse en lugares distintos, o dicho más precisamente, que sólo determinadas fijaciones han de condicionar la impronta sintomatológica de la forma de reacción característica de la especie correspondiente.

Además, no sólo se conoce una anafilaxia activa, sino también una anafilaxia pasiva, que, en cuanto a los síntomas, no difiere de la activa de la especie animal correspondiente, siendo indiferente a este respecto cuál sea el animal que suministra el suero inmune con el que se prepare. El anticuerpo administrado por vía pasiva debe encontrarse inmediatamente, o después de un breve período de latencia, en el tejido y órganos que permiten la reacción típica para la especie animal y debe fijarse en ellos, como se deduce de la reactividad de los órganos y partes de órganos, así como del hecho de que, en el campo de la anafilaxia pasiva heteróloga, no sea indiferente la proce-

dencia del suero inmune, ya que en muchos casos el suero inmune de una especie A no alcanza a preparar otra especie B, porque la fijación no se produce en el lugar apropiado [R. DOERR, *Anaphylaxie*, I, 1950, pág. 62].

El experimento de anafilaxia pasiva puede modificarse en el sentido de invertir el orden de sucesión en que se administran los componentes de la reacción; es decir, administrar primero el antígeno y después el suero inmune que contiene los anticuerpos. En esta inversión, el antígeno extraño al organismo debe encontrarse en el lugar conveniente para que se produzca la reacción específica de la especie, siempre en el supuesto de que se trate de una reacción intracelular que dé lugar a la formación del veneno; y debe tratarse de una sustancia que no puede producirse en el organismo del animal de experimentación, ya que en el experimento de anafilaxia activa el anclaje del anticuerpo homólogo no debe estar condicionado por el lugar de su formación. Sigue siendo problemático lo que deba entenderse por "fijación" del anticuerpo en el experimento de la anafilaxia pasiva y del antígeno en la inversión de esta anafilaxia; pero no puede tratarse de una captación de coloides de alto peso molecular en el interior de las células reaccionantes. El anclaje intracelular de un componente de la reacción sólo se pone de manifiesto en los fenómenos patológicos que se desencadenan por la inyección de un antisuero obtenido por la inmunización con células de un animal de la misma especie que el inyectado; tales acciones de sueros inmunes citotóxicos no deben incluirse, sin embargo, entre los fenómenos anafilácticos cuyo criterio esencial es que ninguno de los componentes de la reacción, ni el antígeno ni el anticuerpo, preexistieran en el organismo, sino que hayan sido administrados desde el exterior, es decir, que sean de neoformación. Según esto, los fenómenos análogos al choque anafiláctico que se observan cuando se administra a un cobayo por vía intravenosa el suero inmune contra el antígeno de Forssman procedente de conejo, no deben contarse entre los fenómenos anafilácticos, porque el conjunto de los tejidos del cobayo contienen el antígeno considerado. Resulta notable el hecho observado por WILLIAM W. REDFERN (1926) de que el útero de cobayos normales no reacciona con contracción cuando se hace actuar sobre él, en el experimento de Schultz-Dale, suero anti-Forssman. Sin embargo, habría aquí que reflexionar que la muerte en choque del cobayo al que se ha inyectado por vía intravenosa suero anti-Forssman de conejo, en contraste con los que mueren de choque anafiláctico, no se debe a una contracción brusca de la musculatura lisa, sino probablemente, como también manifiesta

REDFERN, a una elevación repentina de la permeabilidad de los endotelios. Se trataría, pues, de otro tejido de choque, lo que explicaría perfectamente la desaparición de la capacidad de contraerse el útero en el ensayo de SCHULTZ-DALE al contacto con suero anti-Forsssman.

Pero REDFERN ha planteado también otros experimentos, que corresponden al tipo de la anafilaxia inversa. Inyectó a cobayos suero de caballo, y veinticuatro horas después, en el ensayo de SCHULTZ-DALE, examinó el útero en cuanto a su sensibilidad frente al contacto con suero anti-caballo, con resultado negativo, a pesar de que el experimento planteado corresponde a una anafilaxia inversa y que la anafilaxia inversa ha sido demostrada en el cobayo por C. E. KELLET (1935) y por H. ZINSSER y J. F. ENDERS (1936). Sin embargo, REDFERN intentó también la inversión en el animal intacto, con resultado negativo; de modo que el fracaso del ensayo en útero aislado concuerda con el de la inversión *in vivo*. No sé si se ha comprobado en otros experimentos el fracaso del ensayo del útero en el experimento de inversión. Si no se ha hecho hasta la fecha, sería conveniente colmar la laguna. Pues por otro camino hemos llegado a la conclusión de que en la inversión debe admitirse la fijación previa de uno de los componentes de la reacción en los tejidos del choque, específicos de especie, si ha de tener lugar efectivamente una reacción intracelular; el análisis de la enfermedad del suero inducida inversa [E. A. VOSS (1937, 1938)] permite sacar esta conclusión [véase R. DOERR, *Anaphylaxie*, I, 1950, pág. 72 y ss.]

Resumiendo las consideraciones anteriores acerca del carácter ligado a la célula de las reacciones antígeno-anticuerpo, inductoras o causantes de los fenómenos patológicos anafilácticos, pueden hacerse las siguientes afirmaciones con suficiente base experimental.

1. Uno de los componentes de la reacción debe encontrarse en la célula de los tejidos del choque antes de la administración del segundo; sigue problemático cómo deba entenderse la fijación a las células del lugar señalado.

2. Tanto en la anafilaxia activa como en la pasiva, el anticuerpo (la globulina inmune) debe ser la que se ancle de modo primario en el tejido del choque. La naturaleza del tejido del choque, así como la circunstancia de que no sólo sea peculiar para la anafilaxia activa, sino también para la anafilaxia pasiva, obliga a admitir que se produce la previa fijación del anticuerpo en el lugar de producción de los anticuerpos.

3. En la anafilaxia pasiva heteróloga (inmunización de una especie A para preparar un animal de una especie B), en determinadas

carga. Tales grupos moleculares están hidratados, es decir, envueltos por una cubierta de agua más o menos intensamente fijada; la saturación recíproca de estos grupos produce una deshidratación, y, como consecuencia, un aumento de la energía superficial (es decir, de las tensiones superficiales limitantes) de toda estructura celular en que se produzca la reacción celular antígeno-anticuerpo. Por tanto, tal deshidratación en elementos contráctiles pudiera provocar una contracción pasiva del tipo de la retracción de un gel de gelatina por efecto del formaldehído. F. SEELICH y K. NIESSING (1940) pudieron apreciar en el microscopio esta contracción en una prueba efectuada en la cubierta plasmática de los haces colágenos de tejido conjuntivo en el epiplón de cobayos sensibilizados cuando se añade a los haces el antígeno. Es cierto que SEELICH señala que esta contracción de las cubiertas de los haces colágenos del epiplón no puede compararse sin más con la contracción con las fibras de músculos lisos en el experimento de SCHULTZ-DALE; pero toda la argumentación lleva a la conclusión de que la contracción muscular en el choque anafiláctico del cobayo puede también atribuirse a un proceso coloidoquímico y explicarse sin recurrir a la liberación de histamina; el envenenamiento con histamina, en lo que respecta a la acción sobre los elementos del tejido, tampoco puede considerarse como la alteración primaria en el trastorno anafiláctico. SEELICH, en la obra citada, admite que falta aún mucho trabajo para poner en claro, en todas sus particularidades, el curso de la reacción anafiláctica. Las anteriores consideraciones de F. SEELICH se han recogido en una comunicación que publicó el 28 de mayo de 1948 ante la Academia Médica de Viena. Desde entonces (e incluso algo antes) todo ha cambiado, y muchos resultados experimentales que SEELICH consideraba como perfectamente establecidos, por ejemplo, los datos de L. PAULING acerca de la obtención de anticuerpos *in vitro* [consúltese R. DOERR, 1949, pág. 2 y sig.], se consideran hoy bajo una luz totalmente distinta.

Si bien en este lugar debemos intentar la exposición del conjunto del estado actual de la investigación y de la teoría, nos parece conveniente comenzar por el examen, lo más objetivo posible, de cada teoría del veneno, en lo que respecta a su solidez, y especialmente al alcance de su campo de aplicación potencial para deducir finalmente cómo se nos ofrece en su conjunto la situación.

CAPÍTULO PRIMERO

LA HIPOTESIS DE LA HISTAMINA

Existe una serie de revisiones de conjunto de este problema que consideran más o menos exhaustivamente la numerosa literatura que le concierne; recordemos las de W. FELDBERG (1941), C. F. CODE (1944), M. ROCHA E SILVA (1944), J. BRONFENBRENNER (1944, 1948), C. A. DRAGSTEDT (1945), B. ROSE (1946, 1947), S. M. FEINBERG (1946), W. A. SELLE (1946), a las que hay que añadir la breve exposición efectuada en la primera parte de la *Anaphylaxie* [R. DOERR, 1950, pág. 117 y sig.] y los trabajos de DANIELOPOLU [resumidos monográficamente en el trabajo de D. DANIELOPOLU *Phylaxie-Paraphylaxie* (1946)], que, aunque se apoya también en la teoría del veneno, no considera la histamina como "el veneno anafiláctico", sino que atribuye este papel a la acetilcolina.

Con excepción de R. DOERR y de D. DANIELOPOLU, los autores citados se esfuerzan en atribuir a la histamina el papel dominante en la patogenia del síndrome anafiláctico.

Ya en 1932 BARTOSCH, FELDBERG y NAGEL en el cobayo, y DRAGSTEDT y GEBAUER-FUELNEGG en el perro, demostraron que la reacción desencadenante antígeno-anticuerpo origina en los tejidos una sustancia con efecto semejante al de la histamina que aparece en la sangre del animal de experimentación. DRAGSTEDT y GEBAUER-FUELNEGG se contentan con señalar un aumento de la sustancia semejante a la histamina ("sustancia H", según la designación propuesta por TH. LEWIS) en la sangre de los perros con reacción anafiláctica, sin hacer ninguna referencia especial al lugar de la liberación de histamina. Mucho más importantes resultaron los experimentos de BARTOSCH, FELDBERG y NAGEL (1932 a), de los que resulta que en el pulmón aislado, regado por solución de Tyrode de cobayo sensibilizado, por tanto, en el órgano del choque de esta especie animal, se libera histamina cuando al líquido de perfusión se le añade el antígeno con que se ha-

hía preparado el cobayo. Como los vasos del pulmón, antes de añadir el antígeno, estaban regados con disolución de Tyrode, la sustancia histaminoide que aparece después de la adición del antígeno al líquido de perfusión sólo podía proceder del tejido pulmonar. Ahora bien, como por la misma técnica experimental, como es sabido, también se provoca una palidez e inmovilización del pulmón [W. H. MANWARING y Y. KUSAMA (1917), P. NOLF y L. ADANT (1946)], podría ofrecerse la duda de si la liberación de la sustancia H se produce por la reacción antígeno-anticuerpo o bien por las alteraciones anatómicas de los pulmones. Frente a esta posibilidad se han puesto en guardia BARTOSCH y sus colaboradores por pruebas testigo convenientes. No ha podido resolverse con seguridad el problema de si la sustancia que existía en el líquido de perfusión era efectivamente histamina, porque no se dispone de métodos apropiados para la identificación química, sino sólo de métodos de reconocimiento biológico fundados en la acción farmacodinámica. Como criterios biológicos, BARTOSCH, FELDBERG y NAGEL eligieron la acción estimulante sobre las contracciones del intestino del cobayo, la reductora de la presión sanguínea y la liberadora de adrenalina. BR. ROSE ya en 1947 pudo aún comprobar que la mayoría de las investigaciones sobre la histamina y su importancia para los fenómenos anafilácticos y alérgicos estaba lastrada con esta inseguridad en el aporte de pruebas. Porque, como BR. ROSE aduce en la obra citada, apenas existe un órgano o tejido que no reaccione de un modo u otro frente a la histamina, por lo que resulta comprensible que no coincidan bien las opiniones de los autores acerca del número y tipo de las propiedades que consideran necesarias y suficientes para demostrar biológicamente la presencia de histamina. BR. ROSE (1947, pág. 546) considera suficientes cuatro criterios farmacodinámicos principales, a saber: la acción estimulante de las contracciones del músculo liso, la acción dilatadora de los capilares y venas de la mayoría de las especies animales, y en el hombre también de las arteriolas; la acción elevadora de la permeabilidad de las paredes, los capilares, y, por último, la acción energicamente estimulante de las glándulas. Pero resulta muy dudoso que se pueda describir una tabla biológica completa de las acciones de la histamina que excluya toda posibilidad de confusión, porque existen muchas sustancias de modos de actuar análogos y porque, además, debe tenerse en cuenta no sólo la naturaleza de las sustancias, sino también su concentración en el substrato considerado, las combinaciones con otras sustancias y la coexistencia con sustancias de análoga acción farmacodinámica. En relación con la teoría de que luego hablaremos de D. DANIELOPOLU,

debemos mencionar que BARTOSCH, FELDBERG y NAGEL consideraron que la sustancia liberada en el pulmón del cobayo pudiera no ser histamina, sino acetilcolina. Es cierto que pensaron que debían rechazar esta opinión, porque la acetilcolina, aunque actúa igualmente estimulando las contracciones del intestino y reduciendo la presión sanguínea, es inhibida en esta acción por atropina, y porque la acción reductora de la presión sanguínea debe ser muy fuerte, como pudieron observar en gatos no atropinizados. Pero estas consideraciones no son muy convincentes, y nos encontramos en la zona límite en que el conocimiento biológico es, naturalmente, inseguro.

En la elección del órgano del choque como objeto de investigación (el pulmón en las investigaciones en cobayos de BARTOSCH y colaboradores), está implícito el pensamiento de que en el órgano del choque se dan condiciones especialmente favorables para una liberación rápida y suficiente, dinámicamente hablando, de histamina. En la *referata* de BRAM ROSE se expresa este pensamiento al afirmar que la histamina puede descubrirse en la mayoría de los tejidos animales, pero en cantidad mayor en los órganos del choque (como el pulmón del cobayo o el hígado del perro). Pero esta aseveración no tiene validez general ni para la capacidad de las distintas especies animales de reaccionar con anafilaxia, ni para el paralelismo entre la riqueza de histamina en el tejido y la participación de éste en los síntomas anafilácticos.

Según las investigaciones de J. DEKANSKI (1945), la piel del ratón es especialmente rica en histamina. Ahora bien, los ratones blancos pueden prepararse con relativa facilidad con distintos antígenos, y dan resultado positivo en experimentos anafilácticos de otro tipo, como la anafilaxia pasiva homóloga y heteróloga y la anafilaxia inversa [O. SCHIEMANN y H. MEYER (1926), J. MEHLMAN y B. C. SEEGAL (1934), y R. S. WEISER, O. J. GOLLUB y D. M. HAMRE (1941)]. Los autores A. H. WHEELER, E. M. BRANDON y H. PETRENCO (1950), PH. D. McMASTER y HEINZ KRUSE (1949) pudieron observar al microscopio que en los oídos y zarpas de ratones sensibilizados, después de la inyección desencadenante intravenosa del antígeno se producen contracciones de las arterias y venas que, probablemente pueden considerarse como la causa del choque grave o letal, si bien no ha podido determinarse cuál sea el campo de vasos decisivo para el efecto letal de tales alteraciones. Pero no puede hacerse responsable de estas acciones al contenido de histamina en la piel del ratón, porque este animal cuenta entre los mamíferos menos sensibles frente a la histamina y porque si se inyecta histamina inmediatamente antes o des-

pués del antígeno no se intensifica la reacción anafiláctica [S. R. PERRY y M. L. DARSIE (1946)]. La piribenzamina parece ofrecer cierta protección frente al choque anafiláctico del cobayo, pero no porque actúe de modo antagónico al envenenamiento por histamina, ya que este envenenamiento se exalta considerablemente por piribenzamina, sino por cualquier otra propiedad desconocida de la piribenzamina [R. L. MAYER y D. BROUSSEAU (1946)]. No existe, pues, duda de que el gran contenido de histamina en la piel del ratón carece de importancia para las reacciones anafilácticas de este animal. Tampoco tiene importancia para las manifestaciones patogénicas de las reacciones anafilácticas el gran contenido de histamina en los nervios sensitivos periféricos descubiertos por H. KWIATOWSKI (1943). Incluso si se determina cuantitativamente en distintas especies animales el contenido de histamina en la sangre y en los tejidos, no descubrirían tales cifras cuáles sean los órganos del choque. Sin embargo, lo natural es que la investigación experimental siga el camino inverso. y comenzar por establecer las especies con reacción anafiláctica y sus órganos de choque; las primeras, de modo empírico; los segundos, por el análisis fisiopatológico de los fenómenos. Una determinación cuantitativa de histamina (1) sólo ha podido llevarse a cabo después de que G. S. BARSOUM y J. H. GADDUM (1935) y C. F. CODE (1937) establecieron un método adecuado, es decir, en una época en que la hipótesis de la liberación de histamina se había emitido hacía más de dos decenios [H. H. DALE y P. P. LAIDLAW (1910)] y estaba aceptada por muchos autores. Este modo de haberse desarrollado la teoría implica que los resultados de las determinaciones cuantitativas de histamina, en parte, se hayan apreciado unilateralmente en el sentido de la hipótesis de la liberación. Pero la histamina se encuentra en todos los órganos (con excepción del sistema nervioso central), así como en la sangre de la mayoría de los animales; de modo que su existencia en los órganos ya conocidos como del choque carecen de fuerza demostrativa. Lo único importante es responder a si la histamina existente en el choque anafiláctico se ha liberado efectivamente en los órganos del choque, y, cuando pueda responderse afirmativamente a la cuestión anterior, si la cantidad liberada es suficiente para ocasionar fenómenos graves o muerte. Para el cobayo han podido responder a ambas cuestiones en sentido afirmativo R. BARTOSCH, W. FELDBERG y

(1) Datos exactos acerca de la determinación química y biológica de la histamina y de los derivados del imidazol se encuentran en M. GUGGENHEIM (1940, págs. 406-414).

E. NAGEL (1932 b), es cierto que sin aplicar métodos químicos. Recogen el líquido de perfusión procedente de las venas de los pulmones del pulmón aislado de un cobayo sensibilizado, después de la adición del antígeno, y lo conducen al pulmón aislado de un cobayo normal, con el resultado de que en éste se produce la rigidez pulmonar anafiláctica. Es decir, se observa el proceso patológico de que muere el cobayo en el choque agudo, transmitido humoralmente, y a la vez suministra la prueba de que el órgano del choque libera suficiente cantidad de la sustancia histaminoide para provocar el síntoma letal. C. F. CODE ha confirmado este resultado en 1939 determinando cuantitativamente la histamina de modo más exacto.

Pero en el perro, segundo pilar experimental de la teoría de la histamina, las circunstancias no se presentan, en modo alguno, tan satisfactoriamente como en el cobayo. Se acepta, en general, que el hígado debe considerarse órgano del choque de esta especie, con lo que se llena una condición previa esencial para el análisis experimental del mecanismo del choque; pero, según los resultados de E. T. WATERS y J. MARKOWITZ (1940) y E. T. WATERS, J. MARKOWITZ y L. B. JACQUES (1938), los perros muy sensibilizados, después de extirpado el hígado, pueden reaccionar con choque anafiláctico típico. En lo que respecta a la liberación de histamina en hígado y a su determinación cuantitativa, C. A. DRAGSTEDT y F. B. MEAD (1936) defienden el punto de vista de que puede atribuirse exclusivamente a la histamina la reducción de la presión sanguínea y la muerte de perros en choque anafiláctico, y que, por tanto, debe admitirse que el envenenamiento por histamina es el proceso parcial más importante y que todo lo domina. En cambio, C. F. CODE (1939) (aunque admite que es cierto que pudiera existir un paralelismo temporal y cuantitativo entre la gravedad de los síntomas del choque en el perro y el contenido de histamina en la sangre; que el descenso de la presión sanguínea coincide con un aumento repentino de la histamina en la sangre; que la restauración de la presión en el perro recuperado sólo se produce cuando ha desaparecido la histamina de la sangre, y, aún más, que la gravedad y la rapidez del curso letal del choque se observan en los casos en que se eleva al máximo la concentración de la histamina en la sangre) observa, sin embargo, en el choque anafiláctico de perros y en el momento de los síntomas más graves, que la sangre no contiene más de 1 γ de histamina por ml.; determina también que los perros normales soportan la inyección de grandes cantidades de sangre con este contenido de histamina; además observa que se requieren grandes cantidades para ocasionar la reducción duradera y conside-

rable de la presión sanguínea que caracteriza en primer lugar el choque del perro. CODE, en 1944, volvió a esta notable contradicción y la explicó del modo siguiente: Según su experiencia de laboratorio, los perros que mueren en reacción anafiláctica se encuentran en una de las dos fases de reacción anafiláctica. En la primera fase se libera suficiente cantidad de histamina para que los capilares se dilaten enérgicamente, la presión sanguínea cae y puede provocar la muerte. Pero el perro puede sobrevivir a la primera fase de la reacción y el nivel de histamina volver a la cifra normal y restablecerse proporcionalmente la presión sanguínea. Pero no por ello los animales quedan protegidos definitivamente, sino que, a pesar de que el nivel de histamina haya

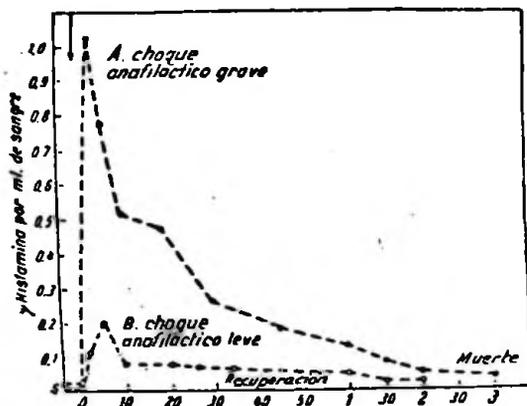


Fig. 1.

vuelto a la cifra normal, pueden caer en choque fuerte y coma que les lleva a la muerte. No puede hacerse responsable a la histamina de estos ataques mortales experimentados algunas horas después de la reacción desencadenante (consúltese la fig. 1). El hígado, por otra parte, tampoco libera exclusivamente histamina, sino que, a la vez, aparece heparina, responsable de la incoagulabilidad de la sangre de los perros con reacción anafiláctica, sustancia aislada en forma cristalina por L. B. JACQUES y E. T. WATERS (1941). Fundándose en estos hechos, CODE llegó a la conclusión de que la histamina no es el factor principal del mecanismo de las reacciones anafilácticas y alérgicas, sino que éstas han de ser debidas a perturbaciones celulares de naturaleza desconocida. La liberación de histamina y de heparina pueden ser meramente accidentales; si las células alcanzadas por la perturbación contienen

ocasionalmente uno de estos dos factores, la histamina liberada puede actuar como factor de la muerte; cuando no suceda esto, los animales pueden perecer a consecuencia de las perturbaciones celulares basales, a las que necesariamente hay que atribuir la muerte del perro por choque anafiláctico demorado. Aunque no haya dado ningún dato preciso acerca de la naturaleza de la perturbación celular, no cabe duda de que CODE, en oposición al cúmulo de autores que toman posición unilateral en favor de la participación de la histamina en la patogenia del choque anafiláctico, señala la posición exacta de la teoría del veneno. La concepción de CODE se hace verosímil por los resultados de las investigaciones efectuadas en el ratón, animal que perece de choque anafiláctico, a pesar de que puede excluirse con gran seguridad la participación de la histamina en su choque anafiláctico. No es admisible la objeción de que por lo menos se conoce una especie animal, el cobayo, en la que puede considerarse la histamina como causa suficiente del choque anafiláctico. Más bien debe incluirse el cobayo también en la concepción de CODE, si se considera, primero, que únicamente el choque agudo, es decir, la contracción de la musculatura bronquial, es consecuencia de la liberación de histamina, pero no el choque demorado; en segundo lugar, que el cobayo pertenece a los animales más sensibles a la acción de la histamina, y, en tercer lugar, que, según las investigaciones de H. O. SCHILD (1937), la histamina no sólo se libera en el órgano del choque del cobayo, el pulmón, sino también en tejidos dispersados por todo el cuerpo del animal. En el cobayo cooperan también distintas circunstancias para que la liberación repentina de histamina predomine en la patogenia del choque anafiláctico; pero, fundamentalmente, como en el caso del choque mortal del perro, estas circunstancias se dan en la primera fase de la reacción anafiláctica. El choque demorado del cobayo se produce porque vuelve la repentina y policéntrica segregación de histamina a la sangre y, como consecuencia, el espasmo de la musculatura bronquial y la muerte por asfixia. Esto se logra del modo más sencillo, efectuando la inyección desencadenante del antígeno por vía intraperitoneal en lugar de intravascular. Por la absorción lenta a partir de la cavidad peritoneal del antígeno, éste alcanza en *dosi refracta* los tejidos que contienen anticuerpos, como sucedería si el antígeno se administrara intravenosamente, pero con mucha lentitud o en pequeñas fracciones. De este modo la reacción antígeno-anticuerpo por su pequeña intensidad no provoca una liberación rápida de cantidades considerables de histamina. Como R. WILLIAMSON (1936) señala, se obtiene el mismo efecto si el antígeno se inyecta intravenosamente, pero después de preparar con muy poca cantidad de antígeno y des-

pués de una incubación breve; en este caso, evidentemente, el contenido de anticuerpos en los tejidos que participan en el choque es aún pequeño y, por tanto, proporcionalmente débil la reacción antígeno-anticuerpo, que resulta ser estímulo insuficiente para la liberación de histamina (como cuando la inyección desencadenante es intraperitoneal). El choque demorado del cobayo puede terminar en muerte después de mucho tiempo (de una a varias horas), a pesar de que no se ha observado que haya vertido a la sangre una cantidad letal de histamina, y es, por consiguiente, un fenómeno paralelo a la muerte de perros con reacción anafiláctica en los que el nivel de histamina en la sangre sea normal.

Después de que BARSOUM y GADDUM (1935) establecieron un método para la determinación cuantitativa de histamina, que fué mejorado por C. F. CODE (1937), se pudieron aportar pruebas más admisibles que las anteriores de que en el choque del cobayo y en el del perro se libera una sustancia de los tejidos del choque, identificable con histamina, que pasa a la sangre. En muestras de sangre tomadas con breves intervalos de animales en choque anafiláctico, se ha podido seguir la elevación de la concentración de histamina en función del tiempo transcurrido desde la inyección desencadenante y representar gráficamente el proceso del modo habitual (fig. 1). Ahora bien, en el choque anafiláctico del caballo y la ternera [C. F. CODE y R. HESTER (1939)], así como en el del conejo [BR. ROSE y P. WEIL (1939), L. ZON, E. T. CEDER y C. W. CRIGLER (1939), y D. MINARD (1937)] no aumenta el contenido de histamina en la sangre, sino que se reduce intensa y rápidamente, hecho que se consideró en seguida como un argumento en contra de la validez general de la hipótesis de la histamina, porque a primera vista no parece posible admitir que tanto el aumento como la disminución de histamina en sangre haya de considerarse como prueba de liberación de histamina. Además, en el choque del conejo no sólo se reduce el contenido total de histamina en la sangre, sino que tampoco ha podido aportarse ninguna prueba convincente de que aumente sin excepción el contenido de histamina activa en el plasma sanguíneo. A pesar de ello, la mayoría de los autores sostienen hoy que el choque anafiláctico del cobayo también está provocado por histamina cedida por células a consecuencia del estímulo de una reacción antígeno-anticuerpo en el interior de ellas: concretamente, por los glóbulos blancos y quizás también por las plaquetas. Los principales argumentos en favor de esta afirmación son, en primer lugar, la gran riqueza de histamina en los leucocitos y plaquetas del conejo observada por C. F. CODE y H. R. ING (1937); en segundo lugar, la observación de R. G. ABELL y H. B.

SCHENK (1938), de que los leucocitos se lesionan gravemente en el choque anafiláctico del cobayo, y, en tercer lugar, un experimento de GERHARG KATZ (1940), del que se deduce que si a la sangre de un conejo inmunizado con ovalbúmina se le añade *in vitro* el antígeno, se observa un aumento de histamina. Pero cuando se ha intentado confirmar estas pruebas se ofrecen bajo otro aspecto que el apreciado por los defensores de la hipótesis de la histamina.

El gran contenido de histamina en los leucocitos dice poco por sí sólo. La piel del ratón también es rica en histamina, pero esta histamina no se moviliza en el choque del ratón, y no participa en la reacción anafiláctica. C. F. CODE (1944) concede gran importancia a la lesión profunda de los leucocitos, que llega a su desintegración porque corresponde a su convencimiento, alcanzado en el análisis de los fenómenos del choque del perro, de que la liberación de histamina no es sino un fenómeno secundario procedente de la lesión celular. Pero tales procesos destructores no puede considerarse que sean la regla en el choque anafiláctico del cobayo y del perro, pues, en tal caso, apenas sería posible que en ambas especies inmediatamente después de un choque grave pueda restablecerse un estado de completo bienestar. El experimento antes mencionado de G. KATZ, que este autor designa como "choque *in vitro*", se efectúa del modo siguiente. Se inmunizaron conejos por inyecciones intravenosas de ovalbúmina. Diez a trece días después de la última inyección se tomó sangre por punción intracardíaca, se hizo incoagulable mediante heparina (1) y se distribuyó en dos porciones. Una de ellas se utilizó como testigo y a la otra se le añadió ovalbúmina, de modo que resultara con una concentración de antígeno de 1:1000; después se templaron ambas muestras durante diez minutos a 37° C., se centrifugó el plasma y se determinó su contenido de histamina por el método de CODE (1937). La muestra, a la que se añadió el antígeno, ofrecía, sin excepción, mayor nivel de histamina que el testigo, y las diferencias varían entre el doble y séxtuplo. Pero este experimento está en abierta contradicción con las investigaciones de BR. ROSE y P. WEIL (1939), según las cuales en la sangre del conejo con reacción anafiláctica no puede apreciarse un aumento constante de la histamina activa del plasma y con frecuencia su cuantía no alcanza a las cifras determinadas por KATZ en sus experimentos *in vitro*. La opinión de C. A. DRAGSTEDT, RAMÍREZ DE ARELLANO y A. H. LAWTON (1940) de que la discrepancia entre los

(1) No se ha investigado si la heparina lesiona los leucocitos y trombocitos (véase el comienzo de esta página).

experimentos *in vitro* y las observaciones en los conejos vivos deben atribuirse, probablemente, a la velocidad con que se separa la histamina de la sangre circulante pueden no ser correctas, ya que sino no hubieran podido establecerse las curvas publicadas por CODE (1939) relativas al contenido de histamina en la sangre del perro. KATZ, en la publicación citada, menciona que ha efectuado también algunas experiencias con sangre de perro y cobayo y que en estos casos también se observa siempre una diferencia marcada entre las muestras adicionales de antígeno y las testigo, aunque las diferencias eran algo menores que en los experimentos con sangre de conejo. Según ello, el "choque *in vitro*" no es un fenómeno que se limite estrictamente al conejo. Pero en todo caso la liberación de histamina de leucocitos en desintegración representa, tanto cuantitativamente como por su mecanismo, un proceso totalmente distinto de la liberación de la histamina a partir de las células tisulares fijas del cobayo y del perro.

Sabemos que en la base de todo fenómeno anafiláctico existe una reacción antígeno-anticuerpo y que la manifestación patológica de esta reacción está condicionada por su fijación a la célula, es decir, por radicar en las células correspondientes. Si quiere aplicarse este conocimiento al "choque *in vitro*" descrito por KATZ debe admitirse que los anticuerpos se producen o en los leucocitos o en los trombocitos o que se forman en otro lugar y se anclan de modo secundario a los glóbulos blancos de la sangre. C. A. DRAGESTEDT, RAMÍREZ, LAWTON y YOUMANS (1940) intentaron reproducir en órgano aislado el "choque *in vitro*", siguiendo el pensamiento fundamental de KATZ. Hicieron circular por los pulmones aislados de un conejo normal sangre normal de conejo, y añadieron a ésta un antisuero y el correspondiente antígeno, con el resultado de que se dificultó el paso por los vasos pulmonares y que en la sangre circulante se produjo leucopenia y una *reducción* de la concentración de histamina. Estos efectos aparecen inmediatamente, y con independencia de si el antígeno se añade antes, después o a la vez que el antisuero a la sangre normal de conejo utilizada para la perfusión; se han designado como "sensibilizaciones pasivas de la sangre de conejo". Sin embargo, los autores citados no pueden justificar esta caracterización del estado del asunto. Las alteraciones consideradas (estrechamiento de las arterias pulmonares, leucopenia y reducción de la concentración de histamina en la sangre) pueden observarse también en el choque anafiláctico del

conejo, y la prueba de DRAGSTEDT y colaboradores se designó sencillamente como anafilaxia pasiva en el órgano aislado, causada por una reacción antígeno-anticuerpo, como sucede en todos los fenómenos anafilácticos. Ahora bien: ¿qué relación existe entre la reacción antígeno-anticuerpo y las alteraciones de los leucocitos y la reducción de la concentración de histamina en la sangre? Esta pregunta no ha sido respondida satisfactoriamente por DRAGSTEDT y colaboradores. Se han limitado a designar los leucocitos como el más importante tejido del choque en el conejo, y manifiestan que no hay prueba de que los anticuerpos se hubieran anclado en los leucocitos antes de activarse por su reacción con el antígeno. Pero es seguro que la histamina, aun en caso de que intervenga en el choque anafiláctico del conejo, como factor patógeno decisivo, no debe provenir incondicionalmente de los leucocitos lesionados, porque BR. ROSE (1941) demostró que también se reduce en el choque el contenido de histamina en los tejidos, especialmente en el pulmón y en el bazo.

La histamina, naturalmente, resulta inactiva mientras se encuentra en leucocitos intactos. Sin embargo, la lesión o desintegración de los leucocitos, argumentan los defensores de la hipótesis de la histamina, hace posible su segregación al plasma sanguíneo, y entonces puede desplegar la histamina su acción venenosa característica. ROSE (1940 a) pudo afianzar este punto de vista demostrando que las muestras de sangre de un cobayo sensibilizado, utilizadas como testigo, contenían el 85 por 100 de la histamina total en la capa de leucocitos, mientras que en la sangre en choque del mismo animal en estado de reacción anafiláctica, se encontraba en el plasma el 80 por 100. Se admite, pues, abiertamente, en primer lugar, que la histamina existe en los leucocitos como tal, esto es, en estado de capacidad potencial, de modo que puede actuar por simple citolisis, lo que se opone a las complicadas hipótesis acerca de la liberación de la histamina en el choque anafiláctico del cobayo y del perro (véase luego más acerca de esta cuestión); en segundo lugar, que las cantidades de histamina que proceden de la perturbación de los leucocitos bastan para ocasionar un envenenamiento grave por histamina, y en tercer lugar, que los síntomas anafilácticos en todos los respectos esenciales equivalen a una intoxicación por histamina. Las aseveraciones expuestas en primero y segundo lugar no están demostradas. Además, en lo que respecta de modo especial al punto segundo, debe señalarse que el contenido total de histamina en la sangre se reduce rápida e intensamente en el curso del choque del cobayo; no puede entenderse sin más porqué un simple desplazamiento de la histamina de los leuco-

cidos hacia el plasma sanguíneo ha de tener como consecuencia la caída de la histamina. En lo que respecta, por último, a la semejanza de los síntomas anafilácticos con la acción de la histamina, muchos autores, entre ellos H. H. DALE y P. P. LAIDLAW (1910), M. CLOETTA y E. ANDERES (1914), M. ROCHA E SILVA (1940), subrayan que la histamina provoca una constricción de las arterias de los pulmones, proceso que se ha considerado también como parte esencial del choque anafiláctico del conejo [fundándose en los trabajos de Y. ATRILA (1914), A. F. COCA (1919) y C. K. DRINKER y J. BRONFENBRENNER (1924)]. Sin embargo, R. DOERR (1950, págs. 123-129) ha expuesto que esta interpretación del mecanismo del choque resulta objetable y que, al menos en lo que respecta al choque peragudo letal, puede admitirse una muerte cardíaca de acuerdo con las viejas observaciones de J. AUER (1911). En resumen, mucho de lo que se consideraba bien establecido pudiera obligar a un cambio de las opiniones dominantes a consecuencia de investigaciones experimentales más amplias. Y, sin embargo, la marcha de la investigación abandona sin explicar muchos hechos, como—por ejemplo—que para el conejo, que es la especie que mejor forma los anticuerpos, no resulte posible encontrar un método seguro para su sensibilización activa y que los métodos más eficientes para conseguirlo, como los dados por A. F. COCA (1919) y E. F. GROVE (1932), pertenezcan a un tipo totalmente especial (véase R. DOERR, 1950, pág. 24).

H. M. CARRYER y C. F. CODE (1950) han descrito una variante del método designado por G. KATZ "choque *in vitro*". A causa de su trascendencia lo expondremos aquí por extenso. CARRYER y CODE pretendieron aclarar si las reacciones hemolíticas efectuadas en la sangre extravasada tenían como consecuencia una liberación en el plasma de histamina procedente de las células. El experimento fué efectuado en conejos que se caracterizan por su alto contenido de histamina en sangre. Los conejos se inmunizaron con hematíes de carnero lavados. Diez días después de la última inyección inmunizante se efectuó una sangría de modo que la sangre pasara directamente desde la carótida seccionada a unos depósitos de vidrio recubiertos con parafina para evitar que los glóbulos se estropearan mecánicamente al ponerse en contacto con superficies extrañas. Se impidió la coagulación mediante heparina. Después de determinar el título hemolítico, se midieron 10 ml. de sangre de conejo en un tubito de centrifuga parafinado y se añadió 1 ml. de una suspensión al 50 por 100 de hematíes de carnero. Después de una incubación de una hora a 37° C. se centrifugó y determinó el contenido de histamina en el líquido sobrenadante;

existía en todos los tubitos en que se había producido hemolisis en una cantidad entre 2 y 15 veces mayor que en los tubitos testigo. En una prueba en que el tubito no se incubó se observó el mismo resultado; la cesión de histamina no requirió en este caso sino cinco minutos. La histamina no podía proceder de los hematíes de carnero, porque la cantidad utilizada en la prueba contenía menos de 0,03 γ ; tampoco los hematíes de la sangre de conejo pueden ser la fuente de grandes cantidades de histamina; de modo que, por exclusión, hay que pensar que los donantes principales de la histamina en tal prueba fueron los leucocitos y trombocitos. Se desconoce el mecanismo por el que la reacción hemolítica libera histamina a partir de los elementos formes de la sangre, como observa CARRYER y CODE. Pero como traumatismos tan sencillos como el contacto con superficies de vidrio o fragmentos corpusculares, la coagulación o la agitación de la sangre bastan para liberar histamina en el plasma, debe tratarse de la manifestación de un cierto tipo de traumatismo químico o físico. Información muy poco satisfactoria. Por tanto, no se ha hecho más que plantear el problema de la conexión entre la reacción hemolítica y la cesión de histamina por los glóbulos blancos de la sangre. Además, si unas influencias mecánicas tan exiguas pueden causar la liberación de histamina, hay que considerar cuál sea el alcance en que este factor haya podido participar en los resultados experimentales de otros autores interpretados en un sentido totalmente distinto, a saber como efecto de reacciones antígeno-anticuerpo; las precauciones que observaron CARRYER y CODE para excluir en lo posible las influencias mecánicas no se aplicaron por sus predecesores en este camino. Como resultado de su estudio, CARRYER y CODE llegan a la conclusión de que el paso de histamina desde las células sanguíneas al plasma puede contribuir a los síntomas que se observan en las transformaciones de sangre incompatible. Esta modesta conclusión no altera el hecho de que la teoría de la liberación de histamina a partir de los leucocitos como causa del choque anafiláctico del conejo (por otra parte, punto notabilísimo de la hipótesis de la histamina) haya adquirido una gran firmeza.

Se ha señalado que un simple desplazamiento de la histamina desde los leucocitos y plaquetas no puede explicar el hecho de que en el choque anafiláctico del conejo se reduzca de modo repentino y muy considerable la concentración total de histamina en la sangre. Investigaciones recientes parecen considerar problemática esta caída de la histamina. M. ROCHA E SILVA, A. GRANA y A. PORTO (1945) han observado, en especial, que la reducción crítica de la histamina

en la sangre puede producirse también cuando se administra por vía intravenosa al conejo polisacáridos obtenidos de *Ascaris lumbricoides*, de líquido hidatídico o de glucógeno hepático; simultáneamente, desaparecen casi completamente las plaquetas circulantes y se reduce mucho el número de leucocitos. Los autores citados consideran muy probable que la leucopenia del choque anafiláctico se ocasione por un mecanismo distinto del que provoca el glucógeno; observan que la reducción primero considerada también se produce cuando los animales están anestesiados con uretano o cloralosa, mientras que bajo tales anestias el glucógeno provoca más bien una leucocitosis o no altera el número de leucocitos. Este razonamiento no es, sin embargo, sólido, porque los conejos no anestesiados o los que se han narcotizado con dial + éter ofrecen tanto el descenso de histamina como las alteraciones del número de plaquetas y leucocitos; el comportamiento opuesto que se observa bajo la influencia de uretano o de cloralosa debe concebirse, por consiguiente, como un efecto especial de estos narcóticos. A pesar de que los conejos no anestesiados reaccionan al glucógeno con trombocitopenia y leucopenia no ofrecen síntomas de choque. De ello habría que deducir que estos procesos de los elementos formes de la sangre tal vez no participen de modo esencial en el choque anafiláctico del conejo, sino que, como CODE (1944) ha expuesto para el perro de modo muy verosímil, tal vez no sean más que simples fenómenos secundarios de una lesión desconocida de la célula. No es ésta la consecuencia deducida por los defensores de la teoría de la histamina de los experimentos con glucógeno. ROCHA E SILVA y sus colaboradores más bien proclaman que el experimento *in vitro* de G. KATZ (véase pág. 17) da resultados negativos. En efecto, si se añaden los polisacáridos antes citados o glucógeno hepático a sangre de conejo normal no se observa paso de histamina desde las células al plasma. Sin embargo, no ha podido decirse por qué razón este proceso se efectúe en el choque anafiláctico y no como consecuencia de las inyecciones de glucógeno, y que, sin embargo, en ambos casos tengan el mismo curso el movimiento leucocitario y de plaquetas.

La duda a que conducen los experimentos con glucógeno y su interpretación aumenta por algunos experimentos de ROCHA E SILVA y sus colaboradores, de los que se deduce que el glucógeno puede influir de modo antagónico en el choque anafiláctico del conejo. Este efecto se ha atribuido a que el glucógeno "dispersa" los elementos de la sangre e impide su acumulación en el órgano del choque, en tanto que el choque anafiláctico se produce porque los leucocitos y trombocitos se aglomeran en los capilares y pequeños vasos de los pulmones,

dando origen a trombos que actúan como filtros que retienen los elementos de la sangre aglomerados y de este modo hacen posible que ejerza plenamente su acción la liberación de histamina, por la concentración de ella en el órgano del choque. La concepción de histamina estimuladora de la contracción de los vasos se sustituye o se combina con la hipótesis de una localización, condicionada mecánicamente, de la liberación de histamina en el órgano del choque. Ahora bien, ¿es realmente el pulmón el órgano del choque del conejo? En el cobayo, la respuesta es, indudablemente, afirmativa, porque si se riegan con el antígeno los pulmones aislados de un animal sensibilizado se provoca la misma palidez e inmovilización que provoca, en el animal intacto, la asfixia repentina [W. H. MANWARING y Y. KUSAMA (1917), P. NOLF y M. ADANT (1946)]. A. F. COCA (1919) ha aplicado este experimento a los pulmones de conejo sensibilizado e informa de que la introducción del antígeno provoca un estrechamiento de las vías intrapulmonares que sólo puede vencerse por una considerable elevación de la presión de perfusión. Pero MANWARING, MARINO y BEATTIE (1924) no pudieron confirmar el experimento, y, además, es muy poco probable que una elevación de la presión contra la que ha de trabajar el ventrículo derecho pueda ser la causa de la muerte por choque del conejo, con frecuencia fulminante; por consiguiente, no se trata de un corte completo momentáneo, sino sólo de que se dificulta la circulación menor. La embolia de los capilares y pequeños vasos de los pulmones por trombos de leucocitos y plaquetas, que postula ROCHA E SILVA, tampoco puede producirse con una velocidad tal que pueda considerarse causa del choque peragudo del conejo. La introducción directa del antígeno en la circulación mayor, por ejemplo, por inyección centrocaraotídea o por inyección en el ventrículo izquierdo, tal vez permita nuevas aclaraciones; los glóbulos blancos no sólo se agrupan en los vasos de los pulmones, sino también en la circulación mayor [R. G. ABELL y H. B. SCHENK (1938)], y los agregados producidos pudieran taponar esta zona capilar y mantenerla alejada de los pulmones. No nos ha llegado noticia de que se haya efectuado en el conejo este experimento afín. Si, efectivamente, ha dejado de hacerse, estaría indicado reparar la omisión. Y tanto más cuánto que de ese modo pudiera confirmarse o contradecirse la hipótesis de R. DOERR (1950, pág. 150 y sigs.), de que el órgano del choque del conejo, al menos del hiperagudo, no es el pulmón, sino el corazón o, formulado más precisamente, la zona en que se ramifican las arterias coronarias del corazón, donde los procesos descritos por ABELL y SCHENK deben actuar con mucha más rapidez y con efecto más

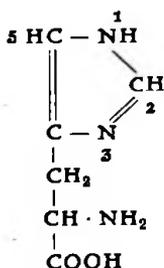
crítico que en los pulmones. En resumen, debe afirmarse que la inclusión de las reacciones anafilácticas del conejo en la hipótesis de la histamina no puede considerarse como un problema resuelto definitivamente.

Hipótesis acerca del mecanismo de cesión de histamina por las células de los tejidos del choque.

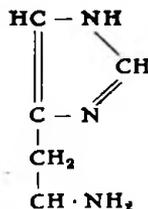
No cabe duda de que la histamina existe en las células de la sangre y de los tejidos de los mamíferos en cantidad relativamente grande; es decir, grande en proporción con el efecto farmacodinámico de esta sustancia. Por ello la hipótesis más sencilla sería admitir que la reacción celular antígeno-anticuerpo, base de todos los fenómenos anafilácticos, estimula las células en las que se produce de modo que provoca en ellas la segregación de histamina que preexiste como tal en las células. Por consiguiente, la histamina no se produciría en el curso de la reacción anafiláctica, sino sólo se cedería; punto de vista adoptado por H. H. DALE (1929), genuino fundador de la teoría de la histamina. Como la histamina actúa estimulando la contracción de los músculos lisos, puede concebirse que en estado normal se cede continuamente por células del organismo, como otros productos de la secreción interna, y que la liberación crítica en el proceso anafiláctico no es más que la exaltación patológica de una función normal. En favor de esta idea habla que la histamina pueda descubrirse en el plasma sanguíneo normal [C. F. CODE (1937 b, c)], así como en el líquido céfalorraquídeo [I. JACSON y B. ROSE (1947)], en éste en cantidades mucho menores. Esta concepción explicaría que la cesión fisiológica de histamina no sólo se exalte por la reacción celular antígeno-anticuerpo, sino también otros agentes que actúen sobre las células que contienen histamina. Así se daría una base común a las reacciones anafilácticas y anafilactoideas, considerando éstas como procesos condicionados por histamina [véase R. DOERR, 1950, pág. 186 y sig.]. Por otra parte, se encuentra en la misma dirección del pensamiento la idea de incluir la cesión fisiológica de histamina en el sistema de las funciones hormonales coordinadas. Existen observaciones aisladas que afirman la dependencia de la liberación de histamina de la actividad de las glándulas endocrinas. BR. ROSE y J. S. BROWNE (1941) y P. B. MARSHALL (1943) demostraron que el contenido de histamina en los tejidos de la rata aumenta después de la ablación de las cápsulas suprarrenales. La extirpación de las cápsulas suprarrenales eleva también la concentración

de histamina en la sangre, tanto en la rata [MARSHALL (1943)] como en el conejo [A. WILLSON]. La separación del tiroides tiene el efecto contrario, ya que reduce, en la rata, el contenido de histamina en la piel y los tejidos, mientras que la administración de extractos de tiroides eleva la concentración de histamina en estos tejidos [F. R. GOTZL y C. A. DRAGSTEDT (1940)]. Con lo anterior guardan cierta relación algunos trabajos experimentales, según los cuales la extirpación de los tiroides reducen tanto la resistencia frente a histamina como frente al choque anafiláctico [V. G. BANTING y S. GAIRNS (1926), D. PERLA y S. H. ROSEN (1935), W. J. M. SCOTT (1928), A. SPINELLI (1929), L. C. WYMAN (1929)]. No profundizamos en si debe o no darse importancia a este paralelismo; en todo caso, las causas de error en la aducción experimental de pruebas de este tipo es tan grande que parece obligado considerar con escepticismo los resultados. También se ha investigado la influencia de la eliminación del tiroides sobre la capacidad de reacción anafiláctica del cobayo, pero interpretándola en otro sentido; a saber, como inhibidora de la producción de anticuerpos; un dato respecto a este punto se encuentra en R. DOERR (1950, pág. 75 y sig.).

A continuación expondremos la naturaleza química de la histamina y su producción y destino en el organismo para conocer los supuestos sobre los que se levantan las discusiones alrededor de la hipótesis que concierne a la liberación de esta sustancia.



Histidina (imidazolil-alanina).



Histamina (imidazolil-etilamina).

La histamina (β -imidazoliletilamina) se produce a partir del aminoácido indispensable, histidina (imidazolil-alanina) por descarboxilación.

La descarboxilación de la histidina se produce por un fermento, la descarboxilasa, que ha podido descubrirse tanto en tejidos animales como en bacterias. E. WERLE (1936), WERLE y HERRMANN (1937)

y con independencia de ellos, HOLTZ y HEISE (1937) descubrieron la existencia de histamina en tejidos; la formación bacteriana de histamina fué descubierta por D. ACKERMANN (1910) y observada después por numerosos autores, ha sido estudiada modernamente en investigaciones sobre catorce estirpes de *Bact. coli* por E. F. GALE (1940). Si se inyecta a un cobayo histidina se eleva el contenido de histamina en los pulmones, lo que demuestra que la histamina también se produce en el organismo animal por descarboxilación de la histidina [BLOCH y PINÖSCH (1936)]. La capacidad de descarboxilación de tejidos animales frescos, por ejemplo, de los riñones, es mucho más débil que la de las bacterias, y sólo alcanza a la forma natural de la histidina, a saber, la l-histidina, en tanto que el enzima bacteriano es capaz de demoler tanto la forma l como la d, aunque no en la misma proporción, ya que la transformación de la l-histidina es, regularmente, mucho mayor que la del isómero [E. WERLE (1941)]. La histidina recibida con la alimentación puede transformarse en histamina en el intestino con la cooperación de la flora bacteriana de éste, en forma mucho más intensa e ilimitada que en los tejidos. Pero mientras que la existencia de histamina en tejidos, en los que se forma a partir de la histidina, parece comprensible y sólo dudoso si en ellos simplemente se deposita o si se consume y renueva continuamente. Falta aún por decidir si la histamina de procedencia entérica por absorción puede alcanzar los tejidos y llegar a ser un constituyente de sus células.

G. V. ANREP, M. S. AYADI, G. S. BARSOU, J. R. SMITH y M. M. TALAAT (1944) han podido observar que la eliminación de histamina por la orina aumenta cuando la alimentación contiene mucha histidina. Al parecer, la histamina producida en el organismo puede pasar por las vías urinarias y segregarse en estado inalterado, pero, en parte, parece que se elimina por la orina en estado inactivo farmacodinámicamente, en formas derivadas de la sustancia madre por efecto del fermento histaminasa. La histaminasa fué aislada por primera vez por C. H. BEST (1929) de los tejidos del pulmón y por su acción es una diamino-oxidasa no adaptada de modo específico a la histamina, ya que puede demoler también otras diaminas del tipo de la cadaverina [A. ZELLER (1938 a, b)]. La eliminación del efecto venenoso de la histamina por histaminasa no es el único medio de que dispone el organismo para conseguir este fin. BR. ROSE y J. S. L. BROWNE (1938) pudieron demostrar que la histamina administrada a la rata por vía intravenosa puede inactivarse por tejidos orgánicos (hígado y riñón) que no contienen nada de histaminasa. De momento

se desconoce cómo se efectúe esta inactivación de la histamina no condicionada por histaminasa que ejercen algunos parénquimas de tejidos. Pudiera aventurarse que la histamina no sólo puede pasar de las células al plasma sanguíneo para ejercer de este modo su efecto tóxico, sino que también puede invertirse este proceso y la histamina circulante del plasma ser captada por células y privada de su toxicidad por este desplazamiento. Sin embargo, al parecer no se ha pensado en la posibilidad de tal proceso. Debe dejarse sentado que se ha dirigido la atención unilateralmente sobre la existencia de histamina en la sangre y en los tejidos y sobre su liberación patológica a partir de este depósito y que se ha descuidado los importantes capítulos de sus funciones en el organismo normal y de su desintoxicación fisiológica (no medicamentosa). Existen aportaciones aisladas sobre estos problemas, pero no han conducido a conocimientos concluyentes.

Por ejemplo: además de la segregación de histamina por la orina después de una alimentación abundante en histamina, de que ya se ha hablado, también se ha podido observar la aparición de sustancias histaminoides en la secreción nasal provocada por coriza y rinitis alérgica [E. TROESCHER-ELAM, G. ANCONA y W. KERR (1945)] y en los esputos de asmáticos [F. A. KNOTT y G. H. ORIEL (1930)], y G. MYRHMAN y J. TOMENIUS (1939) observaron un aumento considerable de histamina en las heces de los asmáticos que, ciertamente, puede atribuirse a que en el intestino de los asmáticos se produce más histamina a consecuencia de una alteración de la flora bacteriana. Resulta dudoso si la aparición de histamina en las secreciones y excreciones debe interpretarse como debida a un intento del organismo de descargarse de un exceso de histamina, porque la histamina podría producirse o liberarse también en el lugar de su aparición. En todo caso sólo puede tratarse de una eliminación de histamina por vía natural, pero no de un proceso que pueda definirse como una "desintoxicación fisiológica". Una desintoxicación fisiológica sería, por ejemplo, la demolición de la histamina por histaminasa. Sin embargo, precisamente a este respecto se ha creado una situación muy contradictoria. A AHLMARK (1944) ha podido, por ejemplo, señalar que el contenido de histaminasa en el plasma sanguíneo aumenta durante el embarazo y alcanza su punto máximo en el séptimo mes de gravidez. Pero el contenido de histamina del plasma, según investigaciones de BR. ROSE (1947), no se aumenta en el embarazo, de modo que la superproducción de histaminasa no puede considerarse como una reacción de defensa conveniente. Tampoco puede servir de ayuda el hecho de que las mujeres que antes del embarazo sufrían una en-

fermedad alérgica puedan quedar libres de sus padecimientos por la gravidez [V. J. DERBES y W. SODEMAN (1946)] ni tampoco el aumento de la colinesterasa en el embarazo señalado por E. A. ZELLER, H. BIRKHÄUSER, H. WATTENWYL y R. WENNER (1941). Serie interesante de hechos que hasta la fecha (fines de 1947) no han podido relacionarse racionalmente, si bien parece probable que dependan unos de otros.

La toxicidad de la histamina para distintas especies animales.

Inmediatamente que se adquirió la idea de que el choque anafiláctico pudiera ser debido a una autointoxicación aguda por histamina liberada, se ha determinado la sensibilidad para la histamina de las especies con reacción anafiláctica, y se ha pretendido establecer un paralelismo entre esta sensibilidad y las reacciones anafilácticas. M. W. CHASE (1948) ha ilustrado la escala de la sensibilidad para la histamina con las siguientes cifras reunidas por R. L. MAYER:

TABLA I.—ACCIÓN VENENOSA LETAL DE HISTAMINA INYECTADA INTRAVENOSAMENTE, EN MILIGRAMOS POR KILO DE PÉSO CORPORAL (1).

Rana	1700
Ratón	250 — 300
Rata	170 — 500
Mono	50
Perro	3
Paloma	1,5
Conejo	0,6 — 3,0
Cobayo	0,3 — 0,4

Los datos que la investigación sobre anafilaxia ha reunido acerca de la facilidad y seguridad de la sensibilización activa de distintas especies y acerca de las cantidades de antígeno necesarias para desencadenar un choque, revelan escaso paralelismo con la escala de sensibilidad frente a histamina. Como se deduce de la extensa revisión de los hechos pertinentes efectuada recientemente por R. DOERR (1950, págs. 19-62 y 103-148), cada especie animal presenta un pade-

(1) Según la Tabla I, el conejo se aproxima mucho al cobayo en lo que respecta a su sensibilidad frente a histamina. Sin embargo, esta conclusión sólo se ha deducido de las dosis letales de histamina referidas a kilogramo de peso animal. Sin embargo, no se envenena un kilogramo de conejo o de cobayo, sino conejos o cobayos. Si se considera esto, la dosis de histamina letal para un cobayo de 250 g. es de 0,075 a 0,1 mg., y para conejos de 1.500 g., de 0,9 a 4,5 mg.

cimiento especial. El cobayo, pieza maestra de la hipótesis de la histamina, sufre, si se considera únicamente el choque agudo, síntomas extraordinarios, y muestra propiedades sin paralelo; y el ratón, tan resistente a la histamina, adquiere el estado de anafilaxia activa con mucha facilidad, y, en cambio, la rata, que ofrece igual resistencia a la histamina, aunque llegue a sensibilizarse por vía activa, no reacciona a la inyección desencadenante del antígeno sino en condiciones determinadas y muy particulares, y experimenta un choque débil, de curso no mortal.

Ya se expuso en otro lugar (véase pág. 11 y siguiente) cómo ha podido demostrarse que la histamina no puede ser la causa de las reacciones anafilácticas del ratón. Como tampoco ha podido demostrarse con seguridad la intervención de la acetilcolina (véase pág. 78), se plantea la cuestión de si en este caso la reacción antígeno-anticuerpo en el seno de la célula ha de considerarse causa suficiente del proceso patológico. Por el contrario, no existe duda de que la histamina coopera activamente en el choque agudo del cobayo y del perro; se ve, pues, que las distintas especies animales también difieren mucho unas de otras en la patogénesis de los fenómenos anafilácticos, y que hay que guardarse de toda generalización que no pueda demostrarse de modo convincente. Como en el ratón, y probablemente en la rata, habrá que desistir de la hipótesis de la histamina, y aún más de la concepción de que los fenómenos anafilácticos sólo puedan explicarse por una mera autointoxicación [consúltese para esto R. DOERR (1950, págs. 135-139)]; carece de base suficiente la opinión de que la acetilcolina pudiera ser el veneno del choque, ni incluso limitándose al ratón.

Existe toda una serie de hechos que parecen justificar la conclusión de que las células también en condiciones fisiológicas ceden histamina que alcanza la sangre, donde puede descubrirse como histamina del plasma. No se sabe cómo se verifica este paso de la histamina desde las células a los jugos orgánicos; sólo se ha prestado atención a su aumento de concentración patológica en el choque anafiláctico, así que actualmente queda por resolver si se trata de un mero aumento cuantitativo de un proceso fisiológico o de un proceso peculiar distinto.

Ya se ha señalado (véase pág. 24), que H. H. DALE estaba convencido de que en los animales en cuya sangre aumenta la concentración de histamina como fenómeno secundario del choque anafiláctico, este aumento no es de histamina de neoformación, sino de histamina cedida por células que ya la contenían. Esta concepción ha sido también defendida por consideraciones convincentes por C. F. CODE, de

cuyos resultados experimentales también se ha hablado. Pero quien conoce los primeros tiempos de la investigación de la anafilaxia sabe que estas opiniones constituyen una desviación fundamental de las hipótesis que, apoyadas en uno u otro argumento, defendían la opinión de que en el choque anafiláctico se producía una demolición enzimática de proteínas que rendían productos de desdoblamiento sumamente tóxicos. Esta dirección de la investigación, defendida en numerosas publicaciones tenaces, no pudo, sin embargo, sostenerse. Por razones comprensibles, en este lugar no puede volverse a exponer por extenso las polémicas que se riñeron en este campo. Sin embargo, a quien desee informarse del proceso de los problemas científicos, puede aconsejarse que recorra la literatura de dicho período, lo que se facilita por una revisión de *referatas* de dicha época (1). Tal revisión no sólo se recomienda porque siempre conviene seguir el proceso de la investigación científica, sino porque la teoría de la "digestión proteica parenteral", dada por vencida, ha renacido modernamente con nueva forma y fundamento. En este movimiento participan autores que parten de distintos resultados experimentales y que han formulado sus opiniones de diversos modos; así que parece conveniente adaptar en cuanto sea posible la exposición que sigue a este estado de la literatura.

A. J. BRONFENBRENNER.

BRONFENBRENNER (1944) llama la atención en su artículo *The mechanism of desensitization* a algunos trabajos propios aparecidos en 1914 y 1915 (2), de los que dedujo: 1, que la mezcla de anticuerpo y antígeno activa *in vitro* a la tripsina, que ocasiona una autodigestión proteolítica del suero; 2, que la mezcla, cuando se inyecta a animales, provoca síntomas que no pueden diferenciarse de las reacciones anafilácticas, y que la tripsina misma o los productos de digestión coexistentes ocasionan estos síntomas; 3, que en el suero normal, cuando se adsorbe *in vitro* a caolín o a almidón, se produce también una activación de los fermentos propios del suero, con autodigestión subsiguiente que dota al suero de la capacidad de desencadenar síntomas análogos a la anafilaxia si se le inyecta por vía intravenosa a animales, especialmente a animales de la especie de que procede el suero.

(1) R. DOERR (1910, 1914, 1922).

(2) En la bibliografía de nuestro volumen sólo se recogen tres de estos trabajos. Una lista completa se encuentra en el artículo citado de BRONFENBRENNER, aparecido en 1944.

La crítica contemporánea ha olvidado estos trabajos de BRONFENBRENNER, a lo que ha contribuido considerablemente la circunstancia de que el autor puso en íntima relación las reacciones antígeno-anticuerpo con la reacción combatida de ABDERHALDEN; sin embargo, los experimentos por los que se rechazaban unas conclusiones tan amplias no resultan totalmente convincentes. Ahora bien, después de haber transcurrido más de treinta años, BRONFENBRENNER considera que los nuevos resultados de la experimentación parecen apoyar sus primitivas concepciones. Se refiere a los datos según los cuales las reacciones antígeno-anticuerpo *in vitro* liberan histamina de hematíes, de tejido epitelial o de músculos lisos [G. KATZ (1940), G. KATZ y S. COHEN (1941), G. KATZ (1942), M. ROCHA E SILVA (1940)], y la tripsina, *in vitro* e *in vivo*, ejerce la misma acción [M. ROCHA E SILVA (1940, 1940 a, 1941)]. En la discusión de los experimentos y puntos de vista de ROCHA E SILVA se expondrán más por extenso estas relaciones.

Volviendo a BRONFENBRENNER, este autor ya había intentado en sus antiguos trabajos establecer un puente entre las reacciones anafilácticas y anafilactoideas al afirmar que la adsorción de suero normal a almidón o caolín da un producto que, inyectado intravenosamente, actúa de modo análogo al choque anafiláctico (véase antes). Modernamente ha intentado defender también esta relación, que ilustra con un esquema, véase fig. 2), en el que, además del desencadenamiento del choque por medio de tripsina, intenta también hacer valer la concepción de que el estado que se denomina desensibilización específica no tiene relación con la proporción entre el anticuerpo y el antígeno, sino que está condicionado porque los productos de la acción proteolítica de la tripsina tienen tendencia a retrasar e incluso impedir el ulterior efecto de la tripsina por la creación de la denominada "actividad antitripsina" [J. BRONFENBRENNER (1915)]. Según G. KATZ (1942), los productos de la digestión que actúan como antitripsicos serían, al menos en parte, polipéptidos.

Al caer en la cuenta de que en los primeros trabajos de BRONFENBRENNER, acciones iguales o, en general, sólo semejantes, se refieren, sin más análisis, a un mecanismo idéntico (equivalencia entre reacción antígeno-anticuerpos y reacción de ABDERHALDEN, choque anafiláctico y toxicidad del suero homólogo absorbido), no se comprende que posteriormente se haya considerado que la teoría de la histamina confirma estos trabajos, ya que BRONFENBRENNER concibió originalmente la tripsina o los productos de demolición tripsica del

suelo como factores patógenos y estaba muy ajeno a la idea de un veneno cedido por las células a la sangre.

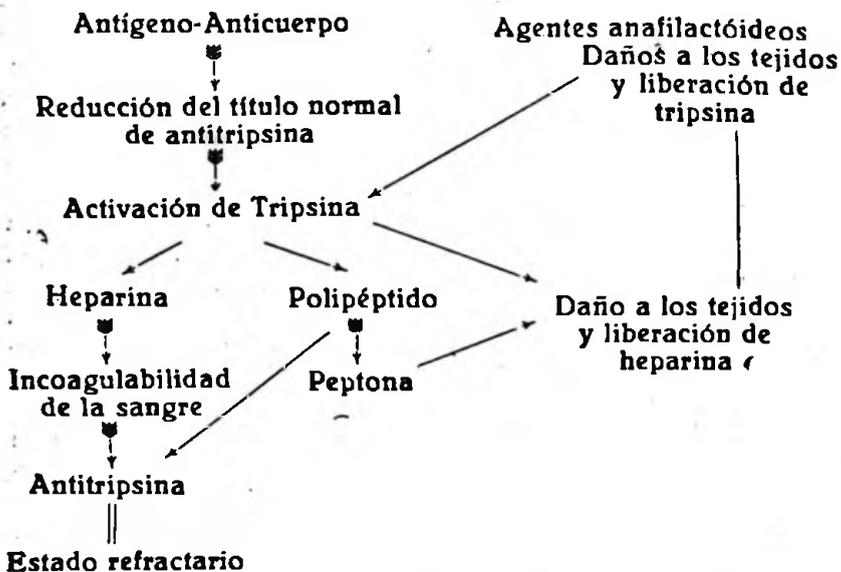


Fig. 2.—Esquema que pretende explicar: a, el mecanismo del choque anafiláctico; b, las relaciones entre reacciones anafilácticas y anafilactóideas, y c, la esencia de la desensibilización. Según J. BRONFENBRENNER, *Ann. of Allergy*, 2, 497.

B. La lisolecitina.

Los venenos de serpiente y el de abeja contienen una lecitinasa que, combinada con yema de huevo, forma un enzima hemolítico, la lisolecitina [W. FELDBERG y C. H. KELLAWAY (1936)]. Según investigaciones de W. FELDBERG, H. F. HOLDEN y C. H. KELLAWAY (1938), W. FELDBERG y C. H. KELLAWAY (1937, 1937 a), los citados venenos, si se hacen circular por vasos de órganos aislados, provocan la liberación de histamina, que puede atribuirse a una acción de la lisolecitina, ya que la lisolecitina aislada es capaz de desencadenar la cesión de histamina por tejidos del órgano [FELDBERG, HOLDEN y KELLAWAY], y porque E. R. TRETHERWIE (1939) ha podido establecer un paralelismo entre la acción hemolítica y la liberadora de histamina en algunos venenos de serpiente. De ello podría deducirse que sustancias semejantes a la lisolecitina, etc., participan, por la histamina liberada por ellas, en la toxicidad, tanto de los venenos de serpiente, como del de abeja; sin embargo, resulta dudoso cuál sea el alcance

de este efecto, ya que de los tejidos puestos en contacto con el veneno de serpiente no sólo se libera histamina, sino también otra sustancia con actividad farmacodinámica [FELDBERG y KELLAWAY (1938)]. FELDBERG y colaboradores no han determinado la cuantía de la participación efectiva de histamina en la patogenicidad de los venenos de serpiente y del veneno de abeja. En cambio, este grupo de investigadores efectuó un intento de relacionar la lisolecitina y la liberación de histamina aplicando una hipótesis auxiliar. Apoyándose en las manifestaciones de E. K. RIDEAL y J. H. SCHULMAN (1939) sobre las reacciones de películas monomoleculares y sus analogías biológicas, supusieron que la estructura celular debe concebirse como un complejo de películas monomoleculares de lipoproteínas, a las que se fija la histamina; cuando la lipina se desdobla por vía fermentativa ha de resultar, como consecuencia, la liberación de histamina.

En todo caso, en el choque anafiláctico, la cesión de histamina tisular al plasma sanguíneo no puede estar causada por un fermento hemolítico. El mismo W. FELDBERG (1941), en su *referata Histamina and anaphylaxis*, señala que no existe ningún punto de apoyo en favor de la intervención de procesos hemolíticos en la producción de las reacciones anafilácticas. Por consiguiente, al parecer, deben existir varios mecanismos que permitan soltar el enlace con las células de la histamina tisular; como ha subrayado CODE (1944), lo común a todos estos procesos es una lesión de las células que contienen histamina, lesión de cuya índole no puede anticiparse nada determinado. En lo sucesivo tendremos aún varias veces ocasión de volver a este punto importante.

Respecto a las acciones del veneno de abeja estudiadas por los autores australianos, hagamos notar que, según M. REINERT (1937), este veneno obra de modo intensamente hemolítico, e incluso a diluciones de 1 : 8000 disuelve paramecios. La lesión celular resulta, por consiguiente, especialmente intensa. El veneno crudo de abeja contiene el 1,5 por 100 de histamina; por ello, al efectuar ensayos de perfusión con veneno crudo de abeja puede confundirse fácilmente el aporte de esta histamina con una liberación de histamina de las células tisulares. Frente a esta posibilidad, W. FELDBERG y C. H. KELLAWAY (1937) se han puesto a cubierto, en los experimentos antes citados, de un modo doble. Comenzaron determinando el contenido de histamina en la disolución de veneno de abejas utilizada por ellos para irrigar los pulmones, y observaron que no era apreciable, esto es, que era inferior, con seguridad, a 0,2 γ por ml. En segundo lugar investigaron continuamente el contenido de histamina en muestras

del líquido de perfusión después de haber introducido el veneno de abejas en los vasos del pulmón, y obtuvieron así una representación muy instructiva de la cesión de histamina en función del tiempo. Según ella, la cesión de histamina subsiguiente a una única inyección de una dosis de veneno que corresponde a cinco aguijones de abeja, no se produce de modo crítico, de un golpe, sino que se requieren entre sesenta y noventa minutos, hasta alcanzar el máximo, al que sucede una disminución aún más lenta, de modo que al cabo de tres a cuatro horas las muestras del líquido de perfusión siguen conteniendo histamina. La histamina cedida en su totalidad por un pulmón de cobayo alcanza a algo más de 9 γ , y en el pulmón quedan aún contenidas de 3 a 5 γ , lo que totaliza una cantidad que se aproxima muy satisfactoriamente al contenido de histamina en un pulmón no perfundido (unas 13 γ).

En el choque anafiláctico letal agudo del cobayo, y en segundo lugar también en el del perro, la cesión de histamina desde los órganos debe transcurrir mucho más rápidamente y alcanzar mucho antes el máximo crítico. Los cobayos mueren tres a seis minutos después de la inyección desencadenante intravascular, y la figura 1 representa el transcurso del proceso en el perro; de esta figura se deduce que la concentración máxima de histamina en la sangre puede apreciarse a los cinco minutos, después de una subida vertical. La diferencia entre la acción del veneno de abejas y la del choque agudo letal puede deberse a que en uno y otro caso es distinta la lesión celular causante del choque. Tal vez juegue también un papel la circunstancia de que FELDBERG y KELLAWAY inyectaron dosis de veneno de abejas bajas, en todo caso no letales de modo agudo, ya que los cobayos continuaban vivos varias horas después de la inyección del veneno.

C. *Las proteasas como factores principales en el proceso de liberación de histamina a partir de los tejidos que la contienen.*

La idea rectora de esta dirección de la investigación es el principio según el cual de la semejanza de las acciones puede sacarse la conclusión de la identidad de los mecanismos básicos de fenómenos de designación distinta e inducidos experimentalmente de diverso modo. En buena lógica, los esfuerzos de los autores que intervinieron en estos problemas se concentraron en perseguir la semejanza de los efectos en todas las particularidades que pudieran descubrirse experimentalmente, y en desplazar las discrepancias a la periferia del campo de estudio, por la atención preferente prestada a lo análogo.

En 1907, H. DE WAELE señaló la analogía de los fenómenos anafilácticos y del envenenamiento por peptonas, e hizo notar que los animales que sobreviven a un choque anafiláctico quedan protegidos contra una nueva administración de antígeno (antianafilactizados), y que los animales envenenados por peptonas lo están, análogamente, frente a una nueva acción de peptona (inmunidad frente a peptona). Dos años después, H. BIEDL y R. KRAUS (1909) comunicaron que perros a los que se había inyectado por vía intravenosa peptona Witte (0,03 a 0,3 g. por kg. de peso corporal) presentan un cuadro de síntomas que iguala en detalle al choque anafiláctico; observaron además que si a perros sensibilizados de modo específico (en anafilaxia activa) se les administraba una inyección preventiva de peptona, se hacían resistentes a la inyección desencadenante con antígenos, y que, recíprocamente, los supervivientes al choque anafiláctico quedaban insensibles, hasta un cierto grado, a la peptona Witte. En 1910, HIRSCHFELDER, así como BIEDL y KRAUS informaron de que análogo comportamiento se observaba también en el cobayo. Los cobayos de 300 a 500 g. mueren rápidamente si se les inyecta rápidamente por vía intravenosa de 0,25 a 0,3 g. de peptona Witte, y, como afirmaban BIEDL y KRAUS, "los fenómenos observados, tanto en lo que respecta al mecanismo de respiración como al comportamiento fisiológico y anatómico de los pulmones, parecen ser enteramente comparables a los de la anafilaxia". Por ello, KRAUS y BIEDL opinan que los síntomas anafilácticos, tanto en el perro como en el cobayo, se desencadenan por un veneno que parece ser totalmente idéntico a la peptona Witte. En 1910 señalaron H. H. DALE y P. P. LAIDLAW la semejanza que existe entre el choque anafiláctico y el envenenamiento por histamina. Sin embargo, BIEDL y KRAUS no cayeron en la cuenta de que pudieran existir algunas relaciones entre la acción de la peptona y la toxicidad de la histamina, sino que se mantuvieron en la teoría de la peptona fundada por ellos y por DE WAELE; pero se vieron forzados a interpretar esta teoría en forma modificada que pusiera de acuerdo lo que se sabía de la naturaleza de la peptona Witte con las causas de su efecto peculiar.

En aquella época se sabía que la peptona Witte era una mezcla de sustancias de composición variable [W. WEICHARDT (1910)], que se obtenía por digestión péptica de fibrina de bovino. Como componente activo de ella se consideraba la vasodilatina de POPIELSKI, que se suponía producida por la digestión péptica o tripsica de proteína, y que, incluso a dosis muy pequeñas, provoca una reducción de la presión sanguínea y de la coagulabilidad de la sangre. BIEDL y KRAUS

pensaron inicialmente que la relación entre la anafilaxia y el envenenamiento por peptonas se debe a un precursor de la vasodilatina que circula por la sangre de animales preparados por vía activa o pasiva, que procede del antígeno del tratamiento previo y que se transforma por la inyección desencadenante en vasodilatina terminada. Pero esta hipótesis, apenas nacida hubo de ser abandonada, porque estaba en contradicción con varios hechos bien establecidos, ante todo con el de la especificidad de la anafilaxia, imposible de poner de acuerdo con la concepción de una vasodilatina unitaria; pero también porque la formación de una sustancia con funciones de anticuerpo a partir del antígeno, que se había propuesto con frecuencia como solución más cómoda del problema de la formación de anticuerpos, hubo de ser abandonada como insostenible, punto que no debe pasarse por alto al enjuiciar los trabajos de BIEDL y KRAUS.

C. F. CODE (1944) considera las publicaciones de BIEDL y KRAUS y las de DALE y LAIDLAW como punto de partida de una nueva época en la investigación de las reacciones anafilácticas, porque introducen, como nuevo principio, la formación de sustancias químicamente tóxicas como agentes intermediarios de los efectos patológicos observados. Esto puede aplicarse hasta un cierto grado a DALE y LAIDLAW, pero no a BIEDL y KRAUS, porque el efecto de la peptona no fué descrito por primera vez por ellos, sino por DE WAELE. El autor de esta monografía fué combatido violentamente por BIEDL y KRAUS, acusándole de haber establecido la prioridad de DE WAELE en su artículo del tratado "Allergie und Anaphylaxie" (1913), con el propósito de mermar su aportación; ellos (BIEDL y KRAUS) no habían conocido el trabajo de DE WAELE. Lo que, naturalmente, era cierto. Treinta años después, W. FELDBERG (1941) ni G. F. CODE tampoco manifiestan conocer los trabajos de DE WAELE. Pero yo sí los he leído, y, como en 1913, considero mi deber poner en claro el verdadero estado de cosas, de acuerdo con los principios de la ciencia admitidos generalmente [véase a este respecto WIEDL y KRAUS (1913) y R. DOERR (1913 a)].

El problema del envenenamiento por peptona volvió a la palestra después de largo período de latencia. Los hechos de la acción de la peptona ya no podían ser motivo de discrepancia, pero se han entendido como réplica a la teoría de la histamina en distintos aspectos. Se impugnaron los datos de DALE y LAIDLAW de que la acción de la peptona pueda atribuirse a su contenido de histamina. Es cierto que posteriormente se ha deducido que la vasodilatina de POPIELSKI no era sino histamina, y que ésta puede existir en gran cantidad en la peptona

Witte; pero ha podido señalarse que no puede ser el factor activo responsable de la acción genuina de la peptona. Por ello se han vuelto a estudiar recientemente los procesos del choque de peptona y se ha deducido que la inyección intravenosa de peptona al perro normal tiene como consecuencias una segregación de histamina en la sangre [C. A. DRAGSTEDT y F. B. MEAD (1937)], una reducción del contenido de histamina en el hígado [C. A. HOLMES, G. OJERS y C. A. DRAGSTEDT (1941)], una liberación de heparina [A. J. QUICK (1936), E. T. WATERS, J. MARKOWITZ y L. B. JACQUES (1938)] y un descenso considerable del número de trombocitos [A. J. QUICK, R. K. OTA y J. D. BARANOVSKY (1946)], fenómenos que también pueden descubrirse en el choque del perro. El conejo reacciona a la inyección intravenosa de peptona con una reducción de histamina en la sangre y con trombocitopenia, es decir, también con alteraciones que caracterizan al choque anafiláctico de esta especie, e, *in vitro*, los leucocitos de conejo ceden histamina si se deja actuar sobre ellos peptona [F. R. GOTZL y C. A. DRAGSTEDT (1942)]. Resulta dudoso que porque todos estos efectos sean iguales en el choque anafiláctico y en el choque inducido por peptona, pueda deducirse que ambos posean el mismo mecanismo, ya que se producen de modo totalmente distinto, a saber: uno se origina por una reacción antígeno-anticuerpo, y otro, por un producto de demolición tóxico procedente de la digestión de proteínas. Sólo está justificado sacar la conclusión de que la peptona actúa dañando células que posean histamina, y que debe incluirse entre la lista, cada vez más larga, de agentes capaces de liberar por este motivo histamina de su enlace intracelular.

Volvemos después de este rodeo al tema, propio de este capítulo, de la liberación de histamina por enzimas proteolíticas.

M. ROCHA E SILVA se unieron a las investigaciones de W. FELDBERG y C. H. KELLAWAY acerca de la acción de librar histamina ejercida por los venenos de serpiente y de abeja. Investigaciones propias [ROCHA E SILVA (1939, 1939 a, 1940, 1940 b)] le llevaron al convencimiento de que la liberación de histamina por estos venenos animales sólo puede entenderse por completo si se considera el hecho de que despliegan una acusada acción proteolítica. Pues ha podido señalarse que las proteasas del tipo de la tripsina son capaces de ejercer acciones farmacodinámicas que no se distinguen de las de los venenos de serpiente y del de abeja. Así, si se introduce tripsina en los pulmones de un cobayo, se libera histamina [ROCHA E SILVA (1939, 1940, 1940 b)], liberación que pronto fué confirmada por M. R. ARELLANO, A. H. LAUWTON y C. A. DRAGSTEDT (1940) y extendida, por experimentos

en perro, a otro animal de experimentación, ya que se pudo apreciar que la inyección intravenosa de tripsina tiene como consecuencia, en el perro, una exaltación considerable de la concentración de histamina en sangre. Esta histamina debe proceder del hígado, porque el examen de este órgano informa que su contenido normal de histamina se reduce por el choque tripsico a 6-10 mg. G. OJERS, C. A. HOLMES y C. A. DRAGSTEDT (1941) observaron que se produce una reducción semejante del depósito de histamina en el hígado a consecuencia del choque anafiláctico del perro. Además, con ayuda de la prueba de Schultz-Dale, ROCHA E SILVA (1941) comprobaron que la tripsina estimula la contracción de la musculatura lisa de mamíferos (intestino de cobayo, útero de cobayo, intestino de conejo, de gato y de perro, útero virgen de ratas e intestino de ratón), debiendo señalarse que la tripsina (como los venenos de serpiente y el de abeja) contrae el útero virgen de rata, sobre el que no actúa la histamina. Además, aplicando la misma técnica se observó un interesante fenómeno de desensibilización. Después de haber provocado una contracción en el útero virgen de cobayo sensibilizado por el antígeno a concentración no muy alta, la acción reiterativa de la misma cantidad de antígeno, como es sabido, no consigue ya resultado positivo; el órgano así tratado no ofrece, en cambio, comportamiento refractario frente a una pequeña dosis de tripsina. Cuando se procede a la inversa y el útero se somete a pequeñas dosis de tripsina, no se aprecia pérdida de la capacidad de reacción del órgano para el antígeno. Esta imposibilidad de una desensibilización cruzada con el antígeno frente a tripsina, y recíprocamente, se ha podido establecer también en el conejo *in vivo*. Es cierto que los conejos preparados por vía activa con un antígeno se desensibilizan difícilmente, y que cuando están bien sensibilizados reaccionan con un choque en el cual el comportamiento refractario contra el antígeno no puede descubrirse, naturalmente, con el único índice de la caída de presión sanguínea. Sin embargo, ROCHA E SILVA (1940 a) han señalado que pueden vencerse los dos impedimentos experimentales. Al inyectar intravenosamente el antígeno a un conejo sensibilizado, cae su presión sanguínea, y cuando se le seccionan los dos vagos, recupera rápidamente la altura inicial; en este momento una segunda inyección del antígeno resulta inoperante. Además, ROCHA E SILVA (1939 a, 1940) había descubierto que en conejos normales puede lograrse cierta desensibilización frente a la tripsina por la acción repetida de pequeñas cantidades de tripsina. Si establece en un conejo sensibilizado este estado de relativa resistencia a la tripsina, el animal reacciona al antígeno con intensidad no disminuida, y si

en el choque anafiláctico se seccionan ambos vagos, y de este modo se consigue tanto restablecer la presión sanguínea normal como dejar sin efecto una nueva administración de antígeno, en cambio, un miligramo de tripsina provoca un descenso de la presión sanguínea que puede llevar a la muerte. ROCHA E SILVA deduce de estos resultados experimentales que (aparte de otras posibilidades) el punto de ataque de ambas sustancias no puede ser idéntico, testimonio que, a pesar de su modo de estar expuesto, aparece lleno de sentido no muy frecuente entre los partidarios de la teoría del veneno.

Los experimentos hasta aquí expuestos que conciernen a la movilización de histamina por tripsina pueden revisarse con relativa facilidad en lo que respecta al planteamiento de los problemas y a la evaluación de los resultados; pero en los posteriores se plantearon un cúmulo de nuevos problemas y una ramificación imprevisible al principio en un camino que tiende a una meta única. El autor se considera incapaz de someter este "embrollo de hechos" a una exposición ordenada. Con esta reserva haremos valer los siguientes datos:

ROCHA E SILVA siguió en un principio el camino que le marcaban los trabajos de S. ELDEBACHER, P. JUCKER y H. BAUR (1937) y D. A. ACKERMANN y W. WASMUTH (1939, 1939 a), de los que se deduce que ciertos aminoácidos (arginina e histidina) actúan antagónicamente, por una parte, frente a la acción de la histamina sobre los músculos lisos y, por la otra, frente a la acción estimulante de la contracción ejercida por el antígeno al actuar sobre tejidos sensibilizados. De estos hechos, D. ACKERMANN (1939) había deducido la conclusión de que la histamina debía ser el agente químico intermediario de la contracción anafiláctica del cobayo. Esta conclusión, de ningún modo libre de objeciones, se intentó utilizar por ROCHA E SILVA en unión de DRAGSTEDT y ESSEX [ROCHA E SILVA y DRAGSTEDT (1941), DRAGSTEDT y ROCHA E SILVA (1941), ROCHA E SILVA y H. E. ESSEX (1942)] en favor de la tesis de la liberación de histamina por tripsina, pero se vieron forzados a una notable limitación. A saber, entretanto C. H. KELLAWAY y E. R. TRETHERWIE (1940) habían llegado al convencimiento de que la reacción anafiláctica de los músculos lisos podía desdoblarse en dos componentes: en una acción inmediata causada por liberación de histamina y en otra lenta provocada por la liberación de una sustancia probablemente análoga que actúa con más lentitud (*slow reacting substance*). Posteriormente TRETHERWIE (1942) comunicó que la *slow reacting substance* podía obtenerse por perfusión del hígado de conejo. Pero como la arginina

y la histidina pueden paralizar *in vitro* la reacción del intestino de cobayo, tanto frente al antígeno como frente a tripsina, parece justificada la conclusión de que estos aminoácidos también poseen valor como antagonistas de la *slow reacting substance*.

Pero se publicaron también investigaciones que no podían ponerse de acuerdo con la concepción de que el efecto de la tripsina se deba exclusivamente a que este enzima libera histamina, y que la tripsina sólo sea como un veneno mediato del choque. Así, J. A. WELLS, H. C. MORRIS y C. A. DRAGSTEDT (1946) observaron que el Benadril, que hace inofensiva histamina inyectada o liberada actuando como poderoso antagonista de ella, es incapaz de debilitar la acción letal de la tripsina sobre el cobayo o el perro. Los autores citados llegaron a la conclusión de "that the histamine hypothesis, relative to the toxicity of trypsin, requires reconsideration". En el mismo trabajo enfocaron correctamente otro hecho antes aceptado crédulamente, a saber: la elevación del nivel de histamina en la sangre del perro a consecuencia de un choque de tripsina. La errónea observación se debía a un método de valoración de histamina sin poder demostrativo, a la denominada reacción del azul tripan, y al número insuficiente de experimentos. Pero hay que rechazar tales resultados o modificarlos en el sentido de que las cantidades de histamina obtenidas por perfusión del hígado del perro con una disolución de tripsina son muy pequeñas, aunque la duración de la perfusión se eleve de treinta a cuarenta y cinco minutos. Además observó que la histamina liberada por la perfusión del pulmón aislado de cobayo con disolución de tripsina no puede tener importancia para la toxicidad de la tripsina para el cobayo intacto, porque en el cobayo muerto de choque por tripsina no se observan las alteraciones características de los pulmones que causa la histamina. Sólo restan, pues, opinan WELLS, MORRIS y DRAGSTEDT, las acciones de la tripsina sobre la sangre de conejo *in vitro* e *in vivo* que pudieran aún defender la hipótesis de la histamina; en suma, todas las observaciones (recogidas aquí sucintamente) hablan en favor de que la histamina no puede tener importancia esencial para la toxicidad de la tripsina. Añádase aún que la tripsina no provoca en el perro cesión de heparina [H. J. TAGNON (1945)], lo que no podría suceder si la tripsina actuara exclusivamente, o incluso sólo predominantemente, por histamina liberada.

La comunicación de J. A. WELLS y colaboradores, a los que pertenecía también C. A. DRAGSTEDT, acepta, como ya se expuso, un punto de vista que supone una inequívoca repulsa de la idea de

ROCHA E SILVA de que la acción de la tripsina deba atribuirse a su propiedad de liberar histamina. Pero ROCHA E SILVA, como enseñan sus ulteriores publicaciones, no abandonó su *leit motiv* y siguió esforzándose en aportar pruebas experimentales en su apoyo. Descubrió, en primer lugar, que la cesión de histamina que puede desencadenarse por la perfusión de órganos con distintos agentes depende de si el agente se introduce en los vasos utilizando como vehículo disolución de Tyrode o sangre. Y así, la tripsina en disolución de Tyrode es capaz de liberar histamina del hígado aislado de perro, aunque sólo en pequeña cantidad (de acuerdo con las investigaciones citadas de J. A. WELLS y colaboradores), mientras que la peptona, el extracto de ascáridos o el antígeno (en el caso de que el hígado proceda de un perro preparado por vía activa) exigen que sea sangre el líquido de perfusión [ROCHA E SILVA y A. GRANA (1946), ROCHA E SILVA (1946)]; a este fin, la sangre se protegió de la coagulación con el empleo de silicón de L. B. JACQUES y colaboradores, que deja íntegros los componentes formes de la sangre. La necesidad de la cooperación de la sangre para que actúen determinados agentes sobre el animal intacto o sobre los órganos perfundidos [ROCHA E SILVA, A. E. SCROGGIE, E. FIDLAR y L. B. JACQUES (1947), E. FIDIAR y E. F. WATERS (1946)] trajo el recuerdo de trabajos anteriores de G. KATZ (1940-41) y G. KATZ y S. COHEN (1941) y dieron ocasión para que ROCHA E SILVA dirigiese la atención sobre el papel de las plaquetas. La investigación histológica de hígados perfundidos con peptona más sangre en silicón, indica que en el parénquima los trombocitos se encuentran en distintos estadios de desintegración y que el grado de la perturbación de estos elementos guarda cierta relación con las cantidades de histamina y heparina que había movilizad desde el tejido hepático la perfusión del órgano. Por el contrario, si se utiliza como medio para la perfusión sangre vuelta incoagulable por heparina no se libera histamina o se libera poca cantidad de ella y las plaquetas no revelan ninguna alteración. Como las plaquetas, según N. K. JYENGAR (1942) contienen una quinasa para la tripsina del plasma, ROCHA E SILVA, en unión de R. M. TEXEIRA (1946) adujeron la hipótesis de que por la desintegración de tales células se activa un enzima proteolítico, con mucha probabilidad tripsina, que, a su vez, causa alteraciones celulares que, en último, término, facilitan la cesión de histamina y heparina.

M. DA SILVA [W. O. CRUZ y M. DA SILVA (1949)] vuelven a considerar de otra forma el papel de los trombocitos. Apoyándose en

trabajos anteriores, CRUZ y DA SILVA, por inmunización de conejos con trombocitos de perro, cobayo y rata, obtienen sueros antitrombocitos; se preparó un antisuero contra trombocitos de conejo por inyecciones intraperitoneales a cobayos. Grandes dosis de este antisuero, inyectadas intravenosamente, provocan en todos los animales contra cuyos trombocitos está dirigido síntomas de choque anafilactoideos, que, según la especie del animal de experimentación, terminan en muerte en distintos tantos por ciento de casos; y, por otra parte, en los animales que sobreviven al choque se observa el cuadro típico de una púrpura experimental debida a la desintegración de las plaquetas. De ello se dedujo que el choque anafilático, el choque por tripsina o el choque por peptona, así como la púrpura experimental parecen tener un mecanismo común. Siempre "parece". No obstante, en este caso parece haber alcanzado un máximo la tentativa de deducir una patogénesis idéntica apoyándose en los síndromes patológicos, aunque sólo ofrezcan semejanzas no muy claras. Además, ROCHA E SILVA, todo cuyo esfuerzo se concentraba para demostrar el papel dominante de la histamina, incurría en contradicción consigo mismo. Pues la rata, en las pruebas descritas, no reacciona de ningún modo con menos intensidad que otro animal experimental (de siete ratas, cinco murieron en choque y dos presentaron síntomas de púrpura), y a la rata no puede aplicarse la teoría de la histamina [R. DOERR (1950, pág. 137 y sigs.)]. En el mismo año apareció un segundo trabajo sobre los efectos de los sueros antitrombocitos, cuyos resultados objetivos confirmaban los de V. O. CRUZ y M. DA SILVA [H. MOUSTACHE y V. O. CRUZ (1940)]. Pero se señala en él que el choque provocado en el perro por suero antiplaquetas transcurre sin que se altere el nivel de histamina en la sangre, mientras que el choque por peptona o por tripsina del perro va acompañado de un aumento de la histamina en sangre, lo que imposibilita el intento de CRUZ y M. DA SILVA de incluir en un solo grupo todas las formas de choque.

Otro aprecio merecen los experimentos de ROCHA E SILVA y M. ANDRADE (1943), en los que fraccionaron a pH 7,3—7,5 papaína (mezcla de fermentos proteolíticos) y demostraron que la capacidad de liberar histamina de los tejidos marcha paralelamente con la capacidad de desdoblar la benzoil-l-arginín-amida. Como la tripsina, según investigaciones de ROCHA E SILVA, por una parte, también libera histamina y, por otra parte, parece adaptada específicamente

a las benzoil-l-arginín-amida y benzoil-l-lisin-amida, ROCHA E SILVA adquirió la convicción de que la histamina de la célula viva está combinada, en su mayor parte, a arginina o lisina y que puede liberarse por un fermento de la misma especificidad de acción. Esta

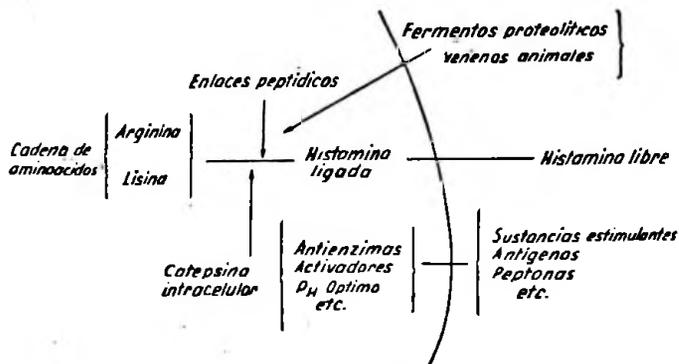
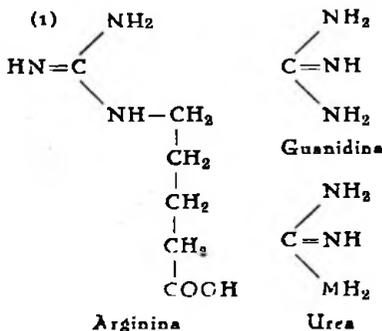


Fig. 5.—Reacciones en cadena que pudieran participar en el proceso de liberación de la histamina. Según ROCHA E SILVA, J. of Allergy, 15, 399 (1944).

opinión fué consolidada por el hecho de que la quimotripsina, que no puede atacar las amidas citadas, también se ve privada casi totalmente de la capacidad de liberar histamina de los tejidos. Si estas concepciones se extienden al sistema de las catepsinas intracelulares, se llega a la conclusión de que probablemente la catepsina II es la que libera histamina; si puede admitirse una activación intracelular de la catepsina (el substrato específico para la catepsina II, según FRUTON, IRVING y BERGMANN (1941), es la benzoil-l-arginin-amida o la benzoil-l-lisin-amida. Estos hechos y consideraciones han sido condensados por ROCHA E SILVA (1942) en el esquema que reproducimos que intenta esclarecer las combinaciones posibles de la histamina con las proteínas celulares y las reacciones en cadena que pudieran participar en la liberación de histamina. El esquema distingue entre dos grupos de sustancias liberadoras de histamina, a saber: 1, las que actúan indirectamente por activación de catepsinas celulares, y 2, enzimas proteolíticos y venenos animales que actuarían directamente soltando los enlaces peptídicos de la histamina con las proteínas celulares. ROCHA E SILVA era consciente del carácter hipotético de este esquema, como se deduce del modo de designarlo en el pie del esquema, que traducimos directamente.

Ya se ha señalado en otro lugar (véase pág. 39) que ROCHA E

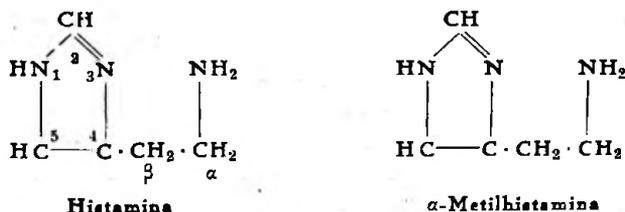
SILVA se ha apoyado en los trabajos de S. EDLBACHER y colaboradores y en los de D. ACKERMANN. Sería conveniente, por tanto, en conexión con lo anterior, recordar un intento interesante de relacionar la toxicidad de la histamina con su constitución química, en el que también intervino ROCHA E SILVA. Resumiremos que EDLBACHER, JUCKER y BAUR habían demostrado que algunos aminoácidos (arginina, histidina y cisteína) son capaces de paralizar la acción de la histamina sobre el intestino aislado del cobayo. D. ACKERMANN y W. WASMUTH (1939) confirmaron estos datos, y ACKERMANN (1939), después de extensas investigaciones en los derivados de la arginina, llegó a la conclusión de que el radical guanidilo (1) que existe en la molécula de arginina parece ser el responsable de su acción antagónica. Por ello admite ACKERMANN que el grupo imino de la arginina y del anillo imidazólico de la histidina pudiera concurrir con el grupo =NH del anillo imidazólico de la histamina. Si se añade un gran exceso de arginina o de histidina al baño en que se encuentra el intestino del cobayo, la histamina no tiene posibilidad de combinarse con los receptores de la musculatura lisa ya saturados, ni, por tanto, de desplegar su estímulo típico. Ahora bien, si se hace responsable a una estructura parcial de la histamina, a saber: al resto imino =NH del anillo imidazólico, de su anclaje al músculo liso, esta misma estructura no puede ser la responsable de la toxicidad; de hecho, esta estructura aparece también en la fórmula de la histidina y en la de la arginina inocuas (véanse las fórmulas en la nota al pie de esta página y en la página 25); debe buscarse en la cadena lateral y concretamente en el grupo amino —NH₂. Es cierto que éste existe también en la histidina y en la arginina, pero inactivado por estar bloqueado por el grupo carboxilo; la histamina venenosa

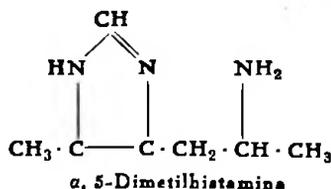
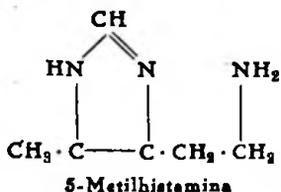


La arginina resulta de la introducción de la guanidina en el ácido aminovaleriánico. La guanidina se obtiene sustituyendo en la urea el átomo de oxígeno por un resto imina.

procede de la descarboxilación del aminoácido inocuo histidina. Si de hecho las dos funciones de la histamina (la capacidad de anclarse en receptores de la célula y las consecuencias tóxicas de este anclaje) radicaran en dos soportes químicos distintos, se abrirá la posibilidad de separarlos de modo que el receptor de la célula permaneciera intacto y se bloqueara, en cambio, el grupo toxóforo. Como resultado se obtendrían combinaciones químicas que, asemejándose mucho por su constitución química a la histamina, serían inocuas e impedirían la acción farmacodinámica de la histamina; sustancias que habría que incluir en el grupo de histamínicos. ROCHA E SILVA (1949) ensayaron cinco combinaciones de histamina con aminoácidos que llenaban los postulados de ausencia de toxicidad y de propiedades antihistamínicas; a saber: acetil-dehidrofenilalanina-histamina, carbobenzoxi-l-tirosil-histamina, benzoil-l-tirosil-histamina, acetil-dl-fenilalanil-histamina y carbobenzoxi-l-leucil-histamina. Estas sustancias, sintetizadas para este fin, son combinaciones de histamina con aminoácidos en las que continúa libre el anillo imidazólico con el grupo =NH, pero se bloquea el grupo amino —NH₂, toxóforo, copulándolo con el carboxilo de un aminoácido. Las cinco combinaciones probadas en el intestino de cobayo desplegaron un efecto antihistamínico de la misma magnitud que el de los derivados de arginina o el del clorhidrato de histidina. Y aunque, efectivamente, el grupo por el que se enlaza la histamina (grupo haptóforo) fuera muy independiente del toxóforo, de ser ciertas las concepciones aquí desarrolladas no sería posible invertir la relación expuesta, porque el anclaje a los receptores de la célula habría de ser la condición necesaria para que actuara el grupo toxóforo. También se ha confirmado esta consecuencia inmediata de la teoría.

G. A. ALLES, B. B. WISGRAVER y M. A. SHULL (1943) obtuvieron tres derivados de la histamina que se diferencian de ella por la introducción del grupo metilo en determinados lugares:





Las cuatro sustancias estimulan las contracciones de tiras de intestino delgado de cobayo; pero el efecto de los derivados metilados en α y en 5 resultan 100 a 300 veces más débiles que los de la histamina, y la acción del derivado dimetilico en α -5 es aún menor. El efecto reductor de la presión sanguínea en el perro que provoca la histamina es 100 veces más fuerte que el ejercido por cada uno de los derivados monometílicos y 1.000 veces más intenso que el de la α -5-dimetil-histamina. Al investigar el efecto sobre tiras de intestino delgado de conejo y de ratón, tanto la histamina como sus derivados metílicos resultaron relativamente inactivos.

Finalmente, ROCHA E SILVA estudió la intensidad de los efectos antihistamínicos de algunas combinaciones de arginina, y los ordenaron según la siguiente serie:

Benzoil-l-arginin-amida = monocloruro de histidina = derivados de la histamina > benzoil-l-arginina > monocloruro de arginina > ácido arginínico.

De ello se deduce que por bloqueo de los grupos —NH_2 en α o de los grupos —COOH , o de ambos, el efecto antihistamínico de las combinaciones de la arginina se refuerza hasta un determinado máximo probablemente porque el grupo imino =NH , que cuida del anclaje a los receptores de la célula, conserva por entero tal capacidad hasta la saturación de los receptores. También esto apoya la hipótesis de D. ACKERMANN (1939), según la cual el anclaje de la histamina a los receptores de los músculos lisos se efectúa por el resto imino =NH del anillo imidazólico, y, como consecuencia ulterior de esta hipótesis, que la función haptófora y la toxófora de la histamina radican en dos estructuras distintas de la molécula.

Se intentó extender al animal intacto los resultados obtenidos en el intestino del cobayo, pero con resultados poco satisfactorios, ya que fué necesario inyectar de 50 a 100 g. de arginina por vía intravenosa para proteger un cobayo de 400 a 500 g. de una dosis mortal de histamina. Según esto, el cociente entre la arginina con acción antihistamínica y la histamina es de 250.000 : 1. También se inves-

tigó el efecto antihistamínico en perro intacto, sin buenos resultados. ROCHA E SILVA (1944), al comunicar estos experimentos, opina que parece improbable que la arginina pueda adquirir importancia para el tratamiento de las enfermedades alérgicas, porque habría que inyectarla a enormes dosis para lograr un efecto antagónico sobre las pequeñas cantidades de histamina liberada de los tejidos. Ahora bien, si perseguía un fin terapéutico, hubiera sido más racional comenzar con pruebas en animal intacto; si se hubiera emprendido este camino, la teoría aquí discutida no hubiera tenido ocasión ni de nacer, ya que se apoya exclusivamente en una prueba, a saber: en el comportamiento del intestino del cobayo, error a que cooperó la sobrevaloración del experimento de SCHULTZ-DALE, y en el que incurrió una vez más D. ACKERMANN (1939).

ACKERMANN afirmó, por ejemplo, que el intestino de un cobayo sensibilizado con suero de otra especie no podía contraerse por la adición del antígeno si al baño en que estaba el intestino suspendido se había adicionado previamente arginina, histamina o espermina, o si se dejaban actuar simultáneamente el suero y la arginina. Según dicho autor, la adición de arginina alcanza también a detener a medio camino la contracción desencadenada por el suero, lo que consideró una prueba especialmente convincente de la participación de la histamina en el choque anafiláctico. Sin embargo, esta demostración se limita exclusivamente a un ensayo muy determinado, que de ningún modo puede considerarse equivalente a la reacción anafiláctica de un organismo animal. Esto vale tanto para el experimento en intestino de cobayo como para el ensayo según SCHULTZ-DALE en cuerno de útero de cobayo. El hecho de que el útero de un cobayo sensibilizado reaccione con contracción al contacto del antígeno, no implica necesariamente que el animal mismo reaccione con el síndrome anafiláctico a una inyección desencadenante del antígeno, y recíprocamente. En el caso expuesto, el antagonismo de la arginina frente al contacto del antígeno sólo se apreció en la prueba sobre el intestino del cobayo, poco apropiada para conclusiones cuantitativas, ya que en el cobayo intacto no ha podido observarse, como dijimos antes, el efecto protector de la arginina. Además, ACKERMANN, después de que el intestino del cobayo sensibilizado hubo reaccionado al contacto del antígeno, lo lavó varias veces con disolución templada de Tyrode, y observó que no reaccionaba a la adición del antígeno, pero sí a la de la histamina. "Según esto, la reacción anafiláctica incluye la reacción de la histamina, pero no recíprocamente." También esta afirmación sólo es correcta de modo muy condicionado,

porque un mismo órgano, por ejemplo, el útero sensibilizado del cobayo, puede llevarse a contracción varias veces por el antígeno [COCA y KOSAKAI (1920), WALZER y GROVE (1925), R. DOERR (1933)]. Sólo depende de la dosificación y del objeto que se ensaya; es sabido que el intestino de cobayo pierde fácilmente su reactividad anafiláctica.

En lo sucesivo no se fué tan unilateral al apreciar los antihistamínicos, tanto en lo que respecta a su valor práctico para combatir los síntomas de las enfermedades alérgicas como en el aporte de argumentos experimentales en favor de la posibilidad de su aplicación terapéutica. Casi simultáneamente, y en parte hasta algo antes que los trabajos de EDLBACHER y colaboradores y los de D. ACKERMANN, aparecieron publicaciones como la de D. BOVET y A. M. STAUB (1937), A. M. STAUB (1939), S. R. ROSENTHAL y D. MINARD (1939) y otros, que intentaban consolidar el antagonismo de preparados recomendados como antihistamínicos, apoyándolo en una experimentación múltiple, en especial en el impedimento del choque anafiláctico del conejo, y, ante todo, del cobayo. Pero en esta nueva dirección, exigida especialmente por la industria farmacéutica, se tropezó con una nueva contradicción entre la previsión teórica y los resultados experimentales. Los antihistamínicos sintéticos, tal y como exigía el problema planteado, se ensayaron cuantitativamente en dos respectos; por una parte, en su capacidad de actuar antagónicamente frente al envenenamiento por histamina, y en segundo lugar, por su actividad antianafiláctica en el experimento de anafilaxia activa. Como animales de experimentación se utilizaron casi exclusivamente cobayos. Se observó la contradicción siguiente: la capacidad de paralizar el envenenamiento por altas dosis de histamina varía entre amplios límites de un antihistamínico a otro, en tanto que la acción antianafiláctica resulta independiente del tipo de antihistamínico, es decir, es constante. En lugar de sacar la conclusión lógica de que la equiparación de la reacción anafiláctica con un envenenamiento por histamina no puede ser correcta o sólo serlo parcialmente, se recurrió de modo arbitrario y singular a la hipótesis auxiliar de que en el choque anafiláctico siempre se moviliza una única dosis letal de histamina, y que por ello no puede compararse la capacidad antianafiláctica con la de neutralizar varias dosis letales de histamina [S. FRIEDLÄNDER, S. M. FEINBERG y A. R. FEINBERG (1946), J. M.

ROSE, A. R. FEINBERG, S. FRIEDLÄNDER, S. M. FEINBERG (1947)] (1). Ahora bien, la necesidad de recurrir a tales hipótesis no demostradas o demostradas a medias es precisamente lo que descubre la debilidad de toda teoría. BR. ROSE (1947, pág. 547) escribe precisamente: "*It must be emphasized at the outset, that the histamine theory does not pretend and never claimed to reduce all the manifestations of the antigen-antibody reaction to histamine effects*", y cita en apoyo el artículo de conjunto de W. FELDBERG (1941) *Histamine and anaphylaxis*. Sin embargo, al leer cómo FRIEDLÄNDER, así como J. M. ROSE y colaboradores intentan explicar el hecho de que la actividad anafiláctica de los antihistamínicos sintéticos no coincida con su capacidad de actuar como antagonistas en el envenenamiento por histamina, hay que dudar de que se guarde siempre la reserva prescrita. Por lo demás, aún se observan otras diferencias entre el choque anafiláctico y el envenenamiento por histamina. Por ejemplo, un elevado tanto por ciento de cobayos se protege contra las consecuencias inmediatas del choque anafiláctico por la inhalación de un aerosol de Piribenzamina, pero algunos cobayos mueren dentro de las veinticuatro horas siguientes por cualquier otra razón [R. L. MAYER, D. BROUSSEAU y P. C. EISMAN (1947)]; la misma dosis de Piribenzamina protege al cobayo totalmente contra 15 dosis letales de histamina. La papaverina protege al 53 por 100 de los cobayos del choque anafiláctico, pero no puede detener el envenenamiento agudo por histamina [E. D. FRANCK (1946)]. Y en estos dos casos se compararon entre sí las acciones anafilácticas y de envenenamiento por histamina sobre el animal, y no como en las investigaciones ya mencionadas sobre arginina y derivados de arginina, histidina, espermina, donde resultaba imposible esta comparación, y sólo se efectuaron experimentos en intestino aislado del cobayo; vuelve aquí a comprobarse la inseguridad que forzosamente han de tener los resultados obtenidos por un método de trabajo orientado tan unilateralmente, porque tal método dió, en las pruebas de ROCHA-E SILVA y de D. ACKERMANN, una gran concordancia entre anafilaxia y envenenamiento de histamina, mientras que la investigación en el animal vivo descubrió diferencias fundamentales, por lo menos en el sentido de que en el choque anafiláctico, además de la liberación de histamina, debe jugar un papel decisivo otro proceso de esencia distinta. El estudio comparativo de los antihistamínicos pudiera revelar aún probablemente otras dife-

(1) No tiene gran importancia una investigación de ST. MARCUS (1947) efectuada en Piribenzamina y Benadril.

rencias. Por último, tal vez no sea tan extraviada como a primera vista pudiera parecer la idea de por qué no habría de provocar la histamina misma una segregación de histamina de los tejidos como la provoca la reacción celular antígeno-anticuerpo. Según las concepciones dominantes en la época, los puntos de ataque de ambos estímulos son idénticos, y por ello pudieran igualarse entre sí las consecuencias del estímulo en lo que respecta también a la movilización de la histamina celular, especialmente si se adopta el punto de vista de que en la célula reaccionante existe la histamina ya como tal, aunque ligada, y que no hay que postular un proceso fermentativo intermedio que la transforme en la fase libre con actividad farmacodinámica. BR. ROSE (1942) estableció, sin embargo, que en el hombre la inyección de histamina puede provocar el síntoma característico del envenenamiento por histamina sin que suba la concentración de histamina en la sangre. Pero en la problemática de los fenómenos biológicos no nos interesa un simple "que", sino, en primera línea, el "por qué". Por este motivo, si en las investigaciones citadas de ROSE hemos de admitir que el envenenamiento por histamina no está vinculado a un aumento, sino a una reducción de la histamina de la sangre, siempre quedaría aún por resolver el problema de por qué sucede así, de un modo tan claramente opuesto a la previsión teórica. ROSE (1947) opina que no debe sorprendernos, porque en una serie de otros fenómenos, por ejemplo, en el choque anafiláctico del conejo, de la ternera y del caballo, se aprecia también una fuerte reducción de histamina en sangre. Pero hay que decir a continuación (véase página 16 y siguiente) que no está explicada la caída de la histamina en el choque anafiláctico del conejo: por remitirse a este hecho no se aporta luz para esclarecer la reducción de la histamina de la sangre a consecuencia de un envenenamiento por histamina; no se hace sino poner uno junto a otro dos fenómenos idénticos, pero analizados ambos de modo igualmente insatisfactorio.

No hemos de discutir aquí el valor para la práctica terapéutica de los antihistamínicos. La industria química-farmacéutica se cuida de hacerlo de modo superabundante en lo que respecta a su fundamento experimental, y aún mucho más en dirección propagandística y mercantil. No debe prestarse crédito excesivo a los testimonios de pacientes. El paciente está sujeto en alto grado a autosugestiones, y no sólo en lo que respecta a los estímulos que provocan sus ataques (lo que es bien sabido), sino también (y a esto no se presta atención) con respecto a la eficacia de un preparado que le haya sido recomendado. El engaño de sí mismo por parte del enfermo, y por parte del

médico el extravío por confiarse en el paciente, resultan sin duda en este campo aún mucho más frecuentes que en otro cualquiera del ejercicio de la medicina.

Prosiguiendo con el tema de la liberación de histamina a partir de las células tisulares, se piensa inmediatamente en los experimentos de G. UNGAR y J. L. PARROT (1936), porque estos autores se sirven de un método que, a continuación, se ha utilizado repetidas veces. El trozo de intestino aislado de un cobayo normal se suspende en un recipiente que contiene disolución templada de Tyrode con trozos del pulmón de un cobayo sensibilizado con suero de caballo. Si se añade el suero de caballo, se contrae violentamente el intestino después de un breve período de latencia, lo que pudiera ser atribuido a la cesión de histamina por los fragmentos de pulmón.

H. O. SCHILD, cuyos trabajos, ya mencionados de pasada en la página 15, se expondrán ahora por extenso, ha investigado el proceso de la liberación de histamina no sólo en el animal sensibilizado intacto y en órganos de estos animales perfundidos con antígeno, sino también en pequeños trozos de tejido situados en disolución de Tyrode templada. El antígeno (ovoalbúmina) se añade a la disolución, y a los diez minutos determina SCHILD (1937, 1939) el contenido de histamina en la disolución, que varía entre 0,5 y más de 3 γ por gramo de tejido. Obtuvo resultados positivos con la aorta aislada, con el útero, con fragmentos de tejido pulmonar y hepático de cobayos sensibilizados, y, análogamente, con la vesícula seminal, con el esófago, con el corazón, con la vejiga urinaria y con la piel. En cambio, con el intestino, rico de histamina, el cobayo no pudo descubrir prácticamente liberación de histamina, lo que SCHILD intenta explicar, de modo no enteramente satisfactorio, admitiendo que el intestino es particularmente sensible a la histamina y que reacciona a cantidades de histamina que se encuentran por debajo del umbral de diagnosis de la sustancia (0,05 γ por gramo). En todo caso, de las investigaciones de SCHILD se deduce que el contenido de histamina en un tejido no está en proporción con la cantidad de histamina que pudiera haberse liberado de él por una reacción antígeno-anticuerpo, de modo que, en una primera consideración grosera del estado del asunto, podría pensarse en una distinción entre histamina movilizable y no movilizable. SCHILD descubre además que la cesión de histamina se prolonga a temperaturas bajas y que, al parecer, se produce en dos fases: la primera, que transcurre en los primeros segundos después del contacto con el antígeno, perfecta y ligada a temperaturas altas, quizá deba referirse a la eliminación efectiva de histamina por las células,

y la segunda, que transcurre con mayor lentitud y que también se produce a temperaturas bajas, y posiblemente no es más que el rezumamiento ulterior, desde los espacios intercelulares, de la histamina ya liberada hacia la disolución de Tyrode que baña los trozos de tejido.

Desde el punto de vista de la teoría de la histamina, han de recibirse bien los resultados experimentales de SCHILD, porque la enlazan con la teoría de la contracción del cuerno de útero de cobayo sensibilizado al contacto con antígeno (prueba de SCHULTZ-DALE). Ahora bien, en el útero de un cobayo preparado por vía pasiva se pueden desencadenar al menos tres contracciones sucesivas, si se va elevando de unas a otras la concentración del antígeno; y se observa que la intensidad de las concentraciones aumenta y que se reduce claramente el tiempo que transcurre entre la adición del antígeno y el comienzo de la reacción [véase R. DOERR, 1950, pág. 79 y siguientes]. No es probable que el contenido de histamina en un trozo tan pequeño de tejido no se agote durante la breve duración de la prueba y que el reiterado impulso antigénico pueda extraer cantidades crecientes de histamina del pequeño volumen de tejido; y aún menos probable es, naturalmente, que se regenere la provisión de histamina. De tales consideraciones resulta la necesidad de completar los resultados de SCHILD por la determinación de las cantidades de histamina que cede el útero de un cobayo sensibilizado a consecuencia de impulsos antigénicos repetidos y graduados convenientemente. Hasta no satisfacer esta exigencia no podrá considerarse resuelto el problema planteado.

Por lo demás, otros resultados experimentales de H. O. SCHILD no han resultado totalmente apropiados para apoyar la hipótesis de la histamina. Cuando se adquirió el convencimiento de que el músculo liso sensibilizado primero y desensibilizado después específicamente por el antígeno reacciona enérgicamente frente a la histamina, se adujo que este hecho no constituye un argumento contra la participación de la histamina en el choque anafiláctico, porque la desensibilización aparta el mecanismo de la liberación de histamina, o, dicho de modo más preciso, la reacción anticuerpo-antígeno [consúltese W. FELDBERG, 1941, pág. 681]. Pero no todo queda ahí, pues O. H. SCHILD (1936) observó que el útero de cobayo sensibilizado envenenado por elevadas concentraciones de la histamina responde a nueva acción de la histamina con una relajación, y, en cambio, al contacto del antígeno, con una contracción. SCHILD deduce de este fenómeno que la histamina cedida por la célula posee otra acción que la que actúa sobre la superficie celular exterior, o bien que en el choque

anafiláctico la histamina sólo participa en segunda línea. En opinión del autor, lo único incorrecto o más bien injustificado de esta formulación es la disyuntiva. Pues es evidente por sí mismo que el proceso de liberación de histamina—esto es, la enérgica rotura del enlace intracelular de la histamina—ha de ser algo distinto que la acción de la histamina procedente del exterior, aunque la diferencia no pueda precisarse con exactitud desde el punto de vista fisiológico; asimismo, siempre se ha considerado cierto, aunque se haya oscurecido temporalmente por las teorías del veneno, que, en los fenómenos anafilácticos, la lesión celular por la reacción antígeno-anticuerpo es el proceso primario y todo el resto fenómenos secundarios. Sin embargo, incluso en la literatura novísima, aún hace su aparición la concepción forzada de que una desensibilización específica debe también condicionar una insensibilidad contra el veneno aceptado en cada caso, histamina o acetilcolina.

Otro punto más fácil de resolver es el dato de H. O. SCHILD de que la cantidad de histamina que se libera de los pulmones de cobayo sensibilizado durante la reacción anafiláctica es cien veces menor que la cantidad de histamina que debe inyectarse en los vasos de un pulmón de cobayo normal para provocar la rigidez por espasmo bronquial, del que muere el cobayo en el choque anafiláctico agudo letal. Ahora bien, la cantidad de histamina del pulmón del cobayo no es constante; según los datos reunidos por W. FELDBERG (1941), varía entre 4 y 94 γ por g. de tejido; es decir, el órgano unas veces posee 23 veces más histamina que otras. Aún mayor es la variación de la cantidad de histamina cedida por los pulmones del cobayo en el choque anafiláctico, que suelen variar entre 0,17 y 12,8 γ ; lo que equivale a una proporción entre los valores extremos de 1 : 75. Es cierto que se ha asegurado que existe paralelismo entre el grado de la constricción por espasmo bronquial y la cantidad de histamina liberada en el pulmón [BARTOCH, FELDBERG y NAGEL (1932 a, b), H. O. SCHILD (1936)]; pero esta seguridad corresponde a la exactitud que se alcance en la determinación cuantitativa de la histamina, que en 1932 no ofrecía aún suficiente garantía. En 1935 BARSOUY y GADDUM dieron a conocer su método, y en 1937 C. F. CODE lo perfeccionó. Sin embargo, ni el método de CODE ofrece aún seguridad absoluta. Según ROCHA E SILVA (1944), no puede excluirse que por el procedimiento de CODE no sólo se determine la histamina libre, sino también combinaciones inactivas de histamina con otros aminoácidos. Además, J. PELLERAT (1945) ha demostrado que por el método de CODE puede separarse de la orina una sustancia muy semejante a la histamina,

pero que difiere de ella porque no se inactiva por histaminasa, ni su acción se deja influir por antihistamínicos. Pero si los datos de H. O. SCHILD (1936) fueran correctos, al menos de modo aproximado, y la cantidad de histamina liberada por el pulmón de un cobayo con reacción anafiláctica oscilara entre 0,17 y 12,8 γ , pudiera ser cierto que esta cantidad no baste para poder atribuir a una pura acción de histamina la constricción bronquial y la rigidez del pulmón. Los experimentos ya mencionados en otro lugar (véase pág. 13) de BARTOSCH, FELDBERG y NAGEL (1932 a, b) no hablan necesariamente en contra. Los autores citados han observado, ciertamente, que la irrigación de los pulmones de cobayos sensibilizados con el antígeno da un perfusato que, conducido a su vez a los vasos de un pulmón de cobayo normal, provoca en ellos la rigidez pulmonar patognomónica. De ello, sin más, se ha deducido que la cantidad de histamina liberada en los pulmones con reacción anafiláctica basta para explicar la asfixia por espasmo bronquial que conduce a la muerte en el choque, y el autor de este libro ha admitido esta conclusión (véase pág. 13); pero, no obstante, puede no ser correcta. BARTOSCH, FELDBERG y NAGEL no determinaron el contenido de histamina en los perfusatos de pulmón, ni investigaron si, además de histamina, contienen otras sustancias activas. Aunque C. F. CODE (1939) disponía de métodos exactos para determinar histamina, en parte perfeccionados por él mismo, el experimento de SCHILD, que discutimos, no ha vuelto a hacerse, y los autores se han contentado con determinar el contenido de histamina en la sangre de cobayos anafilácticos antes y en el transcurso del choque, estableciendo un aumento entre tres y nueve veces la cantidad inicial a consecuencia del choque. Parece ser que, desde otro punto de vista, tampoco se ha emprendido ninguna prueba para relacionar con la toxicidad de la histamina la cantidad de histamina liberada en los pulmones (1). Según H. O. SCHILD (1937, 1939), el contacto del antígeno libera histamina no sólo en los pulmones (en el órgano del choque), sino también en otros numerosos lugares, de modo que la acción sobre el órgano del choque pudiera producirse por la suma de histamina de origen pulmonar y extrapulmonar. Esta salida está, sin embargo, cortada por el hecho de que los pulmones aislados de cobayos sensibilizados se ponen pálidos e inmovilizan cuando el antígeno se conduce por sus vasos [W. H. MANWARING y Y. KUSAMA (1917), P. NOLF y ADANT (1946)], es decir, en cir-

(1) Consúltese la Tabla de la página 28, de la que se deduce que la dosis letal intravenosa de histamina para un cobayo de 250 g. alcanza de 75 a 100 γ .

cunstances en que hay que excluir la participación de histamina extrapulmonar. Sólo nos resta, pues, otorgar que los procesos en el órgano del choque no pueden deberse de modo exclusivo a la histamina liberada en ellos, sino que la reacción antígeno-anticuerpo en el seno de la célula debe considerarse también como un proceso patológico en sí mismo y no sólo por la histamina cuya liberación provoca. Y éste es el punto de gravedad al que revierten siempre todos los experimentos y sus interpretaciones.

N. AMBACHE y G. S. BARSOUM (1939) pudieron señalar que los músculos lisos aislados (intestino delgado, vejiga de la orina, estómago, esófago) de cobayos, perros y conejos normales ceden histamina cuando se hace que se contraigan por acetilcolina, Pituglandol o cloruro potásico. Es verdad que las cantidades de histamina cedidas son escasas (0,1 a 0,2 γ por gramo de tejido ensayado), de modo que sólo pueden determinarse por métodos especialmente sensibles, pero el hecho pudiera interpretarse como si la contracción muscular por sí misma libera histamina y que, por ello, cuando se pone en contacto con el antígeno el útero aislado del cobayo sensibilizado y se contrae y se observa cesión de histamina, podría pensarse que la conexión causal es que la reacción antígeno-anticuerpo provoca de modo primario la contracción, y sólo de modo secundario, por mediación de la misma, la cesión de histamina. Sin embargo, hubo que rechazar esta idea apoyándose en ensayos testigo, con $BaCl_2$ y KCl , de resultado negativo [BARTOSCH, FELDBERG y NAGEL (1932 a), O. H. SCHILD (1937, 1939)]. Ahora bien, el hecho de que el músculo liso normal cuando se contrae ceda histamina, parece abrir un camino para investigar el papel de la histamina en el metabolismo de acción. Como se ha mencionado, al parecer no todas las contracciones liberan histamina. Pero hay que tener en cuenta que la cesión de histamina, donde ha podido demostrarse, apenas alcanza el valor que alcancen a apreciar los métodos de valoración de esta sustancia; por eso no parece muy osado admitir que la cesión de histamina tal vez pueda descender por debajo de este límite, y se llegaría a la concepción de una sustancia activa reforzada permanentemente por su acción. Tal vez no se trate sino de una hipótesis o, si se quiere, de una especulación; sin embargo, el estado del asunto es tal que *a priori* no puede darse una explicación de por qué precisamente la acetilcolina y el Pituglandol liberan histamina y no lo hacen otros agentes que excitan el músculo liso.

Para terminar el capítulo sobre la hipótesis de la histamina consideremos aún un breve trabajo de R. J. RAIMAN, E. L. LATER y

H. NECHELES (1947), que trata de la acción de la rutina sobre el choque anafiláctico y sobre el choque inducido por histamina. Se sensibilizaron cobayos por la inyección intraperitoneal de 0,25 ml. de suero de caballo, y doce días después se provocó el choque anafiláctico por la reinyección de 0,05 ml. de suero de caballo por 100 g. de peso corporal. Antes de la inyección desencadenante del antígeno se inyectaron intraperitonealmente 2 mg. de rutina (= vitamina P, también denominada citrina), que impidió todos los fenómenos en tanto que murieron cinco animales testigo. En una segunda serie se inyectó 1 mg. de rutina por vía intraperitoneal treinta a treinticinco minutos antes de la inyección desencadenante intracardiaca de 0,5 miligramos de suero de caballo; también en esta prueba la rutina impidió toda manifestación de choque, mientras que los animales testigos murieron sin excepción. En cambio, el choque por histamina no se dejó influir antagónicamente, ni siquiera cuando se inyectó por vía intracardiaca o intravenosa la dosis letal mínima de clorhidrato de histamina y se mantuvo el intervalo de treinta a cuarenta y cinco minutos entre las inyecciones de histamina y de rutina. RAIMAN y sus colaboradores no han conseguido dar una explicación indudable de este fenómeno. Entre distintas alternativas, dan preferencia a la opinión de que la rutina impide la cesión de histamina endógena, lo que, en atención a la breve duración del efecto protector, parece más probable que una reducción de la permeabilidad del endotelio de los capilares, y porque grandes dosis de hesperidina, que contiene el factor P también protegen contra el choque anafiláctico [N. HIRAMATSU (1941)]. Posteriormente también se han ocupado de la acción antianafiláctica de la rutina C. E. ARBESMAN, E. NETER y CH. F. BECKER (1950), y han llegado al resultado totalmente negativo de que los cobayos no pueden protegerse contra el choque anafiláctico ni incluso por dosis de 5 a 100 mg. por kg. de peso normal. Como los animales testigo reaccionaron frente a la inyección desencadenante del antígeno con muerte o choque grave, resulta en principio totalmente incomprensible la diferencia de la acción protectora obtenida con rutina. Como, sin más, no puede admitirse que RAIMAN y ARBESMAN hayan trabajado con dos preparados distintos, ambos designados como "rutina", hay que dejar a trabajos ulteriores decidan entre uno y otro resultado. En los protocolos de los experimentos de ARBESMAN y colaboradores se dan sin exactitud los intervalos de tiempo entre la inyección intraperitoneal de la rutina y la inyección intravenosa o intracardiaca del antígeno; sólo dicen sumariamente que dejan transcurrir de quince a treinta minutos. RAIMAN, por su

parte, da un intervalo de treinta a cuarenta y cinco minutos; posiblemente haya que buscar aquí la causa de los resultados contradictorios. Lo que ARBESMAN y sus colaboradores designan como "anafilaxia inversa" no debe incluirse entre las reacciones anafilácticas, sino entre las reacciones citotóxicas (véase pág. 4). Sin embargo, W. G. CLARK y E. M. MACKAY (1950) han comprobado que la rutina administrada a dosis de 100 mg. por kg. de peso corporal por vía intraperitoneal treinta minutos antes de la dosis desencadenante del antígeno, no alcanza más que un efecto dudoso y despreciable sobre el choque anafiláctico del cobayo. Cuando llegue el momento de tratar de los "progresos de la investigación de la alergia", contradicciones diametrales del tipo de las registradas con la rutina nos ofrecerán una ilustración notable del pretendido progreso.

RESUMEN

1. La hipótesis de la histamina quiere establecer la participación que juega en la patogénesis de los fenómenos anafilácticos la histamina liberada de las células de la sangre o de los tejidos por la reacción antígeno-anticuerpo.

2. Por consiguiente, en primer lugar, se ha de investigar la relación causal entre la reacción antígeno-anticuerpo y la liberación de histamina. Este problema no se ha resuelto hasta la fecha de modo inequívoco; las teorías ofrecidas difieren considerablemente entre sí.

3. No ha podido determinarse con precisión el estado en que se encuentre la histamina en las células. Lo único seguro es que combinada a la célula es inactiva y sólo por su segregación de la célula actúa como sustancia activa. La histamina libre puede descubrirse en los líquidos orgánicos (plasma sanguíneo, líquido cefalorraquídeo en pequeña concentración y, precisamente, en condiciones fisiológicas; se ha investigado poco la función de esta histamina libre normal en el equilibrio orgánico, así como el modo de formarse y su destino en el metabolismo, y, finalmente, sus relaciones con la histamina ligada de las células.

4. La liberación de histamina, considerada desde el punto de vista de la crítica del conocimiento, puede, pues, considerarse de antemano como una "observación".

5. La determinación de la histamina liberada (en los líquidos que bañan los tejidos, en los perfusatos o en la sangre de animales con reacción anafiláctica) mediante criterios biológicos no puede sustituir totalmente la identificación química; sólo ésta ofrece seguridad y, a la vez, permite determinaciones cuantitativas exactas. Sin embargo, en muchos casos puede estar indicado completar la determinación química de la histamina por ensayos biológicos sensibles (1) con el fin de eliminar con más seguridad sustancias activas análogas.

6. La parte decisiva de la liberación de histamina corresponde al órgano del choque. El órgano del choque en el choque agudo letal del cobayo es el pulmón, y en el choque de curso letal rápido del perro el hígado; en ambos casos ha podido demostrarse con seguridad que la histamina liberada en el órgano del choque debe considerarse como factor patógeno esencial, si bien también aquí hay que señalar algunas discordancias. En el choque demorado del cobayo y del perro, así como en el choque de todas las otras especies animales se desconoce, o no se conoce con seguridad, el órgano del choque, y resulta dudosa la participación de la histamina en la patogenia anafiláctica.

No puede decidirse a la vista de los datos existentes si hay que buscar el órgano del choque del conejo en el pulmón, en el corazón o en la suma de los glóbulos blancos de la sangre. En oposición al cobayo y al perro, el conejo reacciona en el choque anafiláctico con una pérdida rápida de histamina en la sangre circulante. El conejo

(1) Entre tales pruebas pueden considerarse: la caída de presión sanguínea provocada incluso por 0,3 a 1 y de histamina administrada intravenosamente a un gato narcotizado con éter; la elevación de la secreción gástrica en el perro después de una inyección subcutánea o intramuscular de 0,3 y de histamina, y la formación de habones que provoca una gota de una disolución al 1:1000 — 1:100.000 en la piel humana irritada por un alfiler [véase M. GUGGENHEIM, 1940, págs. 414 y 388 y s.] Hay que añadir la identificación enzimática: la histamina también debe dejarse inactivar por histaminasa.

es por lo menos diez veces menos sensible que el cobayo frente a la histamina.

7. El ratón y la rata no pueden incluirse en la hipótesis de la histamina. Las dos especies son igualmente refractarias frente a histamina; el ratón puede ponerse con facilidad en estado anafiláctico grave; en cambio, la rata no.

8. Una serie de agentes actúan de modo distinto sobre el choque anafiláctico del cobayo y sobre el envenenamiento de este animal con histamina. Entre estos agentes se cuentan:

a) La piribenzamina,

b) la paraverina,

c) la rutina (?).

d) los antihistamínicos sintéticos, en el sentido de que la acción antianafiláctica es extraordinariamente independiente dosológicamente de la naturaleza de estas combinaciones, mientras que el efecto neutralizador de la histamina puede diferir mucho según el antihistamínico;

e) si se dejan actuar repetidamente elevadas concentraciones de histamina sobre el músculo aislado de un cobayo sensibilizado, el órgano termina reaccionando con relajación, mientras que el antígeno específico provoca una contracción.

9. El contenido de histamina del mismo órgano o tejido varía en el cobayo entre amplios límites.

10. La cantidad de histamina cedida en el choque anafiláctico del cobayo por el pulmón o por distintos tejidos es también muy variable, incluso operando bajo iguales condiciones.

11. La cantidad de histamina cedida en el choque anafiláctico del pulmón aislado de un cobayo sensibilizado a un líquido de perfusión que contiene antígeno es esencialmente menor (cerca de 100 veces) que la dosis de histamina intravenosa, letal.

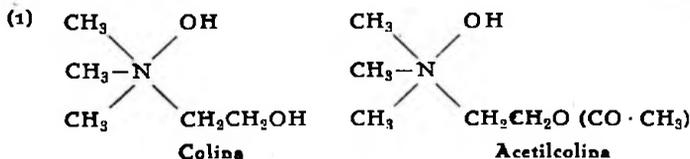
La revisión anterior se emprendió por la consideración de que la exposición sucesiva de numerosos resultados experimentales que parten del planteamiento de distintos problemas y que intenta solucionar cuestiones que no siempre poseen una misma relación con el mecanismo de la liberación de histamina, podrían perjudicar la comprensión de lo esencial. Así mismo la revisión pretende subrayar la esencia de la hipótesis de la histamina, señalar las lagunas existentes, distinguir los resultados seguros de los no aclarados suficientemente y hacer valer las contradicciones. El hecho de que al condensar el material que nos ofrecen hoy las investigaciones experimentales en unas frases éstas adquieran valor operante, radica en la naturaleza de las cosas y especialmente de "estas cosas".

CAPÍTULO II

LA HIPOTESIS DE LA ACETILCOLINA (1)

Como el nombre lo dice, la acetilcolina es el éter acético de la colina, base fuerte que puede descubrirse, como colina libre, en la sangre y en todos los órganos de los animales; junto a esta colina libre se conoce también una segunda forma: la colina hidrosoluble, combinada, de cuya naturaleza química—análogamente a lo que sucede con la histamina intracelular—no se tienen aún datos precisos. La acetilcolina en solución acuosa se desdobra fácilmente en ácido acético y en colina relativamente inactiva, proceso que se acelera por fermentos hidrolíticos, especialmente por la colinesterasa existente en la sangre y en los jugos orgánicos. Por consiguiente, para demostrar la existencia en un substrato de acetilcolina como tal es necesario excluir la acción destructora de la colinesterasa, para cuyo fin se utiliza fisostigmina, enérgico antagonista del enzima.

M. GUGGENHEIM [1940, págs. 160 a 167], en su obra *Die biogenen Amine*, expone por extenso los métodos de que se disponía hasta 1940 para demostración química de la existencia de colina y de acetilcolina. Pero S. MIDDLETON y H. H. MIDDLETON comprobaron en 1949 que los métodos recomendados no dan resultados seguros y que a ello se deben las noticias de muestras biológicas de especialidad de acción dudosa. En el mismo trabajo se señala una determinación química nueva y eficaz de la acetilcolina de S. HESTRIN. Naturalmente, hay que comprobar la determinación según HESTRIN



antes de decidir si sobrepasa los métodos anteriores y en qué medida lo hace. La tendencia a mejorar continuamente la determinación química de la acetilcolina tiene el fundamento objetivo de que de material animal se han aislado sustancias que se asemejan mucho a la acetilcolina, sin ser idénticas a ellas [O. NACHMANSOHN, S. HESTRIN y H. VORIPAIEFF (1949), S. MIDDLETON y H. H. MIDDLETON (1949)]. Tales sorpresas son siempre de temer, no sólo en la acetilcolina; así, J. PELLERAT (1945) informa que por el método de C. F. CODE ha podido aislar de la orina junto a histamina una segunda sustancia que análogamente a la histamina actúa sobre el músculo liso, pero no se destruye por histaminasa ni se neutraliza en su acción por antihistamínicos. Pero cuando no se disponga de un método de identificación química absolutamente seguro sería totalmente equivocado prescindir en cuestiones importantes de este tipo de aporte de pruebas; lo indicado en tales casos es apoyar los resultados de la demostración química por criterios biológicos o perseguir las contradicciones existentes.

La identificación biológica de la acetilcolina se consigue por el ensayo del efecto del substrato material propuesto sobre órganos testigo, mantenidos vivos, inervados por el parasimpático, como el corazón de rana aislado, el intestino delgado del cobayo, el recto de la rana y el saco muscular de la sanguijuela. Los métodos biológicos también permiten efectuar determinaciones cuantitativas aproximadas por la comparación de los efectos del substrato problema, que contiene acetilcolina, con los de una disolución patrón de un contenido de acetilcolina conocido [consúltese M. GUGGENHEIM (1940, páginas 167 y sig.)].

La dosis intravenosa letal de acetilcolina por kilogramo de peso

en el conejo.....	0,15 mg.	de histamina.....	0,6 a 3,0 mg.
en el ratón.....	20 mg.	de histamina.....	250 a 300 mg.
en la rata.....	22 mg.	de histamina.....	170 a 500 mg.
en el cobayo.....	desconocido	de histamina.....	0,3 a 0,4 mg.

En la parte derecha se dan las dosis intravenosas letales de histamina; de hecho sólo pueden compararse entre sí la parte izquierda y la derecha de la tabla. Se ve que la sensibilidad del ratón y de la rata ante la acetilcolina es unas diez veces mayor que ante la histamina. En cambio, la representación concreta de la dependencia de la actividad de ambas sustancias con respecto a la especie del animal de experimentación sólo puede conseguirse emancipándose antes del

cálculo de las dosis letales referidas a kilogramo de peso animal y eligiendo como unidad de referencia el promedio del peso corporal de los distintos animales de experimentación. Es cierto que esto no puede hacerse sin cierta arbitrariedad, porque el peso corporal de la mayoría de los animales de experimentación varía entre límites no despreciables. Sin embargo, decididos a hacerlo, tasaremos el peso corporal del conejo en 1.000 gramos, el del ratón en 20, el de la rata en 100 gramos y el del cobayo en 150 gramos. Entonces la tabla toma otro aspecto:

DOSIS LETAL INTRAVENOSA DE

<i>Especie animal.</i>	<i>Acetilcolina.</i>	<i>Histamina.</i>
Conejos de 1000 g.	0,15 mg.	0,6 a 3,0 mg.
Ratón de 20 g.	0,4 mg.	5 a 6 mg.
Rata de 100 g.	2,2 mg.	17 a 50 mg.
Cobayos de 250 g.	desconocido	0,075 a 0,1 mg.

Se comprende que el cobayo, por su extrema sensibilidad para la histamina, estuviera predestinado a ser el objeto de experimentación de los partidarios de la hipótesis de la histamina. Pero la sensibilidad del conejo a la acetilcolina no ha conducido de ningún modo la investigación experimental por una vía análoga. Ha debido cooperar aún otro motivo que no es difícil de adivinar. Se trata sólo de discutir la participación de la histamina o de la acetilcolina en el choque anafiláctico, y no existe ningún animal de experimentación capaz de ponerse en estado de anafilaxia activa o pasiva tan fácilmente como el cobayo. Esta es la razón por la que el cobayo ha sido también elegido por los defensores de la hipótesis de la acetilcolina para ser utilizado desde otro punto de vista dentro del marco de los venenos agentes intermedios del choque. Ahora bien, sólo parecía justificado el intento de hacer valer la hipótesis de la acetilcolina en aquellos casos en que la histamina no pueda considerarse como factor patógeno esencial del choque anafiláctico, a saber: en el ratón y en la rata. Pero el conejo, por así decirlo, fué cedido a la hipótesis de la histamina; ya se ha discutido por extenso en qué medida se ha conseguido demostrar que la histamina juega un papel predominante en la anafilaxia de este animal de experimentación.

La hipótesis de la acetilcolina ha encontrado pocos defensores

[véase W. M. CHASE (1948)], y desde su aparición ha sido oscurecida por la hipótesis de la histamina.

B. DANIELOPULO, que rechaza radicalmente la hipótesis de la histamina, ve en la hipótesis de la acetilcolina el camino justo para colocar en una base segura el pensamiento fundamental de que los fenómenos anafilácticos deben ser autointoxicaciones. Su monografía *Phylaxie-Paraphylaxie et Maladie espécifique* (1946) comienza por un prólogo en que resume brevemente su teoría que, según asegura, se diferencia desde el fundamento mismo de las concepciones anteriores. Traduciremos este resumen:

“Los antígenos introducidos en el organismo provocan dos formas de enfermedad: una enfermedad no específica que incorrectamente se ha designado como anafilaxia y que yo denomino parafilaxia y una enfermedad específica. El antígeno provoca en el organismo fenómenos de defensa que consisten en la producción de anticuerpos específicos. Los anticuerpos sólo pueden originarse en íntima combinación con colina que está contenida en todos los tejidos del organismo. Lo he expresado por el término anticuerpo-colina.

El anticuerpo-colina posee dos funciones: una función no específica, que corresponde a la colina común a todos los complejos anticuerpos-colina, y una función específica, peculiar al anticuerpo específico y distinta según sea el antígeno al que debe su producción. El contenido de colina en los tejidos aumenta en la misma medida en que lo hace la concentración de los anticuerpos.

Los anticuerpos ocasionan la filaxia (inmunidad) y la sobreconcentración de colina la parafilaxia (anafilaxia).

La parafilaxia, por ello, no es un estado opuesto al de inmunidad ni, como se ha creído, específico, sino un estado no específico que se produce junto a la inmunidad. Este es el motivo por el que he propuesto sustituir la voz anafilaxia por parafilaxia.

La parafilaxia no es nada más que una hiperconcentración de la precolina y como consecuencia de preadrenalina, que, unidas, dan origen a lo que he designado como anfotonía parafiláctica.

La parafilaxia es un estado patológico, una verdadera enfermedad no específica, que siempre ofrece el mismo carácter independientemente del antígeno que lo causa.

Gracias a la anfotonía general, todos los órganos se encuentran en el estado de hiperactividad frente a todos los factores que actúan sobre el tono vegetativo de los órganos. Además, la anfotonía parafiláctica, como está ligada a la filaxia, permite la realización del choque parafiláctico en cualquier nuevo aporte del mismo antígeno

al organismo. De este modo la parafilaxia, aun siendo un estado inespecífico, está ligada a la filaxia, que es un estado específico. Pero, como la anfotonía, aumenta la reactividad de los órganos contra todos los factores que influyen sobre el tono vegetativo de los órganos.

Si el anticuerpo-colina ha conseguido que todo el antígeno se haga inofensivo (filaxia completa), sólo se produce la enfermedad inespecífica. Pero si por la defensa del organismo no se consigue volver inocuo todo el antígeno y queda un resto no anulado completamente, éste puede actuar de modo específico sobre el organismo (filaxia incompleta), lo que da lugar a la producción no sólo de una enfermedad no específica, sino también a la de una enfermedad específica variable con el antígeno que la provoca.

La enfermedad específica está provocada por lo que yo designo como apotoxina específica.

La enfermedad específica comienza por un período de incubación variable, según la naturaleza del antígeno. La enfermedad inespecífica comienza con la primera reacción defensiva del organismo, con el primer anticuerpo que el organismo opone al antígeno. Por consiguiente, comienza con la introducción del antígeno en el organismo."

Como se deduce de las frases traducidas, la teoría de DANIELOPOLU de ningún modo es tan distinta en su fundamento de todas las hipótesis anteriores como su autor anuncia; pues admite, como ya se indicó antes, la idea de que los fenómenos anafilácticos sólo se deben a un envenenamiento por una sustancia preexistente en los tejidos del organismo, pero que en estado normal está combinada y sólo se libera en el choque; por tanto, sólo difiere de la hipótesis de la histamina en que considera a la acetilcolina y no a la histamina como la materia *peccans*. Pero, tanto aquí como allí, el punto de partida es la observación de que el veneno inculcado provoca en los animales de experimentación, especialmente en el cobayo, síntomas análogos a los provocados por el antígeno sobre el animal preparado de modo específico. *In vitro* la acetilcolina provoca también una contracción enérgica en el músculo liso normal (útero del cobayo), y si se inyecta por vía intravenosa en cantidad mayor, desencadena un choque, porque no resulta posible neutralizarla con suficiente rapidez por colinesterasa. La sola novedad sería la hipótesis de que el anticuerpo forma un complejo con la colina. Pero DANIELOPOLU, consciente de que esta aseveración guarda una hipótesis que no podrá aceptarse sin protestas, en la primera edición de la monografía citada (1943) ha debilitado precisamente esta concepción cuanto ha podido, sin

deshacer el resto de su edificio hipotético. Se pone a cubierto, en otro lugar contra la suposición de que la expresión "anticuerpo-colina", por él usada, haya de entenderse como si la colina formara una parte de la estructura del anticuerpo (*une partie constituant de l'anticorps*). Se trata únicamente de una simple fórmula convencional para recordarnos que, *al menos en la célula*, el anticuerpo está en íntima relación con la acetilcolina intracelular. Sin embargo, en la segunda edición de la monografía (1946) DANIELOPOLU no ha conservado esta aclaración apaciguadora (1). Es cierto que la ha citado en un *addendum*, pero en la conclusión de este apéndice se dice: "las investigaciones efectuadas permiten afirmar que la colina coopera en la producción del anticuerpo. La producción de globulinas no basta para permitir que el antígeno forme el anticuerpo. Es necesario también que la acetilcolina ejerza su función normal sobre el protoplasma celular que produce la globulina. De hecho, los anticuerpos no pueden producirse después de haber actuado la atropina, que vuelve refractarias a las células frente a la acetilcolina". De este modo, DANIELOPOLU quiere mantener abiertamente en toda su amplitud su concepción original, que intenta hacer intuitiva mediante la siguiente ecuación esquemática:

$$\text{Antígeno} + \text{anticuerpocolina} + \text{complemento} = \text{antígeno-anticuerpo-complemento (complejo protector)} + \text{acetilcolina (choque parafilático manifiesto)}.$$

La opinión de que el anticuerpo se combine con la colina para constituir el complejo "anticuerpo-colina", es, sin embargo, totalmente arbitraria. La afirmación de que la anafilaxia rebautizada de "paraafilaxia" sea inespecífica contradice la experiencia de todos los autores que se ocupan de estos problemas y han establecido que las reacciones anafiláticas son específicas en el mismo sentido y en igual medida que la precipitación, la aglutinación y la hemólisis. DANIELOPOLU mismo, en sus experimentos en útero aislado de cobayo sensibilizado, ha utilizado repetidamente este hecho, y, por tanto, reconocido implícitamente la especificidad. De esta contradicción se salva por un modo especial de hablar; en efecto, dice que la anafilaxia, dicha paraafilaxia, es un verdadero estado inespecífico, pero que aparece

(1) Este estado del asunto literario no lo ha reproducido de modo enteramente justo, o por completo, R. DOERR en su monografía "Die Anaphylaxis" (1950, pág. 120).

ligado a la filaxia, el cual es un estado específico. Como DANIELOPOLU bajo la designación de filaxia no entiende sino la preexistencia del anticuerpo y su relación con el antígeno específico, resulta claro que, en oposición a los restantes inmunólogos, no quiere reconocer *explícitamente* la reacción antígeno-anticuerpo como la causa primaria de los fenómenos anafilácticos, porque en su círculo conceptual el concepto de anticuerpo está ligado indisolublemente con una acción protectora ("inmunidad"). En otro lugar habremos de volver sobre este asunto.

En su oposición frente a la hipótesis de la histamina, DANIELOPOLU parece haber pasado por alto que después de la puesta a punto de métodos apropiados para la determinación cualitativa y cuantitativa por BARSOUY y GADDUM (1935) y C. F. CODE (1937), esta sustancia no sólo se ha identificado biológicamente, sino, en parte, también químicamente, de modo que ya no cabe dudar con fundamento de la liberación de histamina, apreciada con seguridad a consecuencia de reacciones anafilácticas. ¿Qué sucede a este respecto con la acetilcolina? Lo mostraremos a continuación con un ejemplo sencillo:

DANIELOPOLU (1946, págs. 142 y s.) parte de la suposición de que SCHULTZ y DALE (1910, 1912) demostraron por vez primera en el órgano aislado el choque anafiláctico, o, en su designación, el choque paraafiláctico (1). DANIELOPOLU parece no haber conocido los trabajos de H. O. SCHILD (1937, 1939) ni, en especial, las determinaciones exactas del aumento de histamina en la sangre del cobayo y del perro en reacción anafiláctica, efectuadas por C. F. CODE (1939). Manifiesta que DALE intentó explicar la acción del antígeno sobre el útero aislado del cobayo sensibilizado por la liberación de histamina, mientras que sus investigaciones enseñarían que se trata de la liberación de acetilcolina.

Se efectuó del siguiente modo la prueba de que al contacto del útero de un cobayo sensibilizado con el antígeno se cede acetilcolina *in vitro* al líquido que baña el órgano. Se observó que acetilcolina,

(1) No discutiremos en este lugar si la contracción provocada en el útero de un cobayo sensibilizado por el contacto del antígeno debe designarse como "choque". Se sabe lo que con ello quiere significarse, y se aplica esta cómoda expresión para ahorrarse una descripción incómoda.

histamina e ión K provocan la contracción del útero del cobayo; pero que la atropina sólo inhibe la acción de la acetilcolina y no las del ión K o de la histamina. Por ello, con la atropina se posee un medio valioso para decidir si el choque del útero aislado está provocado por histamina o por ión K. Se prepararon cobayos por vía activa con suero de caballo; veinte días después se aisló el útero y se ensayaron sus dos cuernos A y B por separado, por la prueba de SCHULTZ-DALE, en su reactividad al contacto del antígeno *in vitro*. Al baño que contiene

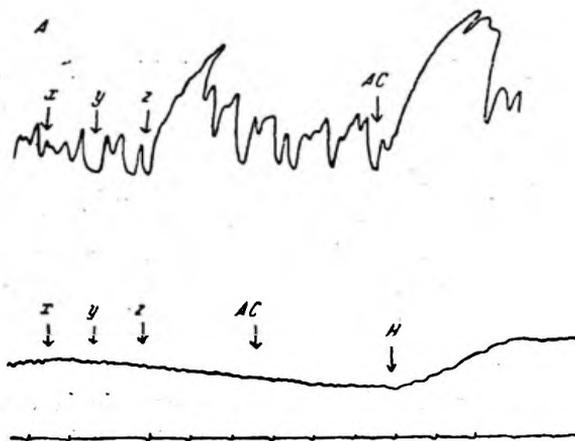


Fig. 4.—Reacciones de los cuernos de útero de un cobayo sensibilizado con suero de caballo, en la prueba de SCHULTZ-DALE. Primera mitad de la prueba. Curva superior, sin adición de atropina al baño de agua; curva inferior, con adición de atropina. En *x* adición de suero de hombre y en *y*, de carnero, y en *z*, adición de suero de caballo, en *AC*, de acetilcolina. *H*, en la curva inferior, corresponde a la adición de histamina.

el cuerno B se adiciona atropina, y al que contiene el cuerno A no se adiciona el alcaloide. Las figuras 4 y 5, aquí reproducidas, dan el resultado completo del ensayo. Entre las dos mitades del experimento se efectuó un lavado con disolución de Tyrode; pero no después de la adición de cada nuevo agente, como suele hacerse. No se indica la concentración de la atropina. En la primera mitad del experimento (fig. 4) se comienza adicionando antígenos inespecíficos (sueros humano y de carnero, respectivamente en *x* e *y*); inmediatamente después, en *z*, el agente específico (suero de caballo), que desencadena una violenta contracción, pero que, como era de esperar, no protege contra la acción de la acetilcolina, lo que, como es sabido, también sucede cuando se hace actuar histamina después de la contracción des-

encadenada por un antígeno específico. Las reacciones del cuerno atropinizado B se representan en la curva inferior de la figura 4; resultaron totalmente negativas. DANIELOPOLU concede un valor especial a que la acetilcolina fuera totalmente inactiva, mientras que la histamina provocara, al parecer, una elevación del tono. Pero en esta prueba no puede hablarse de reacciones claramente positivas, ya que un juicio objetivo del resultado sólo permite sacar la conclusión de que la atropina en este caso, es decir, a esta concentración no indicada, ha paralizado con más intensidad la acetilcolina que la histamina.

A continuación se lavaron los órganos, y los líquidos se sustituyeron también por disolución de Tyrode fresca; pero no se indica si al depósito que contiene el cuerno B vuelve a adicionarse la atropina o si se cuenta con un efecto persistente. La renovación del antígeno específico (suero de caballo) en Z y Z₁ de la figura 5, a consecuencia de la desensibilización específica creada no provoca ninguna contracción, y lo mismo puede decirse de las adiciones de agar (véase luego) y de histamina. La acetilcolina ya no se ensayó en esta segunda fase en ninguno de los dos cuernos.

La afirmación de que la contracción del cuerno del útero de un cobayo sensibilizado al contacto del antígeno específico se debe a la liberación de acetilcolina, no se ha demostrado de modo inobjetable por la identificación química de la sustancia cedida, sino sólo biológicamente por el antagonismo entre acetilcolina y atropina, método que DANIELOPOLU ha completado solamente por el ensayo de otros antagonistas y sinergistas. Sin embargo, desde 1930 se conocen métodos para determinar químicamente tanto la acetilcolina como la colina [véase M. GUGGENHEIM (1940), págs: 161 ss.] También resultan

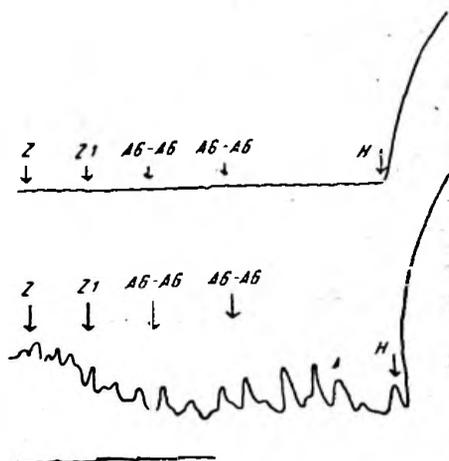


Fig 5.—Reacciones de los cuernos de útero de un cobayo sensibilizado por suero de caballo en la prueba de SCHULTZ-DALE. Segunda mitad de la prueba; Z y Z₁ adición de suero de caballo (interrupción de la reacción a consecuencia de la desensibilización específica de la primera mitad de la prueba); AG-AG adición de disolución de agar al 1 por 100; H adición de histamina.

insuficientes las investigaciones desde el aspecto negativo. En DANIELOPOLU no se trata de que el contacto del antígeno libere acetilcolina, sino también de que no pueda ser histamina lo que se libere por los tejidos así estimulados. Y aunque para afirmar este argumento *o contrario* se dispone de métodos apropiados, no fueron utilizados por DANIELOPOLU. Sin embargo, si se quiere demostrar que en la prueba en órgano aislado de cobayo sensibilizado se libera una determinada sustancia al contacto del antígeno, es claro que hay que investigar los líquidos en que se encuentra este órgano. Sin embargo, DANIELOPOLU no ha percibido esta laguna y se ha ocupado exclusivamente de las reacciones y de la influencia ejercida sobre éstas por antagonistas farmacodinámicos, sin prestar atención a los productos de la reacción. En 1944 se publicaron investigaciones que mencionaremos más adelante, que contenían datos acerca de las cantidades de histamina y acetilcolina cedidas al contacto con el antígeno por los tejidos del cobayo sensibilizado al líquido del baño; los resultados fueron diametralmente opuestos a las aseveraciones de DANIELOPOLU (véase página 84).

Desde 1910 se sabe que el sulfato de atropina puede proteger al cobayo del choque anafiláctico agudo. Pero pronto se observó que esta protección es sólo relativa, y que fracasa cuando la sensibilidad para el antígeno es muy alta o cuando se inyectan múltiplos de la dosis antigénica mínima mortal [H. F. KARSNER y J. B. NUTT (1911)]. Por tanto, deben tenerse en cuenta las relaciones cuantitativas y exponerlas en la descripción de las pruebas efectuadas; se puede llegar a conclusiones erróneas si, como en los experimentos mencionados de DANIELOPOLU, no se comunica la cantidad de "atropina" añadida al recipiente en que se contiene el cuerno del útero (1).

La acción de la atropina se ha explicado anteriormente, en general, admitiendo que este veneno reduce enérgicamente la reactividad del músculo liso y de los vasos periféricos, de modo que, en cierto sentido, paraliza los dos puntos de ataque principales de la reacción patógena antígeno-anticuerpo. Pero D. DANIELOPOLU (1943), en su esfuerzo para enlazar a su teoría el antagonismo de la atropina, ha ideado una explicación complicada. Atribuye a la atropina dos modos de acción, a saber: por una parte, la capacidad de paralizar la acción

(1) Recordemos, también en este lugar, que por la adición de cantidades arbitrarias de arginina ha podido demostrarse convincentemente *in vitro* el antagonismo de este aminoácido frente a histamina y frente a la reacción anafiláctica del intestino del cobayo sensibilizado, mientras que fracasaron radicalmente las pruebas en animal intacto (véase págs. 39 a 46).

de la colinesterasa, que desdobra por vía fermentativa la acetilcolina (función "antiacetilcolinolítica"), y por otra parte, la capacidad de impedir la acción inhibitoria del parasimpático de la acetilcolina (τ), que se manifiesta en que la atropina vuelve insensibles a las células del órgano desencadenante frente a la acetilcolina. Al aumentar la cantidad de atropina aumentan ambas manifestaciones, pero no en la misma medida, sino que la nombrada en segundo lugar predomina en la zona de las grandes dosis. Las grandes dosis, a consecuencia de su componente antiacetilcolinolítico, ocasionan también un enriquecimiento temporal de la insensibilidad de las células terminales, provocada por la atropina, y el resultado total es la inhibición del choque anafiláctico. Cuando las dosis son pequeñas, por el contrario, se intensifica el choque a causa del enriquecimiento de acetilcolina en el tejido, demasiado débil en esta zona de dosis. DANIELOPOLU ha ilustrado esta teoría del modo de acción de la atropina (que expresamente designa como concepción personal suya) por el esquema que se acompaña, que representa el comportamiento del hombre frente a dosis crecientes de atropina.

No intentaremos investigar en este lugar cuál sea la aproximación de esta hipótesis al verdadero estado del asunto. En primer lugar, ya ha de ser motivo de discusión si la propiedad antagonista de la atropina, de hecho y para cualquier concentración, es tan acusada frente a la acetilcolina que permita sin más excluir a la histamina como factor de la reacción. (Hecho que no puede deducirse de los experimentos de DANIELOPOLU.) Por lo demás, DANIELOPOLU, posteriormente, ha añadido que la atropina también puede impedir el choque de la histamina con la limitación de que las concentraciones necesarias deben ser más elevadas que las que paralizan la acción de la acetilcolina. Pero como DANIELOPOLU, en los experimentos señalados, no indica

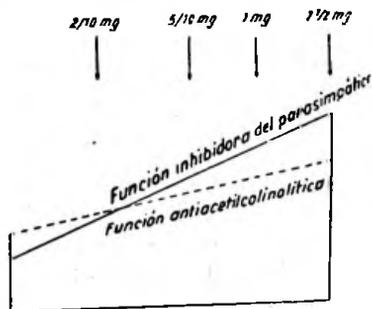


Fig 6—Las dos acciones de la atropina. Acción sobre el hombre. En el hombre la acción antiacetilcolinolítica es mayor que la inhibitoria del parasimpático para dosis inferiores a 1/4 mg. de sulfato de atropina. Por encima de 1/4 mg predomina la segunda función.

(1) En el original francés se designa como "action parasymphatho-frénatrice".

la concentración de la atropina, no puede concedérsele ningún poder demostrativo.

DANIELOPOLU, para asegurar a su teoría un campo de aplicación lo más amplio posible, la ha extendido también a las reacciones anafilactoideas; concretamente, al choque provocado por la inyección intravenosa de pequeñas cantidades de disolución de agar al 1 por 100, a cobayos normales. Separándose del punto de vista que J. BORDET, autor de esta observación, adopta frente al mecanismo provocado por el agar, DANIELOPOLU opina que la suspensión de agar sea acetilcolinérgica. Por una suerte de adsorción o anclaje a la célula la estimula y provoca en ella la cesión de acetilcolina. El agar actúa sobre la célula del mismo modo que un antígeno, y la diferencia se reduce a que el antígeno, además de su función inespecífica, posee también otra función específica; pero la función acetilcolinérgica, tanto en uno como en otro caso, es un fenómeno físico. En la segunda mitad del experimento descrito por extenso (véase fig. 5), se incluyó este choque de agar. Ahora bien, recuérdese que los dos cuernos de útero A y B estaban desensibilizados y lavados en disolución de Tyrode; por ello ya no reaccionaron frente al antígeno específico (suero de caballo, añadido en Z y Z₁); pero tampoco lo hicieron a la adición de suspensión de agar, lo que se atribuye a que el choque específico no sólo satura los anticuerpos, sino que también agota la provisión de precolina del cuerno del útero. No se aduce ninguna prueba, aunque hubiera sido fácil determinar el contenido de colina de un cuerno de útero antes y después de una desensibilización específica. La suspensión de agar no actúa independientemente de si el cuerno del útero está o no "atropinizado". Pero del hecho de que la histamina provocara una contracción enérgica (la acetilcolina no se ensayó en esta fase del experimento) se dedujo que el consumo de histamina no pudo ser la causa de la incapacidad de reacción ante el antígeno específico ni ante la suspensión de agar. No se explica que una desensibilización con antígeno anule tan poco la capacidad de reacción ante la acetilcolina (hecho ya señalado e incluso comprobado por DANIELOPOLU). Por lo demás, si se observara que la provisión original de histamina o de precolina contenida en un cuerno de útero sensibilizado, se consume en una reacción frente al antígeno específico, y que después ya no puede responder con una nueva contracción a un nuevo contacto del antígeno, esto no significa, naturalmente, que haya de ser inactiva una histamina o acetilcolina adicionada desde fuera (véase pág. 52).

Según DANIELOPOLU, no deben distinguirse el tipo de anticuerpos

que actúan inmunizando del tipo de anticuerpos de efecto anafiláctico. Más bien, en su opinión, todos los anticuerpos actúan inmunizando. En este punto puede coincidirse con DANIELOPOLU, pero no sin una reserva importante. Bajo la palabra "inmunidad" no debe entenderse una acción protectora y tampoco dar a la expresión "inmunizar" el sentido de un estímulo profiláctico. Me remito a mi extensa discusión de este tema aparecida en la primera parte de esta monografía [R. DOERR (1950, pág. 10 s.)]. Precisamente en este error, en el que antes que él habían tropezado ya varios autores, incurre ahora DANIELOPOLU, lo que le pone en conflicto con la necesidad de explicar la anafilaxia pasiva. Intenta soltar los nudos del modo siguiente: El suero de un animal tratado con antígeno, según escribe en la página 108 y s. de su monografía, contiene sólo anticuerpos, y si lo inyectamos a un animal normal, provocamos en él el estado de la inmunidad pasiva y no una anafilaxia pasiva. Los anticuerpos transmitidos al animal normal impregnan los tejidos, y la inyección ulterior del antígeno tiene como consecuencia la formación de los complejos protectores anticuerpo-antígeno y anticuerpo-antígeno-alexina con liberación de acetilcolina, que, cuando se encuentran en cantidad suficiente en un momento dado, causan el choque parafiláctico (léase "anafiláctico"). Se trata, pues, de un fenómeno de protección o de una inmunidad pasiva y del choque parafiláctico que tal fenómeno provoca, no es sino un producto secundario (*un déchet*) de un fenómeno de inmunidad.

Si se mezcla *in vitro* el antígeno con el suero de un animal tratado con este antígeno y alexina, prosigue DANIELOPOLU en el lugar citado, y si se inyecta la mezcla a un animal normal, el choque así desencadenado no puede explicarse por la producción de una anafilotoxina cuya formación nadie ha demostrado. Más bien no se trata sino del fenómeno de la inmunidad *in vitro* que prosigue en el organismo de un animal normal. El complejo protector que alcanza el campo de los tejidos libera allí acetilcolina y ésta desencadena el choque. Por lo demás, habría que preguntarse si no se libera ya acetilcolina *in vitro* al preparar la mezcla y, además, ensayar si en todos estos fenómenos (choque parafiláctico activo y pasivo) no coopera una reducción de la colinesterasa que favorezca la acumulación de la acetilcolina.

Quien examine estas consideraciones en lo esencial de su contenido, al intimar con el tema, podrá apreciar sin dificultad que tras ellas no se oculta sino el punto de vista dominante. No hay más que sustituir la necesidad subrayada por DANIELOPOLU de que el complejo anticuerpo-antígeno "protector" se forme en los tejidos o deba alcanzar los tejidos por el concepto habitual de la reacción intracelular

antígeno-anticuerpo, y buscar el veneno del músculo liberado en la histamina y no en la acetilcolina para encontrarnos con lo que la mayoría de los autores contemporáneos consideran como mejor respuesta al mecanismo de las reacciones anafilácticas. El recusamiento de la posibilidad de que también los anticuerpos puedan ser la condición previa inmunológica de un estado patológico es un elemento extraño en la secuencia de las manifestaciones hipotéticas de DANIELOPOLU; él mismo asevera que el complejo "protector" antígeno-anticuerpo se hace patógeno, aunque sea con la limitación de que sólo llega a serlo por la liberación de acetilcolina de los tejidos. DANIELOPOLU se niega a reconocer que la reacción antígeno-anticuerpo (cuando sea intracelular) pueda resultar perjudicial por fidelidad al dogma de que un anticuerpo debe resultar útil al organismo. Lo que es realmente notable, porque a todo el que pretenda discutir de temas inmunológicos debería serle conocido que las células que contienen antígenos pueden ser lesionadas por el correspondiente anticuerpo (en unión con el complemento, pero también sin él) hasta sufrir los daños más graves, es decir, hasta su muerte y total disgregación (citolisis, acción del suero antiparamaecio sobre los paramaecios). Del fenómeno de la anafilaxia inversa no se ocupa DANIELOPOLU; como atribuye al antígeno propiedades acetilcolinérgicas, le hubiera sido fácil encajar la anafilaxia inversa en su edificio hipotético.

La antianafilaxia, o, dicho con más precisión, el estado de incapacidad reaccional contra el antígeno específico que resulta cuando se administra a un animal anafiláctico el antígeno específico de un modo tal que no se ponga su vida en peligro y que por ello se designa como densibilización específica, lo explica DANIELOPOLU por la cooperación de dos factores, a saber, la saturación de los anticuerpos y el agotamiento o la disminución de la precolina en los tejidos (*décholinisation tissulaire*). No se ha hecho cuestión de cual sea la participación del factor nombrado en primer lugar, y considera que la reducción del contenido de precolina en los tejidos ha de ser la causa principal y que, también, ella sola (es decir, sin agotamiento del anticuerpo) puede proteger del choque al organismo. Considera que podría seguirse formando el complejo antígeno-anticuerpo-alexina, pero encontrar tejidos pobres en precolina y, por tanto, que las cantidades de acetilcolina que el complejo alcance a liberar resulten demasiado pequeñas para provocar con ello un choque. Este apartado termina con la afirmación de que no se trata de anafilaxia ni de anti-anafilaxia, sino del fenómeno de la anti-filaxia combinado con un agotamiento de la provisión de precolina de los tejidos. Como al co-

mienzo de este capítulo se había exigido que lo que hasta la fecha se había designado como antianafilaxia debiera designarse de ahora en adelante como antiparafilaxia, de modo análogo a como DANIELOPOLU había transformado el término anafilaxia en parafilaxia, se trata sólo de una nueva designación de fenómenos idénticos que, evidentemente, no puede impugnar la existencia de los fenómenos mismos. En lo que respecta a la nomenclatura tampoco se trata, por lo demás, de una novedad fundamental. Es sabido que RICHET, en 1902, por la expresión anafilaxia quiso caracterizar la contraposición con la acción protectora, "filaxia", y en las mismas peligrosas aguas se mueve también DANIELOPOLU, que sustituye *aná* por *παρά*, pero que persiste en el mismo estupor ingenuo al tropezar en lugar de con la protección que espera con el efecto opuesto. La idea de que a todo anticuerpo corresponde una conveniente reacción de defensa, procede del descubrimiento de las antitoxinas por BEHRING y KITASATO. El desenvolvimiento de las primeras peripecias que incluyeron las toxinas entre los anafilactógenos, si bien comienzan a señalarse publicaciones de 1927 a 1931, aún no podían preverse en 1946, año en que aparece la segunda edición de la monografía de DANIELOPOLU, y los trabajos decisivos no se comunicaron hasta 1948 [véase R. DOERR, 1950, páginas 177 a 182], por lo que no podían aún haber influido sobre la publicación coetánea de DANIELOPOLU (1948) en la *Schweizerischen medizinischen Wochenschrift*.

En esta publicación de DANIELOPOLU, última de la que tengo noticia, defiende el autor su teoría, como lo hizo antes, principalmente con los resultados de sus experimentos (ya señalados), según los cuales el intestino o el útero de cobayos sensibilizados no reaccionan al antígeno específico ni a la acetilcolina cuando se han tratado previamente con atropina, mientras que la histamina provoca una contracción enérgica. Pero se añade que la atropina a grandes dosis inhibe también la acción de la histamina. Ahora bien, *in vivo*, el choque desencadenado por el antígeno específico en un animal desensibilizado sólo se debilita o impide cuando la dosis de atropina excede del límite de la tolerancia, y como este choque se califica de parafiláctico, debe sacarse la conclusión de que la prueba en órgano aislado no permite sacar ninguna conclusión del comportamiento del organismo, especialmente si sólo se considera en el segundo caso la dosificación de la atropina empleada como antagonista. Volvamos a señalar las experiencias que estudian *in vitro* e *in vivo* a la arginina e histidina como antagonistas de la histamina y de la reactividad anafiláctica.

Se ha sacado además a colación que en el choque parafiláctico se

establece una leucopenia acompañada de mononucleosis y eosinofilia, fenómeno que puede provocarse también por acetilcolina, así como por eserina y estrofantina, en tanto que la histamina no provoca tales alteraciones del cuadro sanguíneo (1).

También aduce que en el choque parafláctico aparecen además perturbaciones de la actividad del corazón que provoca también la acetilcolina y no la histamina.

Finalmente, siempre según DANIELOPOLU, en el choque parafláctico se observan convulsiones y movimientos de rotación que faltan en el síndrome del envenenamiento por histamina. Ahora bien, las convulsiones son consecuencia de la asfixia por espasmo bronquial, que en ambos casos se han observado con seguridad, y los "movimientos de rotación" yo no los he visto nunca en mis experimentos muy numerosos en cobayos.

DANIELOPOLU no niega categóricamente que en el denominado choque parafláctico (*ci-devant* anafiláctico) juegue un papel el envenenamiento por histamina; se limita a afirmar que en este caso la acetilcolina debe ser el factor primario que provoca el choque y la histamina no jugar sino un papel secundario. Puede verse en la memoria original cómo DANIELOPOLU intenta explicar esta conexión que él denomina "cercle acetylcholino-histaminique". Es interesante que discute bases neurológicas que explicarán plausiblemente una liberación de histamina a distancia.

También otros autores han concedido preferencia a la hipótesis de la acetilcolina sobre la teoría de la histamina. En primer lugar, citemos los trabajos de K. NAKAMURA y sus colaboradores, S. CHIRIGA y H. OHSUKA, quienes, con independencia de DANIELOPOLU, pero en parte sobre la misma base, llegan a la conclusión de que la acetilcolina debe jugar un papel esencial en la patogénesis del choque anafiláctico. NAKAMURA (1941) parte de que el síntoma principal del choque anafiláctico en el cobayo consiste en una contracción general de la musculatura lisa y en la hiperfunción de las glándulas; es decir, se produce en tejidos de órganos regulados por el sistema parasimpático. Ahora bien, si a un cobayo sensibilizado se le inyecta como

(1) Hay que señalar que la identidad de las alteraciones del cuadro sanguíneo, y de la composición de la sangre en el choque anafiláctico y a consecuencia de un envenenamiento por histamina, se han aducido también como prueba para la corrección de la hipótesis de la histamina [DZSINNICH y PÉLY (1934, 1934 a), BÜNGELER (1932), PARROT (1939)].

profiláctico atropina, paralizante del parasimpático, con frecuencia se le hace refractario a una dosis de antígeno que no sobrepase en mucho a la dosis letal mínima. Y si se trata previamente *in vitro* el intestino de un cobayo sensibilizado con atropina o adrenalina, no reacciona, al cabo de pocos minutos, en el ensayo de SCHULTZ-DALE a la adición del antígeno específico; dichas sustancias llegan incluso a inhibir una contracción ya iniciada. Estas observaciones indican que la paralización de todo el parasimpático, o tal vez simplemente el estímulo de las fibras inhibitoras que envuelven el nervio, debe ser lo que participe en la inhibición o en el desplazamiento de la reacción anafiláctica. Además ha podido señalarse que el intestino sensibilizado, cuya contracción por el antígeno se impide por atropina, recupera su aptitud reaccional por fisostigmina. Como la fisostigmina excita las ramificaciones terminales del parasimpático, sólo ha de dar ocasión a la segunda contracción, porque la acción paralizante de la atropina se limite exclusivamente a estos elementos. Por el contrario, la acción estimulante de la contracción ejercida por la histamina sólo se domina por dosis de atropina diez veces mayores que las que relajan la contracción anafiláctica, y además la fisostigmina resulta inactiva. De ello se deduce que la sede principal de la reacción anafiláctica antígeno-anticuerpo debe radicar principalmente en la periferia del aparato del sistema nervioso autónomo y que su manifestación debe proceder más bien de una alteración brusca del estado coloidal de este aparato, tal vez del tipo de una precipitación inmune.

NAKAMURA considera como hipótesis no demostrada e incluso difícilmente demostrable (consúltese respecto a esto el prólogo de esta monografía) que la reacción antígeno-anticuerpo pueda actuar dañando como tal la célula y ser causa directa de las manifestaciones patológicas. Se sitúa, pues, del lado de los autores que consideran necesario postular el papel intermediario de un veneno endógeno o liberado. La reflexión de que de ningún modo hayan de excluirse mutuamente la hipótesis de una acción lesiva directa de la célula ejercida por la reacción antígeno-anticuerpo y la hipótesis de liberación de sustancias tóxicas preexistentes en el organismo [véanse, entre otros, los trabajos de C. F. CODE (1939, 1944)] no encaja en la dirección del pensamiento de su tiempo, y NAKAMURA, como casi todos los autores que participan activamente en este campo, piensa que la solución del problema sólo se encontraría en la de la disyuntiva.

A pesar de los trabajos de D. ACKERMANN (1939), NAKAMURA no se resuelve a admitir la hipótesis de la histamina, porque su colaborador, S. CHIGIRA (1941), como antes se dijo, había observado que el

ratón, así como la rata, sólo pueden morir por grandes dosis de histamina que no preexisten de ningún modo en el organismo de estos animales. De hecho, la teoría de la histamina ha tenido que renunciar a las reacciones anafilácticas en el ratón blanco (véase pág. 12), y en la rata resulta igualmente insostenible a pesar de los esfuerzos de A. HOCHUWALD y F. M. RACKEMANN [véase R. DOERR (1950, página 138)]. Pero del hecho de que la teoría de la histamina sea insostenible para las dos especies, naturalmente no permite sin más afirmar la intervención de otra sustancia tóxica endógena; esta afirmación exige una prueba positiva. CHIGIRA intenta satisfacer este postulado del modo siguiente:

Hace notar, en primer lugar, que la acetilcolina, tanto en el ratón como en la rata, a cantidades mucho menores que la histamina, es capaz de provocar un choque típico muy semejante al choque anafiláctico (1). Además, consiguió demostrar que suero de ambas especies animales adquiere en el choque anafiláctico propiedades tóxicas; inmediatamente después de sacado, si se ensaya a una dilución de 1 : 100 sobre un trozo de intestino aislado de cobayo normal, desencadena una "reacción notable con contracción". Hay que suponer que CHIGIRA no haya dejado de efectuar pruebas testigo con sueros de ratón y rata normales, si bien el autor no ha encontrado su descripción en los textos de CHIGIRA ni en los de NAKAMURA. Es indudable que tales testigos son indispensables, porque es conocida la toxicidad de sueros normales frescos. CHIGIRA comunica que el suero incluso si se conserva en nevera, se ha inactivado ya a las veinticuatro horas, lo que, notemos de paso, también sucede con la toxicidad primaria de los sueros normales. Si se envenenan ratones o ratas con histamina, el suero tomado en choque también estimula el intestino del cobayo aislado, provocando una contracción, aunque conserva esta capacidad hasta setenta y dos horas. Como complemento debe aún señalarse que el suero de ratón y rata tomado en choque de acetilcolina se comporta en cuanto a la acción sobre el intestino de cobayo y a la inestabilidad de la acción como los sueros de ratones y ratas sensibilizados obtenidos en el transcurso del choque provocado por el antígeno.

Estos son los resultados experimentales inmediatos. Ofrecen una laguna, ya que la acetilcolina no se identificó química, sino biológi-

(1) En los trabajos que conoce el autor de CHIGIRA (consúltese pág. 63) no se encuentran valoraciones comparadas exactas de las toxicidades de la histamina y de la acetilcolina.

camente; en concreto: 1, apoyándose en el paralelismo entre las inestabilidades de la acción estimulante de la contracción de sueros en choque, tomados unos en el curso de una reacción anafiláctica y otros en el de un envenenamiento directo por acetilcolina, y 2, contraponiendo esta inestabilidad con la estabilidad de esta propiedad en el choque de histamina. La labilidad se explicó por el contenido de colinesterasa; ahora bien, la presencia de ésta en los sueros del choque sólo se demostró de modo indirecto por la acción antagónica de la eserina. La eserina, escribe CHIGIRA (obra citada, pág. 29), en cantidad pequeña, por sí misma inactiva, es capaz de activar y hacer más persistente la acción de la acetilcolina. Apoyado en estos datos, se efectuaron experimentos, de los que resultó:

a) que a ratas sensibilizadas y que han sido preparadas administrándoles por vía intravenosa dosis de eserina por debajo del umbral de acción, la administración del antígeno provoca en ellas una reacción anafiláctica con "síntomas de choque manifiesto" y rinden sueros que, a diluciones de 1 : 100, provocan contracción en el intestino aislado de cobayo, y, sin embargo, esta actividad se mantiene inalterada durante setenta y dos horas (estabilización por eserina);

b) que el suero de rata se comporta de modo idéntico en el choque de acetilcolina;

c) que la acetilcolina se desdobra también rápidamente en el tubo de ensayo por acción del suero de rata, pero que esta demolición puede impedirse cuando al suero se le añaden previamente cantidades de eserina por debajo de su umbral de acción.

Las conclusiones deducidas de estos experimentos se exponen con precisión por CHIGIRA, afirmando que "las sustancias activas que pueden descubrirse en la sangre circulante de los ratones y ratas en estado de anafilaxia por suero son fácilmente demolidas por el suero y análogos, pero, por otra parte, se estabilizan por eserina. Las sustancias, por tanto, poseen propiedades que las alejan de la histamina y que más bien las asemejan a la acetilcolina".

Prescindiendo de que la existencia de acetilcolina en los sueros en choque no se puso de manifiesto por un procedimiento químico, sino sólo biológico, es decir, por un aporte farmacodinámico de indicios, se descubre aún otra falta en el aporte de pruebas. No basta demostrar que en el choque se libere un veneno, sino que hay que precisar si las cantidades liberadas en la fase del choque alcanzan cuantitativamente a explicar los síntomas. La reacción anafiláctica del ratón si el tratamiento previo fué apropiado puede tener curso letal, e incluso ratas preparadas por vía activa pueden, en circunstancias es-

peciales, presentar un cuadro grave de reacción anafiláctica. En los autores japoneses no se encuentra ningún dato preciso acerca de las dosis de acetilcolina capaces de desplegar acciones patológicas de la misma intensidad en ratones y ratas normales; se señala simplemente que la toxicidad de la acetilcolina para estas especies animales es mayor que la de la histamina, pero sin dar ninguna relación numérica. Por el contrario, los defensores de la hipótesis de la histamina han sentido la necesidad de establecer relaciones entre la acción del supuesto veneno sobre el animal normal y la cantidad de este veneno liberada por el choque, como atestiguan los experimentos de BARTOSCH, FELDBERG y NAGEL (1932 b).

Si no en orden cronológico, si en sucesión lógica, daremos los resultados de algunos trabajos en estrecha relación con los de NAKAMURA y sus colaboradores, que tienen como objeto las reactividades de la rata.

ST. WENT y J. MARTIN (1939) reunieron datos anteriores de los que se deduce que las ratas blancas no pueden sensibilizarse por antígenos proteicos o sólo lo hacen con mucha dificultad en condiciones especiales [M. K. EBERT (1927)], y afirman, fundándose en experimentos propios, que la inyección desencadenante con el antígeno con que se preparó no consigue provocar las reacciones anafilácticas características (reducción de la presión sanguínea, espasmo bronquial, arritmia del corazón). Las ratas presentan, además, una resistencia extraordinariamente alta frente a la histamina, la colina y la acetilcolina, que puede también observarse en órganos aislados vivos. Los datos reunidos por WENT y MARTIN se reúnen en la tabla II.

TABLA II

	Cantidad mínima activa de la sustancia del choque en mg.					
	Histamina.		Colina.		Acetilcolina.	
	Rata.	Cobayo.	Rata.	Cobayo.	Rata.	Cobayo.
Presión sanguínea	0,5 (caída)	0,05 (subida)	Sin efecto	0,02	0,01	0,001
Espasmo bronquial.....	0,001	0,000001	1	0,05	0,01	0,0000005
Corazón	0,1	0,00002	0,5	0,15	0,0002	0,00001

De la Tabla se deduce que la resistencia de la rata alcanza, en las tres acciones ensayadas, frente a la acetilcolina una magnitud también distinta que la del cobayo. Como se trata de sustancias ac-

tivas enteramente distintas, WENT y MARTIN rehusan dar una explicación única. L. C. WYMAN (1928, 1929) [véase también WYMAN y C. TUM SUBEN (1929)] ha demostrado que la capacidad de resistencia de la rata frente al choque anafiláctico y frente al envenenamiento por histamina se reduce por la extirpación de ambas cápsulas suprarrenales y que vuelve a elevarse por la inyección de adrenalina, de lo que han deducido que la sensibilidad de la rata epinefrectomizada se debe a la pérdida de funciones de las cápsulas suprarrenales. La extirpación de las cápsulas suprarrenales eleva también la sensibilidad de la rata para la acetilcolina [C. A. CRIVELLARI (1927)], que, expresada en dosis letales en mg. por kg. de peso animal, se reduce de 5.000 a 50. Además, WENT y MARTIN aducen la afirmación de COCA, RUSSEL y BAUGHMAN (1921) de que la gran resistencia de la rata a la toxina diftérica se debe a una capacidad de las células de establecer una barrera frente a la penetración del veneno. De este modo WENT y MARTIN llegaron a la conclusión de que la resistencia de la rata al choque anafiláctico y a los choques por histamina, colina y acetilcolina parece deberse, al menos, a tres factores: 1, a la propiedad de los elementos musculares lisos de impedir la penetración de las sustancias activas en el interior de las células; 2, a la reducida sensibilidad de las terminaciones nerviosas autónomas; y 3, a la función compensadora de la médula suprarrenal.

Ya en la época en que WENT y MARTIN terminaron sus experimentos, éstos resultaban objetables en algunos aspectos. Para obtener las reacciones anafilácticas, los citados autores sensibilizaban las ratas, unas, por una sola inyección intraperitoneal de 0,5 ml. de suero de bovino, y otras, por una inyección de 0,2 ml., seguida a los tres días por otra de 0,3 ml. del antígeno y por la vía dicha, e investigaron la reactividad de los órganos de veintiuno a treinta y cinco días después de la sensibilización. Ahora bien, J. T. PARKER y F. J. PARKER (1924) habían mostrado que el experimento de anafilaxia activa sólo da resultados positivos claros cuando se observan escrupulosamente determinadas condiciones; a saber: 1, una preparación por repetidas inyecciones del antígeno, y 2, el mantenimiento de un intervalo no superior a diez días entre la última dosis preparadora y la inyección desencadenante del antígeno. Numerosos autores [véase R. DOERR (1950, págs. 25 y 135)] confirman la corrección de estas prescripciones.

Posteriormente aparecieron trabajos de los que se deduce que no sólo la extirpación de las cápsulas suprarrenales, sino también

otros ataques al sistema de secreción interna consiguen intensificar el choque anafiláctico de la rata [N. MOLOMUT (1937)], de modo que resulta insostenible la atribución exclusiva a una función de las cápsulas suprarrenales.

En cambio, las investigaciones efectuadas en este mismo equipo de investigadores por J. MARTIN y A. VALENTA (1939) acerca del contenido de histamina en los órganos de las ratas blancas conservan su importancia. Intentaban resolver la cuestión general de si las sustancias de las que se admite que actúan como agentes intermediarios en el choque anafiláctico no actúan en el músculo liso de las ratas blancas, sino en tan pequeño grado (o a concentraciones tan extraordinariamente altas), porque por encontrarse en muy pequeña cantidad en los órganos de la rata, no pueden liberarse por la reacción antígeno-anticuerpo en concentración suficiente. Las determinaciones se efectuaron por el método de BARSOUY y GADDUM, perfeccionado por CODE, y se extendieron al corazón, la sangre, los pulmones, los músculos del esqueleto, la piel, el bazo y el pulmón. Como objeto de comparación consideraron datos del contenido de histamina en los órganos correspondientes del conejo, del perro y del gato recogidos en la monografía "Histamine", de W. FELDBERG y E. SCHILF (1930). El contenido de histamina en órganos de la rata blanca no difiere esencialmente del contenido de histamina en los órganos de otros animales de experimentación; por tanto, la resistencia al choque de la rata no puede atribuirse a la pobreza de histamina en esta especie animal, sino a su resistencia extraordinaria frente a las acciones de sustancias biológicamente activas y a que la histamina, que de hecho existe, no se moviliza; hecho éste que modernas investigaciones hacen extensivo al ratón blanco (véase pág. 12). Sin embargo, el factor citado en segundo lugar no participa sino de modo secundario, puesto que el fosfato o el clorhidrato de histamina inyectado no mata a la rata sino a dosis muy altas. Lo mismo puede decirse de la participación de la histamina en el choque anafiláctico del ratón. Pero mientras que las pruebas anafilácticas en el ratón pueden efectuarse fácilmente en sus diversas variantes, alcanzando el resultado máximo, no sucede lo mismo con la rata, donde hay que recurrir a diversas medidas radicales (extirpación de órganos, alimentación pobre de vitaminas) para conseguir que los experimentos anafilácticos tengan curso mortal. Se ve, por consiguiente, que estas dos especies, de comportamiento semejante en lo que respecta a su insensibilidad para la histamina, tienen un comportamiento muy distinto en lo que respecta al proceso patológico provocado por la reacción antígeno-

anticuerpo, y este reconocimiento permanece como residuo insoluble en todas las discusiones acerca de las sustancias activas que actúan como intermediarias en el choque.

S. WENT y K. LISSAK (1935 a, b) demostraron que en el corazón del cobayo sensibilizado puede provocarse una reacción anafiláctica específica por perfusión con disolución de Tyrode que contenga antígeno, reacción que, por su carácter, corresponde a un estímulo del vago. Pero si se añade atropina a la disolución de Tyrode desaparece la reacción; en cambio, no influye sobre ella la fisostigmina, lo que justifica la opinión de que la sustancia activa pudiera ser colina. Pero, como la colina ha sido considerada como una sustancia de actividad biológica relativamente débil, los autores llegaron a sospechar que la sensibilización pudiera alterar el estado reaccional del corazón; es decir, que el corazón normal y el sensibilizado del cobayo pudieran diferenciarse por su sensibilidad ante la colina. La experimentación justifica la hipótesis. La colina sólo resulta activa para el corazón normal a diluciones máximas de 1 : 5000, mientras que el corazón sensibilizado ya reacciona a concentraciones de 1 : 20000 - 1 : 30000; además existe una diferencia cualitativa, ya que el corazón sensibilizado no sólo responde al estímulo del antígeno con pérdida de frecuencia, sino con arritmia del latido cardíaco. Estas investigaciones fueron reemprendidas en 1939 por J. MARTIN y S. WENT, extendiéndolas a la colina y a la acetilcolina, así como a un segundo animal de experimentación (la rata sensibilizada). Como criterios utilizaron los comportamientos de la presión sanguínea, de la musculatura bronquial y del corazón aislado. El único resultado seguro que consiguieron fué que la sensibilidad frente a la colina del corazón aislado de cobayo se hace más de cien veces más elevada a consecuencia de la sensibilización del animal con suero de bovino. No ha podido darse una explicación segura de este fenómeno. Pero, como la actividad de disoluciones de colina muy diluidas sobre el corazón sensibilizado no sólo se manifiesta por un efecto cronotrope e inotropo, sino también por una arritmia que es característica del choque anafiláctico del corazón del cobayo, podía admitirse, en opinión de MARTIN y WENT, que la permeabilidad o afinidad del sistema de conducción del estímulo frente a la colina se eleva considerablemente por el tratamiento del animal con una proteína extraña, de modo que estos elementos pudieran envenenarse por bajas concentraciones de colina. Otra posibilidad que ven los autores citados es que en el músculo cardíaco sensibilizado se verifique más fácilmente la esterificación de la colina. Si el corazón ais-

lado de un cobayo sensibilizado se desensibiliza por un antígeno específico, disminuye la sensibilidad del órgano frente a la colina hasta alcanzar el grado de reactividad que corresponde al corazón normal.

El corazón del cobayo sensibilizado presenta otra singularidad específica digna de notarse. Cuando se perfunde con disolución del antígeno empleado en la sensibilización cede al líquido circulante una sustancia biológicamente activa que, por su efecto sobre el corazón de rana (que se inhibe por atropina) y por su inactividad sobre los preparados de sanguijuela, pudiera ser acetilcolina. El contenido de colina en el corazón sensibilizado parece aproximadamente igual que el del corazón normal, pero en el curso del choque anafiláctico sufre un descenso manifiesto; en cambio, no se altera el contenido de histamina. De ello se deduce que la acción cronotropa e inotropa, así como la arritmia que se observa en el corazón aislado durante el choque anafiláctico puedan ser causadas por la colina liberada en el músculo cardíaco [S. WENT y K. LISSAK (1936)]. Estas observaciones fueron confirmadas en 1934 por S. FARBER, A. POPE y E. LANDSTEINER, JR., con la reserva de que los resultados no son constantes. Los autores citados tomaron el corazón, los pulmones y el intestino delgado de los cobayos sensibilizados. Una parte del órgano se sitúa en disolución de Tyrode y otra en disolución de Ringer, a la que se añade fisostigmina (1). A continuación, un fragmento de cada órgano se pone en estado de reacción anafiláctica *in vitro*, adicionando el antígeno específico (suero de caballo) por la técnica de SCHILD (adición de 0,05 a 0,2 ml. de suero de caballo) y se determina el contenido de acetilcolina y el de histamina en el líquido que baña el fragmento de órgano. Resulta que de los pulmones e intestinos de cobayo sensibilizado puestos en choque *in vitro* por el antígeno ya no puede liberarse acetilcolina, como de los órganos del mismo nombre de cobayo normal. La cesión de acetilcolina por el corazón sólo pudo demostrarse en el 10 por 100 de los corazones puestos en choque por el antígeno; pero no se produce nunca en las pruebas efectuadas en corazón de cobayo normal tratado igualmente. Ha podido observarse de nuevo durante el choque anafiláctico la liberación de histamina de los tejidos de cobayos sensibilizados. Estos experimentos tienen también importancia para la interpretación retrospectiva de los experimentos de BARTOSCH, FELDBERG y NAGEL (véase pág. 9); pero están en contradicción con los resultados experimentales de DANIELOPOLU. Parece evidente que FARBER

(1) La fisostigmina impide el desdoblamiento hidrolítico de la acetilcolina.

y sus colaboradores no conocían los trabajos publicados antes de 1944 por DANIELOPOLU.

De este modo se plantea una situación especial que ha nacido impremeditadamente de la concurrencia de las dos hipótesis rectoras que atribuyen el choque anafiláctico a la liberación de un veneno químicamente definido. En el órgano del choque del cobayo, indudablemente el pulmón, se libera histamina y no acetilcolina, y, en cambio, en los procesos patológicos en un órgano—y, al parecer, sólo en él—, el corazón, que no puede hacerse responsable de la marcha letal del choque agudo, aunque quizá participe de modo decisivo en el choque demorado, parece ser la acetilcolina el agente responsable de los síntomas. Y con esto no se terminan las complicaciones. La histamina y la acetilcolina no actúan sólo en el lugar donde se liberan, sino que alcanzan la circulación sanguínea, y por ello pueden desplegar sus acciones peculiares en zonas alejadas. En el cobayo y perro, la histamina cedida por los órganos de estos animales de experimentación no sólo se descubren en los órganos del choque (respectivamente, pulmón e hígado), sino en la sangre circulante [C. F. CODE (1939), DRAGSTEDT y GEBAUER-FUEINEGG (1932)] y S. CHIGIRA (1941) pudo sostener la opinión de que los síntomas anafilácticos del ratón y de la rata podían provocarse por acetilcolina liberada, fundándose en las propiedades biológicas que adquiere el suero sanguíneo en el curso del choque anafiláctico de estos animales. No se ha conseguido aún precisar la participación que ejerzan en el proceso patológico las dos fracciones de sustancias activas: la cedida por el órgano del choque mismo y la aportada a él desde órganos alejados por la corriente sanguínea. Esta delimitación parece difícil por distintas razones. En primer lugar, H. O. SCHILD (1937, 1939) ha señalado que en el choque anafiláctico del cobayo la histamina no sólo se libera en el órgano del choque, es decir, en el pulmón, sino que se produce simultáneamente en muchos lugares (véase pág. 15). En segundo lugar, los resultados observados en una especie animal no pueden extenderse, sin más, a otra. Es pura palabrería, por ejemplo, el deducir de la insensibilidad del ratón blanco para la histamina que esta sustancia activa no puede participar en las reacciones anafilácticas del cobayo o del perro. Sin embargo, se tiende, aunque no siempre expresamente, a sacar tales consecuencias. Sin embargo, el único punto de vista correcto es mantenerse apartado de toda generalización (si se exceptúa la afirmación de que los fenómenos anafilácticos en todas las especies animales deben referirse, en último tér-

mino, a una reacción antígeno-anticuerpo. En cuanto a lo demás, el mecanismo de los fenómenos anafilácticos constituye un problema especial para cada especie animal, aun cuando se encuentren criterios comunes, como, por ejemplo, para el cobayo y el perro o para el ratón y la rata. El estado poco satisfactorio en que se encuentra la teoría de los venenos intermediarios del choque, debe atribuirse, ante todo, a que esta teoría se ha colocado demasiado en primer plano, y que las discusiones bajo las consignas "histamina" por una parte y "acetilcolina" por la otra, han hecho olvidar el problema, mucho más importante—aunque también menos fácilmente resoluble—, de la esencia de la reacción antígeno-anticuerpo, nociva para la célula. También tiene culpa en ello la índole fragmentaria propia del trabajo y publicaciones de nuestro tiempo, que desmenuza los problemas en innumerables cuestiones singulares, como no podrá negar nadie que intente dominar el estudio de la vasta literatura. Indiquemos aquí la oportuna crítica de P. WEIS (1945), que, sin embargo, no ha conseguido ninguna mejoría apreciable.

RESUMEN

1. No ha podido demostrarse la afirmación, sentada por los partidarios de la hipótesis de la acetilcolina, de que los pulmones y otros tejidos del cobayo cedan acetilcolina y no histamina en el choque anafiláctico; por el contrario, está en contradicción con hechos bien establecidos.

2. Constituye una excepción el corazón sensibilizado del cobayo, que cede acetilcolina al contacto del antígeno; aunque la demostración experimental sólo se consigue en un tanto por ciento de las pruebas, sin que haya podido explicarse la causa de los resultados negativos.

3. En el perro, la sustancia que se libera en el choque anafiláctico es también histamina; la cesión de histamina ha podido determinarse cuantitativamente en función del tiempo y ponerse en conexión con el curso de los síntomas.

4. En el suero sanguíneo de ratones y ratas con reacción anafiláctica ha podido demostrarse la presencia de una sustancia que ofrece las propiedades biológicas de la acetilcolina. El choque del ratón, después de una preparación conveniente, tiene curso grave o letal; el de la rata, benigno. No puede saberse *a priori* si esto guarda relación con

las cantidades de acetilcolina liberada, ni tampoco si estas cantidades, en una y otra especie, bastan para explicar los síntomas. La dosis intravenosa letal de acetilcolina (calculada por kg. de peso corporal) es igual para el ratón y la rata, lo que parece estar en contradicción con la reactividad anafiláctica de las dos especies.

CAPÍTULO III

LA PRUEBA DE SCHULTZ-DALE. LIMITES DE SU FUERZA DEMOSTRATIVA. FUENTES DE ERROR

Ante todo, debe decirse que la prueba de SCHULTZ-DALE con segmentos aislados de intestino delgado de cobayos sensibilizados, y la influencia que sobre su reacción frente al contacto del antígeno ejercen distintos antagonistas de composición química definida (aminoácidos, atropina, fisostigmina, antihistamínicos sintéticos), se ha aplicado con una tal extensión, que casi no puede hablarse de un "método", sino del método de elección. Dado este estado de cosas, es de agradecer que P. A. NICOLL y D. H. CAMPBELL (1940) hayan expuesto de modo muy completo la historia de este ensayo y propuesto el perfeccionamiento de los aparatos necesarios. NICOLL y CAMPBELL atribuyen a los segmentos vivientes de intestino delgado de cobayos sensibilizados el mismo valor, cuando no más, que al útero virgen, como tejido apropiado para el ensayo cuando se trate de demostrar la "anafilaxia *in vitro*". Incluso pudieron demostrar con este método que la prueba con intestino nunca es positiva antes del sexto día después de la inyección sensibilizadora, y que no parece desenvolverse lentamente cuando se toma como medida de la sensibilidad en el momento de la prueba la concentración de antígeno necesaria para obtener reacción positiva. En un segundo trabajo, en el que aplicaron junto a tiras de intestino úteros de cobayos sensibilizados, CAMPBELL y NICOLL (1948) pudieron observar que los músculos circulares y longitudinales del útero de hembras de cobayo embarazadas, sensibilizadas, en contra de datos de autores anteriores, reaccionan más intensamente al contacto del antígeno que los úteros de hembras de cobayo vírgenes, y que el tejido de intestino fetal, tomado del fruto de cobayos hembras sensibilizadas, embarazadas, en la séptima u octava semana de gestación responden al contacto del antígeno con una reacción positiva. Pero merecen un interés especial los experimentos según los

cuales el tejido pulmonar de cobayos sensibilizados al estímulo de antígeno cede una sustancia al líquido que los baña capaz de contraer el útero normal de la rata. Como la histamina en la concentración ordinaria no actúa sobre el útero normal de la rata mientras que la acetilcolina desencadena una contracción violenta, se abrió paso la opinión de que pudiera tratarse de una sustancia colinérgica; sin embargo, se abandonó la comprobación del aserto por un estudio químico. Dado que esta publicación pertenece a los precursores de las investigaciones con más detallada fundamentación sobre la justeza de la hipótesis de la acetilcolina, y por ello habría que haber hablado de ellas en otro lugar, si lo hacemos aquí por primera vez, nos ha decidido a ello la objetividad que CAMPBELL y NICOLL despliegan al discutir sus propios experimentos. Destacan explícitamente que los ensayos dan resultados variables. En muchos casos no se produce la reacción del útero de la rata al añadir el antígeno en presencia de tejido pulmonar de cobayo sensibilizado, o bien el útero de la rata tampoco reacciona a la acción directa de la acetilcolina en la dosificación habitual, o se registra que tampoco reaccione el útero de cobayo ni el de rata. También se observó que la reacción del útero normal de rata frente al producto cedido por el tejido pulmonar de cobayo sensibilizado suele ser más intensa que la reacción provocada con el material obtenido por acción directa del antígeno sobre el útero de rata sensibilizado. Es cierto que CAMPBELL y NICOLL buscan la causa de la inconstancia de sus resultados experimentales por todas partes menos donde podían encontrarla, a saber: en la prueba misma de SCHULTZ-DALE efectuada en muestras de tejido aislado de animal sensibilizado, sin corroborar los resultados en ensayos en el animal intacto. Ya se expuso en la primera parte de la monografía sobre anafilaxia [véase R. DOERR (1950, pág. 52)] que del comportamiento del útero aislado no puede deducirse ninguna conclusión relativa a la reactividad del animal intacto, y que autores modernos, como L. B. WINTER (1944, 1945) conceden muy poco valor al comportamiento del útero como indicador de la reactividad del animal de donde se tomó el órgano. Esto vale en alto grado para las tiras de intestino delgado de animal sensibilizado (habitualmente cobayo). D. H. CAMPBELL y G. E. McCASLAND (1944) y A. H. KEMPF y S. M. FEINBERG (1948) han señalado que no todos los trozos de intestino delgado de un cobayo sensibilizado reaccionan con igual intensidad frente a la misma concentración del antígeno, y KEMPF y FEINBERG han llegado incluso a observar que uno o dos trozos de intestino delgado de un

cobayo sensibilizado no se contraen nada al contacto del antígeno, mientras que otros trozos del mismo poseen reactividad.

Resulta *a priori* comprensible que el experimento efectuado en el órgano del choque aislado viviente, y aún menos en un trozo de tejido, no permita ninguna conclusión admisible respecto al comportamiento del animal intacto, primero, porque en él una porción aislada sustituye al organismo viviente, y además en distintas condiciones. El situar los fragmentos de tejido en disolución de Tyrode, colocar ésta a una temperatura de 37-38° C y hacer burbujear por ella oxígeno, constituye una copia manifiestamente imperfecta de las condiciones de vida que se dan en el organismo. Se excluye, en general, la circulación sanguínea, y la sangre que persiste en los tejidos se separa lo mejor posible por perfusión con disolución de Tyrode, con lo que ha de producirse una imbibición por el tejido conjuntivo perivascular y una alteración de la composición de la linfa intersticial del tejido. Como enseñan los experimentos citados en la página 41. no es indiferente conducir a través del órgano aislado que se usa en el ensayo el agente que se estudie disuelto en líquido de Tyrode o utilizar para dicho fin sangre como vehículo; tales experimentos demuestran, en primer lugar, que la peptona, el extracto de ascárides o el antígeno sólo pueden liberar histamina del hígado aislado de perro cuando estos agentes se disuelven en sangre lo menos alterada posible y se haga circular ésta por los vasos, y no lo hacen, en cambio, cuando se utiliza disolución de Tyrode como medio de perfusión; y, en segundo lugar, que la diferencia debe atribuirse probablemente a la eliminación de trombocitos y leucocitos, ricos de histamina, del complejo de condiciones que reinan en el órgano vivo.

De esto proceden causas de error, unas debidas al método mismo, pero otras al modo de llevarlo a cabo.

Es sabido [véase R. DOERR (1950, pág. 46 a 57)] que los trozos de tejido que se ensayan (cuernos de útero, tiras de intestino delgado de cobayo) se montan en un recipiente afín a una probeta, de modo que se fijen al fondo del mismo, mientras que el extremo superior se empalma mediante una hebra de seda con una aguja inscriptora que dibuja las contracciones y relajaciones en un tambor rotatorio revestido de un papel ahumado. Para sacar conclusiones acerca de la velocidad de la reacción se registra el tiempo, en segundos o minutos, en el mismo papel. No se precisa el volumen del trozo del tejido, lo que puede ser superfluo, porque las variaciones son pequeñas y probablemente no alteran el resultado de la prueba, pero en muchas ocasiones, en especial en los trabajos recientes, tampoco se consigna el

volumen del líquido que baña el trozo de tejido, y este descuido es mucho más sensible porque el volumen del baño varía considerablemente según el aparato que se emplee. Del volumen del baño depende la concentración del agente que se hace actuar sobre el tejido ensayado; sin conocer el volumen no se precisan las condiciones de la prueba al registrar, por ejemplo, que se añaden 5 ml. de suero de caballo al líquido que baña el tejido. Se debe renunciar también a esta semiexactitud que se usa al decir simplemente que el trozo de tejido está "atropinizado", sobre todo cuando, además, se silencia la duración de la aplicación del alcaloide y la persistencia del efecto de la aplicación. Podría objetarse que siempre se trata de experimentos relativamente breves, y que bastan resultados constantes en los efectos obtenidos y en los de los antagonistas para dar una respuesta segura a las preguntas planteadas. Pero parece que no sucede así, porque si no, sería incomprensible que autores que se sirven del mismo objeto experimental llegaran a conclusiones opuestas.

Si se aísla el útero de un cobayo sensibilizado en el momento en que el animal está anafiláctico y se le lleva a un líquido indiferente (disolución de LOCKE-RINGER o de Tyrode), se observan, a lo largo de una hora, contracciones espontáneas, y debe, por consiguiente, considerarse que, en esta fase, el órgano posee una irritabilidad exaltada [R. WEIL (1914), M. WALTZER y E. F. GROVE (1925), P. A. MOODY (1940)]. Pero D. DANIELOPOLU, en la mayoría de las curvas de su monografía, ignora por completo esta prescripción y enjuicia la acción de las sustancias estimuladoras de la contracción en esta fase de máxima irritabilidad espontánea por el desplazamiento a un nivel más alto de las contracciones espontáneas.

Cuando se examina *in vitro* una reacción de inmunización, por ejemplo, una hemólisis, una aglutinación o una precipitación, la investigación, en general, no se contenta con decidir si el resultado es positivo o negativo, sino que intenta responder a la pregunta de cuáles son las condiciones cuantitativas en que se inicia el resultado positivo. En el caso de la precipitación inmune, cuya íntima relación con la reacción anafiláctica antígeno-anticuerpo no puede ponerse en duda, se observa que a una determinada cantidad de suero inmune con anticuerpo corresponde una cantidad de antígeno precipitado y se determina la dilución límite del antígeno que puede considerarse aún como resultado positivo. Sin embargo, si bien en este momento hay que admitir que los fenómenos anafilácticos se deben a reacciones antígeno-anticuerpo, nos contentamos, en general, con responder con una simple disyuntiva, es decir, con decidir si una contracción del

cuerno de útero de un cobayo sensibilizado puede provocarse o no por el contacto del antígeno *in vitro* o si se interrumpe o prosigue después de adicionar atropina. Este renunciamiento a "determinaciones en el punto límite" se debe a que para ahorrarse el rodeo de la obtención de globulinas inmunes heterólogas, casi siempre se trabaja con tejidos de animales sensibilizados por vía activa, donde es imposible toda valoración de la cantidad de anticuerpos en juego. El autor no tiene noticia de que haya aplicado órganos (cuerno de útero) de cobayos en estado de anafilaxia pasiva más que P. A. MOODY (1940), que se apoya en investigaciones de R. WEIL y M. WALTZER y E. GROVE, según las cuales, la sensibilización pasiva es mucho más regular y da resultados más coincidentes que la activa. Tampoco se conoce, naturalmente, en la sensibilización pasiva, la cantidad de anticuerpo existente en un cuerno de útero; pero debe suponerse que, bajo las mismas condiciones, no debe variar en proporción considerable. Nos remitimos a la consideración de los resultados obtenidos que se hace en la primera parte de la *Anaphylaxie*, páginas 77 a 83. Sin embargo, no debe aprobarse el total desprecio de las relaciones cuantitativas ni el efectuar la cómoda prueba de la reactividad de trozos de tejidos aislados de animales en estado de anafilaxia activa. En ella, como en general, vale la frase de BACON DE VERULAN: "Mide lo que puedas medir, y lo que no puedas medir hazlo mensurable." Según la propuesta de MOODY, el útero de un cobayo sensibilizado activamente puede dividirse en ocho porciones, lo que ofrece posibilidad de ensayar la concentración de antígeno en una gradación suficiente.

Pero nunca se afirmará bastante que incluso la afinación cuantitativa del ensayo de SCHULTZ-DALE en órgano aislado no puede sustituir al experimento en animal intacto. Para ilustrar esto con un ejemplo, que ciertamente no es apropiado en todos los respectos, aduciremos las investigaciones sobre la acción protectora de la histaminasa frente al envenenamiento por histamina y frente al choque anafiláctico [H. L. ALEXANDER y DONAID BOTTON (1940)].

In vitro se requiere largo tiempo, muchas veces veinticuatro horas, para que la histamina se inactive por completo por histaminasa. Depende de varios factores; por ejemplo, de la proporción entre histamina e histaminasa que han de aplicarse en la prueba, del pH del medio, de la aplicación de oxígeno libre, de la agitación de los tubos de experimentación, etc. Por el contrario, en el organismo del conejo, al cabo de sólo dos horas ya puede apreciarse una clara reducción de la concentración de histamina en la sangre, y una hora después de haber inyectado la histamina por vía intravenosa ya se observa una

reducción de la acidez del jugo gástrico. Sin embargo, *in vivo* tampoco puede pasarse por debajo de un cierto mínimo, y ALEXANDER y BOTTOM no han podido confirmar la afirmación de S. KARADY y J. S. L. BROWN (1939) de que el cobayo pueda quedar protegido contra el choque anafiláctico y el envenenamiento por histamina si quince minutos antes de la inyección intravenosa de antígeno o de histamina se le inyecta histaminasa por vía intravenosa. El autor no tiene noticia de que se hayan efectuado experimentos acerca de la acción de mezclas de histamina-histaminasa (después de tiempos de incubación graduados) sobre el útero normal de cobayo.

CAPÍTULO IV

LA REACCION ANTIGENO-ANTICUERPO

No basta determinar la causa de los fenómenos anafilácticos, sino que también hay que conocer la velocidad de su curso, la gravedad de los síntomas, y medir la cesión de sustancias tóxicas (histamina, heparina, acetilcolina) por las células en las que ellos se producen. Sin embargo, vemos que, en el animal de experimentación sensibilizado, en el momento de su reactividad anafiláctica, las consecuencias de una inyección intravenosa de una dosis de antígeno que en otro caso resultaría muy peligrosa, incluso letal, pueden reducirse a voluntad y hasta anularse sin más que prolongar suficientemente la duración de la inyección o administrar la cantidad total de antígeno a pequeñas dosis fraccionarias; nada se modifica de los dos componentes de la reacción, el anticuerpo y el antígeno, ni cualitativa ni cuantitativamente; lo único que se hace es volver más lento el curso de la reacción. Por otra parte, es sabido que la proporción cuantitativa de los componentes de la reacción también juega un papel decisivo, tanto en las reacciones de inmunidad *in vitro* como en el experimento anafiláctico. En el experimento de anafilaxia activa la cantidad del anticuerpo sólo puede enjuiciarse si puede obtenerse un choque de la intensidad o letalidad deseada. Por el contrario a este respecto resulta muy rico en conclusiones el experimento de anafilaxia pasiva en el cobayo, con cuya ayuda ha podido señalarse:

1. Que las cantidades de globulina inmune que bastan para desencadenar en un cobayo un choque letal pueden ser extraordinariamente pequeñas. Bastan 0,02 ml. de suero inmune de conejo, que corresponden aproximadamente a 0,2 mg. de globulina inmune (ó 0,005 a 0,03 mg. de N de anticuerpo); y han podido determinarse valores análogos con los sueros inmunes de cobayo. [E. A. KABAT y H. LANDOW (1942), E. A. KABAT y M. H. BOLDT (1944), E. A. KABAT (1947)]. Es cierto que sólo se sabe la cantidad de antisuero

que se administra al cobayo, pero no el modo de distribuirse en el organismo. Pero puede admitirse que el reparto, en igualdad de condiciones, es semejante y que debe tratarse de una extensa distribución del anticuerpo. Reacciona, en efecto, el músculo aislado del útero, el intestino aislado, los pulmones aislados y, según los experimentos de H. O. SCHILD, en los que utiliza la liberación de histamina como indicador de la reacción antígeno-anticuerpo, toda una serie de otros órganos o tejidos. Ahora bien, la cantidad de globulina inmune que basta para conseguir la preparación pasiva positiva de un cobayo es sorprendentemente pequeña, de modo que considerando esta dispersión y fijación múltiple del anticuerpo se llega a concepciones extremas.

2. Por el experimento de anafilaxia pasiva se ha intentado responder a la pregunta de cuál sea la proporción mutua en que deben encontrarse anticuerpo (suero inmune) y antígeno para conseguir resultados óptimos. Se ha observado que el aumento de la dosis del suero inmune produce una reducción de la dosis antigénica mortal, fenómeno en el que quiere verse una analogía con la precipitación inmune *in vitro*, en la cual la cantidad del antígeno puede reducirse intensamente, mientras que basta una reducción moderada de la precipitina (antisuero) para impedir la aparición de una floculación visible [véase R. DOERR (1950, págs. 78 y s.)]. A pesar de que también se observen coincidencias entre la reacción de precipitinas y la anafilaxia pasiva, en lo que respecta a la saturación fraccionada del anticuerpo por antígeno [R. DOERR (1950, págs. 79 y s.)], sin embargo, lo mínimo de la cantidad de suero inmune que basta para la preparación pasiva de un cobayo y su distribución en grandes volúmenes de tejido hace muy dudoso que pueda tener alguna justificación la idea de una "precipitación *in vivo*".

El hecho, conocido de antiguo, de que a dosis crecientes del suero inmune con que se prepara por vía pasiva, se reduzca la dosis antigénica letal, ha sido recientemente confirmado por B. BENACERRAF y E. A. KABAT (1949) con ayuda de un método especial [determinación del anticuerpo y del antígeno por su contenido de nitrógeno según M. HEIDELBERGER y F. E. KENDALL (1935)]. Si como anticuerpo preparador por vía pasiva se usa siempre suero inmune de conejo, no pueden hacerse muchas objeciones a la estimación cuantitativa del anticuerpo por el contenido de nitrógeno; varía el estado del asunto si se utilizan sueros inmunes de distinta procedencia y se comparan entre sí, en cuanto a su contenido de N en la globulina inmune, y, sobre todo, no está justificado si se utiliza como medida el

contenido de N en los antígenos. Los antígenos en general actúan como un todo y no por su contenido de N, y si bien podríamos decir también aquí que si se usa siempre un mismo antígeno puede utilizarse su contenido de nitrógeno para datos cuantitativos, no puede aprobarse de ningún modo cuando, como se efectúa en la publicación citada, se contraponen entre sí N de anticuerpo y N de antígeno. Como en los experimentos de BENACERRAF y KABAT, sólo se utiliza un suero inmune de conejo y un antígeno (ovalbúmina cristalizada), pueden tenerse como válidas las conclusiones de estos autores. Pero nada de cuanto dicen es nuevo, ni siquiera la afirmación de que la relación necesaria para que se produzca un choque mortal puede diferir con el tiempo transcurrido entre la sensibilización pasiva y la inyección del antígeno.

3. Nada podemos decir del carácter de la reacción antígeno-anticuerpo, básica de los fenómenos anafilácticos, fuera de que su velocidad domina como soberano todo el proceso, incluyendo la liberación de sustancias tóxicas; sin embargo, podemos hacer una afirmación valiosa sobre su localización: la reacción debe ser celular y suceder en la superficie de la célula. Todos los múltiples fenómenos que se producen en órganos y fragmentos de órganos de los animales en estado de sensibilización activa y pasiva resultarían, en caso contrario, totalmente inexplicables. Los pulmones de cobayo sensibilizado ofrecen, *pars pro toto*, el cuadro de la inmovilización por espasmo bronquial; el músculo del útero reacciona al contacto del antígeno con una contracción, etc. Estos efectos son, en cierta medida, tan específicos como el comportamiento del animal intacto, y no podrían tener lugar si no contuvieran el anticuerpo capaz de reaccionar, lo que, a su vez, no puede concebirse sino admitiendo que el anticuerpo está adherido a ellos por un enlace que no se destruye al separar del organismo el órgano. Del carácter celular de las reacciones anafilácticas habla también el hecho de que el experimento heterólogo pasivo no dé siempre resultado positivo; es decir, que el suero inmune de una especie animal A no alcance a preparar todas las especies heterólogas B, C, D; los resultados negativos son constantes y dependen, por una parte, de la globulina inmune heteróloga, y por otra parte, del receptor de la misma.

De las contracciones de los órganos aislados de músculo liso de cobayo sensibilizado podemos además deducir que la reacción inmunológica actúa como estímulo. No en todas las especies animales resulta tan evidente como en el cobayo la conexión entre el estímulo y la consecuencia de éste; y en el cobayo tampoco resulta claro

porque actúa como estímulo la reacción celular antígeno-anticuerpo. Pero, en opinión del autor, continúa por resolver el orden de secuencia, caso de que haya de hacerse responsable de las reacciones de los órganos aislados a una sustancia activa intermediaria liberada de las células por la reacción antígeno-anticuerpo. Como ha estatuido C. F. CODE (1944) y precisado desde el punto de vista coloidoquímico F. SEELICH (1948), la reacción antígeno-anticuerpo es el proceso estimulante de la célula (o nocivo para ella) primario, y la liberación de sustancias activas una consecuencia secundaria que también puede tener una participación patológica parcial de mayor o menor alcance en el efecto final. Finalmente, se ha planteado no sin objeciones si el cuerno de útero aislado de un cobayo sensibilizado se contrae después de haber cedido histamina a consecuencia de un contacto del antígeno o, por el contrario, si la contracción y la cesión de histamina son consecuencias coincidentes de la reacción antígeno-anticuerpo.

4. Para esclarecer la relación entre sensibilización y sensibilidad se ha intentado desdoblarse, en el tubo de ensayo, la sensibilización y el contacto del antígeno. Nos remitimos a las consideraciones expuestas en la primera parte de esta monografía [R. DOERR (1950, página 68 y sig.)]. El autor puede señalar aquí los datos de A. KULKA (1942). Esta investigadora observa que la mezcla de antígeno y anticuerpo (obtenida de un suero inmune de conejo contra el neumococo del tipo III y el polisacárido de este tipo) contrae el útero de cobayo normal; pero con la limitación de que sólo resultan activas las mezclas que contienen suficiente cantidad de anticuerpo libre (no saturado); cuando el anticuerpo está totalmente precipitado, no provocan la reacción ni el precipitado ni el líquido sobrenadante. Además, A. KULKA (1943) sumergió útero normal de cobayo en un baño que contenía antisuero de conejo; si se cambia el baño al cabo de uno a cinco minutos, la adición del antígeno provoca una contracción, lo que se consideró como prueba de que el anticuerpo se había fijado al tejido superviviente. Esta rápida "fijación *in vitro* del anticuerpo a la célula" concuerda totalmente con las experiencias de anafilaxia pasiva en otros animales de experimentación (perro, ratón), donde no se observa fase de latencia. Los experimentos de A. KULKA no se han proseguido; no da ninguna impresión sobre la anafilaxia inversa, en la que siempre se ha observado estadio de latencia.

5. Un camino para enfocar mejor el mecanismo de la reacción anafiláctica antígeno-anticuerpo se funda en la aplicación de agentes antianafilácticos que puedan paralizar la acción de la histamina o la

acetilcolina, o dañar el anticuerpo o, por último, impedir o dificultar la reacción del anticuerpo con el antígeno. En parte este postulado ya se cumple cuando, por el modo de administrar el antígeno al anticuerpo preexistente y fijado, se llegan a eliminar en gran parte las consecuencias patológicas de la reacción. No se ha aclarado por completo cómo se comporta a este respecto la anafilaxia inversa [R. DOERR (1950, págs. 70 y sig.)] Pero sería de desear descubrir sustancias que sólo perturbaran o impidieran la reacción entre anticuerpo y antígeno, sin modificar nada más. Una prueba en este sentido es la comunicada por M. H. LEPPER, E. R. CALDWELL, P. K. SMITH y B. F. MILLER (1950) de que el salicilato o la aminopirina administrada oralmente reduce el número de muertes por choque anafiláctico del conejo. Otras sustancias muy semejantes farmacológicamente no ejercen esta acción, de modo que se ha admitido que no se trata de un mecanismo como el de los antihistamínicos ni como el de los antagonistas farmacológicos, sino de una influencia directa sobre la reacción antígeno-anticuerpo. Naturalmente, no se trata sino del primer paso; hay que esperar el desarrollo ulterior, pero no obstante, parece prometedora la busca de antagonistas del choque anafiláctico incapaces de influir sobre el envenenamiento con histamina ni con acetilcolina. En la rutina (vitamina P) se ha pretendido (véase página 56) encontrar una sustancia que impide la reacción anafiláctica o sus consecuencias y que carece de efecto contra el envenenamiento por histamina. A este respecto no se han hecho sino pruebas unilaterales con cortisona, habiendo llegado C. T. NELSON, FOX y FREEMAN (1950) a la convicción de que la cortisona administrada intramuscularmente a dosis de 0,75-3,0 mg. antes de la inyección del antígeno protege a los ratones del choque anafiláctico, en tanto que de 32 ratones testigo no protegidos por la cortisona, 28 murieron. La protección fué, en cambio, sólo temporal, ya que los ratones que por estar protegidos por cortisona habían sobrevivido a la inyección del antígeno, al recibir once días después una segunda inyección de éste murieron en un porcentaje aproximadamente igual al de los ratones no protegidos por cortisona. Se adquiere, de hecho, la impresión de que la cortisona no modifica el estado del anticuerpo, sino que, simplemente, impide la reacción con el antígeno. Si bien hasta hace poco el estudio de los antagonistas farmacodinámicos de la anafilaxia era la palestra de un confuso empirismo [consúltese R. DOERR (1950, pág. 163 y sig.), parece como si la prosecución de un trabajo amplio y consciente de su fin pudiera lograr en esta dirección un progreso positivo. El progreso efectivo, en opinión del autor, sólo

puede consistir en deslindar la patogenicidad de la reacción antígeno-anticuerpo de la liberación de sustancias tóxicas de acción análoga.

La confirmación por BRAM ROSE (1947, pág. 547) de que la teoría de la histamina no afirma ni afirmaba que todas las manifestaciones de la reacción antígeno-anticuerpo puedan atribuirse a reacciones de la histamina, no puede satisfacer al investigador de ciencias naturales. Hay, además, que precisar cuál sea el alcance y la relación de causalidad en que participa la reacción antígeno-anticuerpo en el proceso patológico y en qué medida debe aceptarse la cooperación de sustancias activas liberadas. La circunstancia misma de que al problema de cuál sea la sustancia activa liberada no pueda responderse de modo general, sino de modo distinto para diversas especies e incluso dentro de una especie, indica que la cuestión nos aleja del proceso esencial. Para el autor no cabe duda de que la hipótesis de la liberación de venenos del choque intermediarios ha distraído del fin. Pero es una vieja experiencia que el péndulo de la opinión científica siempre pasa desde una posición extrema a la dirección opuesta, y es de prever y de esperar este retroceso.

6. Puede quedar indeciso lo que quepa esperar de los métodos perfeccionados para la obtención de anticuerpos puros y de la aplicación de antígenos muy purificados. Lo que hay que exigir en este caso es que pueda fundarse racionalmente toda proposición de determinación cuantitativa de antígenos y anticuerpos reaccionantes. La biología, naturalmente, no puede alcanzar a los postulados de la física, pero también en biología una propuesta de perfeccionamiento de los métodos se justifica por los resultados obtenidos en su virtud. ¿Se ha conseguido esta demostración? Esta pregunta no puede contestarse en sentido afirmativo. Puede afirmarse que en cada caso particular todos los resultados importantes de la investigación anafiláctica se han conseguido aplicando sueros inmunes y, en general, antígenos "impurificados", y que los métodos más exactos, cuantitativos y bioquímicos, no han alterado nada el sistema de preguntas que plantean los fenómenos anafilácticos ni las soluciones posibles de estos problemas. Y no se trata, de ningún modo, de una modificación de los métodos, sino de que la modificación facilite una mayor profundidad del conocimiento. En lo que respecta a la reacción antígeno-anticuerpo, base de los fenómenos anafilácticos, este fin no se puede conseguir por la modificación de los métodos, en concreto por la aplicación del contenido de nitrógeno para la determinación cuantitativa del complejo antígeno-anticuerpo y del complemento [consúltese la crítica de R. DOERR en la monografía sobre el com-

plemento (1947, pág. 22 y sig.)). Recuérdese, a modo de ejemplo, que las cantidades extraordinariamente pequeñas de anticuerpos que bastan para preparar un cobayo para el choque de anafilaxia pasiva podían determinarse, volumétricamente, por la cantidad de suero inmune necesaria, teniendo aún en cuenta que en la acción no participa todo el antisuero, sino sólo la cantidad de globulina inmune contenida en él; la determinación de la cantidad de nitrógeno contenido en este quantum no aporta nada que precise mejor el estado del asunto, y sí lo hace, en cambio, el conocimiento obtenido no bioquímicamente, sino por experimentación en animal, de que la cantidad mínima de globulina inmune que prepara por vía pasiva se distribuye en numerosos órganos y tejidos.

Es evidente que la investigación de la inmunidad debe esforzarse incesantemente en perfeccionar los métodos que pretendan esclarecer la relación del antígeno con el anticuerpo. Son conocidos los grandes progresos logrados en este camino y se confirman por nuevos impulsos, como el provocado por el método de J. OUDIN (1946, 1947, 1948, 1949). Pero no debe decirse: "Se han malgastado grandes recursos."

A P E N D I C E

Después de terminada la monografía anterior han llegado a mi conocimiento algunas publicaciones, que me han parecido bastante importantes para mencionarlas en este lugar. Conciernen a antagonistas del choque anafiláctico, concretamente a la heparina y la D-catequina.

1. KYES, PRESTON y E. R. STRAUSSER (1926, J. Immunol., 12, 941) han descubierto que la heparina inyectada por vía intravascular a grandes dosis impide el choque agudo letal del cobayo. Este dato fué confirmado por H. DYCKERHOFF, R. MARX y W. ZIEGLER (1941, Z. exp. Med., 102, 772), quienes observaron que se necesitan 30 mg. de heparina por kilogramo de cobayo, administrados por vía intravenosa, para paralizar el choque agudo letal de este animal. Ahora bien, la heparina actúa inhibiendo la coagulación, pero en grandes dosis inhibe también, *in vitro* e *in vivo*, la función de complemento del plasma de distintas especies de animales. El efecto antianafiláctico de la heparina podía atribuirse, como señalan R. MARX, H. BAYERLE y J. SKIBBE (1949, Arch. f. exp. Path. und Pharm. 206, 334), a uno de estos dos modos de acción; pero no se decidieron a manifestar si se inclinaban por la inhibición de la función del complemento. Esta formulación del problema, sin embargo, no es correcta o, mejor dicho, no es completa. El choque anafiláctico agudo letal del cobayo se debe, como es sabido, a una reacción celular antígeno-anticuerpo que libera histamina de los tejidos del pulmón, proceso que tiene como consecuencia la muerte por asfixia debida a espasmo bronquial. La acción antianafiláctica de grandes dosis de heparina sólo puede atribuirse, por consiguiente, a que no pueda producirse la reacción celular antígeno-anticuerpo o su consecuencia la liberación de histamina. En tanto que no puedan excluirse estas posibilidades continúa sin resolver el mecanismo de acción de la heparina.

2. Mucho más interesante es una comunicación aparecida en 1950 de J. N. MOSS, J. M. BEILER y G. J. MARTIN (Science, 112,

16). Estos autores sensibilizaron siete cobayos con suero normal de cobayo y les inyectaron a lo largo de diecinueve días por vía intraperitoneal 2 mg. de D-catequina (un flavonoide exento de glucón); utilizaron otros siete cobayos como testigos. Después de transcurridos los diecinueve días, los animales recibieron de 0,1 a 0,5 ml. de suero fresco, normal, de caballo por vía intracardiaca. Los cobayos tratados previamente con D-catequina no ofrecieron ningún fenómeno, mientras que todos los animales testigo reaccionaron de modo típico y perecieron por asfixia por espasmo bronquial. Otros cuatro cobayos recibieron durante una semana D-catequina y después se les administró por vía intracardiaca 1 mg. de difosfato de histamina; perecieron a los pocos minutos y la autopsia descubrió como en los testigos del primer grupo que habian perecido de choque anafilático agudo.

Los autores citados deducen de estas pruebas que la D-catequina protege del choque anafilático, pero no del histamínico, y se inclinan a atribuir la acción antianafilática a una inhibición de la histidindescarboxilasa, reacción que impide la formación (liberación) de histamina. Hay que esperar nuevos desarrollos de la investigación.

De todos los números del *Quarterly Review of Allergy and applied Immunology* aparecidos en 1950, el autor sólo encontró dignas de mención las publicaciones citadas, de las que aún hay que decir que desde el punto de vista de la técnica empleada no resultan muy satisfactorias.

BIBLIOGRAFIA

- ABEL, J. J. and D. I. MACHT (1919), *J. Pharmacol.* 14, 279.
ARELLANO, R. G. and H. P. SCHENK (1938), *J. Immunology* 34, 195.
ACKERMANN, D. (1910), *Z. f. phys. Chemie* 65, 504; 69, 273.
— (1939), *Naturwissensch.* 27, 515.
ACKERMANN, D. und W. WASMUTH (1939), *Z. f. phys. Chemie* 259, 28.
— — (1939 b), *Z. f. phys. Chemie* 260, 155.
AHLMARK, A. (1944), *Acta physiol. Scandinav.* 9, 27.
AIRILA, Y. (1914), *Skand. Arch. f. Physiol.* 31, 388.
ALEXANDER, H. L. and D. BOTTOM (1940), *J. Immunology* 39, 457.
ALLES, G. A., B. B. WISGRAVER and M. A. SHULL (1943), *J. Pharm. a. exp. Therap.* 77, 54.
AMBACHE, N. and G. S. BARSOUM (1939), *J. Physiol.* 96, 139.
ANREP, G. V., M. S. AYADI, G. S. BARSOUM, J. R. SMITH and M. M. TALAAT (1944) *J. Physiol.* 103, 155.
ARBESMAN, C. E., E. NETER and CH. F. BECKER (1950), *J. Allergy* 21, 25.
ARELLANO, M. R., A. H. LAWTON and C. A. DRAGSTEDT (1940), *Proc. Soc. exp. Biol. a. Med.* 43, 360.
AUER, J. (1911), *J. exp. Med.* 14, 476.
- BANTINO, V. G. and S. GAIRNS (1926), *Americ. J. Physiology* 77, 100.
BARGER, G. and H. H. DALE (1910), *J. Physiol.* 40, 38.
BARSOUM, G. S. and J. H. GADDUM (1935), *J. Physiol.* 85, 1.
BARTOSCH, R., W. FELDBERG und E. NAGEL (1932 a), *Arch. f. d. ges. Physiol.* 230, 129.
— — — (1932 b), *Arch. f. d. ges. Physiol.* 230, 674.
— — — (1933), *Arch. f. d. ges. Physiol.* 231, 616.
BENACERRAF, B. and E. A. KABAT (1949), *J. Immunology* 62, 517.
BEST, C. H. (1929), *J. Physiol.* 67, 256.
BEST, C. H., H. H. DALE, W. W. DUDLEY and W. H. THORPE (1927), *J. Physiol.* 62, 397.
BIEDL, A. und R. KRAUS (1909), *Wien. klin. Wochenschr.* 22, 363.
— — (1910), *Zbl. Bakt. I. Ref., Beihefte* 47.
— — (1911), *Handb. d. exper. Technik u. Methodik d. Immunitätsföschg.*, 1. Ergzsbd., Jena.
— — (1913), *Dtsch. med. Wochenschr.*, Nr. 20.
BLOCH, W. und H. PINÖSCH (1936), *Naturwissensch.* 23, 236.

- BOVET, D. et A. M. STAUB (1937), *C. rend. Soc. Biol. Paris* 124, 547.
- BRONFENBRENNER, J. (1915), *J. exp. Med.* 21, 480.
- (1914 a), *Proc. Soc. exp. Biol. a. Med.* 12, 6.
- (1914 b), *Pensylvania S. M., M. J.* 18, 2.
- (1944), *Ann. Allergy* 2, 472, 476.
- (1948), *J. of Allergy* 19, 71.
- BÜNGELER, W. (1932), *Frankf. Z. Pathologie* 44, 1.
- CAMPELL, D. H. and G. E. McCASLAND (1944), *J. of Immunology* 49, 315.
- CAMPBELL, D. H. and P. A. NICOLL (1940), *J. of Immunology* 39, 103.
- CARRYER, H. M. and C. F. CODE (1950), *Proc. Soc. exp. Biol. a. Med.* 73, 452.
- CHANG, HSI-CHIEN, KH. LIM, FEH HUI-YEH, TSU-YUN LIN and SHAO-TSE FUNG (1949), *Proc. Soc. exp. Biol. a. Med.* 72, 413.
- CHASE, M. W. (1948), The allergic state. In "Bacterial and mycotic infections in man.", Philadelphia.
- CHIGIRA, S. (1941), *Japan. exp. Med.* 19, 23, 27.
- CLARK, W. G. and E. M. MACKEY (1950), *J. Allergy* 21, 133.
- CLOETTA, M. and E. ANDERES (1914), *Arch. exp. Path. u. Pharm.* 76, 125.
- COCA, A. F. (1919), *J. Immunology* 4, 223.
- COCA, A. F. and M. KOSAKAI (1920), *J. of Immunology* 5, 297.
- COCA, A. F., E. F. RUSSEL and W. H. BAUCHMAN (1921), *J. of Immunology* 6, 387.
- CODE, C. F. (1937 a), *J. Physiol.* 89, 257.
- (1937 b), *J. Physiol.* 90, 349.
- (1937 c), *J. Physiol.* 90, 485.
- (1944), *Ann. Allergy* 2, 457.
- (1939), *Americ. J. Physiol.* 127, 78.
- (1944), *Ann. Allergy* 2, 457.
- CODE, C. F. and H. R. HESTER (1939), *Americ. J. Physiol.* 127, 71.
- CODE, C. F. and H. R. ING (1937), *J. Physiol.* 90, 501.
- CRIVELLARI, C. A. (1927), *C. rend. Soc. Biol. Paris* 96, 223.
- CRUZ, W. B. and E. M. da SILVA (1949), *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 70, 210.
- DALE, H. H. (1920), *Bull. Johns Hopkins Hosp.* 31, 310.
- (1929), *Lancet* 216, 1233, 1285.
- (1936), In J. H. GADDUM, *Gefässerweiternde Stoffe der Gewebe*, Leipzig.
- DALE, H. H. and P. P. LAIDLAW (1910), *J. Physiol.* 41, 318.
- DANILOPOLU, D. (1943), *Klin. Wochenschr.* 22, 740.
- (1943 a), *Phylaxie et choc paraphylactique*, Masson, Paris.
- (1946), *Phylaxie-Paraphylaxie et Maladie spécifique*, Masson, Paris.
- (1948), *Schweiz. med. Wochenschr.* 567.
- DERANSKI, J. (1945), *J. Physiol.* 104, 151.
- DERBES, V. J. and W. SODEMAN (1946), *Americ. J. Med.* 1, 367.
- DOERR, R. (1910), *Z. Immunitätschg., Referate*, 2, 49.
- (1913), "Allergie und Anaphylaxie" in *Handb. d. pathog. Mikroorganismen* 2, 947—1154. Jena.
- (1913 a), *Dtsch. med. Wochenschr.* Nr. 24.
- (1914), "Neuere Ergebnisse der Anaphylaxieforschung. Weichardts Ergebn. S. 257—371."

- DOERR, R. (1922), "Die Anaphylaxieforschung im Zeitraume von 1914 bis 1921." Weichardts Ergbn. 5, 73—274.
- (1933), Relazioni Convegno "Volta", XI, Rom.
- (1947), Das Komplement. Springer-Verlag, Wien.
- (1950), Die Anaphylaxie. Springer-Verlag, Wien.
- DRAGSTEDT, C. A. (1945), *J. Allergy* 16, 69.
- DRAGSTEDT, C. A. and E. GEBAUER-FUELNEGG (1932), *Americ. J. Physiol.* 102, 520.
- DRAGSTEDT, C. A., J. S. GRAY, A. H. LAWTON and M. RAMÍREZ DE ARELLANO (1940), *Proc. Soc. exp. Biol. a. Med.* 43, 26.
- DRAGSTEDT, C. A. and F. B. MEAD (1936), *J. Immunology* 30, 319.
- — (1937), *J. Pharmacol.* 59, 429.
- DRAGSTEDT, C. A. and M. ROCHA E SILVA (1941), *Proc. Soc. exp. Biol. a. Med.* 47, 420.
- DRAGSTEDT, C. A., M. RAMÍREZ DE ARELLANO and A. H. LAWTON (1940), *Science* 91, 617.
- DRINKER, C. K. and J. BRONFENBRENNER (1924), *J. Immunology* 9, 387.
- DZINNICH, A. und M. PÉLY (1934), *Arch. f. exp. Path. u. Pharm.* 175, 359.
- — (1934 a), *Klin. Wschr.* S. 699.
- — (1935), *Klin. Wschr.* 1499.
- EBERT, M. K. (1927), *Z. Immunitätsch.* 51, 79.
- EDLBACHER, S., P. JUCKER und H. BAUR (1937), *Z. f. phys. Chemie* 247, 63.
- FARBER, S., A. POPE und E. LANDSTEINER jr. (1944), *Arch. Path.* 37, 275.
- FEINBERG, S. M. (1946), *J. Americ. med. Assoc.* 132, 702.
- FELDBERG, W. (1941), *Ann. Rev. Physiol.* 3, 671.
- FELDBERG, W., H. F. HOLDEN and C. H. KELLAWAY (1938), *J. Physiol.* 94, 232.
- FELDBERG, W. and C. H. KELLAWAY (1937), *J. Physiol.* 91, *Proc.* 2 P.
- — (1937 a), *Austral. J. exp. Biol. a. Med. Scienc.* 15, 461.
- — (1938), *J. Physiol.* 94, 187.
- FELDBERG, W. und E. SCHILF (1939), *Histamin*, Verlag J. Springer.
- FIDLAR, E. and E. T. WATERS (1946), *J. Immunology* 52, 315.
- FRANK, E. D. (1946), *J. Immunology* 52, 59.
- FRIEDLÄNDER, S., S. M. FEINBERG und A. M. FEINBERG (1946), *Proc. Soc. exp. Biol. a. Med.* 62, 65.
- FRUTON, J. S., G. W. IRVING and M. BERGMANN (1941), *J. biol. Chem.* 138, 249.
- GALE, E. F. (1940), *Biochem. J.* 34, 392.
- GOOD, R. A. (1947), *Proc. Soc. exp. Biol. a. Med.* 67, 203.
- GOTZL, F. R. and C. A. DRAGSTEDT (1940), *Proc. Soc. exp. Biol. a. Med.* 45, 688.
- — (1942), *J. Pharmacol. a. exp. Therap.* 74, 33.
- GRANA, A. (1946), *Proc. Soc. exp. Biol. a. Med.* 61, 192.
- GRAND, A. and P. RECARTE (1945), *Rev. Soc. Argent. de Biol.* 21, 302.
- GROVE, E. F. (1932), *J. Immunology* 23, 101.
- GUGGENHEIM, M. (1940), *Die biogenen Amine*. Basel.

- HAUROWITZ, F. and M. MUTAHAR YENSON (1943), *J. Immunology* 47, 309.
HEIDELBERGER, M. and F. E. KENDALL (1935), *J. exp. Med.* 62, 697.
HESTRIN, S. (1950), *J. biol. Chem.*, citado por S. MIDDLETON und H. H. MIDDLETON.
HEUVEL, G. van den (1949), *Proc. Soc. exp. Biol. a. Med.* 72, 249.
HIRAMATSU, N. (1941), *Jap. J. Dermat. a. Urology* 49, 304.
HIRSCHFELDER, A. D. (1910), *J. exp. Med.* 12, 586.
HOLDEN, citado por KELLAWAY und TRETHERWIE, véase éstos.
HOLTZ und HEISER (1937), *Arch. f. exp. Path. u. Pharm.* 186, 377.
- IYENGAR, N. K. (1942), *Indian J. med. Research.* 30, 467.
- JACKSON, I. and B. ROSE (1947), zitiert nach BR. ROSE (1947).
JACQUES, L. B., E. F. FIDLAR, E. F. FELDSTEDT and A. G. MACDONALD (1946), *Canad. M. A. J.* 55, 26.
JACQUES, L. B. and E. T. WATERS (1941), *J. Physiol.* 99, 454.
- KABAT, E. A. (1947), *J. Americ. med. Assoc.*, pag. 535.
KABAT, E. A. and M. H. BOLDT (1944), *J. Immunology* 48, 181.
KABAT, E. A. and H. LANDOW (1942), *J. Immunology* 44, 69.
KARADY, S. and J. S. L. BROWN (1939), *J. Immunology* 37, 463.
KATZ, G. (1940), *Science* 91, 221.
— (1941), *J. Pharmacol. a. exp. Therap.* 72, 22.
— (1942), *Proc. Soc. exp. Biol. a. Med.* 49, 272.
KATZ, G. and S. COHEN (1941), *J. Americ. med. Assoc.* 117, 1782.
KELLAWAY, C. H. and E. R. TRETHERWIE (1940), *Quart. J. exp. Phys.* 30, 121.
KELLET, C. E. (1935), *J. Path. a. Bact.* 41, 479.
KEMPF, A. H. and S. M. FEINBERG (1948), *J. Allergy* 19, 247.
KNOTT, F. A. and G. H. ORIEL (1930), *J. Physiol.* 70, 31.
KULKA, A. M. (1942), *J. Immunology* 43, 273.
— (1943), *J. Immunology* 46, 235.
KWIATKOWSKI, H. (1943), *J. Physiol.* 102, 32.
- LEWIS, TH. (1927). *The blood vessels of the human skin and their responses.*
London.
- LISSAK, K. und F. WENT (1936), *Arch. f. exp. Therap. u. Pharm.* 180, 466.
- MANWARING, W. H. and Y. KUSAMA (1917), *J. Immunology* 2, 137.
MANWARING, W. H., H. D. MARINO and BEATTIE (1924), *Proc. Soc. exp. Med. a. Biol.* 21, 202.
MARCUS, ST. (1947), *Proc. Soc. exp. Biol. a. Med.* 66, 181.
MARSHALL, P. B. (1943), *J. Physiol.* 102, 180.
MARTIN, J. und A. VALENTA (1939), *Arch. f. exp. Path. u. Pharm.* 193, 305.
MARTIN, J. und S. WENT (1939), *Arch. f. exp. Path. u. Pharm.* 193, 209.
MAYER, R. L. and D. BROUSSEAU (1941), *Proc. Soc. exp. Biol. a. Med.* 63, 187.
MAYER, R. L., D. BROUSSEAU and P. C. EISMAN (1947), *Proc. Soc. exp. Biol. a. Med.* 64, 92.
MCMASTER, PH. D. and HEINZ KRUSE (1949), *J. exp. Med.* 89, 533.

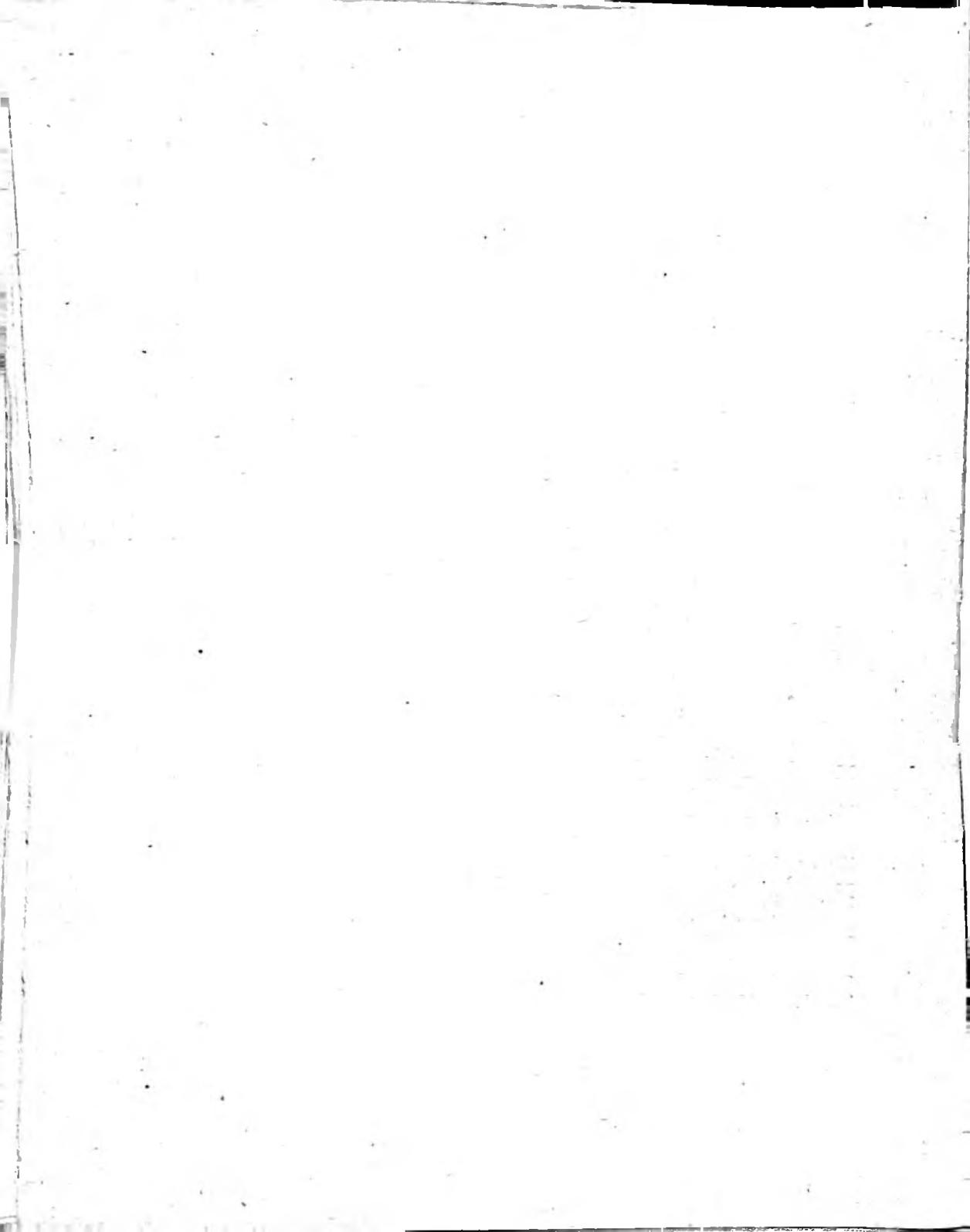
- MEHLMAN, J. and B. C. SEEGAL (1934), *J. Immunology* 27, 81.
MIDDLETON, S. and H. H. MIDDLETON (1949), *Proc. Soc. exp. Biol. a. Med.* 71, 523.
MINARD, D. (1937), *Americ. J. Physiol.* 119, 375.
MOLOMUT, N. (1939), *J. Immunology* 37, 113.
MOODY, P. A. (1940), *J. Immunology* 39, 113.
MOUSSATACHE, H. and V. O. CRUZ (1949), *Brit. J. exp. Path.* 30, 506.
MUNOZ, J. and E. L. BECKER (1950), *J. Immunology* 65, 47.
MYRHMAN, G. und J. TOMENIUS (1939), *Arch. f. exp. Path. und Pharm.* 193, 14.
NACHMANSOHN, D., S. HESTRIN and H. VORIPAIEFF (1949), *J. biol. Chem.* 180, 249.
NAKAMURA, K. (1941), *Japan. exp. Med.* 19, 31.
NELSON, C. T., CH. L. FOX and E. L. FREEMANN (1950), *Proc. Soc. exp. Biol. a. Med.* 75, 181.
NICOLL, P. A. and D. H. CAMPBELL (1940), *J. Immunology* 39, 89.
NOLF, P. and M. ADANT (1946), *Ann. intern. Pharmacodyn. et Therap.* 72, 93.
OHSUKA, K. (1940), *Acta serologica et immunol.* 1, 565.
OJERS, G., C. A. HOLMES and C. A. DRAGSTEDT (1941), *J. Pharm. a. exp. Therap.* 77, 33.
OUDIN, J. (1946), *Compt. rend. Acad. Sciences* 222, 115.
— (1947), *Bull. Soc. chim. biol.* 29, 140.
— (1948), *Ann. Inst. Pasteur, Paris* 75, 30, 109.
— (1949), *Compt. rend. Acad. Scienc.* 228, 1890.
PARKER, J. F. and F. J. PARKER jr. (1924), *J. med. Research.* 44, 263.
PARROT (1939), *Presse méd.* 1022.
PELLERAT, J. (1945), *Trav. Lab. Clin. Dermat.—Recherches sur l'histamine et les antihistaminiques de synthese.*
PERLA, D. and S. H. ROSEN (1935), *Arch. Pathol.* 20, 222.
PERRY, S. M. and M. L. DARSIE (1946), *Proc. Soc. exp. Biol. a. Med.* 63, 453.
QUICK, A. J. (1936), *Americ. J. Physiol.* 116, 535.
QUICK, A. J., R. K. OTA and I. D. BARANOFKY (1946), *Americ. J. Physiol.* 145, 273.
RAIMAN, R. J., E. R. LATER and H. NECHELES (1947), *Science*, 368.
RAMON, G. (1922), *C. rend. Soc. biol. Paris* 86, 661, 711.
REDFERN, WILLIAM W. (1926), *Americ. J. of Hygiene* 6, 276.
REINERT, M. (1937), *Schweiz. med. Wöchenschr.* 515.
RIDEAL, E. K. and J. H. SCHULMAN (1939), *Nature* 144, 100.
ROCHA e SILVA, M. (1939), *C. rend. Soc. biol. Paris* 130, 181, 184, 186.
— (1939a), *Arq. Inst. Biol.* 10, 93.
— (1940), *Arch. f. exp. Path. u. Pharm.* 194, 335.
— (1940a), *J. Immunology* 38, 333.
— (1940b), *Arch. f. exp. Path. u. Pharm.* 194, 351.
— (1941), *J. Immunology* 40, 399.

- ROCHA E SILVA, M. (1943), *J. Pharmacol. a. exp. Therap.* 77, 198.
— (1944), *J. Allergy* 15, 399.
— (1944 a), *J. Pharmacol. a. exp. Therap.* 80, 399.
— (1946), *Arch. Surg.* 52, 523.
ROCHA E SILVA, M. and S. O. ANDRADE (1943), *J. biol. Chem.* 149, 9.
ROCHA E SILVA, M. and C. A. DRAGSTEDT (1941), *Proc. Soc. exp. Biol. a. Med.* 48, 152.
ROCHA E SILVA, M. and H. E. ESSEX (1942), *Americ. J. Phys.* 135, 372.
ROCHA E SILVA, M. and A. GRANA (1946), *Arch. Surg.* 52, 719.
ROCHA E SILVA, M., A. GRANA and A. PORTO (1945), *Proc. Soc. exp. a. Med.* 59, 57.
ROCHA E SILVA, M., A. E. SCROGGIE, E. FIDLAR and L. B. JAQUES (1947), *Proc. Soc. exp. Biol. a. Med.* 64, 141.
ROCHA E SILVA, M. and R. M. TEXEIRA (1946), *Proc. Soc. Biol. a. Med.* 61, 376.
ROSE, BRAM (1940), *Americ. J. Physiol.* 129, 450.
— (1940 a), *McGILL. M. J.* 10, 5.
— (1940 b), *Science* 92, 454.
— (1941), *J. Immunology* 42, 161.
— (1947), *Americ. J. of Medicine* 3, 545.
— (1946), *Camsi J.*, 11 de octubre.
ROSE, BR. and J. S. L. BROWNE (1938), *Americ. J. Phys.* 124, 412.
— — (1941), *Americ. J. Physiol.* 131, 589.
ROSE, BR., E. V. HARKNESS and R. P. FORBES (1946), *Ann. Report R. Markle Foundation*, pág. 69.
ROSE, BR. and P. WEIL (1939), *Proc. Soc. exp. Biol. a. Med.* 42, 494.
ROSE, J. M., A. R. FEINBERG, S. FRIEDLAENDER and S. M. FEINBERG (1947), *J. Allergy* 18, 149.
ROSENTHAL, S. R. and D. MINARD (1939), *J. exp. Med.* 70, 415.

SCHIEMANN, O. und H. MEYER (1926), *Z. Hyg.* 106, 607.
SCHILD, H. O. (1936), *Quart. J. exp. Physiol.* 26, 165.
— (1937), *J. Physiol.* 90, 34.
— (1939), *J. Physiol.* 95, 393.
SCHWAB, LOUIS, MOLL, HALL, BREAN, KIRK, C. V. HAWN and C. A. JANEWAY (1950), *J. exp. Med.* 92, 505.
SCOTT, W. J. M. (1928), *J. exp. Med.* 47, 185.
SEELICH, F. (1948), *Wiener klin. Wochenschr. Nr.* 44, S. 709.
SEELICH, F. und COPPO (1935), *Z. Immunitätschg.* 85, 433.
SEELICH, F. und K. NIESSING (1940), *Z. Immunitätschg.* 98, 1.
SELLE, W. A. (1946), *Texas Rep. Biol. a. Med.* 4, 138.
SPINELLE, A. (1929), *Bull. Soc. ital. bioch. experim.* 4, 937.
STAUB, A. M. (1939), *Ann. Inst. Pasteur Paris* 63, 400, 485.
STERNBERGER, L. A. and D. PRESSMAN (1950), *J. Immunology* 65, 65.

TAGNON, H. J. (1945), *J. clin. Investig.* 24, 1.
TRETHERWIE, E. R. (1942), *Austral. J. exp. Biol. a. med. Scienc.* 20, 49.

- TROESCHER-ELAM, E., G. ANCONA and W. KERR (1945), *Americ. J. Physiol.* 144, 711.
- TUM SUDEN, C. (1934), *Americ. J. Physiol.* 108, 416.
- UNGAR, G. et J. L. PARROT (1936), *C. rend. Soc. Biol. Paris* 123, 676.
- VOSS, E. A. (1937/38), *Z. f. Kinderheilk.* 59, 612.
- WÆLLE, H. DE (1907), *Bull. de l'Académie roy. de Méd. de Bruxelles.*
- WALZER, M. and E. GROVE (1925), *J. Immunology* 10, 483.
- WATERS, E. T. and J. MARKOWITZ (1940), *Americ. J. Physiol.* 130, 379.
- WATERS, E. T., J. MARKOWITZ and L. B. JACQUES (1938), *Science* 87, 582.
- WEICHARDT, W. (1910), *Würzburger Abhandl.* 11, Heft 1.
- WEIL, R. (1914), *J. med. Research.* 30, 299.
- WEISER, R. S., O. J. GOLLUB and D. M. HAMRE (1941), *J. inf. diseas.* 68, 97.
- WEISS, P. (1945), *Science* 101, 101.
- WELLS, J. A., H. C. MORRIS and C. A. DRAGSTEDT (1946), *Proc. Soc. exp. Biol. a. Med.* 62, 209.
- WENT, S. and K. LISSAK (1935 a), *Arch. f. exp. Path. u. Pharm.* 179, 609.
- — (1935 b) *Arch. f. exp. Path. u. Pharm.* 179, 616.
- — (1936), *Arch. f. exp. Path. u. Pharm.* 182, 509.
- WENT, S. und J. MARTIN (1939), *Arch. f. exp. Path. u. Pharm.* 191, 545.
- WERLE, E. (1936), *Biochem. Z.* 288, 292.
- (1941), *Biochem. Z.* 309, 61.
- WERLE, E. und HERRMANN (1937), *Biochem. Z.* 291, 105.
- WHEELER, A. B., E. M. BRANDON and H. PETRENCO (1950), *J. Immunol.* 65, 687.
- WILLIAMSON, R. (1936), *J. Hyg.* 36, 588.
- WILSON, A. (1941), *J. Physiol.* 99, 241.
- WINTER, L. B. (1944), *J. Physiol.* 102, 873.
- (1945), *J. Physiol.* 104, 71.
- WYMAN, L. C. (1929), *Americ. J. Physiol.* 89, 356.
- (1928), *Americ. J. Physiol.* 87, 21.
- WYMAN, L. C. and C. TUM SUDEN (1929), *Americ. J. Physiol.* 89, 152.
- ZELLER, A. (1938 a), *Naturwissensch.* 26, 282, 578.
- (1938 b), *Helvetica chim. acta* 21, 880, 1645.
- ZELLER, E. A., H. BIRKHÄUSER, H. WATTENWYL und R. WENNER (1941), *Helvetica chim. acta* 24, 962.
- ZELLER, E. A., G. A. FLEISHER, R. A. McNAUGHTON and J. S. SCHNEPPE (1949), *Proc. Soc. exp. Biol. a. Med.* 71, 526.
- ZINSSER, H. and J. F. ENDERS (1936), *J. Immunology* 30, 327.
- ZON, L., E. T. CEDER and C. W. CRIGLER (1939), *Public Health Rep.* 54, 928.



INDICE ALFABETICO DE MATERIAS

Acetilcolina, 61.

- colinesterasa, 61.
- — fisostigmina (antagonista de la), 61.
- demostración biológica, 62.
- determinación química, 61.
- factor del choque, 86.
- — cobayo, 67, 84, 85.
- — — corazón aislado, 84.
- — — rata, 85.
- — — ratón, 85.
- sistema parasimpático y, 62.
- sustancias análogas, 62.
- toxicidad, 62, 63.
- — comparación con histamina, 62, 63.

Acetilcolina (hipótesis de la), 61 ss.

- Chigira, 78.
- Danielopolu, 64 s.
- Nakamura, 76 ss.

Agar (choque de), 72.

Aminopirina (Piramidón), 98.

Aminoácidos, 39.

- acción antianafiláctica, 39.
- — *in vitro*, 39.
- — *in vivo*, 46.

Anafilácticas (reacciones), 94.

- especificidad, 1.
- independencia de los anticuerpos libres, 2.
- órganos de choque, 3.
- tejidos del choque, 3.

Anafilactoides (agentes), 31.

- activación de tripsina, 31.
- liberación de histamina, 31.

Anafilaxia, 1.

- definición, 4.
- envenenamiento endógeno y, 1.
- inversa, 3, 4, 5.
- pasiva, 2.
- pasiva heteróloga, 3.
- — combinaciones imposibles, 3, 4.

Anfotonía, 64.

Antianafilácticos, 97, 98.

- aminoácidos, 39.
- aminopirina (Piramidón), 98.
- antihistamínicos, 48.
- atropina, 69 ss.
- cortisona, 98.
- D-catequina, 102.
- hepática, 101.
- papaverina, 49.
- pirbenzamina, 49.
- rutina, 56.
- salicilatos, 98.

Antianafilaxia, 74.

- consumo de precolina, 74.
- desensibilización, 74.
- saturación de los anticuerpos, 74.

Anticuerpos, 73.

- combinación con colina, 65, 66.
- distribución en la anafilaxia pasiva, 94.
- inmunidad y, 73.

- Anti-Forsman (suero), 4.
 — choque por, 4.
 — — histamina en sangre, 6.
 — — mecanismo, 4.
 — pruebas de Schultz-Dale, 4.
- Antígeno-anticuerpo (reacción), 94.
 — carácter ligado a la célula, 2, 5, 94.
 — complemento y, 2.
 — elementos contráctiles y, 8.
 — envenenamiento endógeno y, 14, 15.
 — interpretación coloidoquímica, 8.
 — manifestación patógena, 14.
- Antihistamínicos, 48.
- Antiparafilaxia, 75.
- Atropina, 70, 71.
 — acción inhibidora del parasimpático, 71.
 — acetilcolina y, 68.
 — antagonista de la acetilcolina, 68.
 — — del choque, 70.
 — — de la histamina, 75.
- Catepsina, II, 43.
- Círculo acetilcolino-histamínico, 76.
- Citotóxicos (sueros), 7.
- Colina, 61.
 — combinación con anticuerpos, 65, 66.
- Complemento, 2.
 — reacción anafiláctica y, 2.
- Conejo, choque, 20.
 — — mecanismo, 16, 19.
- Corazón de cobayo sensibilizado, 83.
 — cesión de acetilcolina, 84.
- Cortisona, 89.
- Choque *in vitro***, 17.
- D**-catequina, 102.
- Descarboxilasa, 25.
 — en bacterias, 25.
 — en tejidos, 25.
- Decolinización tisular, 74.
- Desensibilización específica, 1.
- Digestión proteica parenteral, 30.
- Eserina**, 79.
- Embarazo, 27.
 — alergia y, 28.
 — colinesterasa y, 28.
 — histamina y, 27.
- Filaxia**, 65.
- Glicógeno**, 22.
 — acción antianafiláctica, 22.
 — histamina en sangre, 22.
 — leucopenia, 22.
 — trombocitopenia, 22.
- Hemólisis**, 20.
 — cesión de histamina, 20, 21.
- Heparina en el choque del perro, 14.
- Histamina**, 24.
 — aislamiento de tejidos normales, 2.
 — demostración biológica, 10.
 — determinación química, 12, 16.
 — existencia, 11, 15.
 — — leucocitos, 16, 17, 19.
 — — líquido cefalorraquídeo, 24.
 — — nervios periféricos, 12.
 — — piel, 11.
 — — plaquetas, 39.
 — — plasma sanguíneo, 19.
 — factor del choque, 9.
 — — cobayo, 9.
 — — conejo, 16.
 — — perro, 9, 13.
 — — rata, 27.
 — — ratón, 11 s.
 — función fisiológica, 24.
 — glándulas endocrinas y, 24.

- Histamina**, grupos haptóforo y toxóforo, 45.
 — histidina y, 25.
 — liberación, 9, 14, 24.
 — — policéntrica, 15.
 — — repetida en el ensayo de Schultz-Dale, 52.
 — segregación, por la orina, 26.
 — — en secreciones y excreciones, 27.
 — toxicidad, 28.
- Histaminasa**, 26.
 — embarazo y, 27.
 — especificidad, 26.
- Histamina (hipótesis de la)**, 9.
 — crítica, 57 ss.
- H (sustancias)**, 9, 62.
 — resistencia, contra antihistaminicos, 62.
 — — contra histaminasa, 62.
- Leucopenia en el choque**, 16.
- Lisolecitina**, 32.
 — veneno de abejas y, 32.
 — veneno de serpientes y, 32.
- Membrana (hipótesis de la)**, 7.
 — significación coloidoquímica, 7.
- Metilhistamina**, 46.
- Papaina**, 42.
 — benzoi-l-arginamida y, 43.
- Papaverina**, 49.
- Parafilaxia**, 64.
- Poptona (envenenamiento por)**, 35 s.
 — antagonismo contra la anafilaxia 35 s.
 — liberación de histamina, 37.
- Pimbenzamina**, 49.
- Polisacáridos**, 22.
 — acción sobre conejos, 21, 22.
 — antagonistas del choque, 22.
 — histamina en sangre, 21.
- Rata**, 79 s.
 — resistencia, contra anafilaxia, 79.
 — — contra acetilcolina, 80.
 — — contra colina, 80.
 — — contra histamina, 80.
 — — después de nefrectomía, 81.
- Ratón**, 11.
 — acetilcolina, 72.
 — histamina, en la piel, 11, 17.
 — — como factor del choque, 12.
- Rutina**, 56.
- Salicilatos como antianaflácticos**, 98.
- Sangre, contenido de histamina**, 9.
 — — caballo, 16.
 — — cobayo, 12.
 — — conejo, 16.
 — — perro, 13.
 — — ternera, 16.
- Shultz-Dale (prueba de)**, 88 ss.
 — atropina como antagonista, 68.
 — intestino de cobayo, 88.
 — método cuantitativo, 42.
 — músculo de útero, 38, 88.
- Slow-reacting (sustancia)**, 39.
 — aminoácidos y, 40.
- Suero (enfermedad del)**, inducida inversa, 6.
- Trombocitos**, 41, 42.
 — histamina y, 42.
- Toxina como anafilactógeno**, 75.
- Tripsina**, 37.
 — activación en el choque, 39.
 — — agentes anafilactoides, 31.
 — desensibilización con, 38, 39.
 — heparina y, 37.
 — liberación de histamina, 37, 39.
- Veneno de abejas**, 32, 37.
 — histamina y, 37.
- Veneno de serpientes**, 32.
 — y lisolecitina, 32.

Precio: 30 pesetas.