

CUANTIFICACION DE LA HIPERSENSIBILIDAD POR ANAFILAXIS CRUZADA

Dres. ENRIQUETA BANDA de NARANJO y PLUTARCO NARANJO

Laboratorios LIFE y Universidad Central, Quito.

Con frecuencia se considera a la reacción anafiláctica como un fenómeno todo-o-nada y en el caso del cobayo, la reacción anafiláctica, generalmente, se califica en términos de shock mortal. Sin embargo, como hemos demostrado en trabajos anteriores^{1,2}, es posible cuantificar la reacción anafiláctica no solamente en términos de shock mortal sino en otros niveles de respuesta. En efecto, en el cobayo, de acuerdo a la dosis desencadenante, es posible distinguir toda una gama o espectro de síntomas y signos, desde muy leves, que no comprometen la vida del animal, hasta el shock mortal. Una serie de fenómenos inmunológicos y clínicos que se suceden en la sensibilización y la reacción anafiláctica, requieren, para su estudio, otros "end-points" que no sean, precisamente, la muerte del animal en experimentación y esto es posible gracias al empleo de otros síntomas y signos que pueden ser muy bien cuantificados. Por ejemplo, resulta de interés estudiar la facilitación o la interferencia en la síntesis de anticuerpos que pueden producir diferentes

drogas o puede estudiarse el desarrollo de la anafilaxis, a lo largo del llamado período de incubación o sensibilización, sin que sea preciso ni conveniente recurrir, como término de referencia, al shock mortal. Todo lo que antecede es cierto en relación al cobayo, pero por desgracia esto no es fácilmente aplicable a otras especies animales, como el ratón o la rata, el conejo, el perro, etc., especies biológicas en las cuales los signos de reacción anafiláctica no mortal, no son fácil o directamente observables.

Por las razones que anteceden hemos tratado de desarrollar una técnica de transferencia pasiva de anticuerpos, para poder cuantificar, en el cobayo, la reacción anafiláctica. En la presente serie de experiencias, se ha utilizado el conejo como animal sensibilizado activamente y el cobayo como animal sensibilizado en forma pasiva.

MATERIALES Y METODOS

Animales.—Se utilizaron conejos adultos de 1.500 a 2.000 g. de peso y

cobayos, también adultos, de 300 a 350 g. de peso corporal. En ambos casos se trata de animales adquiridos en criaderos comerciales, y no corresponden a líneas genéticas puras.

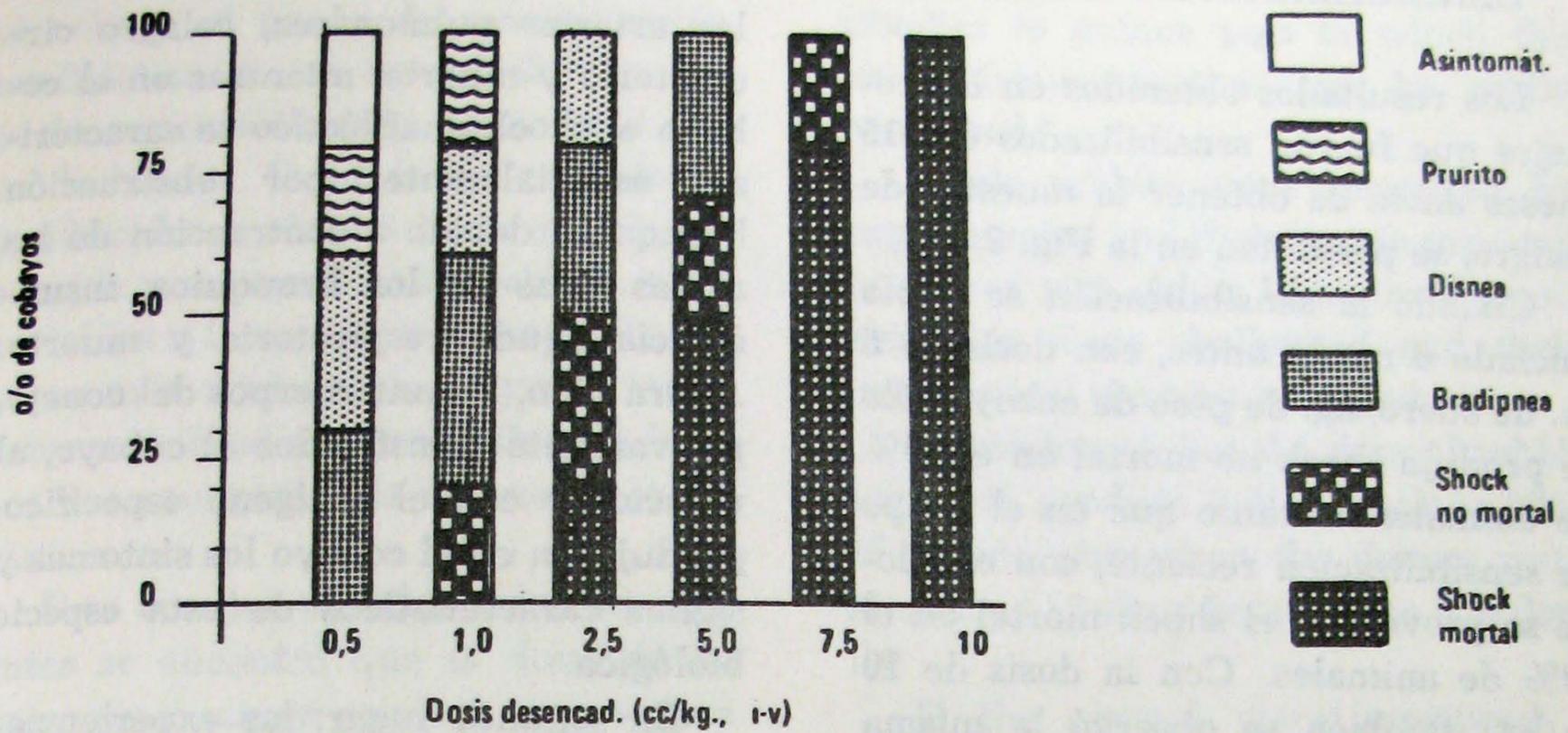
Procedimiento.—Los conejos fueron sensibilizados con una dosis de clara de huevo equivalente a 10 cc/kg. de peso, administrada por vía intraperitoneal; a los 4 días se administró una dosis de refuerzo, consistente en 2 cc/kg. de peso, por vía subcutánea. En un grupo de animales, se obtuvo la respectiva muestra de sangre a los 18 días de la primera dosis preparante, mientras en otro grupo se obtuvo a los 6 meses y en otros dos a los 15 meses. De cada conejo se obtuvo una muestra suficiente de sangre, para, separado su suero, administrar a los cobayos en la gama de dosis pre-establecida para cada ensayo, es decir, por cada conejo, un cobayo, por cada dosis. La sangre se dejó coagular, se obtuvo el suero y se lo centrifugó y luego se procedió a inyectar a los cobayos, por vía intravenosa. Dieciocho horas más tarde se administró a los cobayos, también por vía intravenosa, clara de huevo en la dosis estandar de 0,5 cc/kg. de peso y se observaron y anotaron los signos de reacción anafiláctica.

RESULTADOS

Principales signos.—Tan pronto se inyectó el antígeno, por vía intravenosa, el animal denotó un discreto grado de inquietud, caracterizado por movimientos de la cabeza o deambulación y algunos animales también emitieron un pequeño chillido. Entre 1 y 2 minu-

tos después, la respiración se volvió muy rápida y superficial, con poca contracción de la musculatura respiratoria, cuadro al que hemos denominado "taquipnea". Precediendo o concomitantemente con estos signos, algunos animales se rascaron el hocico, signo considerado como debido a prurito. La taquipnea duró alrededor de un minuto y si la dosis de antígeno fue muy pequeña, el animal, después de haber pasado por estos diferentes síntomas y signos, se recuperó. En cambio, si la dosis del antígeno fue un poco más alta, el animal entró en una nueva fase, caracterizada por fuerte disminución del número de respiraciones, las cuales se volvieron abdominales, esencialmente diafragmáticas, con espiración fuerte, por golpes, cuadro al que hemos denominado de "bradipnea", el cual duró entre 5 y 10 minutos, después de lo cual el animal se recuperó. Si la dosis fue aún más alta los trastornos se sucedieron muy rápidamente: se produjo la fase disneica, luego los animales a veces dieron pequeños brincos para caer después en convulsiones clónicas de 1 a 2 minutos de duración, a continuación de lo cual entraron en una fase comatosa de algunos minutos de duración y acompañada de bradipnea, pero finalmente se recuperaron. A este cuadro hemos denominado de shock no mortal, y por fin el shock mortal, en el cual el animal muere dentro de los 2 a 4 minutos de administrado el antígeno.

Los signos antes descritos se han utilizado para evaluar la reacción anafiláctica producida por la transferencia pasiva de anticuerpos.

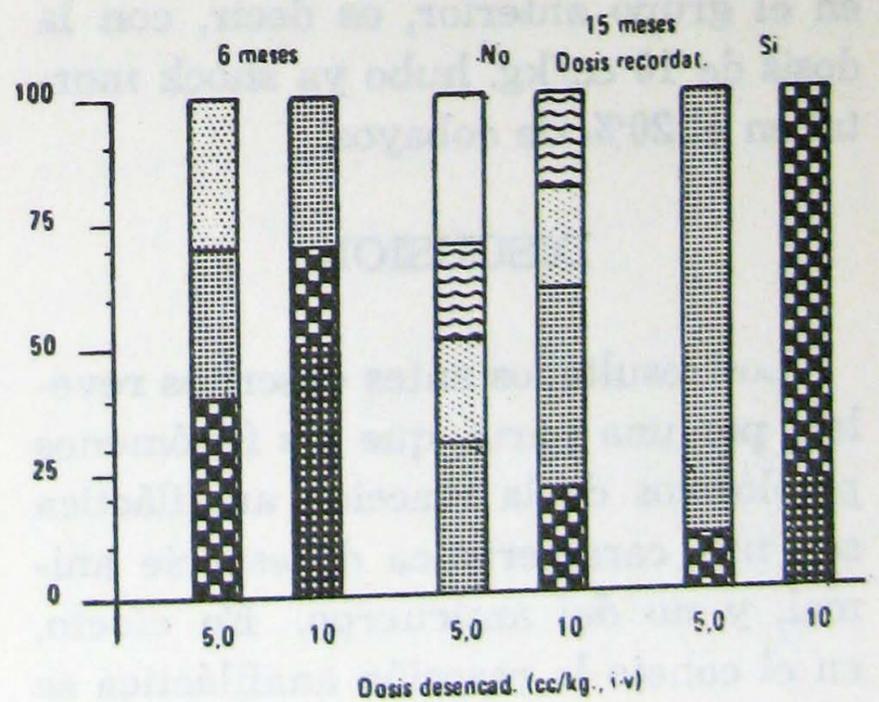


CUANTIFICACION DE LA SENSI-
BILIZACION RECIENTE DEL
CONEJO

Después de varios ensayos preliminares, se estandarizó el período de incubación del conejo, antes de obtenerse la muestra de sangre para cuantificar la respuesta anafiláctica en el cobayo. Se encontró que 18 días después de la primera dosis preparante, el animal se encontraba suficientemente sensibilizado y en los días subsiguientes ya no aumentaba más su capacidad de sensibilizar pasivamente al cobayo.

Con el suero de los conejos sensibilizados 18 días antes se administraron dosis desde menos de 0,5 cc. hasta 20 cc/kg. de peso. Los resultados obtenidos con las dosis desde 0,5 hasta 10 cc., se presentan en la Fig. 1. Con la dosis de 0,5 cc/kg., los cobayos presentaron síntomas leves o moderados de reacción anafiláctica, con dosis más altas los síntomas fueron más intensos

y graves, con la dosis de 2,5 cc/kg. hubo ya un 20% de shock mortal y con la dosis de 10 cc/kg. se produjo shock mortal en el 100% de animales. Los resultados demuestran que los efectos de la reacción anafiláctica son proporcionalmente mayores a la dosis de suero, es decir de anticuerpos pasivamente transferidos del conejo al cobayo y que en éste, después del necesario período para que se fijen en los tejidos, reaccionan con el antígeno específico: la albúmina de huevo.



SENSIBILIZACION REMOTA

Los resultados obtenidos en los conejos que fueron sensibilizados 6 o 15 meses antes de obtener la muestra de sangre, se presentan en la Fig. 2.

Cuando la sensibilización se había iniciado 6 meses antes, con dosis de 5 cc. de suero/kg. de peso de cobayo sólo se produjo shock no mortal en el 40% de animales en tanto que en el grupo de sensibilización reciente, con esa dosis se provocaba el shock mortal en el 50% de animales. Con la dosis de 10 cc/kg., también se observó la misma disminución de intensidad de la reacción anafiláctica.

Cuando la sensibilización se había efectuado 15 meses antes aún con dosis de 10 cc/kg. ya no se produjo shock mortal y sólo hubo shock no mortal en el 20% de cobayos. En cambio cuando a otros conejos también sensibilizados con 15 meses de anticipación, pero a los cuales, 8 días antes de obtener la muestra de sangre se les administró una dosis "recordatoria" de clara de huevo, por vía subcutánea, la reacción anafiláctica por transferencia pasiva de anticuerpos al cobayo fue mayor que en el grupo anterior, es decir, con la dosis de 10 cc/kg. hubo ya shock mortal en el 20% de cobayos.

DISCUSION

Los resultados antes descritos revelan, por una parte, que los fenómenos patológicos de la reacción anafiláctica son una característica de especie animal, y no del anticuerpo. En efecto, en el conejo la reacción anafiláctica se

caracteriza, sobre todo, por espasmo de las arterias pulmonares, colapso circulatorio y muerte, mientras en el cobayo el shock anafiláctico se caracteriza, esencialmente, por obstrucción bronquial, debido a contracción de las ramas finas de los bronquios, insuficiencia aguda respiratoria y muerte. Ahora bien, los anticuerpos del conejo, pasivamente transferidos al cobayo, al reaccionar con el antígeno específico, produjeron en el cobayo los síntomas y signos característicos de esta especie biológica.

En segundo lugar, las experiencias demuestran que es posible y fácil cuantificar el grado de sensibilización de una especie biológica, transfiriendo sus anticuerpos a otra, siendo el cobayo un animal ideal para este fenómeno de transferencia pasiva. Desde luego esta aseveración se basa sobre el supuesto de que el grado de sensibilidad de un animal está en relación con sus anticuerpos circulantes en el suero, de lo contrario simplemente se trataría de una técnica que permitiría cuantificar, biológica o clínicamente, la concentración de anticuerpos anafilactoides, en un animal sensibilizado.

Por fin, los resultados indican también que la sensibilización activa en el conejo no dura indefinidamente sino que tiende a ir disminuyendo sucesivamente con el paso de los meses y que después de 15 meses de sensibilización activa, quedan escasas cantidades de anticuerpos circulantes.

RESUMEN

Con el objeto de estudiar la posibi-

lidad de cuantificar "clínicamente" en el cobayo el grado de sensibilización anafiláctica de un animal de otra especie, se sensibilizaron conejos con clara de huevo. Después del período de incubación se obtuvo la sangre de los conejos y su suero se inyectó en dosis variables a los cobayos, a los cuales 18 horas más tarde se les inyectó intravenosamente el antígeno (clara de huevo) y se cuantificó la respuesta anafiláctica.

Con conejos sensibilizados 18 días antes se encontró que la dosis de su suero para que en cobayos se produzca el shock mortal en el 50% de ellos era la de 5 cc/kg. Si la sensibilización fue 6 meses antes, para igual respuesta se requirió una dosis de 10 cc/kg. y a los 15 meses el suero no sensibilizó lo suficiente al cobayo para que se produzca el shock mortal.

SUMMARY

The purpose of the present study was to investigate the possibility of "clinical" quantification of the anaphylactic sensitization of different animal

species by passive transfer of their antibodies to guinea pigs in which the anaphylactic reaction can be easily measured.

Adult rabbits were sensitized by egg albumine and their serum injected to guinea pigs. After 18 hours the guinea pigs were challenged and their pathological changes recorded.

It was found that the dose of rabbit serum to produce lethal shock in 50% of guinea pigs when the donors were sensitized 18 days before, was 5 cc/kg., i-v.

If the animal were sensitized 6 months prior the blood shed the dose required for the same end-point was 10 cc/kg. and for a period of sensitization of 15 months no lethal effects were possible to produce in guinea pigs.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. NARANJO, P. y DE NARANJO, E.: Cuantificación de la reacción anafiláctica. *Rev. Ecuat. Med. y Cienc. Biol.* 1: 198, 1963.
2. DE NARANJO, E. y NARANJO, P.: Sensibilización anafiláctica por Tripsina y Quimotripsina. *Rev. Ecuat. Med. y Cienc. Biol.* 9: 9, 1971.