

EFFECTO HISTAMINO-LIBERADOR DE LA MADERA DE UKOLA

(*Dumoria africana*)

DR. E. SUBIZA MARTÍN

Muchas maderas tropicales, al ser elaboradas, dan lugar, por la inhalación del polvillo producido, a irritación óculo-nasal, fundamentalmente.

En 1956 (1) tuvimos ocasión de estudiar lo que pudiéramos llamar tres epidemias de estos accidentes entre obreros que trabajaban con maderas de *toka-seioko*, *ukola* y *okumen*.

Tenían de común las siguientes características:

- a) Irritación óculo-nasal en *todos* los individuos expuestos.
- b) Las pruebas alérgicas eran *negativas*. (Este hallazgo lo tenía también publicado el doctor BLAUMONTIER en Francia.) *

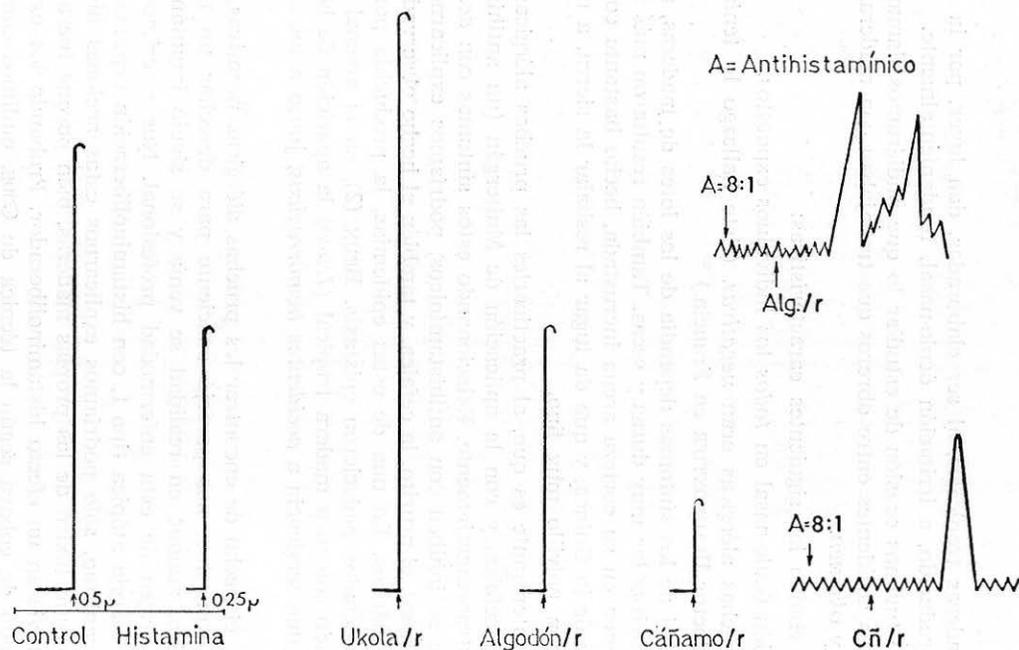
La intensidad de los síntomas dependía de los lotes de maderas, resultando ser las más nocivas las muy duras y secas. También resultaron más irritativas, cuando contienen en su corteza arena incrustada, hecho bastante corriente en estas maderas de la Guinea, y que da lugar al resbalar la sierra, a una mayor atomización con polvillo muy fino.

Un hecho interesante es que, al practicarles las pruebas alérgicas, se reactivaron de su cefalea, y con la aplicación de Multergán (un antihistamínico) mejoraban extraordinariamente. Relacionando estos síntomas con *acciones histamínicas* que se inhiben con antihistamínicos, podríamos explicarnos la congestión óculo-nasal, el prurito, la cefalea, y también el hecho observado de reactivarse los asmáticos. En una de estas epidemias, la producida por *okumen*, los obreros afectados padecieron epistaxis. BRUN (2), en el arsenal de Tolón, había observado con otra madera tropical (*Iroco*) la aparición de hemóptisis; es decir, hay una tendencia a *accidentes hemorrágicos*, junto a los congestivos ya citados.

Realmente, el hecho de encontrar las pruebas alérgicas negativas, y afectar a todos los expuestos, nos pareció suficiente para desechar un mecanismo alérgico atópico, aunque en realidad se venía y se siguió imputando a esta patogenia el origen de esta enfermedad profesional. Nos referimos, naturalmente, a una alergia atópica tipo I, con histaminoliberación específica. Descartado este mecanismo, sólo podríamos explicarnos estas acciones histamínicas por un mecanismo tóxico de las propias maderas, bien porque fueran ricas en histamina o tuvieran un efecto histaminoliberador. Probando los extractos en intestino aislado de cobaya según la técnica de CODE, pudimos comprobar la ausencia de histamina, y para comprobar el efecto histaminoliberador, que era

* JOUGEROT y BLAUMONTIER: no obstante acusan a estos fenómenos congestivos una patogenia alérgica, ya que obtuvieron sensibilizaciones experimentadas al *polissandre*, empleando como animal de ensayo el cobaya.

Histaminoliberación y S-R-S Liberación



UKOLA /r 1cc
 ALGODON /r 1cc
 CANAMO /r 1cc

extracto al 5% en sol CIN a 8,5 % pasado por peritoneo de la rata 30' (Método Fawcett)

TABLA I

el que quedaba por estudiar, hicimos la siguiente experiencia en el cobaya: extracción previa de sangre para determinar histaminemia, inyección intraperitoneal de extracto de *okumen*, y a los 30', nueva extracción de sangre. Comparando ambas histaminemias antes y después de aplicar peritonealmente el problema, se observó, en las determinaciones practicadas por el profesor APARICIO (tabla I), que existía un indudable aumento de las cifras de histamina sanguínea. Concluíamos, pues, en 1956 (1), cuando publicamos este trabajo, que estos accidentes de colorido alérgico no eran alérgicos, sino tóxicos, y que en ellos intervenía una histaminoliberación no alérgica por la acción de estas maderas.

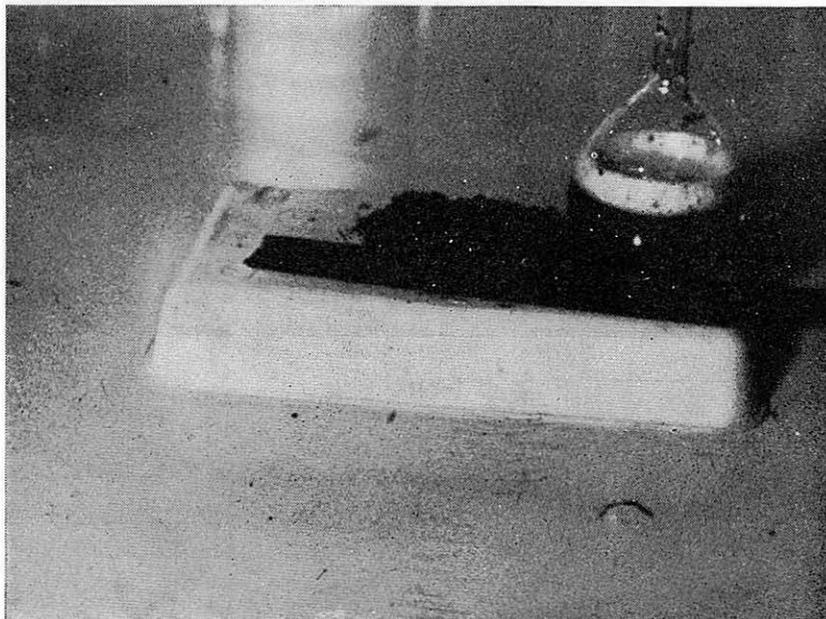


Figura 1

Nos ha animado a estudiar con posterioridad la madera de *ukola* (*Dumoria africana*), por ser la más irritativa de todas, y por el hecho de haberse descrito la importancia de este mecanismo histaminoliberador en 1960 para la byssinosis y la cannabosis (BOUHUYS, LINDELL y LUNDING (3) y C'ANTWEILER (4)).

Esta madera se usa bastante en la elaboración de muebles de lujo, dando una veta muy bonita de color rojizo, que al barnizarse parece caoba. Los carpinteros la denominan «caobilla de Guinea», y, desde luego, es mucho más barata que la caoba. No obstante, tiene el inconveniente de ser muy irritativa, y ello está creando el problema laboral de negarse muchos talleres a trabajar con ella.

EXPERIENCIA

Siguiendo una sugerencia del doctor NORBERTO GONZÁLEZ DE VEGA, hemos investigado su riqueza en hongos, siendo el resultado que las siembras realizadas en medio de Czapek Dox eran totalmente negativas al cuarto día, a diferencia

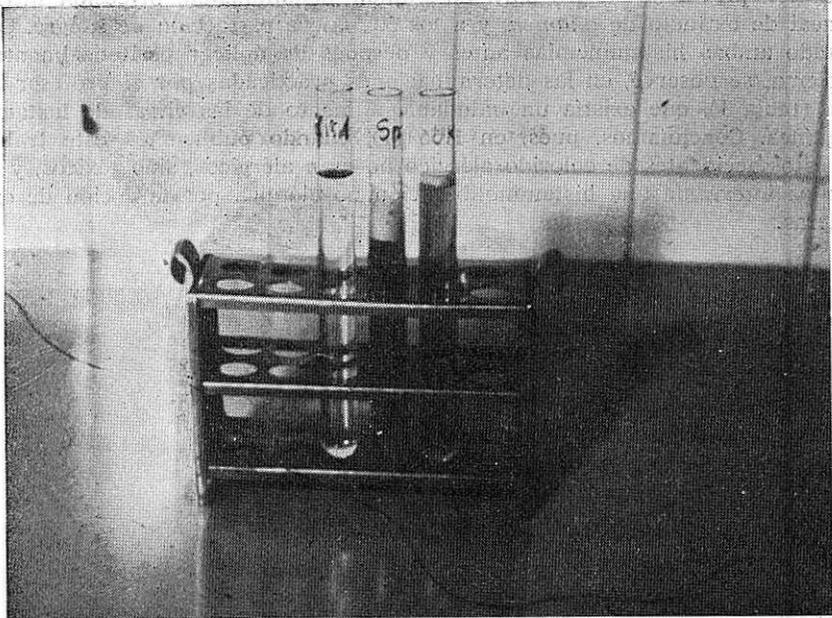


Figura 2

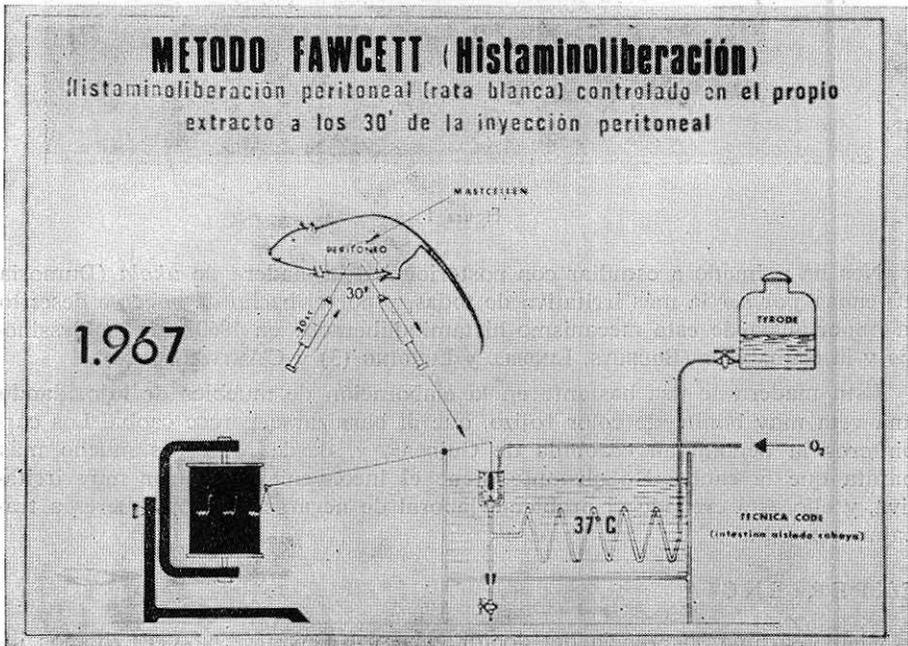


Figura 3

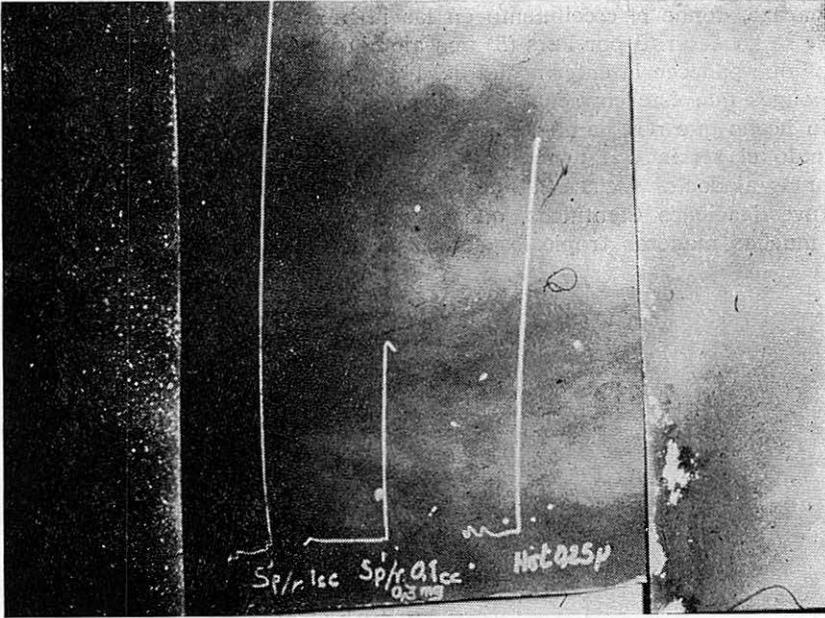


Figura 4

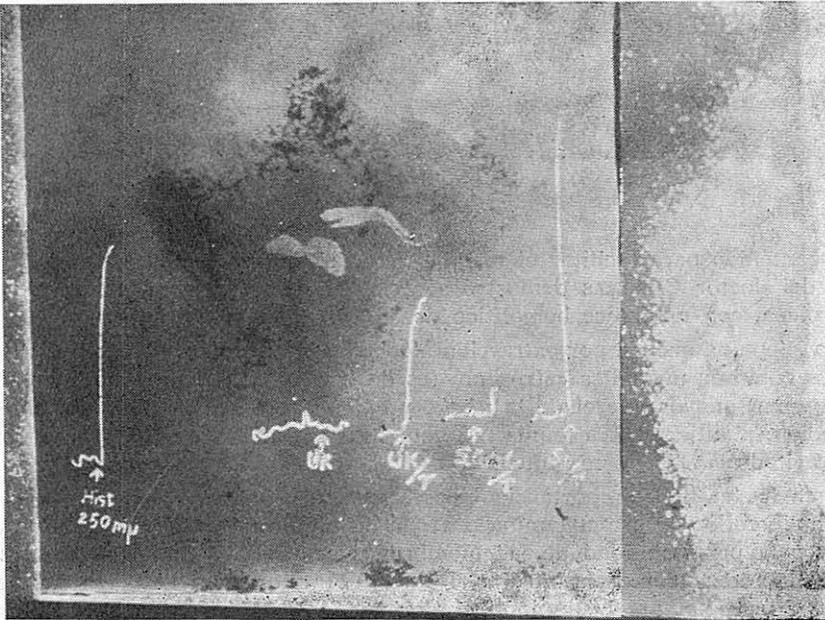


Figura 5

del bagazo, donde el crecimiento en las mismas condiciones es profuso, y en donde se ha descrito por PEYS (5) una alergia precipitínica tipo III, en el suero de los que padecen la enfermedad del bagazo, frente al polvo, y principalmente los hongos que éste contiene.

Un hecho que nos llamó la atención en la madera de *ukola* (fig. 1) es que, agitando el serrín con agua, produce una abundante y persistente espuma. Rogamos al doctor CARRERAS, Jefe del Servicio de Farmacognosis del Instituto de Investigaciones Científicas, que investigase la presencia de saponinas, ya que muchas maderas tropicales son ricas en saponina, pareciendo tener este

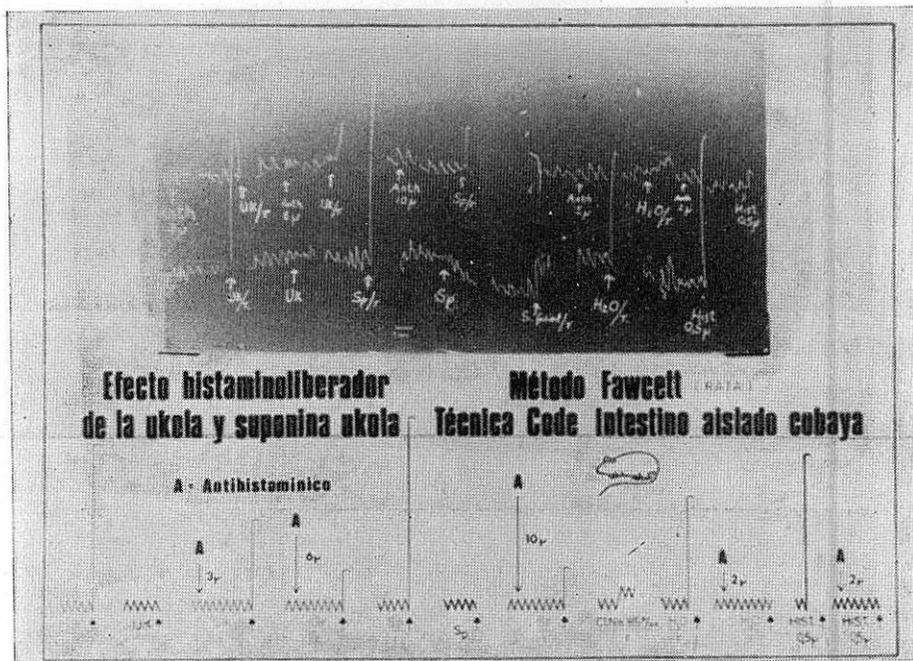


Figura 6

alto contenido para facilitar el metabolismo del agua de estas plantas. El análisis del doctor CARRERAS demostró ser rica en una saponina triterpénica, no esteroidea, con un índice hemolítico de 50.000.

La saponina aislada por extracción alcohólica y precipitación con éter (fig. 2) vemos cómo da un índice «afrógeno» (es decir, producción y mantenimiento de la espuma), mayor que el de la *ukola*, y cómo ambas, a los cinco minutos de agitación, mantienen la espuma, en contraste con un control de suero fisiológico agitado con la misma intensidad.

Este hecho tiene importancia, pues HAGEN (6) describió que el efecto histaminoliberador de la octylamina era por disminuir la tensión superficial y favorecer la permeabilidad de las membranas celulares. Más tarde, KRANTZ (7) y colaboradores demostraron que el Tween 20, que es un detergente y se ha mostrado un potente histaminoliberador, actúa también por este mecanismo. SCHACHTER (8) también demostró que las sales biliares son histaminoliberadoras por una acción tensioactiva. FELDBERG y KELLAWAY (9) observaron que la liso-

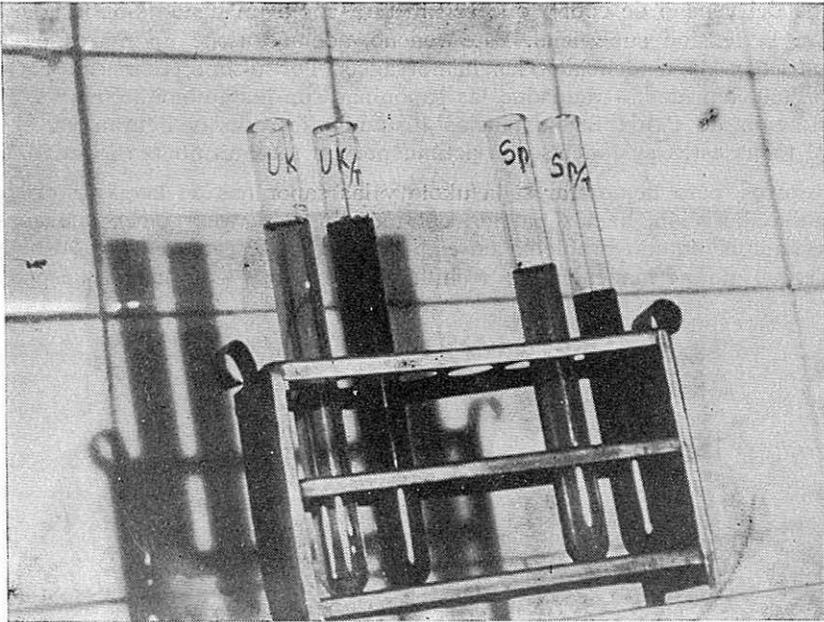


Figura 7

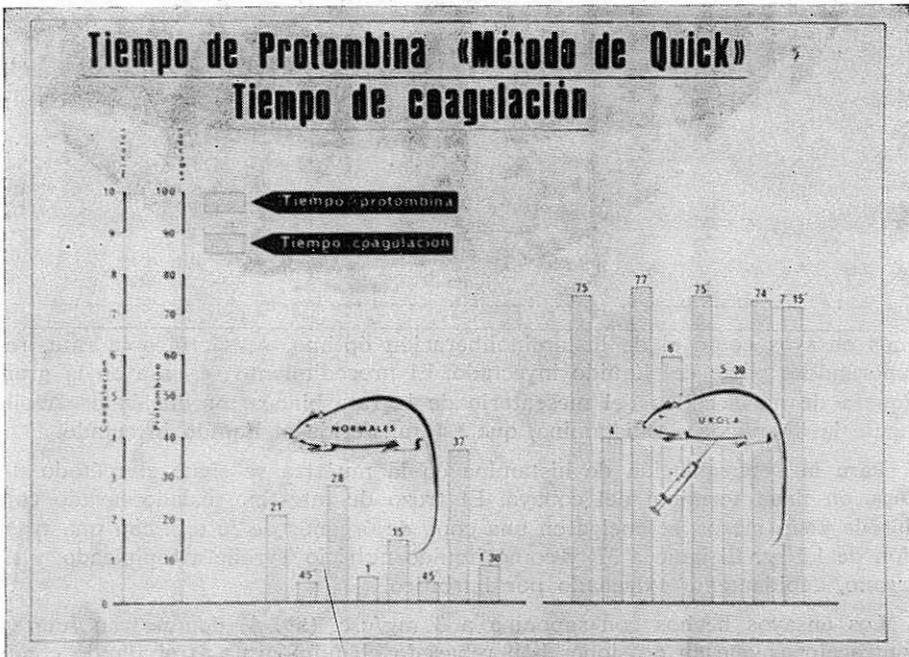


Figura 8

lecitina del veneno de cobra, que se muestra como un histaminoliberador, disminuye la tensión superficial. Este veneno, además, tiene un marcado efecto hemolítico y da tendencia a las hemorragias. Por último, GOLDBERG y GARCÍA AROCHA (10) han demostrado que las saponinas son histaminoliberadoras. En la clasificación de PATON de sustancias histaminoliberadoras figuran en el grupo IV todas estas sustancias que actúan por un mecanismo tensioactivo.

Nosotros, para demostrar si la ukola y las saponinas de la ukola producen histaminoliberación, hemos partido del método de FAWCETT (11), que consiste en inyectar el líquido problema en el peritoneo de la rata (fig. 3). Después de un tiempo de permanencia de treinta minutos, que estimamos después de

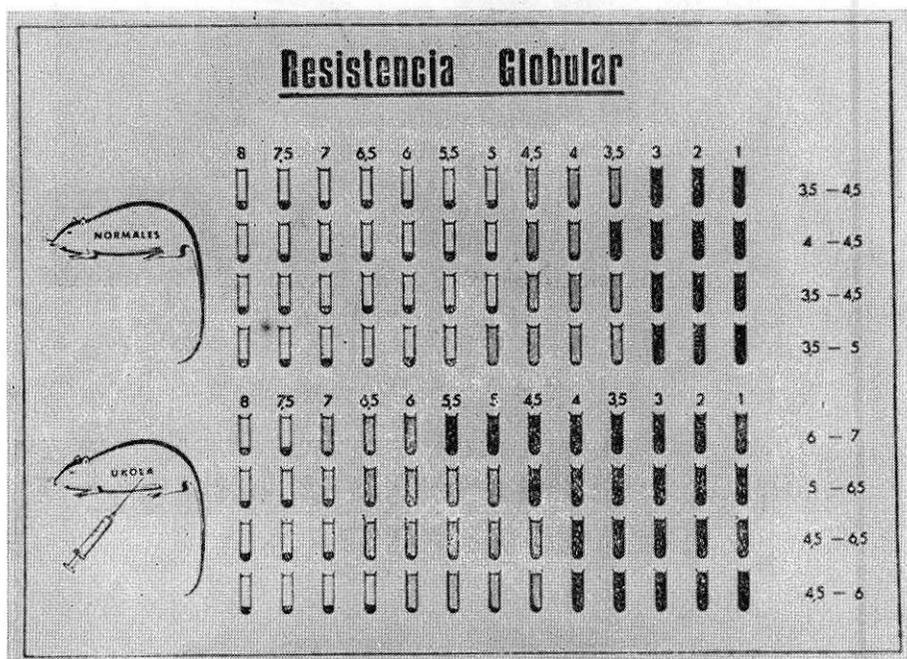


Figura 9

unos ensayos como el de histaminoliberación óptimo, se sacrifica la rata, recuperándose parte del líquido inyectado. El procedimiento se basa en la gran riqueza de mastz-cellen del mesenterio de la rata blanca, produciéndose fácilmente la liberación de histamina, que es transferida al líquido inyectado.

Para la determinación de histamina en la muestra se sigue el método de CODE, en íleon terminal del cobaya. El trozo de intestino aislado lavado con Tyrode y sin mesos, se cuelga en una copa de órganos de 30 c. c. con una tracción de 1,5 gr. El baño a 37° y como líquido nutricio Tyrode atropinizado, y el órgano, debidamente oxigenado por burbujeo.

Los ensayos hechos con saponina a 3 mg/c. c. (fig. 4) demuestran fuertes contracciones que en ocasiones han rebasado el quimógrafo (trabajando como en nuestro caso con un sistema muy sensible), obteniendo contracciones del orden de 750 a 1.250 microgammas por centímetro cúbico.

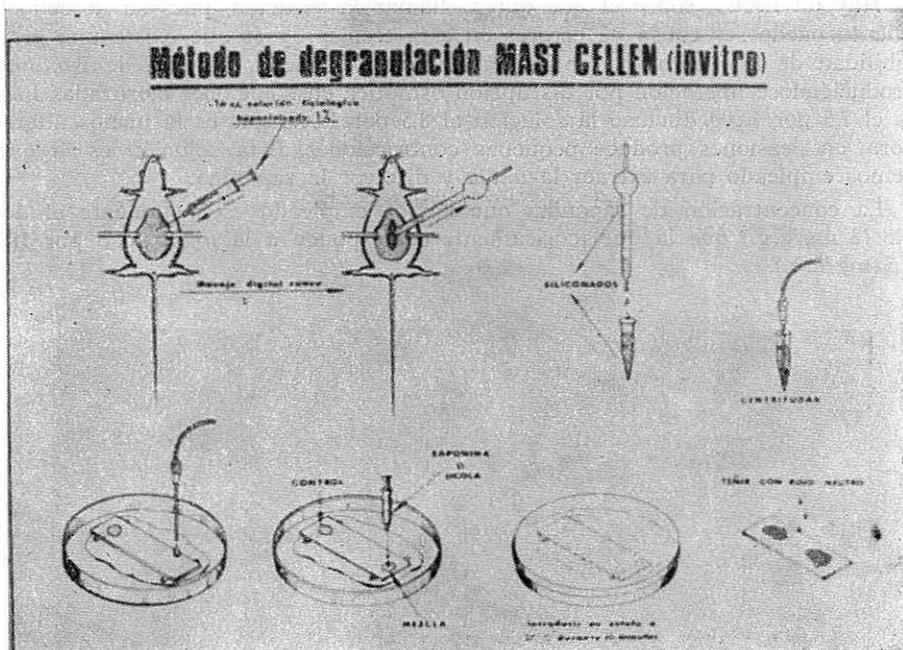


Figura 10

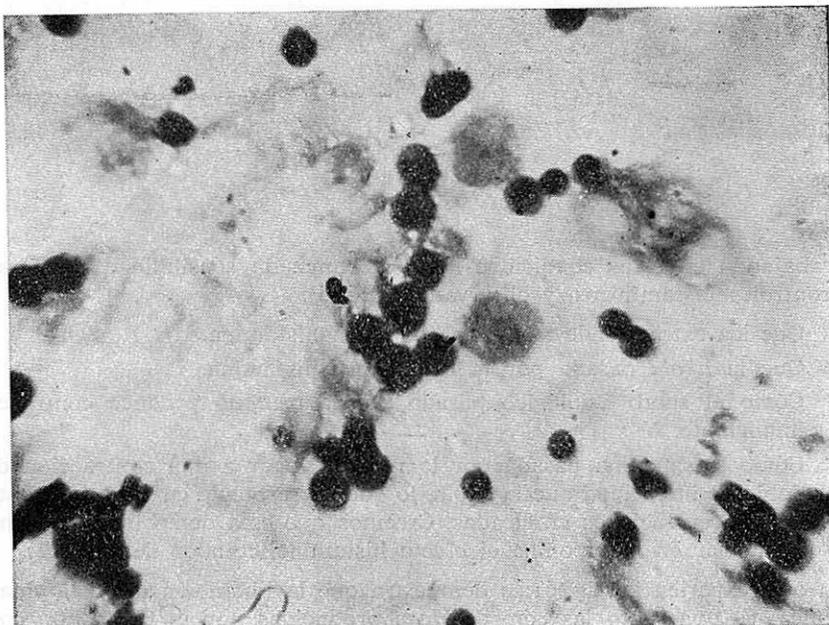


Figura 11

Hay un hecho, sobre el que quiero llamar la atención, pues su desconocimiento puede ser causa de errores en esta técnica; y es que existe una gran labilidad de la membrana de las mastz-cellen al menor cambio de *isotonía*, produciéndose liberación por disrupción osmótica en soluciones cloruradas hasta el 7,5 por 1.000. Incluso la solución al 8,5 por 1.000, que es la menos alteradora, en ocasiones produce pequeñas contracciones. Esta solución es la que hemos empleado para extraer la *ukola* y disolver la saponina.

La concentración de saponina que hemos empleado es justamente el doble (3 mg/c.c.) que la que teóricamente corresponde a la *ukola* al 5 por 100 (1,5 mg/c.c.).

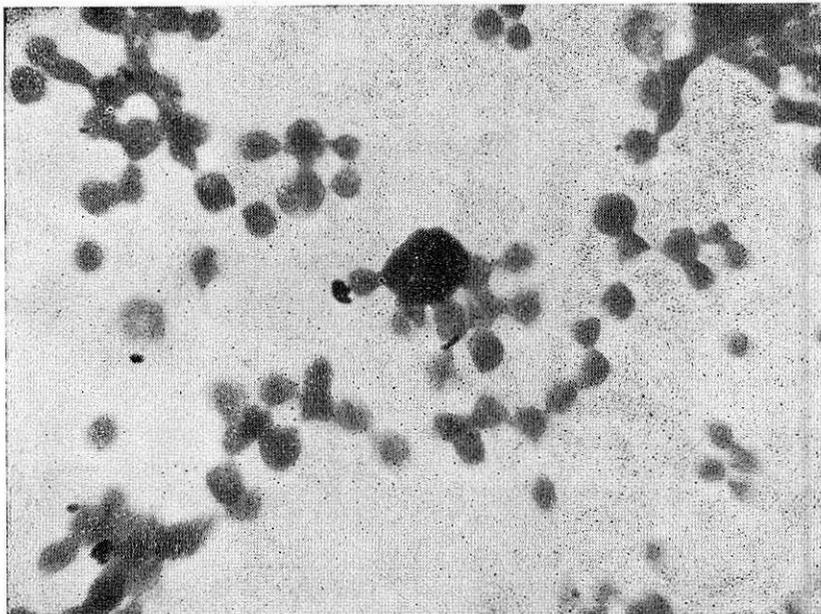


figura 12

Trabajando en estas condiciones, comprobamos la sensibilidad del órgano por controles histamínicos, y observamos (fig. 5):

- 1.º Que los extractos de *ukola* no contienen histamina.
- 2.º Que la *ukola* pasada por la rata libera histamina.
- 3.º Cómo el suero fisiológico pasado por la rata no produce contracción importante. Y
- 4.º Cómo la saponina pasada por la rata da lugar a una contracción del doble de intensidad que la *ukola*, lo que corresponde cuantitativamente a las concentraciones empleadas. Creemos que esta demostración permite denunciar en la saponina el efecto histaminoliberador de la *ukola*.

En otra experiencia (fig. 6) se demuestra que la liberación de histamina es específica, ya que tanto las contracciones producidas por la *ukola*/rata como las producidas por la saponina/rata, se bloquean con los antihistamínicos. También se observa que la saponina sola, lo mismo que la *ukola* sola, no contienen

histamina; y cómo la máxima contracción con agua destilada, pasada por rata, con su gran poder de disrupción osmótica sobre las membranas, es menor que el de la *ukola* y el de la saponina pasadas por el peritoneo de la rata.

Después de estas experiencias podemos decir *que la ukola libera histamina* en el peritoneo de la rata, por un efecto totalmente inespecífico y como consecuencia de su riqueza en saponinas. Este mecanismo no alérgico está de acuerdo con nuestras observaciones de *afectarse todos los obreros y ser las pruebas negativas*.

Las mastz-cellen descritas a principio de siglo por EHRlich se muestran tintorialmente como una célula basófila, con gruesas granulaciones protoplasmáticas que tienen apetencia por los colorantes básicos. La significación de estas células en el organismo ha sido aclarada últimamente. OLIVER y BLOON (1937) demostraron que eran el reservorio de heparina, y más tarde, RILEY y WEST, en 1953 (12), señalaron que eran también los reservorios de histamina.

Hay un hecho que a nosotros nos ha llamado la atención, y es que el suero fisiológico obtenido de la rata apenas si tiene hemorragia, nada más que la discreta producida por la punción; mientras que los extractos de *ukola* y de saponina (fig. 7) dan una hemorragia más acusada, y en proporcionalidad al contenido en saponina. Por otra parte, esta sangre se hemoliza ampliamente, a pesar de partir de soluciones de estos productos con suero fisiológico.

Como hemos visto que las mastz-cellen son los depósitos de heparina, se nos ocurrió comprobar si las ratas inyectadas con *ukola* aumentaban el tiempo de coagulación y protrombina. Efectivamente (fig. 8), las determinaciones practicadas por el doctor PEÑA IBÁÑEZ *demuestran significativamente existir una heparinoliberación*.

Por otra parte, aunque ya es sabido que las saponinas son potentes agentes hemolíticos, hemos hecho esta comprobación (fig. 9) observando cómo las ratas inyectadas con *ukola* disminuyen evidentemente la resistencia globular en relación con los controles.

MOTA BERALDO y JUNQUEIRA (13) demostraron, en 1952, un hecho muy interesante, y es que cuando las mastz-cellen se someten a la acción de un histaminoliberador se produce una degranulación protoplasmática a expensas de las mitocondrias con afinidad basófila. Este fenómeno ha sido aplicado por SHELLEY (14) para la histaminoliberación en alergias medicamentosas, en presencia de suero y antígeno, pero que puede lógicamente emplearse sin suero, cuando, como en nuestro caso, la histaminoliberación no es alérgica. Nos parecía que esta demostración supondría la contraprueba de todo lo afirmado, ya que al resultar evidentes una heparina e histaminoliberación deberían degranularse las mastz-cellen.

Hemos seguido la siguiente técnica (fig. 10), modificada de la de SHELLEY (15):

- La rata sacrificada se le descubre el tegumento abdominal y se le inyecta 10 c. c. de suero fisiológico heparinizado al 1 por 100.
- Se hace un masaje suave de tres minutos y se extrae el líquido con pipeta siliconada, vertiéndose en tubo de centrífuga siliconado.
- El centrifugado, rico en mastz-cellen y siempre con algunos hematíes producidos por el trauma, se toma en pipeta Pasteur.
- En un porta se añaden dos gotas: una gota control y otra que se mezcla con saponina o *ukola* a diferentes concentraciones.
- Los portas preparados se incuban a 37° durante veinte minutos, se secan y se tiñen.

Hemos empleado el rojo neutro, como aconseja SHELLEY, y la tinción con el Giemsa comparativamente después, y no antes de secar las gotas control y problema. Se probaron portas al 5 y 10 por 100 de *ukola* y un control de saponina a 6 mg/c. c., equivalente a *ukola* al 20 por 100.

En los extractos al 5 por 100 resulta concordante que existe una degranulación evidente de las mastz-cellen, persistiendo los hematíes (fig. 11). Ello confirma la sensibilidad de la membrana de las mastz-cellen frente a las saponinas, en contraste con la gota control, sin degranulación alguna (fig. 12). En los extractos al 10 por 100 hay degranulación con disrupción y rotura también de los hematíes.

Por último, la gota tratada con saponina a una concentración de 6 mg/c. c. produce un efecto similar, pero mucho más acusado, con desaparición de las estructuras y persistencia de membranas. Ello confirma que las saponinas son las responsables de esta disrupción.

RESUMEN

Si hacemos esquemáticamente una conclusión de estos ensayos y observaciones clínicas (fig. 13), vemos que la *ukola* es rica en saponinas, como le ocurre

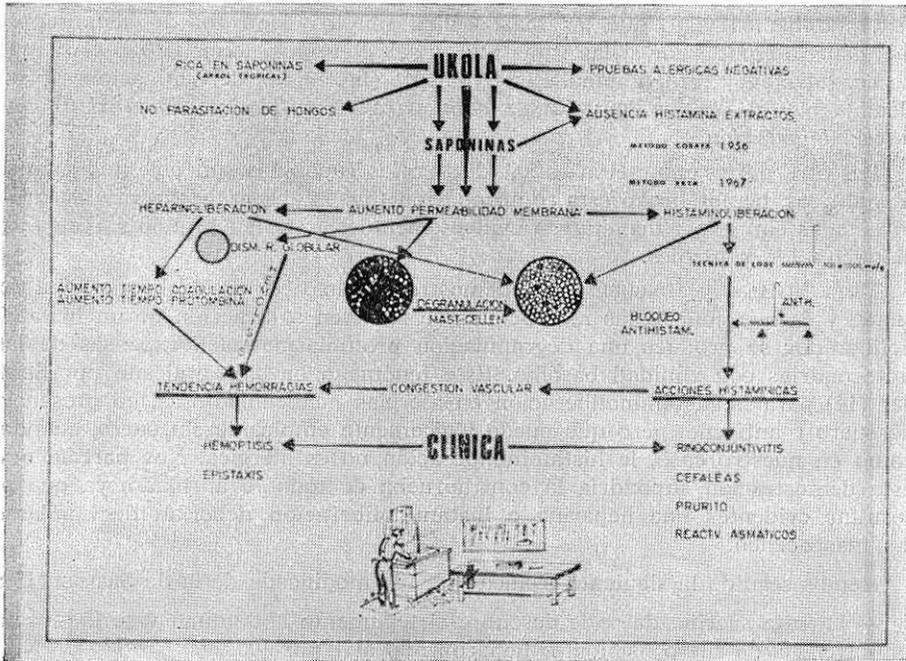


Figura 13

a muchas plantas tropicales, que no están parasitadas por hongos, que las pruebas alérgicas son negativas y, además, que no contienen histamina. La *ukola*, a través de las saponinas, actúa sobre la membrana celular, dando lugar a una *heparinoliberación* y, por otro lado, una *histaminoliberación*, produciendo una *degranulación de las mastz-cellen*. Que este efecto se nota también sobre la

membrana del hematíe, dando lugar a una *hemolisis*. La heparinoliberación la comprobamos por el aumento del tiempo de coagulación y protrombina. Esta acción explica la tendencia a las hemorragias, observadas en el peritoneo, y el ser esta sangre fuertemente hemolizada. La histaminoliberación que produce es potente, del orden de 500 a 1.000 miligammas por c. c. en el extracto al 5 por 100, y se comprueba la identidad histamínica de la sustancia contráctil liberada, por el bloqueo con los antihistamínicos (Fenergan 10⁻⁷).

Acciones histamínicas inhibidas por los antihistamínicos pueden explicar lo que observamos en clínica: irritación rinoconjuntival, cefaleas, prurito y reactivación de los asmáticos. *La tendencia a las hemorragias* explica la epistaxis y hemoptisis también observadas. Concluimos, pues, que estos efectos observados en la rata es casi seguro que tienen el mismo mecanismo que en el hombre, y se trataría de una acción tóxica, aunque en mucho menor grado, de la misma naturaleza que la observada en el veneno de algunas serpientes.

BIBLIOGRAFIA

1. SUBIZA MARTÍN, E.: Presented III Cong. Nac. Alerg, Barcelona, 1956. III Interasma Lisboa, 1957. Publish Rv. Cl. Hig. e Hidro., 1957; Rv. Med. Seg. Trab., 4; 22, 1958.
2. BRUN: Ref. Marchand et Pannier Arch. Malad, Prof., 12; 335, 1952.
3. BOUHUYS, A.; LINDELL, S., and LUNDING, G.: Brit. Med. J., I; 324, 1960.
4. ANTWEILER, H.: Ref. Conference on Byssinosis; XIV Inter. Cong. of Occup., 1963. Except.^a vol. II, pags. 140 and 567.
5. PEPEYS, J.: and al. Thorax, 5; 20, 1965.
6. HAGEN, P.: Brit. J. Pharmacol, 9; 11, 1954.
7. KRANTZ, J.: and al. J. Pharmacol, 7; 646, 1952.
8. SCHACHTER, M.: Brit. J. Pharmacol, 7; 646, 1952.
9. FELDBERG, W., and KELLAWAY, Ch.: J. Physiol, 94; 137, 1948.
10. GOLDBERG and GARCÍA AROCHA: Science, 120; 762, 1954.
11. FAWCETT, W.: J. Exp. Pharmacol, 100; 217; 1954.
12. RILEY, J. F., and WEST, G. B.: J. Physiol., 120; 528, 1953.
13. MOTA, I.; BERALDO, W. T., and JUNQUEIRA, L. C. U.: Proc. Soc. Exp. Biol., 83; 455, 1953.
14. SHELLEY, W. B., and JUHLIN, L.: Nature, 191; 1056, 1961.
15. VARDINON, N.; LEVANON, M., and SCHWARTZ, J.: Act. Allergol, 22; 1, 1967.