



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Química

“EFECTO DE LA PROGESTERONA Y SUS METABOLITOS 5-ALFA Y 5-BETA REDUCIDOS SOBRE LA REACTIVIDAD FARMACOLOGICA DE TRAQUEA AISLADA DE COBAYOS HEMBRAS NORMALES Y ASMATICOS SENSIBILIZADOS”

T E S I S

Que para obtener el Título de:

QUIMICO FARMACEUTICO BILOGO

p r e s e n t a

HECTOR OCTAVIO PEREZ DE ALBA ALEMAN



México, D. F.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

1994



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO

PRESIDENTE: Profa. Dra. Beatriz Albina Medina Jimenez
VOCAL: Prof. Dr. Héctor Ponce Monter
SECRETARIO: Prof. Dr. Homero Hernández Montes
1er. SUPLENTE: Profa. Dra. Elia Brosla Naranjo Rodriguez
2o. SUPLENTE: Prof. Dr. Manuel Miranda Anaya

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA:

Unidad de Investigación Médica en Farmacología
Subjefatura de Investigación Biomédica del IMSS



Dr. Héctor Ponce Monter

NOMBRE Y FIRMA DEL ASESOR DEL TEMA



Dra. Elia Brosla Naranjo Rodriguez

NOMBRE Y FIRMA DEL SUPERVISOR TECNICO



Héctor Octavio Pérez de Alba Alemán

NOMBRE Y FIRMA DEL SUSTENTANTE



EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUIMICA

DEDICATORIAS

A una mujer muy especial:

ELIA LECHUGA GUILLEN

Por su apoyo, su paciencia y su valiosa ayuda en la transcripción de éste escrito.

GRACIAS

A mi madre y a mis hermanos:

Guadalupe

Ernesto
Mario
Patricia
Gastón

Por su constante apoyo y su paciencia.

GRACIAS

A la memoria de mi padre:

Ernesto

Ojalá hubieras visto este trabajo.

GRACIAS

I N D I C E

- I.- ASMA
 - A) DEFINICION
 - B) CARACTERISTICAS DE LA ENFERMEDAD

- II.- GENERALIDADES DE LAS VIAS AEREAS
 - A) CLASIFICACION
 - B) ANATOMIA
 - C) FARMACOLOGIA
 - D) RECEPTORES
 - E) FISIOPATOLOGIA DEL ASMA
 - F) MEDICAMENTOS EMPLEADOS EN ASMA

- III.- PROGESTERONA Y SUS METABOLITOS 5-REDUCIDOS
 - A) SINTESIS Y METABOLISMO EN EL ORGANISMO
 - B) FUNCIONES
 - C) MECANISMOS DE ACCION

- IV.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

- V.- HIPOTESIS

- VI.- OBJETIVOS

- VII.- MATERIAL Y METODOS
 - A) MATERIAL BIOLOGICO
 - B) MATERIAL QUIMICO
 - C) SISTEMA DE REGISTRO
 - D) PROTOCOLO EXPERIMENTAL

- VIII.- RESULTADOS

- IX.- ANALISIS DE RESULTADOS

- X.- CONCLUSIONES

- LITERATURA CITADA

1.- ASMA

A) DEFINICION: "El asma es una enfermedad compleja que cursa con hiperreactividad bronquial a diversos estímulos, lo cual conduce a la obstrucción de las vías aéreas; en ella intervienen factores hereditarios, inmunológicos, neurológicos y psicológicos. Los estímulos varían ampliamente e incluyen alérgenos, infecciones, contaminantes atmosféricos y ambientales, irritantes de las vías respiratorias, ejercicio, medicamentos y factores emocionales" (1).

B) CARACTERISTICAS DE LA ENFERMEDAD: Una de las manifestaciones más notables del asma es la exagerada reactividad de la tráquea y de los bronquios, ésta se considera congénita o adquirida y es la causa de que se alteren las células del músculo liso, la permeabilidad de los capilares y se liberen los mediadores químicos de terminales nerviosas (2), así como de las células cebadas y de los leucocitos (3).

Durante el acceso asmático se presenta contracción tetanizante del músculo liso de los bronquios seguida de edema y acumulación de secreciones. Las muertes por asma son usualmente por estancamiento e impactación de moco causando asfixia o posiblemente tensión pneumotórax. La crisis asmática, generalmente presenta insuficiencia respiratoria definida por hipoxemia, hipocapnia y alcalosis respiratoria, manifestaciones de la hiperventilación. Aparte de los estertores silbantes se reconocen otros como roncales y bronco alveolares que

clínicamente, en conjunto, se le llama "Concierto Asmático". Estos signos son claras manifestaciones de la obstrucción al paso del aire y son fundamentales en el diagnóstico clínico. Cuando se manifiesta la crisis esta aparece súbitamente e incluye disnea, tos y abundante expectoración mucosa, así como estertores de los tipos mencionados (2).

Las vías aéreas se descongestionan de manera espontánea o por acción de medicamentos; primero se relaja el músculo liso, posteriormente desaparece el edema y al final las secreciones. La terapéutica está encaminada a interrumpir la exposición al estímulo por la administración de broncodilatadores, antiinflamatorios y antimicrobianos, estos últimos, en caso de haber infección. El ideal que se persigue es controlar la hiperreactividad de las vías aéreas evitando la obstrucción y parece ser que cada día está más cercano (2). Los estímulos capaces de desencadenar el estado asmático son muy variados y entre los mejor estudiados se encuentran el polen, la caspa de los animales, la saliva de gato, el polvo casero, los cuales son antígenos, pero hay otros factores físicos y químicos como el ejercicio, el frío y un número ilimitado de compuestos químicos inorgánicos que pueden dar el cuadro antes mencionado por un mecanismo no inmunológico (2) (cuadro 1).

CUADRO 1
CLASIFICACION DEL ASMA DE ACUERDO AL TIPO DE
FACTOR DESENCADENANTE

INMUNOLOGICA

Polvo casero
Pólenes
Hongos
Productos animales (caspa, pelo, etc...)
Sensibilizantes químicos (isocianatos, ácido ftálico, etc.)
Otros

NO INMUNOLOGICA

Ejercicio
Aire frío
Hiperventilación
Infecciones respiratorias
 Por virus
 Por micoplasma
Gases, humos y polvos
 Ozono
 Óxidos de azufre
 Óxidos de nitrógeno
 Sales metálicas (Platino, cromo, níquel)
 Polvos de madera y de vegetales
 Otros
Estados emotivos y sugestión
Ritmo circadiano (asma nocturna)
Fármacos
 Antiinflamatorios
 Bloqueadores adrenérgicos beta
 Sulfitos (preservadores de alimentos)
 Otros

MIXTA

(3).

Rees (1963) (4) y Eliasson (1986) (5) han reportado una correlación positiva entre la severidad del síndrome premenstrual y el asma premenstrual. Beynon y cols. (1988) (6) estudiaron tres pacientes con exacerbación premenstrual asmática severa y reportaron que en estos casos el tratamiento con corticoides falló; sin embargo, la administración intramuscular de progesterona (100 mg diarios en una semana en dos casos y 600 mg dos veces por semana en un caso) eliminó los síntomas del asma premenstrual y disminuyó la dosis de corticoides empleada (prednisona) de 40 mg por día a 5 mg por día en dos de sus casos y 7.5 mg por día en el otro (Rees 1963 y Eliasson 1986; Beynon y cols. 1988). El mecanismo de esta acción de la progesterona, en la actualidad se desconoce. Durante el embarazo, es bien sabido que los niveles de progesterona son elevados, en esta etapa se ha observado disminución de la actividad del músculo liso del esfínter esofágico bajo (7). Así también durante la fase lútea del ciclo menstrual se sabe que los niveles de la progesterona son altos y caen justo antes de la menstruación (6). Se ha especulado que estas variaciones hormonales pueden modificar la contractilidad del músculo liso bronquial y producir un aumento en la respuesta de las vías aéreas a los estímulos exógenos. Tomando en cuenta lo anterior, se esperaría un aumento en el síntoma de asma premenstrual cuando los niveles de progesterona sean bajos (8). Investigaciones "in vitro" han demostrado que las hormonas sexuales, incluyendo la progesterona, pueden potenciar

el efecto relajador de la isoprenalina en el músculo liso bronquial (9). La progesterona puede actuar como un broncodilatador por sí misma o mostrar una acción a través de la potenciación de otros broncodilatadores, y puede ser que en un subgrupo de pacientes asmáticos susceptibles, la caída de progesterona plasmática premenstrual provoca broncoconstricción (6). Otra posibilidad es que la progesterona es importante en la regulación de la salida microvascular en vías aéreas y que la disminución de la concentración de progesterona en plasma de como resultado edema y aumento de moco en las vías aéreas (6).

Lo anterior ha hecho pensar que puede existir alguna relación entre los niveles altos de progesterona y la disminución de las crisis asmáticas. por lo tanto varios autores han propuesto que la progesterona podría influir sobre el acoplamiento excitación-contracción del músculo liso de la tráquea. Sin embargo, hasta la fecha no se ha realizado un estudio sistemático que apoye esta hipótesis; por lo anterior, nos proponemos estudiar el efecto de la progesterona y sus metabolitos 5-alfa y 5-beta reducidos, sobre la contracción del músculo liso de la tráquea de cobayos hembras no sensibilizados y sensibilizados inducida por histamina (0.1 mM) y por una solución despolarizante con una concentración alta de potasio (60 mM).

11.- GENERALIDADES DE LAS VIAS RESPIRATORIAS AEREAS

A) CLASIFICACION: El aparato respiratorio se clasifica, para su estudio, en superior e inferior, cada parte comprende los siguientes órganos:

Aparato respiratorio superior o alto: Nariz, cornetes, epiglotis, glotis, faringe y laringe.

Aparato respiratorio inferior o bajo: Tráquea, bronquios, bronquiolos y pulmones.

Nuestra zona de estudio se sitúa en el inferior, pues estos son los órganos más afectados en el ataque asmático.

B) ANATOMIA: La función de la respiración es proporcional al oxígeno que las células de los organismos vivos necesitan y eliminar bióxido de carbono producido por la combustión celular (10).

Este complejo proceso se ha dividido para su estudio en cuatro partes:

- 1.- Hematosis: Es decir, los intercambios gaseosos con el exterior o respiración externa.
- 2.- El transporte de los gases respiratorios desde los órganos externos hasta las células, por medio de la sangre.
- 3.- Respiración interna o el intercambio de gases (O_2 y CO_2) entre la sangre y las células.
- 4.- Respiración celular que es la combustión intracelular y es el medio por el cual las células tienen energía para realizar sus funciones.

Según su función, el aparato respiratorio humano, anatómicamente consiste de: un sistema de tubos que conduce y acondiciona el aire; un aparato de difusión que comprende los pulmones, los cuales están formados por una compleja red de capilares que entran en contacto con el aire; un dispositivo cuyo mecanismo remueve el aire de la superficie de difusión, lo constituyen la caja torácica y los músculos respiratorios.

El sistema conductor comunica el interior con el exterior por medio de los orificios nasales (narinas) provistos de glándulas sebáceas y de vellosidades para retener las partículas extrañas más grandes que entran con el aire. La mucosa presenta glándulas serosas y mucosas que mantienen su superficie húmeda y cubierta de mucus (10).

Las fosas nasales permiten el paso del aire, lo humedecen, lo calientan y lo filtran. El mucus fija las partículas de polvo que son introducidas con el aire hacia la nasofaringe gracias a las ciliias. El conducto continúa con la faringe y la laringe, esta con la tráquea. La laringe impide que cualquier partícula extraña, líquida o sólida llegue a la tráquea, la cual está formada por lo menos por 20 anillos cartilagosos en forma de herradura cuya parte abierta está dirigida hacia atrás la cual está cerrada por músculo liso. Estas estructuras se unen entre sí por tejido conectivo con algunas fibras elásticas. Esta disposición impide que la tráquea se aplaste, mientras que permite su elongación (Fasciolo n. b.) (10).

La tráquea se encuentra revestida por una mucosa. En la submucosa, especialmente entre los espacios intercartilagosos, presenta un gran número de glándulas submucosas. Este órgano se divide en dos bronquios, cada uno entra a un pulmón a nivel del hilio; estas ramificaciones se unen con venas, arterias y conductos linfáticos a través de tejido conectivo denso que envuelve a todo el conjunto, por dicotomía las ramas bronquiales se dividen en ramas más finas. Los bronquios intrapulmonares no muestran anillos cartilaginosos de estructura irregular que en el corte muestran forma de media luna. El músculo liso se encuentra entre el cartilago y la mucosa, rodea al bronquio y lo constituyen dos bandas musculares que lo envuelven en sentido inverso. La mucosa es similar a la de la tráquea. Se les llama bronquiolos a las ramas bronquiales que tienen menos de 1mm de diámetro, no presentan cartilago, pero se encuentran envueltas por tejido pulmonar elástico que favorece su distensión, poseen músculo liso que puede llegar a obstruir la luz cuando se contrae. Los bronquiolos entran en un lobulillo pulmonar (una estructura más o menos piramidal) donde se ramifican formando los bronquiolos terminales y estos a los bronquiolos respiratorios (10).

Dispositivo de intercambio: Empieza en los bronquiolos respiratorios, estos presentan alveolos en sus paredes, los bronquiolos pueden ramificarse a bronquiolos de segundo y tercer grado o insertarse en los conductos alveolares. Los conductos alveolares contienen gran número de alveolos, los

cuales presentan tejido muscular . Estos conductos se conectan a los sacos alveolares, cada uno se abre a tres o cuatro alveolos. En ambos pulmones se cuentan alrededor de 300 millones de alveolos. Los sacos alveolares están rodeados por una red de fibras elásticas, la cual regula la distensión de la estructura.

La superficie del alveolo está cubierta por células alveolares . El aire alveolar está separado de la sangre de los capilares por cuatro membranas: El citoplasma de la célula alveolar, su membrana basal, la membrana basal del endotelio capilar y el citoplasma de este endotelio. Mecanismo renovador del aire: Comprende el tórax y los músculos que se insertan en éste. La rigidez que impide que el tejido pulmonar se colapse y, a su vez, que se proteja el parénquima, está dada por las costillas (10).

C) FARMACOLOGIA: El buen funcionamiento del aparato respiratorio se debe al equilibrio que se establece entre mediadores químicos, sistema nervioso y hormonas, lo cual se manifiesta como el adecuado tono de músculo traqueobronquial y la cantidad y calidad del moco producido (3).

1.- Células involucradas en el asma: Las células que intervienen principalmente en este padecimiento son la célula cebada, los eosinófilos, los neutrófilos, las plaquetas y las células epiteliales del tracto respiratorio.

a) Célula cebada: Es la célula central en el asma inmunológica, aunque se ha observado que también puede estar involucrada en acceso asmático del tipo no inmunológico. Las células cebadas en el tracto respiratorio se localizan tanto en los pulmones como en las vías aéreas; en las primeras se encuentran en el parénquima pulmonar, mientras que en las segundas se encuentran en el tejido conectivo y pueden estar cerca de los vasos sanguíneos. Las terminaciones nerviosas de las glándulas mucosas del músculo liso, también en el epitelio y hasta en la luz de las vías aéreas. Se han descrito dos poblaciones de células cebadas; la del tipo mucoso que en el humano es abundante, y la de tipo conectivo que se encuentra en la submucosa de las vías aéreas, sobre todo de las centrales. Ambos tipos de células cebadas se originan de precursores en la médula ósea y sufren diferenciación en la pared de las vías aéreas (Vargas, n. b.) (3).

b) Eosinófilos: Tienen su origen en la médula ósea. Su producción proveniente de células precursoras se origina por un factor dependiente de linfocitos T y por otras sustancias que liberan los macrófagos. En los individuos no asmáticos los eosinófilos no sobrepasan el 2% de los leucocitos circulantes, mientras que en los sujetos asmáticos se observa una eosinofilia muy marcada. Esto sugiere que estas células juegan un papel muy importante en la patogénesis de este padecimiento y se comprueba por el hecho de que en las necropsias de sujetos

fallecidos con asma se encuentra infiltración eosinofílica en las vías aéreas, asimismo, presentan mayor cantidad de eosinófilos en el lavado bronco alveolar y en la circulación aún en etapa asintomática. Se han descrito receptores de baja afinidad para la IgE en la membrana de los eosinófilos, esto puede ser relevante porque favorezca la liberación de mediadores químicos.

Entre los compuestos sintetizados y liberados por los eosinófilos que tienen relación con el asma, destacan la histaminasa, arilsulfatasa y fosfolipasa D, que respectivamente metabolizan a la histamina, a los leucotrienos C y D y al Factor Activador de Plaquetas (FAP), pero los beneficios de este efecto pueden verse superados por la acción adversa de otras sustancias, también liberadas por estas células; las cuales son sulfidopéptidos-leucotrienos y FAP, que se liberan ante estímulos inmunológicos y no inmunológicos, proteína básica eosinofílica y peroxidasa eosinofílica mismos que pueden ocasionar lesión a las células ciliadas del epitelio de las vías aéreas. En sujetos con asma se ha demostrado la presencia de proteína catiónica en el líquido de lavado bronco-alveolar en el periodo de la fase tardía del reto antigénico, en ésta se observa un aumento en la reactividad de las vías aéreas; igualmente se encuentra elevada la concentración de la proteína básica mayor en la expectoración de los individuos asmáticos.

c) Neutrófilos: Se derivan de precursores localizados en la médula ósea. La duración de estas células en la circulación es de 6 a 7 horas, mientras que en los tejidos se mantienen entre 1 y 4 días. En condiciones normales, una alta proporción que representa casi un 90% de los neutrófilos de un individuo se encuentra almacenada en la médula ósea de donde son liberados como respuesta a la infección o inflamación.

Entre las sustancias más importante en el caso del asma que los neutrófilos producen y liberan, se encuentran enzimas líticas, radicales libres de oxígeno y leucotrienos B₄ (LTB₄). Las primeras dos sustancias dañan el epitelio de las vías aéreas, la última se libera como producto principal del metabolismo del ácido araquidónico, parece ser, debido a su alto poder quimiotáctico para los propios neutrófilos, que se establece un mecanismo de realimentación positiva a fin de mantener el fenómeno inflamatorio. También producen cantidades menores de LTC₄, FAP, Prostaglandina E₂ (PGE₂) y Tromboxano A₂ (TXA₂). En seres humanos y en cobayos, no se ha observado infiltración neutrofilica en la respuesta tardía al reto antigénico y la hiperreactividad bronquial asociada, lo que sugiere que la actividad tipo de leucocitos no es tan importante en la patogénesis del asma como lo es la de eosinófilos.

d) **Plaquetas:** Son elementos formes de la sangre, generados por la fragmentación de los megacariocitos en la médula ósea, duran entre 7 y 10 días en el torrente circulatorio. Independientemente del papel que tienen en la coagulación, también parece que están involucrados en el asma (3). En los individuos asmáticos el ácido araquidónico de las plaquetas se metaboliza principalmente hacia TXA2 por la vía de la ciclooxigenasa, este compuesto provoca constricción del músculo liso traqueobronquial y se le ha relacionado con la hiperreactividad específica. En sujetos asmáticos, se ha observado que hay mayor cantidad de derivados del ácido araquidónico por la vía de la lipooxigenasa. Se ha demostrado que durante la broncoconstricción alérgica en pacientes asmáticos, hay activación plaquetaria; el FAP producido y liberado por eosinófilos, macrófago y otras células podría ser el responsable de este fenómeno, asimismo, se ha demostrado que los eosinófilos tienen receptores para la IgE, por lo tanto, la estimulación puede ser en forma directa por los antígenos (Vargas, n.b.) (3).

e) **Macrófagos:** Se originan en la médula ósea a partir de células precursoras, también de la diferenciación de los monocitos circulantes, los cuales proviene de la médula ósea. Los macrófagos en el tracto respiratorio se encuentran principalmente en las superficies alveolares también a lo largo de la vías aéreas, y en los espacios peribronquial y

perivasculares; son capaces de liberar una diversidad de mediadores químicos. Los principales productos del ácido araquidónico que estas células liberan son TXA₂, prostaglandina y LTB₄, también sintetizan y liberan FAP, otros factores quimiotácticos para los eosinófilos, Factor Liberador de Histamina, enzimas proteolíticas y radicales libres de oxígeno. Los macrófagos desempeñan en el asma inmunológica, la función principal de procesar al antígeno y presentarlo a los linfocitos T. Se han descrito receptores de baja afinidad para el IgE en su superficie, lo que indica que el antígeno puede estimularlos directamente. Los individuos asmáticos atópicos y no atópicos presentan menor proporción de macrófagos en el lavado broncoalveolar en comparación con los sujetos normales. Probablemente se debe a que en ellos están acumulados otros tipos celulares como los eosinófilos, linfocitos y células cebadas, no obstante, los macrófagos de los individuos asmáticos muestran mayor actividad metabólica, lo que se relaciona con la hiperreactividad, asimismo, es mayor el porcentaje de estas células que muestran receptores para IgE.

f) Células epiteliales: Las células epiteliales de las vías aéreas también sintetizan y liberan factores quimiotácticos. El epitelio traqueobronquial humano produce, a partir del ácido araquidónico, el ácido 15-eicosatetraenoico (15-HETE) que presenta propiedades quimiotácticas para neutrófilos. En otros mamíferos se sintetiza LTB₄, el cual es quimiotáctico para

neutrófilos y eosinófilos; por otra parte, las células epiteliales sintetizan factores que relajan el músculo liso traqueobronquial como PGE2 (3).

2.- Mediadores químicos: En estado normal, las células cebadas de las vías aéreas liberan algunos mediadores químicos, la mayoría presentan un efecto de contracción sobre el músculo liso traqueobronquial, también vasodilatador en la microcirculación y estimulan la secreción mucosa. Actúan de esta manera: La histamina (HA), sulfidopéptidos-leucotrienos (LTC4, LTD4 y LTE4) y las prostaglandinas (PGD2 y PGF2 alfa). Aunque hasta ahora no se ha demostrado esto "in vivo" (3).

La liberación de mediadores químicos de la célula cebada, está influida por la acción de diversas sustancias que la inhiben o la incrementan. La prostaglandina E2 (PGE2) inhibe la liberación de estos mediadores químicos, así como los esteroides suprarrenales, las catecolaminas circulantes y el péptido intestinal vasoactivo (PIV). Por otra parte, la liberación de mediadores químicos se ve incrementada por la actividad de la acetilcolina, la sustancia P, la cual se libera por reflejo axónico de fibras vagales de tipo C y la adenosina; esta la libera la misma célula cebada y constituye un mecanismo de realimentación positivo (Vargas, n. b.) (3).

a) Histamina: 2-(4-imidazolil) etilamina también se le conoce como beta-aminoetilimidazol. Su síntesis se realiza por la transformación de la histidina (un aminoácido no esencial) en

un solo paso, a través de la acción de histidina descarboxilasa y su metabolismo está mediado por la N-histamina-N-metiltransferasa y las diaminoxidasas (histaminasas).

La histamina se encuentra en casi todos los tejidos, pero las principales células que la producen son las cebadas y los basófilos las cuales las almacenan en sus gránulos intracitoplásmicos (3). Se conocen tres subtipos de receptores a histamina los H1, H2 y el recientemente descrito H3. Los principales efectos de la histamina relacionados con el asma se observan en el cuadro 2.

Se conocen bien varias sustancias que evitan que la histamina ejerza su efecto y se sabe que actúan sobre receptores H1 (Fig.1), estos antagonistas clásicos no afectan a los receptores H2 donde sí actúan otras sustancias (Fig. 2).

También puede sufrir descarboxilación "in vitro" por acción de la L-aromática aminoácido descarboxilasa y por la histidina descarboxilasa específica (11). Los niveles de histamina en los mastocitos son altos, la transformación es lenta y la actividad de la histidina descarboxilasa es baja; sin embargo, la histamina de células mastoides puede ser reducida por drogas que provocan la desgranulación de estas células (11). Las dos clases de receptores (H1 y H2) se manifiestan por sus diferentes respuestas a un número de agonistas similares a la histamina (Fig. 3).

CUADRO 2
PRINCIPALES EFECTOS DE LA HISTAMINA EN EL ASMA

SITIO DE ACCION	RECEPTOR	EFECTO
Músculo Liso Traqueobronquial	H1	Broncoespasmo
Microcirculación	H1 y H2	Vasodilatación Edema
	H1	Aumento de la permeabilidad capilar edema e infiltración celular
Cel. secretoras de moco	H2	Hipersecreción leve
Terminales nerviosas vagales:		
Receptores de irritación	H1	Prod. reflejo vagal
Fibras C	H1	Lib. sustancia P
Leucocitos	H2	Disminución de la liberación de enzimas lisosomales anticuerpos y linfocinas, y estim. de linfocitos T supresores
Basófilos H2	H2	Inhibición de la degranulación
Epitelio Traqueobronquial	H2	Prod. de PGE2
Eosinófilos y Neutrófilos	??	Quimiotaxis

(3).

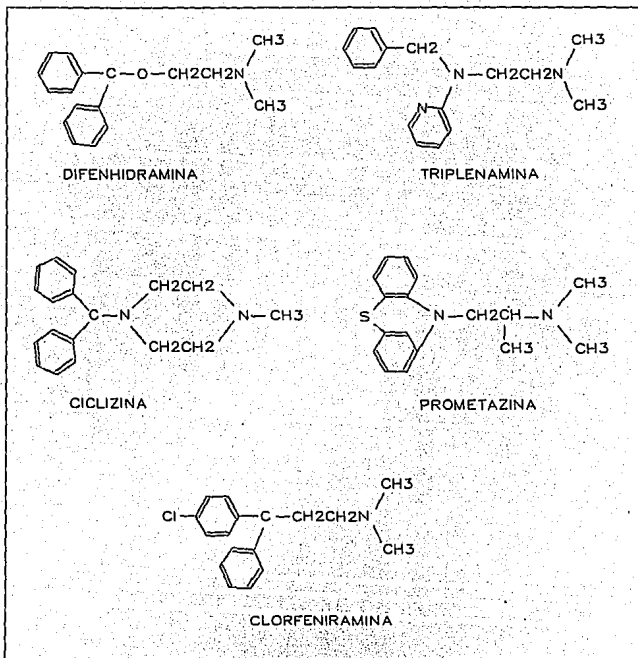


FIG. 1 Principales drogas bloqueadoras de receptores H1 (11).

El receptor H3 a histamina difiere de los otros dos receptores en su farmacología y en su localización (Tabla 1) este receptor es muy sensible a la histamina y al agonista quiral (R) alfa-metilhistamina el cual es activo a concentración nanomolar. La estimulación de los receptores H3

ocasiona una inhibición de síntesis y liberación de histamina inducida por despolarización. Así que los H3 se pueden caracterizar como autorreceptores. Se ha demostrado que los receptores H3 modulan la síntesis y la liberación de histamina "in vivo". Por ejemplo el antagonista a H3 tioperamida, marcadamente aumenta el recambio en el cerebro; mientras que la (R) alfa-metilhistamina presenta un efecto inhibitorio. Es interesante ver que hay una respuesta farmacológica similar en los pulmones; estas observaciones son consistentes de que los receptores H3 puede inhibir la síntesis y liberación de histamina y posiblemente de otros mediadores de inflamación y alergia.

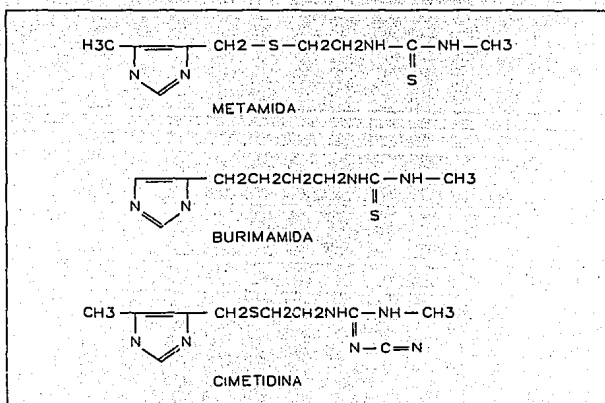
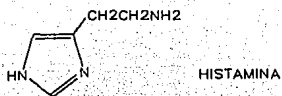


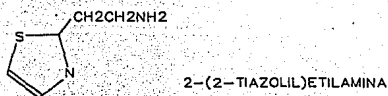
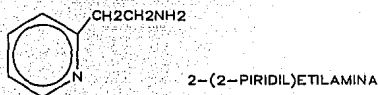
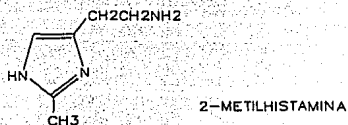
FIG. 2 Principales drogas bloqueadoras de receptores H2 (11).

Aún no se han identificado al segundo mensajero o canal asociado con los receptores H3, mientras que los segundos mensajeros relacionados con los receptores H1 y H2 son bien conocidos, pero los detalles del mecanismo intracelular que ellos provocan no están bien entendidos (11).

La histamina, en los mamíferos, es metabolizada por dos sistemas enzimáticos distintos, se oxida por la diamino oxidasa a imidazol-acetaldehído y después a ácido imidazol-acético y es metilada por la histamina metil transferasa para producir metil histamina (Fig. 4). El efecto contráctil de la histamina es de corta duración y está parcialmente mediado por un reflejo vagal, se ha demostrado que esta sustancia aumenta los potenciales de acción de los nervios vagales aferentes y que este efecto está mediado por los receptores H1. En el líquido del lavado broncoalveolar de sujetos asmáticos la concentración de histamina es mayor que en sujetos normales, este fenómeno está directamente relacionado el aumento en el número de células cebadas y con mayor cantidad de mediadores liberados espontáneamente. La inhalación de un antihistaminico H1 genera broncodilatación en sujetos asmáticos asintomáticos, no así en personas normales, esto sugiere que parte del tono muscular, en el asma, es histaminérgico.



AGONISTAS DE RECEPTORES H1 A HISTAMINA



AGONISTAS DE RECEPTORES H2 A HISTAMINA

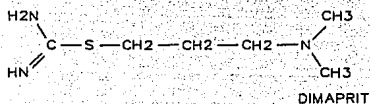
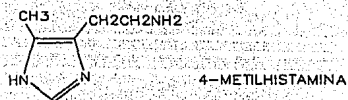


FIG. 3 Estructura de la histamina y agonistas de los receptores H1 y H2 (11).

TABLA 1

FARMACOLOGIA DE RECEPTORES A HISTAMINA

NOMENCLATURA	H1	H2	H3
Agonistas selectivos	2-tiazolil-etil amina	Dimaprit Impromidina (tambièn antagonista de H3)	(R)-alfa-metilhistamina
Antagonistas selectivos	Mepiramina Triprolidina	Ranitidina Tiotidina	Tiooperamida
Vias de acción	IP3/DG	AMPC	

(11).

b) Prostaglandinas: Su nombre se debe a que fueron descubiertas en la secreción de vesículas seminales y de la próstata.

Estos compuestos, así como los tromboxanos, leucotrienos y las lipoxinas provienen del ácido araquidónico a través de su metabolismo enzimático. Su nombre químico es ácido 5, 8, 11, 14-eicosatetraenoico, es un ácido graso esencial de 20 átomos de carbono, por esta razón estos compuestos también se les llama eicosanoides. Este ácido graso forma parte de los fosfolípidos que constituyen la membranas celulares o los cuerpos lipídicos intracelulares; la fosfolipasa A2 hidroliza a los fosfolípidos y el ácido araquidónico es liberado hacia el interior de la célula donde sigue una de las dos vías metabólicas que lo transforman: la de la ciclooxigenasa (Fig. 5), que da como resultado prostaglandinas y tromboxanos y la de la lipooxigenasa que origina a los leucotrienos (3).

La ciclooxigenasa, también conocida como prostaglandina sintetasa, es un complejo multienzimático de membrana situado en la fracción microsomal. La inhiben la mayoría de los medicamentos no esteroides como la indometacina, el ácido acetilsalicílico, los fenamatos y los derivados del ácido propiónico.

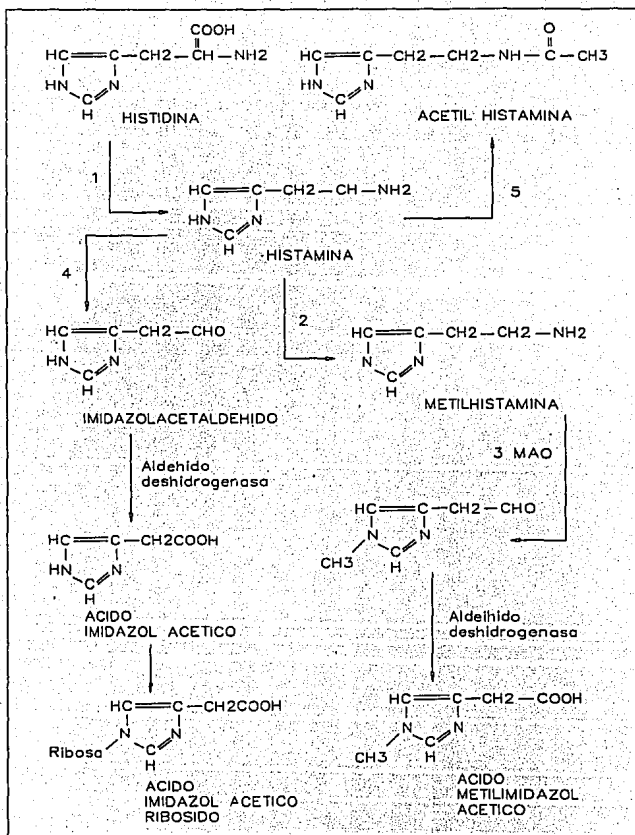


FIG. 4 Metabolismo de Histamina: 1) Histidina descarboxilasa 2) Histamina metiltransferasa. Esta es la mayor vía de acción en la mayoría de las especies de mamíferos 3) Monoaminooxidasa 4) Diaminoxidasa. 5) vía de acción menor del catabolismo de histamina (11).

Existe preferencia en la producción de algunas prostaglandinas por parte del tejido o tipo celular que las produce; por ejemplo el endotelio vascular produce prostaciclina (PGI₂), la célula cebada de tipo conectivo sintetiza principalmente PGD₂ y las células del endotelio traqueobronquial producen PGE₂. El endotelio vascular pulmonar es capaz de inactivar las prostaglandinas producidas por el pulmón e incluso en otras regiones de éste órgano, excepto de la PGI₂ sobre la que no tiene acción, pero ésta es muy inestable y rápida y espontáneamente se transforma en 6-ceto-PGF₂ (Vargas, n.b.) (3). El cuadro 2 muestra los principales efectos de las prostaglandinas.

c) Tromboxanos: Se denominan así porque fueron descubiertos en los trombocitos y presentan un anillo de de hexano.

El tromboxano A₂ es el mayor constituyente de lo que antiguamente se conocía como la Sustancia Constrictora de la Aorta de Conejo. Principalmente lo sintetizan las plaquetas, los neutrófilos y los macrófagos. Su vida media es corta y es metabolizado a su forma más estable el tromboxano B₂. Se sintetiza por una vía metabólica similar a la de las prostaglandinas (Fig. 6) y es inhibida por los inhibidores de la ciclooxigenasa (3). Se sabe que el tromboxano TXA₂ presenta un fuerte efecto contráctil sobre el músculo liso vascular y también traqueobronquial especialmente de las vías aéreas periféricas (ver cuadro 3).

d) Leucotrienos: Deben su nombre al hecho de haber sido descubiertos en los leucocitos polimorfonucleares de conejo y en su estructura presentan tres dobles enlaces conjugados (trienos). Actualmente se conocen los leucotrienos C4, D4 y E4 (LTC4, LTD4, y LTE4) forman el factor que antiguamente se conocía como Sustancia de Reacción Lenta de la Anafilaxia. El ácido araquidónico puede sufrir oxigenaciones en las posiciones 5, 12 ó 15 por acción de las respectivas lipooxigenasas. Los leucotrienos provienen de la vía enzimática de la 5-lipooxigenasa que es una enzima de aproximadamente 180,000 daltones y requiere calcio (Ca) como cofactor; se inhibe por la acción de fármacos experimentales como el ácido dihidroguayarático y la fenidona y, clínicos como dietilcarbamoizina y el benoxapofén (3).

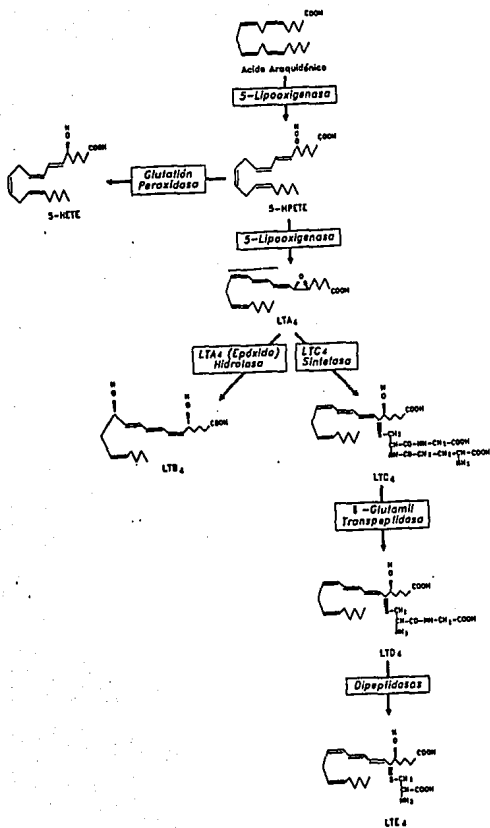


FIG. 5 Metabolismo del Ácido araquidónico a través de la vía enzimática de la 5-lipoxygenasa (3).

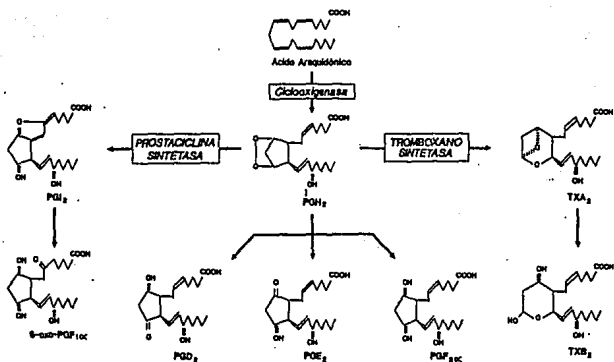


FIG.6 Metabolismo del Acido araquidónico a través de la vía enzimática de la ciclooxigenasa (3).

Al parecer, la capacidad para sintetizar los leucotrienos está limitada a algunos tipos celulares especialmente relacionados con la respuesta inflamatoria e inmunológica como los neutrófilos, los eosinófilos, los basófilos, las células cebadas, los monocitos y los macrófagos. Los leucotrienos presentan efectos muy potentes en el aparato respiratorio, éstos se resumen en el cuadro 3. El efecto contráctil del LTC₄

y LTD4 sobre el músculo liso traqueobronquial es aproximadamente 1000 veces más que el de histamina y 500 veces más que el de la PGF2-alfa.

En respuesta al reto antigénico y a otros estímulos, el tejido pulmonar de pacientes asmáticos libera LTB4, esta sustancia tiene a propiedad de quimiotáctico para los neutrófilos y, en menor grado, para los eosinófilos; este hecho puede ser importante en la manifestación del infiltrado inflamatorio de las vías aéreas del paciente asmático.

**CUADRO 3
PROSTANOIDES Y LEUCOTRIENOS**

LEUCOTRIENO	EFFECTO	CARACTERISTICA
LTA4	Broncoconstricción leve	
LTB4	Broncoconstricción leve Quimiotaxis, quimioquinesis Agregación, adherencia y Degranulación de neutrófilos, eosinófilos, monocitos y macrófagos, Aumento de la permeabilidad vascular	Efecto indirecto Requiere PGE2
LTC4, LTD4 y LTE4	Disminución de la función de los Linfocitos T Broncoconstricción Vasoconstricción Aumento de la permeabilidad vascular Hipersecreción de moco	Efecto directo e indirecto (Liberación de TXA2 y PGF2-alfa)

(CUADRO 3 CONT.)

PROSTANOIDES	EFECTO	CARACTERISTICA
PGD2	Broncoconstricción Hipersecreción de moco	Principal metabolito de la célula cebada de tipo conectivo
PGE1	Broncodilatación Reflejo vagal	
PGE2	Broncodilatación (si hay tono basal alto) Broncoconstricción (si hay tono basal bajo) Disminución de la secreción de moco Inhibición de la de granulación de las células cebadas Inhibición de la liberación de acetilcolina Reflejo vagal	
PGF2-alfa	Broncoconstricción Hipersecreción de moco Aumento de la liberación de acetilcolina	
PGG, PGH	Broncoconstricción	Endoperóxidos cíclicos muy inestables (vida media 5 min.)
PGI2	Broncodilatación Vasodilatación	Muy inestable (metabolito estable: 6-oxo-PGF-alfa)
	Antiagregación plaquetaria	
TXA2	Broncoconstricción	Endoperóxido cíclico muy inestable (vida media 30 s) (Metabolito estable: TXB2)

(3).

e) Lipoxinas: Son el resultado de la combinación de la 15-lipooxigenasa y la 5-lipooxigenasa del ácido arquidónico. Se han descrito las lipoxinas A4 y B4 (LXA4 y LXB4) las sintetizan los neutrófilos y los eosinófilos; estos compuestos producen contracción del músculo liso de las vías aéreas periféricas del ser humano y del cobayo, por su acción se liberan tromboxanos, radicales libres de oxígeno e hidrolasa lisosomales. Aún se sabe poco de estos compuestos.

f) Factor activador de plaquetas (FAP): Químicamente se le conoce como acetilgliceriléterfosforilcolina (Fig. 7). Se forma de los fosfolípidos de las membranas con la intervención de la fosfolipasa A2; los corticosteroides inhiben directamente a esta enzima y bloquean la síntesis del FAP. Entre las células que lo pueden producir se encuentran los macrófagos, los neutrófilos, los basófilos, las plaquetas, las células cebadas, pero algunas de estas células no lo liberan normalmente en baja cantidad; lo que indica que el FAP realiza una función intracelular desconocida (Vargas, 1991) (3). El cuadro 4 muestra los efectos más importantes en las vías respiratorias. En los humanos la broncoconstricción estimulada por FAP se debe, por lo menos en parte, a que secundariamente se liberan histamina y leucotrienos.

g) Adenosina: Es un nucleósido que se genera por la desfosforilación del monofosfato de adenosina (AMP). La liberación de esta sustancia es causada por la estimulación de las células cebadas y los eosinófilos "in vitro", independientemente sea mediada por antígeno o por vía no antigénica. Su estímulo se manifiesta por los receptores A₁ y A₂, mismos que son bloqueados por la teofilina. Se ha demostrado que la preincubación "in vitro" de células cebadas y basófilos con adenosina aumenta la liberación de mediadores preformados, con la histamina, pero no de los mediadores de nueva formación. Esto puede explicar un mecanismo de realimentación positiva, dado que el mediador liberado por las células cebadas estimula a las mismas para incrementar la formación de los demás mediadores. Se ha observado que las células cebadas y los basófilos de los asmáticos liberan mayor cantidad de mediadores que las células de los individuos normales (3).

CUADRO 4

PRINCIPALES EFECTOS DEL FACTOR ACTIVADOR DE PLAQUETAS EN ASMA

- 1) Broncoconstricción indirecta (Probablemente por liberación de TXA₂, histamina y leucotrienos)
 - 2) Quimiotaxis y activación intensas de los eosinófilos y los neutrófilos
 - 3) Hiperreactividad bronquial duradera
 - 4) Aumento de la permeabilidad microvascular y exudación de proteínas hacia la luz de las vías aéreas
 - 5) Aumento de la producción de moco
 - 6) Disminución de la actividad ciliar
-

(3).

h) Factores quimiotácticos: Las células cebadas, los basófilos y las células involucradas en la inflamación (eosinófilos, macrófagos y neutrófilos) liberan diversas sustancias que tienen actividad quimiotáctica para los eosinófilos y los neutrófilos. Los principales son el LTBA y el FAP. Otros compuestos que presentan efecto quimiotáctico, aunque en menor grado, son la histamina, el Factor Quimiotáctico para los Eosinófilos de la Anafilaxia (FQE-A) y el Factor Quimiotáctico para los Neutrófilos de la Anafilaxia (FQN-A). Por otra parte, las células epiteliales del tracto respiratorio humano liberan 15-HETE, el cual presenta actividad quimiotáctica para los

neutrófilos (3). Los factores quimiotácticos juegan un papel importante en el desarrollo patológico del asma, su presencia es la causa de la llegada de células inflamatorias a las vías aéreas, de esta manera, se genera la respuesta inflamatoria característica del asma.

3.- Factores neurohormonales: El aparato respiratorio está innervado por los sistemas colinérgico, adrenérgico y del recientemente descrito no adrenérgico no colinérgico (NANC). El primero de ellos tiene la función de contraer las glándulas submucosas, lo que genera la secreción de moco y en los vasos sanguíneos causa dilatación. En las personas no asmáticas existe un nivel basal de estimulación colinérgica y en los individuos que padecen asma, este fenómeno es mucho más pronunciado (3). Los factores que contrarrestan el efecto del sistema nervioso colinérgico son: el sistema inhibitorio NANC, las catecolaminas circulantes y la escasa innervación simpática (Vargas 1991) (3).

a) Sistema nervioso colinérgico: La innervación que este sistema proporciona a las vías aéreas va desde la tráquea hasta los bronquiolos terminales a través de las fibras vagales, la innervación disminuye poco a poco hasta la periferia de las vías aéreas. El neurotransmisor posganglionar es la acetilcolina, su acción está mediada por receptores muscarínicos, interviene en la contracción del músculo liso traqueobronquial, el aumento de la secreción mucosa favorece la liberación de mediadores químicos de las células cebadas (3). El mecanismo por el que se

produce la crisis asmática desencadenada por diversos estímulos es, en parte, a través de la producción de un reflejo vagal. En las vías aéreas hay receptores sensoriales vagales llamados receptores de irritación, son terminales nerviosas mielínicas que se encuentran entre las células epiteliales y por debajo de ellas. Los pacientes asmáticos presentan daños en epitelio de las vías aéreas, por lo tanto se favorece la exposición de los receptores de irritación, se hacen más vulnerables a la estimulación por agentes exógenos y endógenos y se facilita la broncoconstricción por reflejo vagal. Un mecanismo propuesto para explicar la relación entre el aumento del tono vagal y la hiperreactividad de las vías aéreas empieza en el vago cuando este libera acetilcolina, la cual actúa sobre la célula cebada generando la liberación de mediadores químicos y estos a su vez, producen hiperreactividad bronquial. Este mecanismo se encuentra incrementado en el asmático, ya que tiene mayor número de células cebadas (3).

b) Sistema nervioso adrenérgico: Este sistema comprende las terminaciones nerviosas y a los receptores alfa y beta; su inervación es escasa en las vías aéreas centrales y es nula en las vías periféricas, mientras que los receptores adrenérgicos son abundantes en toda la extensión de las vías aéreas, por lo tanto, la mayoría de los receptores no tienen conexión directa con las terminales nerviosas, pero son estimulados por las catecolaminas circulantes (Vargas 1991) (3).

-Receptores Alfa: Los receptores adrenérgicos alfa-1 son escasos en este tejido. Cuando se les estimula produce la contracción del músculo liso traqueobronquial, mayor liberación de histamina por las células cebadas y aumento de la secreción de las glándulas mucosas, se inhibe la liberación de la sustancia P y de otros péptidos de las fibras C; de igual manera como ocurre con los receptores beta-2, la estimulación de los receptores alfa-2 presinápticos inhibe la liberación de acetilcolina de las fibras colinérgicas.

- Receptores Beta: Las vías aéreas del humano se encuentran densamente pobladas por receptores adrenérgicos beta, la gran mayoría son del subtipo beta-2. Cuando son estimulados ya sea por catecolaminas endógenas o por fármacos agonistas adrenérgicos beta, el efecto es broncodilatación, desgranulación de la célula cebada y mayor transporte iónico en el epitelio, con un incremento de la secreción de agua, aumento de la secreción del moco y aumento del transporte mucociliar. Por otra parte se sabe, se sabe que la estimulación de los receptores adrenérgicos beta-2 presinápticos inhiben la liberación de la acetil colina de las fibras colinérgicas.

c) Sistema nervioso no adrenérgico no colinérgico (NANC): Este sistema comprende dos subdivisiones; un sistema excitatorio y otro inhibitorio, ambos localizados en las fibras vagales.

- Sistema excitatorio : Su principal neurotransmisor es un polipéptido de 11 aminoácidos llamado sustancia P (SP), otros neurotransmisores de este sistema son los polipéptidos neurocinina A, el neuropéptido K, el péptido relacionado con el gen de la calcitonina y la neurocinina B. Estas sustancias se encuentran en las fibras C, las cuales son terminales nerviosas vagales aferentes de tipo no miélinico que se localizan en toda la extensión de las vías aéreas en el epitelio, debajo de él y en el músculo liso. Algunas sustancias tienen la propiedad de excitar las fibras C, como la histamina, la PGF₂-alfa, la PGE₂, la PGI₂ y la bracinina, ocasionando un estímulo nervioso aferente, en los sitios donde confluye con otras fibras C, se regresa en forma antidrómica por estas últimas, generando a partir de ellas, la liberación de neuropéptidos. Este tipo de estímulo se llama reflejo axónico.

Estos neuropéptidos que también se conocen como taquininas, ejercen su acción a través de receptores específicos denominados NK1, NK2 y NK3, promueven la contracción de músculo liso de las vías humanas "in vitro", en el modelo animal provocan aumento de la secreción mucosa e incremento de la permeabilidad vascular. La sustancia P es capaz de liberar histamina cuando es inyectada en la piel del humano, lo que sugiere que tal vez este compuesto induce la desgranulación de las células cebadas del pulmón (3).

Las taquininas se degradan rápidamente por vía enzimática a través de la acción de las endopeptidasas, también conocidas como encefalinasas, las cuales se encuentran en las vías aéreas.

- Sistema inhibitorio: La inervación inhibitoria (NANC) abarca desde la tráquea hasta los bronquios de 2mm de diámetro. Posiblemente, debido a la nula intervención simpática, este sistema proporciona la única manera de tipo nervioso de relajar el músculo liso traqueobronquial. Probablemente los neurotransmisores de este sistema inhibitorio NANC son el péptido intestinal vasoactivo (PIV) y otros como el péptido histidina-metionina (PHM) y el péptido histidina-isoleucina (PHI). Se localizan en vesículas propias en el interior de las fibras vagales posganglionares y en las dilataciones donde están localizadas las vesículas que contienen acetilcolina. Ya que se liberan simultáneamente con la acetilcolina, es probable que actúen como moduladores inhibiendo la respuesta colinérgica. El PIV activa receptores específicos acoplados a adenilciclasa, su efecto más importante en pulmón es la relajación del músculo traqueobronquial. En el cobayo, el PIV, inhibe la liberación de mediadores químicos de la célula cebada (Vargas 1991) (3).

El PIV y el PHI se degradan fácilmente por diversas peptidasas y posiblemente los metabolizan las enzimas que liberan las células involucradas en la respuesta inflamatoria.

Además se ha descubierto que no hay PIV en las vías aéreas de los asmáticos parece ser que en los individuos que presentan la enfermedad, hay deficiencia en la producción de esta sustancia, además de lo mencionado sobre la susceptibilidad que este neurotransmisor presenta frente a las enzimas.

En los pacientes asmáticos atópicos (que tienen tendencia hereditaria a la producción preferencial y excesiva de IgE como respuesta a ciertos alérgenos) y no atópicos presentan un aumento importante en el número de células cebadas en las vías aéreas. Se cree que los mecanismos de este fenómeno se relacionan con una mayor producción de células precursoras en la médula ósea o con un incremento de los factores de diferenciación local de las células cebadas, sin embargo, se ha demostrado que estas células presentan mayor liberación espontánea o inducida por IgE de histamina o de otros mediadores químicos y estos fenómenos se relacionan estrechamente con el grado de hiperreactividad.

Los mecanismos que generan la liberación de los mediadores químicos por parte de las células cebadas pueden ser inmunológicos y no inmunológicos. Se desencadena por el estímulo que provoca el antígeno específico inhalado cuando se fija a dos moléculas de IgE que se encuentran sobre la superficie de la célula cebada, también por la estimulación artificial con anticuerpos anti IgE. Los estímulos no inmunológicos son principalmente los cambios en la isotonicidad de su microambiente o su estimulación directa, a través de mediadores

químicos o la presencia del Factor Liberador de Histamina (FLH), el cual es producido y liberado por otras células como los linfocitos y los macrófagos; existe una relación directa entre los niveles de FLH del lavado broncoalveolar y el grado de hiperreactividad bronquial inespecífica (3).

D) RECEPTORES: Son proteínas capaces de reconocer con alta especificidad una molécula particular, un neurotransmisor o una hormona, con la que interactúan, la consecuencia de esta interacción puede ser la apertura de un canal iónico para un ion particular o la activación de una enzima membranar, lo cual a su vez, origina una serie de fenómenos metabólicos mediante la producción de un segundo mensajero (12).

Se clasifican como ionotrópicos y metabotrópicos; los primeros están relacionados con el paso de iones y los últimos están acoplados a sistemas enzimáticos (13).

La molécula particular que interacciona con el receptor se conoce como primer mensajero. El segundo mensajero es el intermediario de la manifestación de un cambio en la célula. Estas son diversas sustancias que juegan un papel muy importante en la comunicación intracelular. En general se les llama agonistas a los compuestos que ocupan y activan a los receptores y antagonistas a los que los ocupan pero no los activan y, por ende obstruyen el paso de los agonistas (12).

La secuencia de eventos desde la interacción entre el primer mensajero del receptor y la manifestación del cambio en la célula es muy compleja, sin embargo se ha dividido para su estudio en dos etapas: a) transducción y generación del segundo mensajero y b) propagación intracelular de la señal (12).

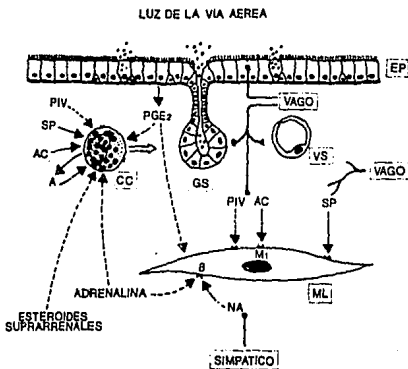


FIG. 7 Características histológicas de las vías aéreas en condiciones normales. Las flechas continuas representan la liberación de mediadores químicos o el efecto excitatorio de estos sobre las células blanco. Las flechas discontinuas representan el efecto inhibitorio de los mediadores químicos sobre las células blanco. El músculo liso (ML), las células cebadas (CC), las glándulas submucosas (GS) y los vasos sanguíneos (VS) reciben influencias excitatorias e inhibitorias por diverso mediadores químicos que promueven su funcionamiento homeostático. La célula cebada tiene una liberación basal de mediadores químicos (representada por la flecha doble) como histamina, leucotrienos y prostaglandinas que contribuyen a la homeostasis antes mencionada. Existe integridad del epitelio respiratorio (EP) y escasa cantidad de células inflamatorias (no esquematizadas aquí). A = Adenosina, AC = Acetilcolina, B = Receptor adrenérgico beta, M1 = Receptor muscarínico M1, NA = Noradrenalina, PGE2 = Prostaglandina E2, SP = Sustancia P, PIV = Péptido intestinal vasoactivo (3).

La transducción es el proceso que se realiza desde la activación del receptor hasta la formación del segundo mensajero y la propagación intracelular de la señal incluye la amplificación de la misma, la cual se da a través de receptores intracelulares, son proteínas que reconocen con gran afinidad y especificidad al segundo mensajero.

Los receptores a histamina están acoplados a hidrólisis de inositol fosfolípido e intervienen en la contracción del músculo liso, incrementan la permeabilidad vascular, liberación hormonal y glucogenólisis celular via un aumento en la concentración intracelular de los iones calcio libres. Los receptores H2 están acoplados a adenilciclase via una proteína G_s y median la mayoría de sus acciones por medio de la producción intracelular de AMPc. Las respuestas funcionales más importantes de los receptores H2 incluyen la secreción de ácido gástrico, relajación del músculo liso, acciones positivas cronotrópicas en el músculo cardíaco y efectos inhibitorios en el sistema inmunológico. Los receptores H3 se identificaron originalmente como autorreceptores inhibitorios en terminales nerviosas que contienen histamina en la corteza cerebral de rata, sin embargo, se ha demostrado que inhiben la liberación de una variedad de neurotransmisores en tejido central y periférico (14).

La membrana plasmática está formada por lípidos y proteínas. La parte lipídica es principalmente fosfolípidos, uno de estos es fosfatidilinositol (PI), el cual puede sufrir fosforilación a fosfatidilinositol monofosfato (PIP) y a fosfatidilinositol difosfato (PIP₂) (12).

Cuando el agonista interactúa con el receptor, éste activa una proteína Nx (aún no se ha caracterizado), que actúa sobre la fosfolipasa C específica para el PIP₂ se obtienen como productos el inositol 1,4,5-trifosfato (IP₃) y los diacilglicéridos (DG). La molécula de IP₃ tiene la propiedad de liberar calcio del retículo endoplásmico intracelular con lo que aumenta la concentración de calcio en el citoplasma; en el cual la concentración de este ion libre es de 10^{-7} M en reposo y por la actividad de algunas hormonas alcanza concentraciones 3 a 4 veces mayores, de esta manera, el efecto de la hormona se incrementa en el citoplasma.

El calcio libre actúa como segundo mensajero y activa una serie de proteínas cinasa y a otras enzimas. La amplificación de la señal se efectúa por medio de la fosforilación de enzimas donde una fosforila a otra y esta a otra y así sucesivamente.

El diacilglicérido, obtenido de la hidrólisis de los fosfoinosítidos, junto con el calcio activan a la proteína cinasa C, la cual, propaga y amplifica la señal hormonal junto con las cinasas dependientes de calcio. La señal se interrumpe rápidamente y los dos productos activos de la hidrólisis (IP₃ y DG) son inactivados por dos enzimas.

La figura 8 se muestra a manera de resumen.

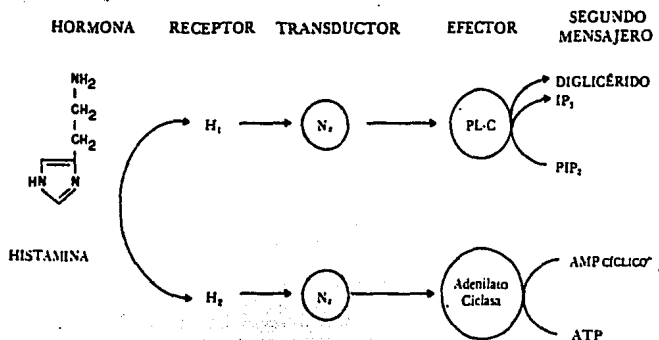


FIG. 8 Estructura de la histamina y mecanismos de acción (15).

En el caso de adenilciclase el agonista activa al receptor membranar ocasionándole cambios conformacionales, con lo cual, ya es capaz de interactuar con la proteína a la que esta acoplado ("N" o "G", por que requiere para su funcionamiento nucleótidos de guanina -GTP- y puede ser estimuladora o inhibitoria). Una vez que la proteína N es activada, interacciona con la adenilatociclase activándola o inhibiéndola según se trate de N_s o N_i , la cual transforma el ATP en AMPc. La propagación y amplificación de la señal se realiza por medio de la activación de la Proteína C inactiva, a la cual se une el AMPc dejando libre la porción activa, la

cual fosforila a esta enzima y esta a otra, de manera similar a lo descrito para recambio de inositol. El AMPc es transformado a AMP no cíclico por la acción de la fosfodiesterasa (12).

E) FISIOPATOLOGIA DEL ASMA: Como se dijo anteriormente, el asma puede ser de origen inmunológico, no inmunológico o de ambos tipos. Sin embargo se sabe por estudios post-mortem de pacientes que fallecieron durante un ataque asmático que independientemente de la causa, se desencadenan los mismos fenómenos fisiológicos, aunque con diferente intensidad de un individuo a otro e incluso, el mismo individuo puede sufrir el ataque asmático en mayor o menor grado, dependiendo del contacto con el alérgeno y el grado de sensibilidad del mismo. Al ataque de asma más grave y repentino se le conoce como crisis asmática, el cual representa un fuerte riesgo para la salud del paciente. No obstante, los accesos menos violentos no dejan de ser peligrosos (3).

A continuación se describe la serie de acontecimientos que ocurren durante un ataque asmático.

1.- Asma de origen inmunológico: La respuesta inmunológica contra uno o varios elementos, los cuales pueden actuar como alérgenos inhalados, habitualmente se inicia durante la niñez y se caracteriza por la producción de inmunoglobulina E (IgE), esta se fija a los receptores específicos en la membrana de la célula cebada. también puede fijarse a los eosinófilos, los macrófagos, los monocitos, a los basófilos y a las plaquetas.

Este proceso se conoce como sensibilización y se dice que el individuo está sensibilizado al alergeno capaz de iniciar la respuesta inmune. Si el individuo inhala el alergeno al cual está sensibilizado, esta sustancia entra en contacto con los anticuerpos específicos adheridos a la célula cebada, se desencadena la liberación de diferentes mediadores químicos. La mayoría tienen la propiedad de producir contracción del músculo liso, aumentar la secreción de moco, dilatar los vasos de la microcirculación e incrementar la permeabilidad vascular. Estos son fenómenos característicos de la respuesta inmediata al contacto con el antígeno (Vargas 1991) (3).

2.- Asma de origen no inmunológico: Se desconocen factores específicos causantes, tampoco se sabe si la disposición genética es requerida para su desarrollo o no. Entre los factores más comunes que pueden causar inflamación en las vías aéreas acompañada de hiperreactividad, se cuentan las infecciones virales, inhalación de gases irritantes como el ozono, la exposición a diversos compuestos químicos. De alguna manera se activan los mecanismos de realimentación positiva que inician y mantienen el proceso inflamatorio de vías aéreas.

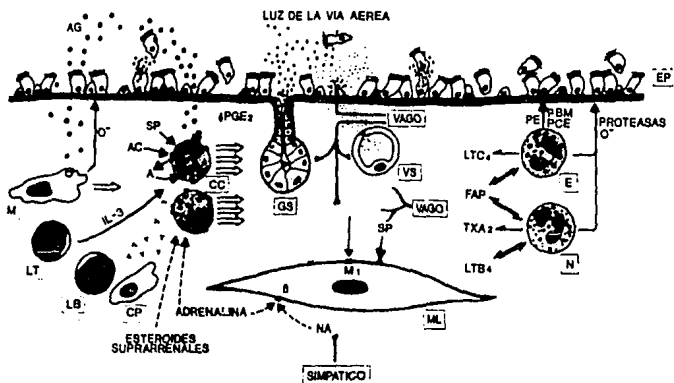


FIG. 9 Características histológicas de las vías aéreas en la condición asmática (3).

En la figura 9 las flechas continuas representan la liberación de mediadores químicos o el efecto excitatorio de estos sobre las células blanco. Las flechas discontinuas representan el efecto inhibitorio de los mediadores químicos sobre las células blanco. Del lado izquierdo se observa cómo, en el caso de asma inmunológica, el antígeno (AG) desencadena los eventos que finalmente promueven la producción excesiva de IgE por las células plasmáticas (CP), el aumento de células cebadas (CC) por acción de linfocinas y en etapas posteriores, la liberación de mediadores químicos (flechas dobles) por la integración Ag-IgE en la célula cebada. Existe incremento

notable de las células inflamatorias, en especial de los eosinófilos (E) y de los neutrófilos (N). La presencia de mayor cantidad de mediadores químicos liberados por las células cebadas, los macrófagos, los eosinófilos y los neutrófilos, ya sea en forma espontánea o durante la crisis asmática, rompe el equilibrio homeostático favoreciendo la aparición de hiperreactividad, contracción del músculo liso (ML), hipersecreción mucosa, edema y mayor inflamación. Algunas sustancias liberadas por las células inflamatorias como la proteína básica mayor (PBM), la proteína catiónica eosinofílica (PCE), la peroxidasa eosinofílica (PE), las proteasas y los radicales libres de oxígeno (O⁻) promueven la lesión del epitelio respiratorio (EP). En relación con los mecanismos inhibitorios nótese la ausencia, en la condición asmática, del péptido intestinal vasoactivo y la disminución de la producción de la prostaglandina E2 (PGE2) por parte del epitelio. Otros cambios anatómopatológicos son la hipertrofia del músculo liso y el engrosamiento de la membrana basal. A= adenosina, AC= acetilcolina, IL-3= interleucina 3, LB= linfocito B, LT= linfocito T, LTB4= leucotrieno B4, LTC4= leucotrieno C4, M= macrófago, NA= noradrenalina, PGE2= prostaglandina E2, SP= sustancia P, TXA2= tromboxano A2, VS= vaso sanguíneo.

3.- Crisis asmática: Cuando las vías aéreas manifiestan las alteraciones características del padecimiento y se ha establecido la hiperreactividad, estímulos de diversa índole son capaces de provocar espasmos del músculo liso, hipersecreción de moco y edema, los cuales producen obstrucción de la luz de las vías aéreas generalmente de manera súbita se le llama CRISIS ASMÁTICA. Están involucrados principalmente, la liberación de mediadores químicos, la producción de reflejo vagal y la lesión del epitelio (3).

F) MEDICAMENTOS EMPLEADOS EN EL ASMA: La terapéutica ideal en el asma debería estar dirigida a corregir el estado de hiperreactividad, como esto, hasta ahora, no se puede lograr, el tratamiento está orientado a revertir la obstrucción de las vías aéreas lo más pronto posible (15).

Los broncodilatadores de primera instancia son los agonistas adrenérgicos beta-2, después las teofilinas y la tercera opción está representada por los anticolinérgicos muscarínicos (15).

1.- Broncodilatadores: Se caracterizan por revertir rápidamente la obstrucción de las vías aéreas gracias a su acción relajante sobre la contracción del músculo liso bronquial. (15).

a) Adrenérgicos o simpaticomiméticos: Las principales acciones farmacológicas de estas sustancias incluyen estimulación de los receptores beta-1 adrenérgicos (aumento de la contractibilidad

miocárdica y de la conducción) y estimulación de los receptores beta-2 (relajación bronquial y vasodilatación). Los receptores beta-1 se localizan en el músculo cardíaco y en el músculo liso del intestino, mientras que los receptores beta-2 se encuentran en el músculo estriado, cuello uterino y en los vasos sanguíneos. (Vargas) (3). Ejemplos de estos son: Salbutamol y Terbutalina.

- Salbutamol: Es agonista adrenérgico de los receptores beta (15).

- Terbutalina: Tiene propiedades adrenérgicas capaces de estimular los receptores beta-2. Produce broncodilatación manifestada, en pacientes asmáticos, por mejoría de la función pulmonar. (15).

b) Anticolinérgicos: La acetilcolina que las terminaciones nerviosas liberan es capaz de activar en forma directa al músculo bronquial y a las glándulas provocando broncoconstricción y aumento de la secreción traqueobronquial.

El bromuro de ipratropio, produce su efecto por medio de dos mecanismos: relaja el músculo liso por antagonismo competitivo a nivel de los receptores colinérgicos muscarínicos e inhibe a los mediadores de las células cebadas.

Como existen diferentes tipos de receptores muscarínicos, se están desarrollando antagonistas selectivos; la pirenzepina es antagonista específico de los receptores M₁, los cuales son excitadores neuronales y se encuentran en los ganglios de las

vías aéreas. Los receptores neuronales M2 se bloquean selectivamente con gallamina. Sobre receptores M3 actúan el 4DAMP y el Hexahydroxilaaldefenidol.

2.- Metilxantinas: Son xantinas metiladas y a este grupo pertenecen la cafeína, la teofilina y a teobromina. Presentan baja solubilidad, pero aumenta cuando forma complejos, el más notable es la aminofilina que se forma entre la teofilina y la etilendiamina.

El mecanismo de acción de la teofilina, probablemente sea la inhibición de la fosfodiesterasa que metaboliza al AMPc y este compuesto provoca la relajación del músculo liso al aumentar su concentración dentro de la célula. Además inhibe la liberación de histamina de las células cebadas y aumenta la síntesis y liberación de catecolaminas de la médula suprarrenal. Cuando se emplea a dosis terapéuticas mejora la contractilidad del diafragma, por lo tanto, es importante en el manejo del asma (15).

Su acción sobre la fosfodiesterasa es controversial, puesto que hay sustancias, como el dipiridamol, capaces de inhibir la fosfodiesterasa y no son broncodilatadores. Otro argumento en contra, es que debería haber sinergismo con los compuestos beta-2 adrenérgicos y no se observa este efecto en estudios "in vivo". Otra observación que se opone a la hipótesis de la inhibición de la fosfodiesterasa, es el hecho de que algunos derivados de la teofilina que no penetran en la

célula y también presentan efecto broncodilatador, por lo tanto, la teofilina produce su efecto por una acción sobre la membrana celular. Probablemente, la explicación más plausible, respecto a su efecto broncodilatador, sea que de alguna manera interfiere con el metabolismo del calcio de la célula del músculo liso bronquial, ya sea inhibiendo la entrada de iones calcio o su liberación intracelular, pues la teofilina aumenta la recaptura del calcio a la mitocondria (Díaz 1991) (15).

Las metilxantinas, en estudios "in vivo", producen relajación completa del músculo bronquial independientemente del grado de contracción basal (15).

3.- Corticosteroides: Actualmente son los medicamentos antiinflamatorios más potentes para el tratamiento del asma. Probablemente su acción depende de varios mecanismos a nivel celular, ya que no tienen un órgano receptor específico, además, las células del órgano blanco los toma y se unen a proteínas receptoras en el citoplasma, la cual, transporta al complejo receptor esteroide hasta el núcleo donde se realiza la transcripción y se producen nuevas moléculas de ARNm específicas, mismas que son transportadas al citoplasma, en el cual se sintetizan nuevas proteínas en los ribosomas. Estas son las responsables de los efectos específicos de las células, mediados por esteroides. En el asma, al parecer, las células blanco son: las del músculo liso bronquial, las de los vasos sanguíneos, las de las glándulas mucosas, del tejido conectivo,

las células cebadas y los glóbulos blancos, también terminaciones nerviosas, motoras y sensitivas. El mayor beneficio que se obtiene con el uso de estas drogas es la supresión de la inflamación, y la mejoría de la función del sistema nervioso autónomo simpático.

La acción de los corticosteroides no es específica, pues inhibe la respuesta provocada por estímulos antigénicos como no antigénicos por disminuir la permeabilidad capilar aumentada, estabilizar los lisosomas evitando la liberación de enzimas y la inhibición de la migración de los neutrófilos y de los monocitos hacia las áreas de inflamación; modifican la respuesta inflamatoria al reducir la infiltración de proteínas y de líquidos hacia la luz bronquial. Además, induce la síntesis de lipocortin que inhibe la actividad de la fosfolipasa A2 y por lo tanto, la síntesis de los mediadores fosfolípidos que son precursores de la inflamación, también inhiben la activación de los eosinófilos y por ende la evolución de la bronquitis eosinofílica crónica (15).

Estas sustancias, cuando se administran, generan la acumulación de 3', 5' AMPc en las células musculares de los bronquios, mejoran la respuesta de la estimulación beta adrenérgica y por lo tanto, relajan directamente el músculo bronquial, inhiben la liberación de los mediadores, promueven la mejoría de la actividad mucociliar y disminuyen la viscosidad del moco.

Los corticosteroides restauran la permeabilidad de la membrana celular, reducen la acumulación de líquidos y de proteínas en los tejidos y probablemente disminuyen la penetración del antígeno a través de la mucosa respiratoria. Los más empleados son hidrocortisona, pregnisolona y beclometasona (15).

4.- Estabilizadores de la membrana celular y Antihistamínicos: Los términos "estabilizadores de las células cebadas" y "drogas antialérgicas" se refieren a fármacos que incluyen al Cromoglicato disódico y al Nedrocromil disódico. Aunque los términos podrían referirse a que la acción de estas drogas es prevenir la liberación de mediadores químicos de las células cebadas activadas, también tienen efecto en otras células inflamatorias, especialmente sobre las plaquetas y los eosinófilos.

a) Cromoglicato disódico (CGDS): Se deriva del ácido cromona-2-carboxílico; su mecanismo de acción se desconoce, inicialmente estabiliza a las células cebadas y después inhibe a los mediadores preformados que intervienen en la reacción asmática; bloquea la broncoconstricción del músculo liso y del incremento de la quimiotaxis para los neutrófilos e inhibe la activación de eosinófilos y neutrófilos.

b) Ketotifeno: Es antihistamínico y antiinflamatorio, inhibe la hiperreactividad inducida por el FAP, la actividad plaquetaria y la acumulación de eosinófilos, puede prevenir la taquifilaxia beta adrenérgica resultante del tratamiento a largo plazo con beta agonistas (Díaz 1991) (15).

5.- Inmunoterapia: Es la desensibilización específica y el método consiste en administrar dosis crecientes de antígenos por no más de dos años, de manera que se genera tolerancia al antígeno y se comprueba por la aceptación de dosis cada vez mayores del alérgeno.

Perspectivas de la inmunoterapia: Se intenta reducir la alérgenicidad de los antígenos completos sin alterar su capacidad inmunológica, por lo tanto, se han probado modificaciones a los extractos de alérgenos. Por ejemplo se acopla un antígeno a un polímero del ácido d-glutámico-d-lisina para inhibir la producción de IgE; estos polímeros migran lentamente en los tejidos; por lo tanto, mantienen su poder inmunológico durante más tiempo, lo que favorece la producción de anticuerpos bloqueadores del tipo IgA e IgG (15).

Aún cuando la enfermedad está plenamente identificada, se desconocen muchas de sus causas y las medidas terapéuticas actuales, a pesar de ser numerosas y variadas, no son suficientes. El padecimiento, día a día cobra víctimas o deja enfermos con tratamiento de por vida, esto justifica la investigación de este estado patológico tan común (2).

III.- PROGESTERONA Y SUS METABOLITOS 5-REDUCIDOS

A) SINTESIS Y METABOLISMO EN EL ORGANISMO: Las hormonas esteroides según su actividad biológica, se han clasificado en 6 grupos: glucocorticoides, mineralocorticoides, estrógenos, andrógenos, progestinas y compuestos de la vitamina D (6).

Los cinco primeros provienen del colesterol, y el grupo de las progestinas pertenecen los esteroides a los que nos referimos en este trabajo y el último grupo de los anteriormente citados, se forman del precursor del colesterol (7-dehidrocolesterol) (16).

La biosíntesis del colesterol se puede resumir en las siguientes cinco etapas (fig. 10) (16):

- 1.- Síntesis de mevalonato (6 carbonos) a partir de coenzima A (CoA) (2 carbonos).
- 2.- Pérdida de CO₂ del mevalonato para formar unidades de isoprenoide (5 Carbonos).
- 3.- Condensación de seis unidades de isoprenoide para formar escualeno (30 carbonos).
- 4.- Conversión de escualeno a lanosterol (30 carbonos).
- 5.- Transformación de lanosterol a colesterol (27 Carbonos).

El adulto normalmente sintetiza 1 a 1.5 gr. de colesterol por día e ingiere 0.3 gr. diario en la dieta. Principalmente se sintetiza en el hígado, también en otros tejidos como la corteza suprarrenal, la piel, el intestino delgado, los testículos y la aorta (16).

El paso limitante de la velocidad de la biosíntesis del colesterol es la conversión de beta-hidroxibeta-metilglutaril CoA (HMG-CoA) a ácido mevalónico, catalizado por la HMG-CoA reductasa. Así mismo, el ayuno inhibe la biosíntesis de este compuesto desviando HMG-CoA, a la producción de cuerpos cetónicos. Posiblemente, la hormona tiroidea aumenta la destrucción de colesterol, ya que el hipotiroidismo va acompañado de colesterolemia, además la administración de hormona tiroidea reduce la concentración de colesterol en el suero (Bhagavan 1978) (16).

El colesterol se elimina por dos vías que cuantitativamente se pueden llamar principal y secundaria; la primera lleva a la formación de sales biliares que se excretan en las heces y la segunda conduce a la síntesis de hormonas esteroideas, cuyos productos se eliminan en la orina (16).

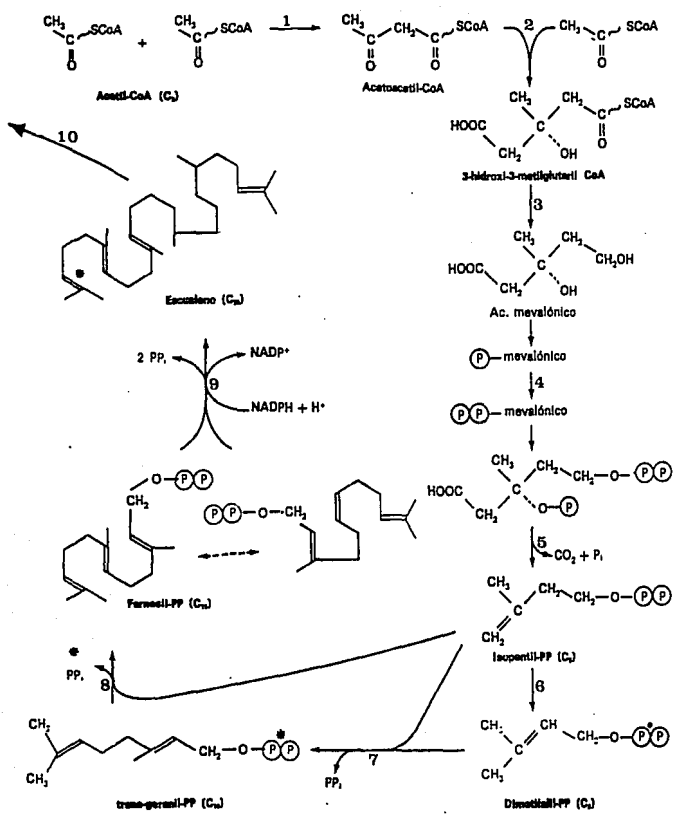
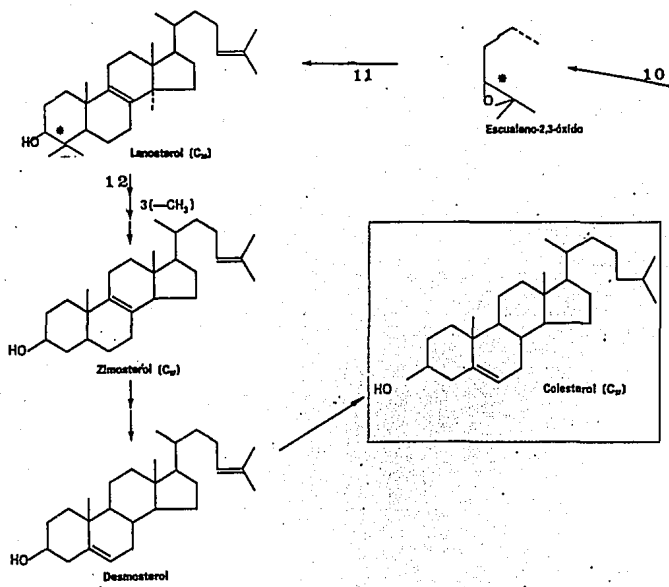
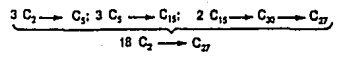


FIG. 10 Biosíntesis del colesterol (17).



Balance global:



- | | |
|---------------------------------------|---|
| ① tiolasa | ⑧ farnesil-pirofosfato sintasa |
| ② hidroximetilglutaril-CoA-sintasa | ⑨ escualeno sintasa |
| ③ hidroximetilglutaril-CoA-reductasa | ⑩ escualeno monoxigenasa |
| ④ mevalonatoquinasa | ⑪ escualeno-2,3-óxido lanosterolciclasa |
| ⑤ pirofosfo-mevalonato descarboxilasa | ⑫ desmetilasas |
| ⑥ isopentenil-pirofosfato isomerasa | |
| ⑦ geranyl-pirofosfato sintasa | |

FIG. 10 Biosíntesis del colesterol (cont.) (17).

La síntesis de la progesterona se inicia con el colesterol, el cual, sufre varias transformaciones metabólicas que dan como resultado a la pregnanolona, la cual a su vez, por medio de diversas reacciones se transforma en progesterona. El metabolismo de esta hormona, también se realiza por una secuencia de reacciones; el producto principal de la degradación de este esteroide es el pregnandiol, el cual se elimina en forma de glucuronido y sulfato (16).

La progesterona se convierte parcialmente en sus derivados 5-alfa y 5-beta dihidroprogesterona por acción de la 5-alfa y 5-beta reductasas utilizando NADH como cofactor; estos metabolitos son mediadores de algunas acciones que se atribuyen a la hormona original en los tejidos blanco, donde se unen con las proteínas receptoras específicas para después entrar al núcleo e iniciar los cambios transcripcionales (16, 18).

Se ha demostrado que algunos derivados 5-beta de progesterona ejercen su acción con más potencia que la hormona original, por lo tanto, a este esteroide, en algunos casos, se le considera prohormona, esto es, la hormona inicial se metaboliza para dar compuestos más potentes que finalmente son los que realizan la actividad sobre el tejido blanco (18) (fig. 11). También la progesterona se ha considerado como un producto intermedio en la síntesis de los corticoides suprarrenales, testosterona y estradiol; por eso se la puede encontrar en la corteza suprarrenal, la placenta y el ovario, así como el cuerpo amarillo, el cual es la principal fuente de la hormona

en mujeres no embarazadas, mientras que durante el embarazo la placenta proporciona esta sustancia desde el segundo trimestre (16). La secuencia de reacciones se muestra en la figura 12.

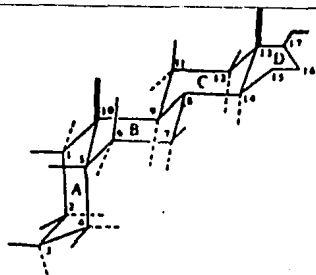
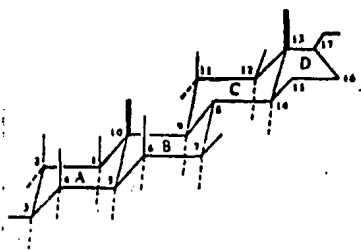
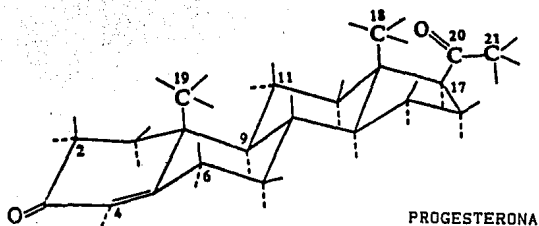


FIG. 11 La progesterona y sus metabolitos 5-reducidos (18).

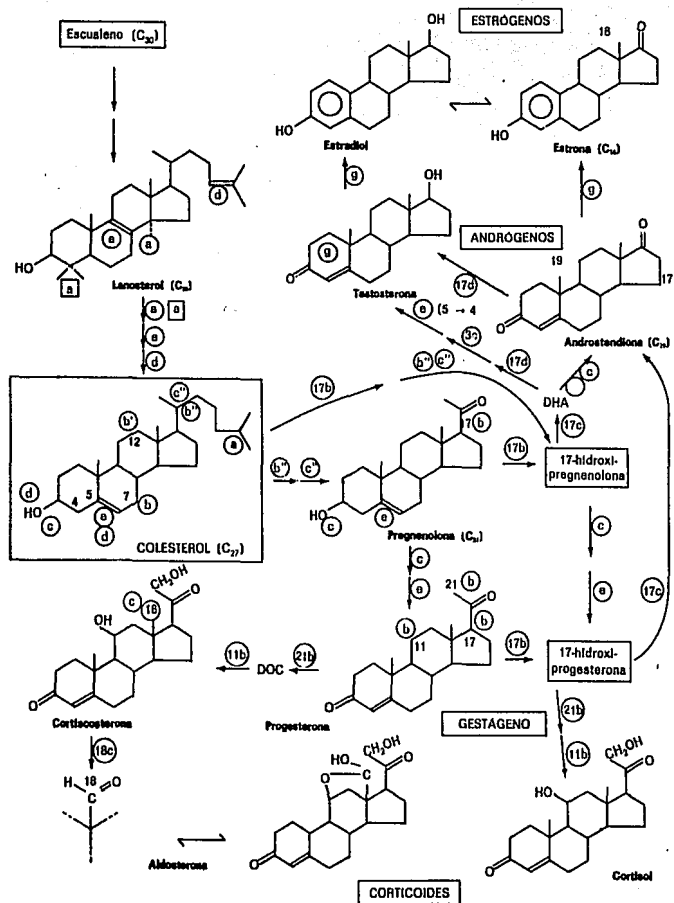


FIG. 12 Síntesis y metabolismo de la progesterona. Principales reacciones: a) desmetilación, b) hidroxilación, c) oxidación en general, d) reducción, e) isomerización, f) formación de doble enlace, g) aromatización, DOC = desoxicorticosterona, DHA = dihidroepiandrosterona (19).

B) FUNCIONES DE LA PROGESTERONA

1.- Prepara al útero para el implante del óvulo fecundado, este proceso es iniciado por los estrógenos, ya que estos inducen la síntesis de receptores a progesterona. La preparación del útero consiste en el desarrollo del endometrio y en disminuir las contracciones musculares de las Trompas de Falopio y del útero. (fig.13).

2.- Estimular el desarrollo de las glándulas mamarias al inhibir los efectos de los estrógenos.

3.- Estimular el metabolismo basal, con lo cual provoca un aumento de la temperatura corporal de aproximadamente 0.3 a 0.6 °C; durante la fase lútea del ciclo menstrual normal.

4.- Suspender la ovulación, por esta razón la progesterona y sus metabolitos se han empleado como anticonceptivos (16).

Se ha demostrado que la progesterona y sus metabolitos (progestina) tienen efecto anestésico y con base en esta acción se ha explicado algunos trastornos que se presentan durante el embarazo como somnolencia y constipación idiopática y los cambios conductuales observados durante la administración de anticonceptivos que contienen progestinas (18).

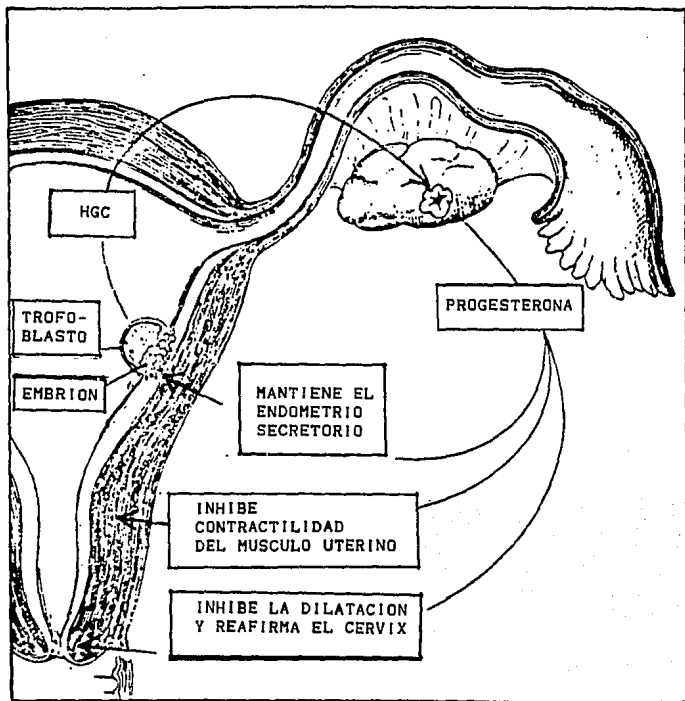


FIG. 13 Funciones de la progesterona: En el embarazo, el trofoblasto (la futura placenta) secreta hormona gonadotropina coriónica (HCG), la cual mantiene el cuerpo amarillo. La progesterona secretada por el cuerpo amarillo tiene varios efectos que mantienen el embarazo (20).

Quando la progesterona se metaboliza se pueden obtener unos 20 compuestos incluyendo pregnandionas, pregnanclonas y pregnandioles (fig. 14). Con base en los efectos anestésicos de las progestinas observados en el SNC (18), se exploró el efecto de la progesterona y sus metabolitos 5-alfa y 5-beta reducidos sobre la actividad espontánea contráctil del útero aislado de rata y se observó que tanto progesterona como el metabolito 5-beta reducido inhiben la actividad espontánea contráctil de útero aislado de rata (21), también se observó que el metabolito 5-alfa reducido fue inefectivo para reducir la actividad uterina; concluyeron que la progesterona y el metabolito 5-beta reducido actúan a nivel de la membrana plasmática y modifican la permeabilidad de ésta a los iones (21).

C) MECANISMOS DE ACCION: En la actualidad se acepta que las hormonas esteroides pueden actuar de dos formas; un mecanismo indirecto o genómico y un directo o no genómico (22).

1) Genómicos: Los mecanismos de acción indirecta de las hormonas esteroides corresponden al clásico mecanismo de acción que involucran la participación de un receptor citosólico-nuclear y síntesis de proteínas.

Características de la respuesta genómica:

- a) Periodos de latencia largos (horas-días).
- b) La síntesis de macromoléculas puede continuar por varios días después de retirar al esteroide.

c) Estas respuestas son bloqueadas por inhibidores de síntesis de proteínas (como actinomicina D), y por antihormonas (antiestrógenos y antiprogestinas).

d) Su efecto se lleva a cabo a través de un receptor citosólico nuclear.

2) No Genómicos: Varios esteroides naturales (progesterona y progestina) tienen propiedades anestésicas (Selye, 1941) (23, citado por Duval 22), esta acción es generalmente débil, ya que para observar efectos anestésicos, se requieren altas dosis; sin embargo, modificaciones sistemáticas de la estructura química de estos esteroides ha llevado al desarrollo de hidroxidiona (5 beta-pregnan-21-ol-3, 20-diona) y alfaxolona (5 alfa-pregnan-3 alfa-ol-11, 20-diona), las cuales se han empleado en la anestesia (Gyermek 1967) (24).

Se ha propuesto que la acción anestésica de los esteroides es consecuencia de una acción directa sobre la excitabilidad de la membrana celular.

Características de la respuesta no genómica:

a) Periodos de latencia cortos (segundos-minutos).

b) Estas acciones se llevan a cabo en forma directa y no interviene ningún tipo de receptor.

c) No son bloqueadas por inhibidores de síntesis de proteína.

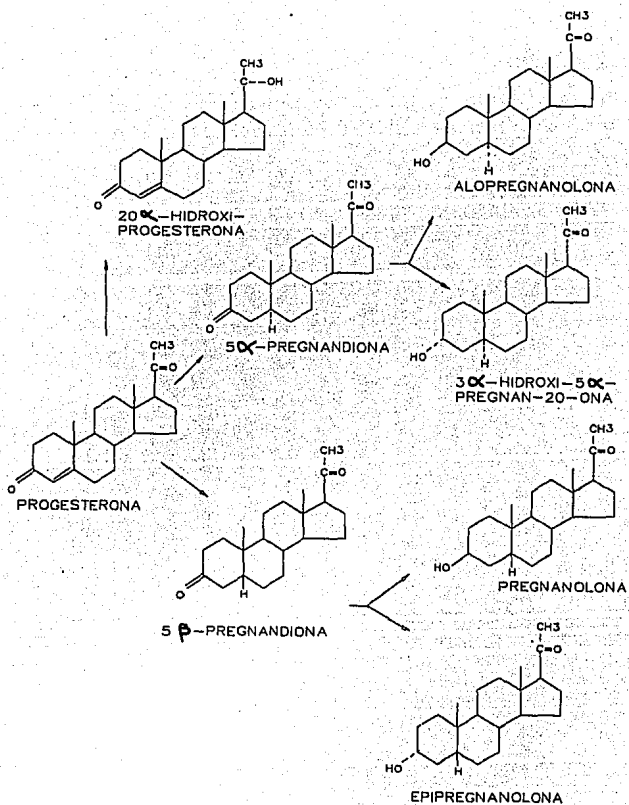


FIG. 14 La progesterona y sus metabolitos inmediatos (18).

IV.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA: El desarrollo de medicamentos que se usan para el tratamiento del asma bronquial ha sido una preocupación constante de los farmacólogos de las vías respiratorias: En la introducción de este trabajo se ha hecho un análisis de la enfermedad del asma, también, se hizo mención de las evidencias que existen en la literatura donde se menciona la probable participación de las hormonas sexuales en pacientes asmáticos femeninos, durante estados endócrinos bien definidos como lo son el embarazo y las etapas premenstruales. Con base en lo anterior, es importante realizar un estudio que explore el efecto "in vitro" de la progesterona y sus metabolitos 5-alfa y 5-beta reducidos sobre la contracción del músculo liso de la tráquea aislada de cobayos normales y sensibilizados. Además, existe un gran número de evidencias que muestran que la progesterona y sus metabolitos 5-reducidos son capaces de inhibir las contracciones del músculo liso de otros tejidos, inducidas por diversos estímulos; por lo tanto, resulta necesario investigar si los esteroides ensayados son capaces de inhibir la excitación del músculo liso de las vías respiratorias con el modelo experimental empleado.

V.- HIPOTESIS: La progesterona y sus metabolitos 5-reducidos son capaces de inhibir la respuesta contráctil del músculo liso de los anillos traqueales aislados de cobayo normales y sensibilizados, inducida por una solución despolarizante de potasio alto (60 mM) y por histamina (0.1 mM).

VI.- OBJETIVOS:

A) Evaluar la actividad de la progesterona y de sus metabolitos 5- reducidos sobre la contracción de músculo liso de la tráquea de cobayos hembras normales y sensibilizados inducida por solución despolarizante de "potasio alto" (60 mM).

B) Evaluar la actividad de la progesterona y de sus metabolitos 5-reducidos sobre la contractura del músculo liso de tráquea de cobayos hembras normales y sensibilizados inducida por histamina (0.1 mM).

VII.- MATERIAL Y METODOS

A) MATERIAL BIOLÓGICO: Se utilizaron cobayos adultos hembras de la cepa Hartley, 20 sensibilizados a ovoalbúmina y 30 no sensibilizados con un peso entre 400 y 500 g. El cobayo es un modelo capaz de reproducir algunas de las características más interesantes que se presentan en el asma humana, por lo tanto, se le considera como un buen modelo experimental (25).

1.- El modelo experimental de asma: El proceso para sensibilizar el cobayo comprendió el método descrito por Vargas y col. (26), el cual consistió en la técnica siguiente: el primer día los animales se nebulizaron con 300 mg de ovoalbúmina a manera de antígeno y 4 ml de vacuna inactivada de Bordetella pertussis como adyuvante, ambas estaban disueltas en 50 ml de solución salina fisiológica. Una semana después se sometieron a nebulizaciones diarias con 75 mg de ovoalbúmina en

25 ml de solución salina isotónica durante dos semanas más. Las nebulizaciones se realizaron teniendo a los animales en cajas de acrílico de 70 x 30 x 54 cm y los aerosoles que recibieron fueron generados por un nebulizador Bennett US-1 con flujo de 2 ml/min y con un tamaño de partículas de 7 a 9 micras de diámetro. Los cobayos así tratados se estudiaron la semana siguiente a la terminación del tratamiento. La sensibilización se realizó en el laboratorio de asma experimental en el Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias (INER).

2.- Tejidos aislados: Los animales se sacrificaron con una sobredosis de pentobarbital de sodio por vía intraperitoneal. Se obtuvieron de cada animal cuatro cadenas traqueales, se seccionó la tráquea desde su inicio justo por debajo de la laringe y también antes de llegar a los bronquios (fig. 15). El tejido se colocó en una caja de Petri con solución Ringer Krebs bicarbonato a temperatura ambiente (vide infra) con pH de 7.4 y con burbujeo constante de una mezcla gaseosa de 5% CO₂ y 95% O₂.

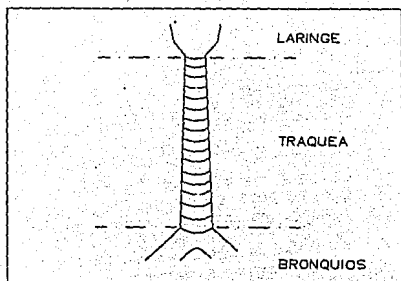


FIG. 15 Tráquea: Las líneas discontinuas señalan el límite de la porción que se estudia.

Con el objeto de evaluar la respuesta de las vías aéreas centrales se utilizaron cadenas de anillos traqueales, las cuales se prepararon según el método de Foster (27) que consistió en extraer la tráquea, limpiar el órgano separando el tejido conjuntivo adyacente, posteriormente se le practicó un corte longitudinal sobre la porción cartilaginosa (fig. 16). Una vez realizado este corte, se practicó otro transversal por la mitad y así se obtuvieron dos fragmentos del mismo tamaño, el cual, se cortó cada uno por la mitad en forma transversal y se mantuvieron separados con el objeto de no confundir los segmentos obtenidos. Se formaron las cadenas traqueales tomando un fragmento de la porción cervical con otro de la torácica procurando que los segmentos utilizados para la misma cadena provinieran de las zonas más alejadas entre sí para evitar

diferencias en la respuesta por variaciones regionales (28) y se unieron, por la región cartilaginosa, con una aguja semicircular utilizando hilo de seda 0000, teniendo cuidado de no tocar el músculo, ya que es muy delicado y se daña fácilmente (fig. 17).

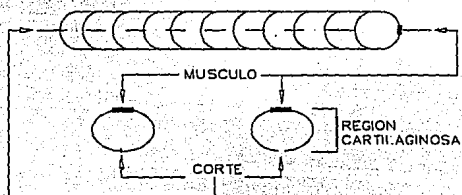


FIG. 16 Corte transversal de la tráquea y del anillo por la región cartilaginosa.

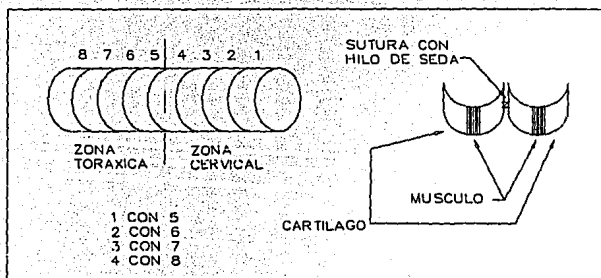


FIG. 17 Elección de los anillos traqueales y unión de los mismos.

B) REACTIVOS: El diclorhidrato de histamina y la progesterona y sus metabolitos fueron obtenidos de Sigma Chem. Co. y la ovoalbúmina de J. T. Baker.

Las hormonas se disolvieron en etanol utilizando 20 ul del disolvente para cada dosis de esteroide en el baño de 10 ml, la concentración final de etanol fue de 0.2%, la cual no modificó la reactividad del tejido. Así mismo se emplearon dos soluciones. Una solución Ringer Krebs bicarbonato, se utilizó en la caja de petri mientras se preparaban las cadenas traqueales (vide supra), así como en la cámara de tejidos aislados y para el lavado de los mismos. La otra solución empleada fue solución Ringer Krebs bicarbonato de "potasio alto" (60 mM) que se empleó para despolarizar el tejido por la alta concentración de los iones potasio. Todos los reactivos y las soluciones se prepararon justo antes de su uso, se mantuvieron en condiciones adecuadas para su almacenamiento. La vacuna de Bordetella pertussis, cepa 134, 1.2×10^9 UFC /ml, fue donada generosamente por la Dirección General de Productos Biológicos y Reactivos de la Secretaría de Salubridad.

C) PREPARACION DE SOLUCIONES: Para este trabajo se emplearon dos soluciones, la solución Ringer Krebs bicarbonatada y la solución despolarizante Ringer Krebs con potasio 60 mM (29).

1.- Solución Ringer Krebs bicarbonatada: En un matrâz aforado de un litro se preparó la solución con la siguiente composición (mM): NaCl 120, KCl 4.6, KH₂PO₄ 1.2, MgSO₄ 1.2, NaHCO₃ 20,

CaCl₂ 2.5 y glucosa 11.1. El cloruro de calcio se agregó al final y para evitar que se precipitara como Ca₃(PO₄)₂ y Ca(HCO₃)₂.

2.- Preparación de la solución despolarizante: Esta solución tiene la misma composición que la solución Ringer-Krebs bicarbonato; únicamente se sustituye isotónicamente al NaCl por KCl 60 mM.

D) SISTEMA DE REGISTRO: Cada cadena (4 a 6 segmentos) de tejido traqueal se sujetó a la base del baño con hilo de seda 0000 y por la parte superior, también con hilo de seda 0000, a un transductor de tensión GRASS MODELO FT03, conectado a un polígrafo GRASS MODELO 7B, donde se registró la actividad contráctil isométrica de los tejidos. Cada cadena traqueal se colocó en una cámara de tejidos aislados que contenía 10 ml de la solución Ringer Krebs bicarbonatada mantenida a 37 grados Celsius \pm 0.5 grados Celsius por una corriente de agua precalentada y con burbujeo constante con una mezcla de 5% CO₂ y 95% O₂ para mantener el pH del baño a 7.4. Los tejidos se sometieron a una tensión de 1 g. y se dejaron estabilizar durante cuatro horas cambiando la solución del baño cada 10 minutos para que los tejidos se equilibraran con el medio de incubación.

E) PROTOCOLO EXPERIMENTAL: Se utilizaron dos métodos para contraer el músculo liso de la tráquea: Solución despolarizante de potasio 60 mM y estímulo con 0.1 mM de histamina. Ambos métodos produjeron contracción sostenida del músculo liso de la tráquea, la cual pudo mantenerse por más de 0.5 H. sin cambios significativos. El parámetro que se utilizó fue la amplitud de la respuesta. Se consideró como 100% la contracción máxima inducida por potasio e histamina.

Para probar la viabilidad del músculo liso de las cadenas traqueales, los tejidos se estimularon con la solución despolarizante de KCl; sólo se utilizaron aquellos tejidos que dieron dos respuestas semejantes (1.5 g.) al estímulo del potasio. La concentración final de los esteroides fue de 100 uM y la del disolvente, en el baño, fue de 0.2%. Se midió el cambio de amplitud con respecto al tiempo después de adicionar los esteroides (fig. 18).

La acción de la progesterona y sus metabolitos se expresó como el porcentaje de inhibición, tomando como 100% la amplitud de la contracción inducida por 60 mM de potasio o 0.01 mM histamina. Los resultados representan el valor promedio \pm la desviación estándar de al menos 16 anillos traqueales provenientes de 4 animales. Las diferencias entre las medias de las respuestas observadas a los 60 minutos, fue evaluado mediante una prueba t de student para datos no pareados, se consideraron significativas para valores de $p < 0.05$.

VIII.- RESULTADOS:

A) La viabilidad de los tejidos utilizados en este estudio fue probada utilizando una solución despolarizante de potasio alto (60 mM). Esta solución produjo una contracción sostenida, producto de la despolarización de las células del músculo liso traqueal y de un aumento del calcio iónico intracelular; después de obtener dos contracciones de amplitud semejante estimulando con potasio alto se consideró viable al tejido. Las cadenas traqueales que no cumplieron con este requisito se descartaron (fig. 18).

Se sabe que los esteroides son hidrofóbicos por lo tanto fue necesario disolverlos en un disolvente que no afectara al tejido. Para disolverlos se probaron dimetilsulfóxido, propilenglicol y etanol absoluto, encontrándose que el más apropiado fue el etanol, cuya concentración final en el baño fue de 0.2%, en este disolvente se obtuvo una solución homogénea del esteroide y resultó prácticamente inócua para el tejido, mientras que los otros mostraron un efecto de inhibición de la contracción; además, en el caso del propilenglicol la disolución no fue total y se observaron micelas y no una solución homogénea.

La figura 18 muestra un registro típico de la contracción del músculo liso traqueal inducida por "potasio alto" 60 mM; donde LB representa la línea basal; K⁺ es el momento de agregar la solución de potasio 60 mM; L es el lavado con la solución Ringer Krebs bicarbonatada. Se puede observar la

reproducibilidad de la respuesta al estímulo. La figura 19 compara los registros obtenidos por la actividad de los esteroides y el disolvente sobre la contracción del músculo liso traqueal inducida por solución despolarizante.

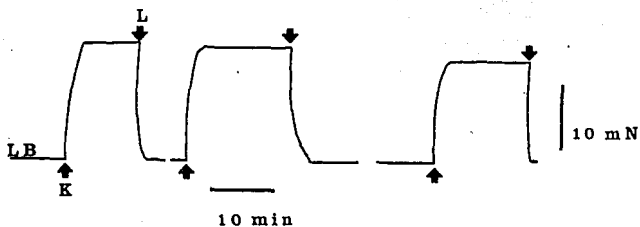


Fig. 18 Registros de contracciones inducidas por "potasio alto" 60 mM en tráquea aislada de cobayo.

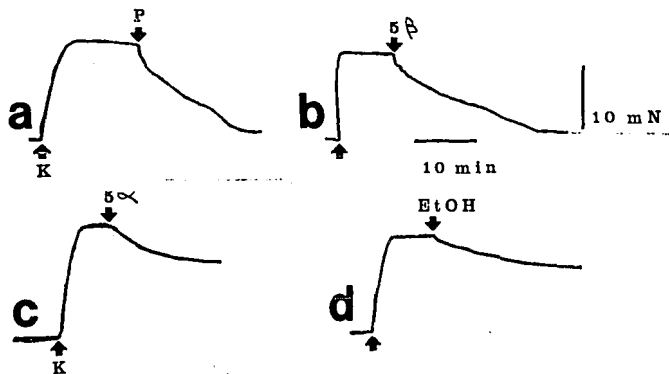


Fig. 19 Registros del efecto de: a) progesterona; b) metabolito 5-beta; c) metabolito 5-alfa; d) etanol 0.2% como disolvente, sobre la contracción traqueal inducida por "potasio alto" 60 mM

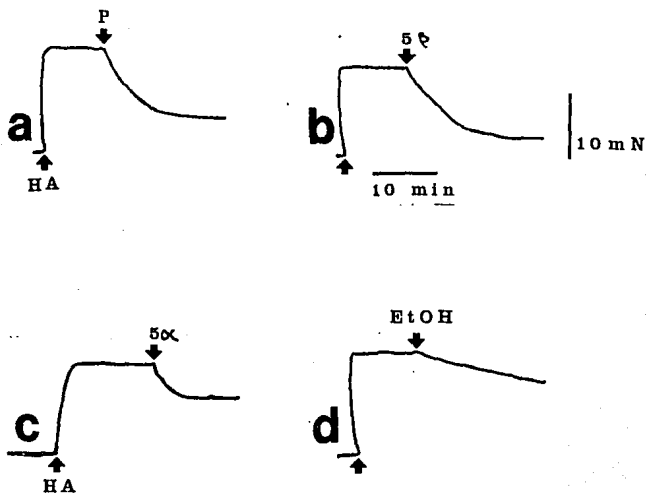


Fig. 20 Registros del efecto de: a) progesterona; b) metabolito 5-beta; c) metabolito 5-alfa; d) etanol 0.2% como disolvente, sobre la contracción traqueal inducida por histamina 0.1mM.

B) En la figura 21 se compara la acción de la progesterona y sus metabolitos 5-reducidos sobre la contractura del músculo liso traqueal aislado de cobayos no sensibilizados inducida por solución despolarizante de "potasio alto" (60 mM); se muestra que el efecto inhibitor de los esteroides es dependiente del tiempo, y la respuesta de inhibición máxima se observa entre 50 y 60 minutos. Se observó que la progesterona y el metabolito 5-beta inhibieron en forma significativa (mayor a 75%) la

contracción inducida por "potasio alto", cuando se compararon con las tráqueas tratadas únicamente con el vehículo ($p < 0.05$). El metabolito 5-alfa reducido no modificó significativamente la contracción tónica inducida por "potasio alto" cuando se comparó con las tráqueas tratadas con el vehículo ($p > 0.05$).

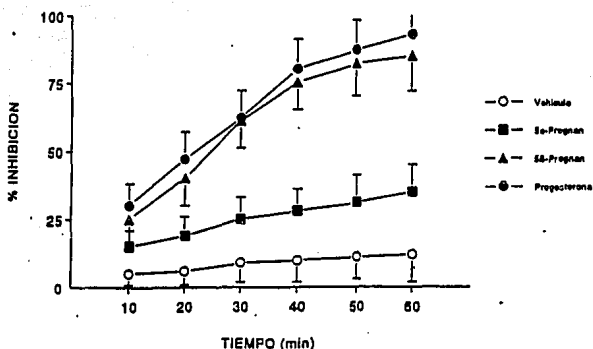


FIG. 21 Efecto de los esteroides (100. μ M) sobre la contracción inducida por KCl 60 mM en anillos traqueales aislados de cobayos no sensibilizados.

La figura 22 muestra el efecto inhibitor de las hormonas sobre la contractura del músculo liso de anillos traqueales aislados de cobayos hembras sensibilizados inducida por la solución despolarizante (KCl 60 mM). Se observa que el efecto, tanto de la progesterona como de su metabolito 5 beta, es mayor al 70% comparado con las tráqueas tratadas con el vehículo. Se aprecia una diferencia significativa ($p < 0.05$). También en estas condiciones se observa que el efecto inhibitorio depende del tiempo, obteniéndose el punto máximo entre 50 y 60 minutos. El efecto del compuesto 5 alfa, no es mayor al 25%.

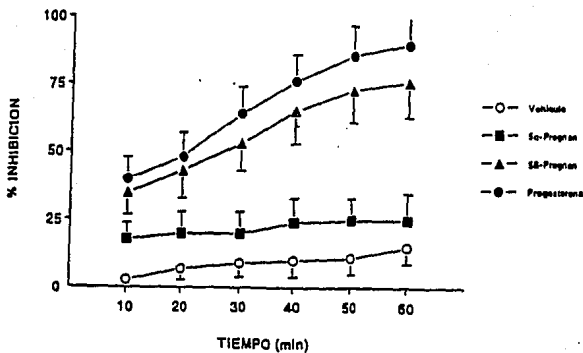


FIG. 22 Efecto de los esteroides (100 μ M) sobre la contracción inducida por KCl 60 mM en anillos traqueales aislados de cobayos sensibilizados.

La figura 23 muestra la actividad de los esteroides ensayados sobre la contracción del músculo liso de anillos traqueales aislados de cobayos hembras no sensibilizados inducida por la histamina a una concentración final, en el baño de incubación de los tejidos, de 0.1 mM, donde se aprecia que el efecto inhibitorio máximo, se obtiene entre 40 y 50 minutos. Se observa que la progesterona y su metabolito 5 beta tienen un marcado efecto inhibitorio (mayor al 70%), sin embargo el compuesto 5 alfa no modifica en forma significativa ($p < 0.05$) la contracción inducida por histamina en el músculo liso de animales no sensibilizados. Como en los casos anteriores, el efecto del disolvente no es significativo.

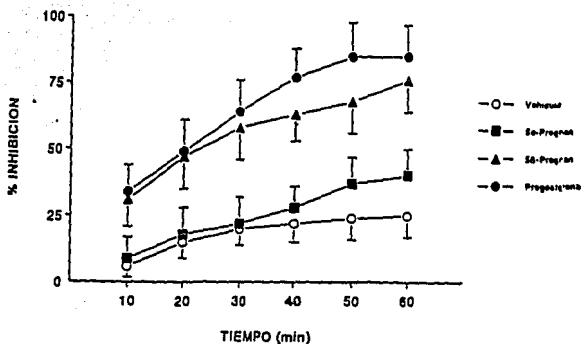


FIG. 23 Efecto de los esteroides (100 μ M) sobre la contracción inducida por histamina 0.1 mM en anillos traqueales aislados de cobayos no sensibilizados.

La figura 24 presenta el efecto de las drogas sobre la contracción del músculo liso de los anillos traqueales de cobayos hembras sensibilizados inducida por histamina (0.1 mM). Se observa nuevamente que el efecto inhibitor depende del tiempo donde la máxima inhibición se alcanza entre 50 y 60 minutos, se aprecia que la progesterona y su metabolito 5 beta presentan un efecto semejante y mayor al 70%, mientras que el metabolito 5 alfa muestra una actividad inhibitora no significativa. Se observó que la inhibición de la contractura del músculo liso inducida por la histamina que mostraron la progesterona y su derivado 5-beta, fue significativa ($p < 0.05$). El compuesto 5-alfa no modificó de manera significativa la contracción tónica sostenida inducida por la histamina cuando se comparó con los tejidos tratados con el vehículo ($p > 0.05$).

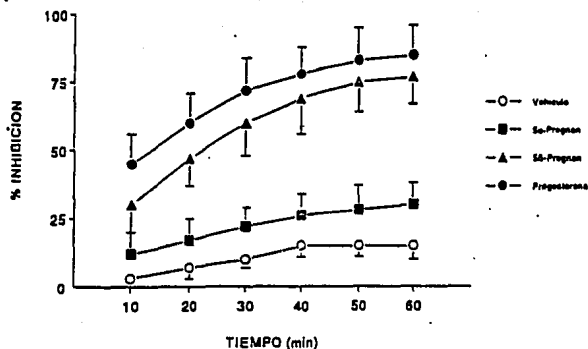


FIG. 24 Efecto de los esteroides (100 μ M) sobre la contracción inducida por histamina 0.1 mM en anillos traqueales aislados de cobayos sensibilizados.

IX.- ANALISIS DE RESULTADOS: En este trabajo se muestra que la progesterona y su metabolito 5 beta reducido, a la dosis única de 100 μ M, tienen efecto inhibitor sobre la contracción inducida por una solución despolarizante (KCl 60 mM) e histamina (0.1 mM) de los anillos traqueales aislados de cobayos hembras normales y sensibilizados.

El efecto relajante o inhibitor de los esteroides estudiados es semejante al informado por Kubli-Garfias y col (1980) en el músculo liso del útero de la rata.

Se muestra que el metabolito 5 beta reducido es mucho más efectivo que el 5 alfa reducido; esta observación es acorde con lo estudiado, por varios autores, en otro tipo de estructuras excitables (18, 30). Esta diferencia puede explicarse postulando que la conformación de los anillos A/B de los metabolitos de la progesterona es importante para la actividad biológica. Se ha visto que la conformación trans de los anillos A/B le confieren a la molécula una débil actividad inhibitoria en el tejido nervioso. Sin embargo, esta configuración parece ser importante para la manifestación de la inhibición nerviosa.

Tal y como se ha propuesto en otros sistemas biológicos, el efecto inhibitor inducido por los esteroides estudiados, parece que se lleva al cabo a nivel de la membrana plasmática de las células del músculo liso de la tráquea del cobayo (18).

Lo anterior puede fundamentarse en los siguientes hechos:

- A) la latencia en que se manifiesta el efecto inhibitorio es corta (10 minutos).
- B) después de retirar los esteroides del medio de incubación de los tejidos y lavar varias veces con solución Ringer-Krebs, estos recuperan su reactividad farmacomecánica inicial, al ser estimulados por "potasio alto" (60 mM) o por histamina (0.1 mM).

Los puntos anteriores indican que es probable que los esteroides estén actuando de manera directa sobre la membrana plasmática de las células del músculo liso traqueal, ya que la latencia fue corta y el hecho de que la reactividad del tejido se recuperara después de retirar los esteroides, indica que la acción se lleva al cabo a nivel de la membrana plasmática. Estas observaciones apuntan hacia un efecto directo de estas sustancias que se ha descrito anteriormente como acción no genómica de las hormonas esteroides.

Respecto al sitio de acción de los efectos no genómicos de los esteroides, se ha propuesto que las estructuras de reconocimiento de estos compuestos en la membrana plasmática, pueden estar formadas por conglomerados de fosfolípidos. Esta hipótesis se basa en la semejanza de efectos que tienen los esteroides con los anestésicos (18). De esta manera Lee (1976) (31) propuso un modelo para explicar la acción de los anestésicos, dicho modelo propone la interacción de estas drogas con sitios de conglomerados de fosfolípidos; también

postula que algunas proteínas membranales se encuentran permanentemente embebidas en una capa de lípidos, la cual permanece en estado de gel. Esta rigidez del medio ambiente mantiene la estructura terciaria de la proteína en una conformación particular. De acuerdo con este modelo se ha demostrado que varias enzimas membranales o receptores, cuando se purifican, son incapaces de funcionar adecuadamente a menos que se les proporcione un medio ambiente de fosfolípidos apropiados (32, 33, 34).

En este modelo, la adición de un anestésico o de un esteroide llevará a una transición de esta capa de lípidos hacia un estado líquido y por lo tanto a la alteración de la función de la proteína.

A este respecto conviene recalcar que el ion calcio tiene una función importante en el control de la transición de los fosfolípidos, en la acción de los anestésicos y en la interacción de los esteroides con la membrana. Se ha demostrado que los esteroides modulan la entrada de iones calcio en ovocitos de *Xenopus*, en células uterinas y en timocitos de ratón (35, 36, 37, 38).

No obstante Duffy y col (1979) (39) demostraron que la acción del estradiol en la actividad eléctrica de células G3H (línea de células tumorales que liberan prolactina como respuesta a la estimulación con estrógeno) puede ser bloqueada por D600 un conocido bloqueador del transporte de calcio. Morgan y col (1976) (40) mostraron en timocitos de ratón que la

fluorescencia del colorante 3,3'-ioduro de dipentiloxocarboxianina, el cual refleja el estado de polarización de la membrana se disminuye en presencia de calcio, pero puede ser reestablecida por el estradiol (22).

X.- CONCLUSIONES: A pesar de la naturaleza de fosfolípidos de estos sitios putativos de membrana para esteroides quedan por probarse, la posibilidad de una precisa interacción de esteroides con agregados de fosfolípidos, como también la importancia del ion calcio en la acción esteroide-membrana; pueden representar promisorias líneas de investigación futura (22).

A) El sistema de registro utilizado demostró ser adecuado para los esteroides probados como inhibidores de la contracción isotónica sostenida inducida por una solución despolarizante de KCl 60 mM y por histamina 10^{-4} M. Sin embargo cabe mencionar la importancia del oxígeno, ya que se trata de tejido proveniente del aparato respiratorio, por lo tanto es susceptible a sufrir daño por la falta de oxígeno; disminuye la viabilidad del tejido si no se le proporciona este gas adecuadamente o por tiempo prolongado. La experiencia mostró que, una vez muerto el animal, el tejido debe extraerse y colocarse en la solución Ringer-Krebs oxigenada, en menos de cinco minutos.

B) Por su tamaño, la tráquea es muy delicada y manipularla sin el debido cuidado puede causar daño en el músculo liso; por otra parte, la zona cartilaginosa es muy flexible, lo cual

dificulta el manejo y puede ocasionar que el tejido muscular no responda a los estímulos, la habilidad para realizar trabajos como el mencionado, requiere paciencia y práctica.

C) No hay diferencia significativa entre la actividad de la progesterona y su metabolito 5-beta reducido sobre la contracción del músculo liso de tráquea de cobayos adultos sensibilizados a ovoalbúmina y los no sensibilizados, inducida tanto por histamina (10^{-4} M) como por solución despoarizante de "potasio alto".

D) El metabolito 5-alfa reducido no presentó actividad relajante significativa sobre la contracción del músculo liso de tráquea de cobayos adultos sensibilizados a ovoalbúmina y no sensibilizados, inducida por histamina (10^{-4} M) y también por solución despoarizante de "potasio alto".

Es menester recordar que en ciencia no hay cabida para la prisa.

LITERATURA CITADA

- 1) Pacheco C, Diaz G, eds. Asma. Cap 8. Cuadro clínico, diagnóstico y complicaciones. México: Fac. de Medicina UNAM 1991
- 2) Pacheco C, Diaz G, eds.(1991) Asma. Cap 1. Definición México: Fac.de Medicina UNAM 1991
- 3) Vargas MH, Montaño LM, Selma M. Asma, Cap 5. Clasificación y patogénesis (Pacheco, C.; Diaz, G. eds.). Facultad de Medicina: UNAM (1991).
- 4) Rees L. An aetiological study of premenstrual asthma. *J. Psychosom Res.* 7: 191-193 (1963).
- 5) Eliasson O, Scherzer HH, De Graff AC. Morbidity in asthma in relation to the premenstrual cycle. *J. Allergy Clin. Immunol.* 77: 87-94 (1986).
- 6) Beynon HLC, Garbett ND, Barnes PJ. Severe premenstrual exacerbations of asthma: effect of intramuscular progesterone. *Lancet* ii: 370-371 (1988).
- 7) Fisher RS, Roberts GS, Grabowski CJ, Cohen S. Altered lower esophageal sphincter pressure during early pregnancy. *Gastroenterology.* 74: 1233-7 (1978).
- 8) Juniper E, Kline P, Roberts S, Hargreave E, Daniel E. Airway responsiveness to methacholyne during the natural menstrual cycle and the effect of oral contraceptives. *Am. Rev. Respir. Dis.* 135: 1039-1042 (1987).
- 9) Foster P, Goldie R, Patterson W. Effect of steroids on beta-adrenoceptor-mediated relaxation of pig bronchus. *Br. J. Pharmac.* 78: 441-45 (1983).
- 10) Fasciolo JC. Fisiología humana. Cap 20. Respiración (Houssay BA. ed.) Buenos Aires. Argentina. El Ateneo (1980).
- 11) Cooper JR, Bloom FE, Roth RH. The biochemical basis of neuropharmacology. USA: Oxford University Press. 1991
- 12) García Sainz JA. Hormonas: Mensajeros químicos y comunicación celular. México: Conacyt, La Ciencia Desde México # 28; 1987
- 13) Pasantes H, Sánchez J, Tapia R. Neurobiología Celular. México: Ed. Fondo de Cultura Económica, Secretaría de Educación Pública. 1991

- 14) Hill SJ. Distribution, properties, and functional characteristics of three classes of histamine receptor. Neurotransmissions. RBI. Vol. VIII. No. 1. 1-5 (1992).
- 15) Diaz C, Aguilar D, Aurelio M. Asma. Cap 10. Tratamiento (Pacheco C, Diaz G). Fac de Medicina UNAM (1991).
- 16) Bhagavan NV. Bioquímica. México: Ed Interamericana (1978).
- 17) Macarulla JM, Abad C. Esquemas de Bioquímica. Barcelona: Ed. Reverte 1980. p 100-101
- 18) Kubli-Garfias C. Physiological rol of 5 α - and 5 β -progesterone metabolites on the CNS. Trends Pharmacol Sci. Vol 5. No 10. 439-442 (1984).
- 19) Macarulla JM, Abad C. Esquemas de Bioquímica, Barcelona: Ed. Reverte 1980. p 103
- 20) Ulmann A, Teutsch G, Philibert D. RU 486. Scientific American Special Issue Medicine. 38-44 (1993).
- 21) Kubli-Garfias C, Medrano-Conde L, Beyer C, Bandani A. In vitro inhibition on rat uterine contractibility induced by 5-alfa and beta progestins. Steroids. 34: 609-617 (1979).
- 22) Duval D, Durant S, Homo-Delarche F. Non-genomic effects of steroids, interactions of steroids molecules with membrane structures and functions. Biochem Biophys Acta. 737: 409-442 (1983).
- 23) Selye H. Anesthetic effects of steroids hormones. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 46 116-121 (1941).
- 24) Gyermek L. Pregnanolone: A highly potent, naturally occurring hypnotic-anesthetic agent. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 125: 1058-1062 (1967).
- 25) Campos MG, Church MK. How useful are guinea-pigs models of asthma?. Clin. Exp. Allergy. 22: 665-666 (1992).
- 26) Vargas MH, Montaña LM, Páramo I, Selman LM. An inhalatory method using ovalbumin and Bordetella pertusis for inducing allergic bronchoconstriction in guinea pigs. Med. Sci. Res. 15. 179-180 (1987).
- 27) Foster RW. Paired tracheal chain preparation. J.Pharm. & Pharmacol. 12: 189-191 (1960).

- 28) Montaño LM, Hong E, Selman M. Difference in beta blockade on the inhibitory response of cervical thoracic tracheae to electrical stimulation. *Med. Sci. Res.* 16:193-4 (1988).
- 29) Murias CG, Murphy TP, Vidyasagar C. O3-induced mucosa-linked airway muscle hyperresponsiveness in the guinea pig. *J. Appl. Physiol.* 69 (1):7-13, (1990).
- 30) Kubli-Garfias C, Cervantes M, Beyer C. Changes in multiunit activity and EEG induced by the administration of natural progestins to flaxedil immobilized cats. *Brain Res.* 114, 71-81 (1976).
- 31) Lee AG. Model for action of local anaesthetics. *Nature* 262, 545-548 (1976).
- 32) Roelofsen B. The (non) specificity in the lipid-requirement of calcium -and (sodium plus potassium)- Life Sci. 29, 2235-2247 (1981).
- 33) Fleming JW, Ross EM. Reconstitution of beta-adrenergic receptors into phospholipid vesicles: restoration of (125 I) iodohydroxybenzylpindolol binding to digitonin-solubilized receptors. *J. Cyclic Nucl. Res.* 6, 407-409 (1980).
- 34) Loh HH, Law PY. The role of membrane lipids in receptor mechanisms. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 20, 201-234 (1980).
- 35) Moreau M, Vilain JP, Guerrier P. Free calcium changes associated with hormone action in amphibian oocytes. *Dev. Biol.* 78, 201-214 (1980).
- 36) Batra S, Muntzing J. Eur. Uptake in vivo of ⁴⁵Ca in male accessory sex organs of the rat; effect of estramustine phosphate and diethylstilbestrol diphosphate. *J. Pharmacol* 76, 87-91 (1981).
- 37) Pietras RJ, Szego CM. Endometrial cell calcium and oestrogen action. *Nature* 253, 357-359 (1975).
- 38) Homo F, Simon J. Biochem. Biophys. Early effect of steroids on ⁴⁵ calcium uptake by mouse thymocytes. *Res. Commun.* 102, 458-465 (1981).
- 39) Duffy B, Vincent JD, Fleury H, Du Pasquier P, Gourdji D, Tixier-Vidal A. Dopamine inhibition of action potentials in a prolactin secretin cell line is modulated by oestrogen. *Nature* 282, 855-857 (1979).

40) Morgan JI, Bramhall JS, Britten AZ, Ferris AD. Calcium and oestrogen interactions upon the rat thymic lymphocytes plasma membrane. Biochem. Biophys. Res. Commun. 72, 663-672 (1976).