

Modelos experimentales de asma. Aportaciones y limitaciones

J. Cortijo Gimeno

Departamento de Farmacología. Facultad de Medicina y Odontología. Valencia. España.

El asma bronquial es una entidad clínica que afecta del 3 al 7% de la población adulta en países desarrollados y cuya morbilidad y mortalidad van en aumento, a pesar del uso cada vez mayor de los fármacos antiasmáticos. La mayoría de las definiciones hasta ahora propuestas para esta patología incluye los tres aspectos que se consideran más característicos de la enfermedad: obstrucción bronquial reversible, inflamación e hiperreactividad bronquial¹.

Aunque en la última década se han conocido importantes datos sobre su patogenia², sigue siendo necesario estudiar los mecanismos que dan origen a los cambios celulares más tempranos, la instauración de la inflamación crónica, la contribución de los factores genéticos y ambientales y las posibilidades de actuación farmacológica para controlar y prevenir la enfermedad. Por todo ello, es necesario disponer de modelos experimentales de asma que permitan realizar estudios invasivos *in vivo* y estudios *in vitro* con tejidos obtenidos de los animales de experimentación, lo cual posibilita abordar algunos de los aspectos planteados. Estos modelos presentan las siguientes ventajas: a) la posibilidad de manipular y controlar las influencias ambientales y genéticas; b) el poder relacionar la disfunción de las vías aéreas con la existencia de cambios morfológicos e inflamatorios, y c) la disponibilidad de manipulación del modelo experimental, estableciendo una relación directa entre causa y efecto. Frente a estas ventajas, no hay que olvidar que también existen importantes desventajas: existencia de diferencias importantes entre la especie humana y las animales usadas en los modelos experimentales de asma (morfología del aparato respiratorio, innervación del tracto respiratorio, respuestas inmunológicas a los procesos de sensibilización activa, respuestas inflamatorias).

Por otro lado, hay que indicar que, aunque se han encontrado modelos aceptables para la expresión de hiperrespuestas bronquiales, la inflamación eosinofílica de vías aéreas y la respuesta tardía en las manifestaciones alérgicas, no se ha tenido tanto éxito en reproducir la espontánea obstrucción del flujo aéreo que caracteriza

el asma. En suma, se dispone de modelos experimentales que mimetizan algunas manifestaciones del asma bronquial humana, aunque no existe un modelo que corresponda a esa entidad nosológica, en todas sus manifestaciones³.

Revisaremos de forma somera algunos de los modelos empleados:

1. Modelo experimental de broncoconstricción aguda: es el más clásico, se suele medir la resistencia al flujo aéreo, siendo el agente broncoconstrictor el propio alérgeno utilizado en el proceso de sensibilización activa del animal de experimentación⁴. Su principal desventaja es que la resistencia de las vías aéreas supratraqueales es de más del 50% de la resistencia total al flujo aéreo, cuando el animal respira espontáneamente por la nariz; por ello es necesario realizar una traqueotomía o la implantación de un tubo endotraqueal. En segundo lugar, la contribución de las propiedades elásticas del tejido pulmonar de los animales de experimentación a la resistencia pulmonar es mayor que la que se observa en la especie humana, con la correspondiente disminución de la representatividad de la resistencia de las vías aéreas⁵.

2. Modelo de reacción tardía: es una característica del asma muy interesante, pues los pacientes que la sufren desarrollan cuadros más sintomáticos y con mayor hiperrespuesta⁶, siendo una consecuencia del fenómeno inflamatorio de la vía aérea. Las características de esta fase (dependencia de la IgE y existencia de migración de granulocitos, sobre todo eosinófilos, al parénquima pulmonar y por tanto al lavado broncoalveolar) han sido mimetizadas en diferentes especies animales (oveja, perro Basenji-greyhound, conejo, rata Brown-Norway, cobayo), las cuales se han sometido a un proceso de sensibilización activa, seguida de una reexposición, a antígenos tales como *Alternaria tenuis*, *Ascaris suum* u ovoalbúmina⁷⁻¹⁰. Se han objetivado algunas diferencias con la especie humana, la ausencia de una clara diferenciación entre la alteración de la función pulmonar que se da en la fase aguda o temprana y la fase que aparece en la tardía, y sobre todo el predominio de la respuesta migratoria neutrofílica en especies animales como conejo y perro⁷.

3. Modelos de hiperreactividad (mayor respuesta) e hipersensibilidad (menor dosis efectiva) de las vías aéreas: es sin duda una de las características principales

Correspondencia: Prof. J. Cortijo.
Departamento de Farmacología. Facultad de Medicina y Odontología.
Avda. Blasco Ibáñez, 15. 46010 Valencia. España.
Correo electrónico: Julio.Cortijo@uv.es

Recibido: 17-9-2002; aceptado para su publicación: 8-10-2002

de estatus asmático. Se han descrito para algunos pacientes asmáticos diferencias de hasta 4 órdenes de magnitud en la sensibilidad a determinados agentes broncoconstrictores. Los modelos experimentales empleados (ratón, rata, cobayo y perro) reproducen estas manifestaciones del estatus asmático, aunque las respuestas dependen del animal de experimentación y del estímulo empleado. Así, se han objetivado las características de la relación dosis-respuesta (tiempo de latencia, reproducibilidad, potencia y eficacia) de diferentes sustancias en modelos de sensibilización activa, como: acetilcolina, sustancia P, neurocinina A, bombesina, histamina, serotonina, prostaglandina F_{2α}, LTC₄, LTE₄, PAF, adenosina, bradicidina, endotelina y estimulación vagal¹¹⁻¹³. En cuanto al animal de experimentación, han sido los modelos en primates (*Macaca fascicularis*) y en perros (*Basenji-greyhound*), sometidos a repetidas inhalaciones de un extracto de *Ascaris suum*, los que de una forma más contundente han demostrado el fenómeno de hipersensibilidad¹². El cobayo (*Cavia porcellus*) ha resultado ser el más apropiado para los modelos de sensibilización pasiva donde se quiere objetivar los fenómenos de hiperreactividad¹³.

Llegados a este punto, y a la vista de lo expuesto hasta ahora, tenemos que reconocer que el modelo experimental ideal de asma humano no existe, pero también parece claro que es necesario seguir haciendo experimentación en modelos animales que mimetizan las distintas manifestaciones del estatus asmático humano, para intentar aportar datos sobre las modificaciones celulares responsables de la aparición de esta patología. Surge, por tanto, una pregunta: ¿cuál es el modelo a elegir? La respuesta no es fácil: podríamos indicar que el uso de animales grandes (primates, perros) asegura unas respuestas más semejantes a la especie humana, con eosinofilia e hipersensibilidad, después de sensibilización crónica al antígeno. Sus inconvenientes son: dificultad de acceder a tecnologías más recientes (biología celular y molecular, genética), difícil estabulación y altos costes de investigación.

Especies de mediano tamaño como ratas Brown-Norway (especialmente indicadas para estudios de la reacción tardía) o los cobayos, preferibles en el estudio de la hiperreactividad de vías aéreas, han sido los animales de experimentación más usados en la última década. En la actualidad, son los modelos murinos los que parecen estar llamados a ser los más utilizados en la investigación de la fisiopatología y la farmacología de las vías aéreas. Las razones de esta preferencia son: *a*) permiten disponer de una mayor oferta de recursos técnicos (disponibilidad de anticuerpos frente a los distintos mediadores de la inflamación) para la cuantificación analítica de los cambios celulares que se producen en los procesos fisiológicos; *b*) disponibilidad de equipamiento que, por métodos pletismográficos, determina parámetros respiratorios en ratones conscientes y con respiración espontánea¹⁴, cumpliendo la premisa de que es necesario no desligar los aspectos bioquímicos de los funcionales; *c*) sistema inmunológico bien definido (linfocitos T-helper, subtipos TH0, TH1, TH2); *d*) posibilidad de

uso de animales de experimentación con depleción de elementos celulares (linfocitos CD₄⁺), de animales transgénicos con supresión (*knock-out*) o sobreexpresión de genes específicos; *e*) ciclo reproductivo corto (21 días), y *f*) ventajas económicas en su compra y su mantenimiento (sólo se necesitan 6 semanas de vida para su uso en experimentación).

Por todo ello los modelos experimentales de asma en murino están convirtiéndose en uno de los más usados. Sin embargo, también presentan algunas desventajas: *a*) requerimientos especiales en las condiciones de estabulación (existe la posibilidad de una infección con virus de la hepatitis del ratón, con la consecuente alteración del sistema inmunológico), hay que asegurar que es una colonia libre de infecciones víricas, y *b*) diferencias en la anatomía (uniones broncoepiteliales bien demarcadas que delimitan muy bien la separación entre los bronquiolos y los sacos alveolares), el sistema inmunológico (los linfocitos TH1 producen IFN- γ , interleucina [IL] 2 y factor de necrosis tumoral alfa [TNF- α], los TH2 producen IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10 y ambos producen IL-2, IL-3, IL-10 y GM-CSF) y en las respuestas a agentes farmacológicos (la histamina no provoca broncoconstricción), con la especie humana¹⁵⁻¹⁸.

Por último, es necesario realizar una sucinta referencia a la existencia de una alternativa *in vitro* a todos los modelos de asma experimental *in vivo*: el uso de protocolos de sensibilización pasiva. Así, este procedimiento se ha ensayado principalmente con segmentos de bronquio humano *in vitro*, para lo cual, tras comprobar previamente que el dador del tejido bronquial no es espontáneamente sensible al antígeno (*Dermatophagoides pteronyssinus*), se les somete a la incubación durante 12 h en suero de un paciente atópico, cuyo título sanguíneo de IgE total está por encima de 1.000 UI y el de la IgE específica es superior a 100 UI. Pasado el período de incubación y usando técnicas farmacomecánicas *in vitro*, se puede comprobar que estos segmentos bronquiales –procedentes del paciente no sensible al antígeno– han desarrollado una sensibilización pasiva al antígeno, caracterizada por la rápida aparición de un broncospasmo tras su administración, así como la instauración de los fenómenos de hiperreactividad e hipersensibilidad^{20, 21}.

BIBLIOGRAFÍA

1. Busse WW, Lemanske RF. Asthma. N Engl J Med 2001;344:350-62.
2. Hamid QA, Minshall EM. Molecular pathology of allergic disease. I. Lower airway disease. J Allergy Clin Immunol 2000;105:20-36.
3. Chung KF. Animal models of asthma. Eur Respir Rev 1995;5:184-7.
4. Pons R, Santamaría P, Suchankova J, Cortijo J, Morcillo E. Effects of inhaled glaucine on pulmonary responses to antigen in sensitized guinea-pigs. Eur J Pharmacol 2000;397:187-95.
5. Pride NB. Measurement of airflow obstruction in animals. Eur Respir Rev 1995;5:188-94.
6. O'Byrne PM, Dolovich J, Hargreave FE. State of art: late asthmatic responses. Am Rev Respir Dis 1987;136:740-51.
7. Abraham WM. Animal models of late responses. Eur Respir Rev 1995;5:211-7.

8. Abraham WM, Gill A, Ahmed A, Sielczak NM, Lauredo IT, Botinnikova Y, et al. A small-molecule, tight-binding inhibitor of the integrin $\alpha(4)\beta(1)$ blocks antigen-induced airway responses and inflammation in experimental asthma in sheep. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;162:603-11.
9. Cortijo J, Blesa S, Martínez-Losa M, Mata M, Seda E, Santangelo F, et al. Effects of taurine on pulmonary responses to antigen in sensitized Brown-Norway rats. *Eur J Pharmacol* 2001;431:111-7.
10. Cortijo J, Pons R, Dasí P, Marín N, Martínez-Losa M, Advenier C, et al. Bronchodilator and antiinflammatory activities of SCA40: studies in human isolated bronchus, human eosinophils, and in the guinea-pig *in vivo*. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives Pharmacol* 1997;356:806-14.
11. Morley J, Chapman ID, Hoshiko K, Mazzone L. Acute airway hyperreactivity in the guinea-pig. *Eur Respir Rev* 1995;5:202-10.
12. Wegner CD. Chronic models of airway hyperresponsiveness. *Eur Respir Rev* 1995;5:218-23.
13. Drazen JM, Takebayashi T, Long NC, DeSanctis GT, Shore SA. Animal models of asthma and chronic bronchitis. *Clin Exp Allergy* 1999; 29:37-47.
14. Hamelmann E, Scharze J, Takeda K, Osihiba A, Larse GL, Irvin CG. Noninvasive measurement of airway responsiveness in allergic mice using barometric plethysmography. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;156:766-75.
15. Y-P Tu GL, Larsen CG. Utility of murine systems to study asthma pathogenesis. *Eur Respir Rev* 1995;5:224-30.
16. Kumar RK, Foster PS. Murine model of chronic human asthma. *Immunol Cell Biol* 2001;79:141-4.
17. Leong KP, Huston DP. Understanding the pathogenesis of allergic asthma using mouse models. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2001; 87:96-109.
18. Wills-Karp M. Murine models of asthma in understanding immune dysregulation in human asthma. *Immunopharmacology* 2000; 48:263-8.
19. Renaud JC. New insights into the role of cytokines in asthma. *J Clin Pathol* 2001;54:577-89.
20. Schmidt D, Ruehlmann E, Branscheid D, Magnusesen H, Raben KF. Passive sensitization of human airways increases responsiveness to LTC₄. *Eur Respir J* 1999;14:315-9.
21. Cortijo J, Morcillo EJ, Sarria B, Santamaría P, Ferlanga P, Marchini F. Effects of selective phosphodiesterase inhibitors on allergen-induced contraction and hyperreactivity in passively sensitized human airways *in vitro*. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;163: A432.