

FARMACOS BLOQUEANTES DEL CALCIO Y MUSCULO BRONQUIAL

M. PERPIÑA TORDERA

Servicio de Neumología. Hospital La Fe. Valencia.

La razón teórica que justifica el que los fármacos conocidos como bloqueantes del calcio (Ca^{2+}) sean susceptibles de utilización para el tratamiento del asma, se fundamenta en el hecho de que al menos tres de las alteraciones fisiopatológicas implicadas en la hiperreactividad bronquial, son procesos Ca^{2+} -dependientes: broncoconstricción, liberación de mediadores de la anafilaxia e hipersecreción bronquial¹. Como es sabido, la concentración de Ca^{2+} libre en el citoplasma de la célula muscular lisa de la vía aérea, modula el acoplamiento excitación-contracción, y en los mastocitos y células glandulares del árbol traqueobronquial, el ajuste entre estímulo y secreción^{1,2}. En consecuencia, se encuentran estrechamente regulados por este ión el tono broncomotor, la secreción de glicoproteínas por las glándulas submucosas del tracto respiratorio y la liberación de mediadores a partir del mastocito sensibilizado³⁻⁵.

Por este motivo, en los últimos años se han venido realizando una serie de estudios con el fin de valorar la eficacia de este tipo de fármacos para prevenir y tratar el broncoespasmo, inhibir la liberación de mediadores y modificar las secreciones bronquiales^{3,6-8}. Pero de todos estos aspectos, merece un especial interés el efecto directo que estas sustancias ejercen sobre el músculo liso de la vía aérea. Y ello, no tanto por sus posibles repercusiones terapéuticas sino, más bien, porque la experimentación *in vitro* con este grupo de agentes farmacológicos, está permitiendo conocer mejor los diversos procesos implicados en la contracción y relajación del músculo tráqueo-bronquial en condiciones normales; además, han hecho posible detectar en modelos experimentales de asma, anomalías en el acoplamiento excitación-contracción dependiente del Ca^{2+} que podrían constituir un factor patogénico de la hiperreactividad bronquial.

El objetivo de esta revisión es triple: en primer lugar, describir aquellos aspectos de la contracción del músculo liso de la vía aérea que están mediados por el Ca^{2+} ; en segundo término, exponer la información de que se dispone acerca de la utilidad de los bloqueantes del Ca^{2+} como fármacos broncodilatadores; y, por último, comentar las alteraciones de la mecánica de la contracción muscular que se han des-

Arch Bronconeumol 1987; 23:27-36.

Recibido el 24-2-1986 y aceptado el 4-6-1986.

crito en el asma experimental y su posible papel en el fenómeno de la hiperreactividad asociada a esta enfermedad.

Sistema mensajero del calcio y músculo bronquial

El músculo liso, al igual que sucede con la mayoría de los tejidos, posee dos grandes grupos de receptores en su superficie: aquellos cuya estimulación da lugar a la síntesis de AMPc, y los que ocasionan la puesta en marcha del sistema mensajero del Ca^{2+} mediante la activación del «turnover» de los fosfolípidos del inositol, movilización del Ca^{2+} , liberación de ácido araquidónico y producción de GMPc⁹.

Estos dos tipos de receptores realizan un control bidireccional de las funciones celulares, de modo que la respuesta final es la resultante de la acción opuesta de ambos sistemas. De esta manera, y aunque todavía se carece de un conocimiento exacto de cómo se regulan la contracción y relajación en el músculo liso, se sabe que la concentración de calcio libre intracitoplásmico ($[\text{Ca}^{2+}]_c$) representa la señal intracelular primera que modula su tono, y que la biodisponibilidad intracelular de este catión se encuentra regulada por nucleótidos cíclicos¹⁰.

Pero mientras que los mecanismos implicados en el inicio, propagación, recepción y fin del mensaje AMPc se conocen en sus líneas generales desde hace unos 20 años¹¹, los diversos aspectos por los que el Ca^{2+} desempeña el papel de mensajeros sólo han comenzado a dilucidarse en la última década, debido a que este último sistema vehiculizador de señales extracelulares presenta una complejidad mayor.

El esquema generalmente admitido establece que, en condiciones de reposo, la concentración de $[\text{Ca}^{2+}]_c$ en la célula muscular lisa es aproximadamente de 10^{-7} M y, por lo tanto, unas 10.000 veces menor que en el espacio extracelular. Esta diferencia de concentraciones se debe a que la membrana citoplásmica es una barrera fosfolipídica¹², relativamente impermeable a cationes como el Ca^{2+} .

La concentración, con independencia del agente contracturante de que se trate, se inicia con la aparición de cambios en la estructura de la membrana que en definitiva van a permitir el paso de iones Ca^{2+} al interior de la célula a través de determinadas regiones de dicha membrana donde proteínas que atra-

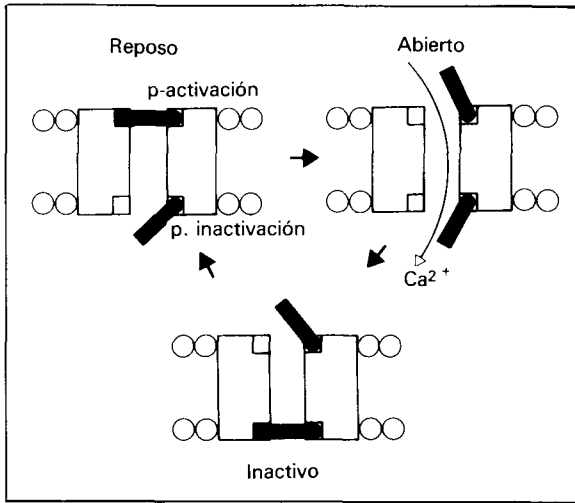
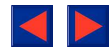


Fig. 1. Dinámica de apertura y cierre del canal dependiente de voltaje. En condiciones basales, se encuentra abierta únicamente la puerta de inactivación (Canal en reposo). Sólo cuando exista una disminución del potencial de membrana, puede penetrar el Ca^{2+} al interior de la célula, al tener lugar la apertura de la puerta de activación (Canal abierto). Cuando la membrana lleva un cierto tiempo despolarizada, se cierra la puerta de inactivación (Canal inactivo) y tras la repolarización se produce el cierre de la puerta de activación, permaneciendo abierta la de inactivación (Canal en reposo).

viesan su doble capa lipídica¹²⁻¹⁴, crean auténticos poros o canales relativamente específicos para el Ca^{2+} .

Cada uno de estos canales está provisto de un filtro selectivo capaz de definir el tipo de ión que puede pasar: un locus cargado negativamente, de dimensiones y densidad de carga apropiados para actuar como filtro discriminador lo que le permite distinguir entre los diferentes cationes presentes en el medio extracelular. El acceso de los iones se encuentra controlado además por determinadas regiones de las proteínas que conforman el canal y que reciben el nombre de «puertas» del canal^{14,15}. Se han descrito dos tipos de canales para el Ca^{2+} : los dependientes de voltaje y los operados por receptor¹²⁻¹⁵.

Los dependientes de voltaje se activan por estímulos despolarizantes y la apertura de sus puertas se explica por cambios en la conformación de las proteínas del canal, debidos a la disminución del potencial de membrana^{12,14}. Estos canales están inmersos en el seno de la membrana celular bajo tres formas que se hallan en equilibrio dinámico entre sí según se encuentren abiertas o cerradas las puertas localizadas en la zona del canal más próxima al espacio extracelular (puertas de activación) e intracelular (puertas de inactivación): canal en reposo, canal abierto y canal inactivo (fig. 1)¹⁶. Si una onda propagada de despolarización se acerca a estos canales en estado de reposo (puerta de activación cerrada y de inactivación abierta), los sensores de voltaje conectados al canal captan el descenso de la electronegatividad del interior de la célula, lo que determina la apertura de la puerta de activación (canal abierto) y el paso de Ca^{2+} al interior de la célula. Cuando la membrana lleva un cierto tiempo despolarizada, se cierra la puerta de inactivación y el canal se vuelve impermeable (inactivo) hasta que, repolarizada de nuevo la membrana, se cierra la puerta de activación y permanece abierta la de inactivación. De este modo el canal adopta la posición de reposo y queda dispuesto para poder ser activado de nuevo (fig. 1)¹⁶.

La apertura de los canales operados por receptor se produce como consecuencia de la interacción de los fármacos contracturantes con sus receptores específicos, y la subsiguiente estimulación del «turnover» del fosfatidil inositol (PI) en la membrana citoplásmica de la célula muscular¹⁷. Este fenómeno, conocido como efecto o respuesta PI, se inicia al activar el acoplamiento fármaco-receptor una fosfolipasa C específica que cataliza la hidrólisis del fosfatidil inositol 4,5 bifosfato. Ello da lugar a la síntesis de dos potentes señales intracelulares: a) el inositol 1,4,5 trifosfato; y b) el 1,2 diacilglicerol, rico en ácido araquidónico y otros ácidos grasos poliinsaturados (fig. 2)^{18,19}.

El inositol 1,4,5 trifosfato desempeña un importante papel en el aumento de los niveles de $[Ca^{2+}]_c$ ya que, no sólo induce la liberación del Ca^{2+} ligado al retículo endoplásmico y otras organelas intracitoplásmicas, sino que, además, modifica la permeabili-

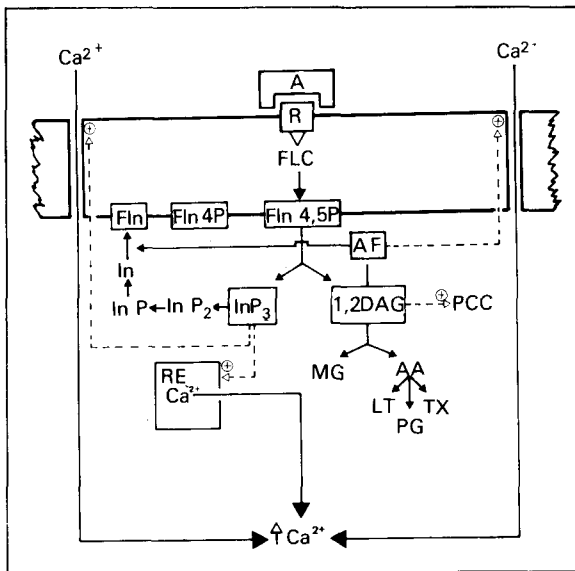


Fig. 2. Representación esquemática del «turnover» de los fosfoinosítidos en la membrana citoplásmica de la célula muscular lisa. La interacción agonista (A) receptor (R), activa una fosfolipasa C específica (FLC) que hidroliza el fosfatidil inositol 4,5 bifosfato (Fln 4,5P) dando lugar a la producción de inositol 1,4,5 trifosfato (In P₃) y 1,2 diacilglicerol (1,2 DAG). Ambas sustancias modifican la permeabilidad de la membrana permitiendo la entrada de Ca^{2+} a través de los canales operados por receptor con lo que se produce el aumento en la concentración de Ca^{2+} libre intracitoplásmico. En In P₃, que además induce la liberación de Ca^{2+} ligado a retículo endoplásmico (RE), es desfosforilado a inositol bifosfato (In P₂), inositol monofosfato (In P) e inositol libre (In). Este, al combinarse con ácido fosfatídico (AF), da lugar a fosfatidil inositol (Fln), fosfatidil inositol 4 fosfato (Fln 4P) y, finalmente, Fln 4,5P. El 1,2 DAG activa la protein cinasa C (PCC) y es degradado a AF, monoacilglicerol (MG) y ácido araquidónico (AA) que, a su vez, sirve como sustrato para la síntesis de leucotrienos (LT), prostaglandinas (PG) y tromboxanos (TX).



dad de la membrana y permite con ello el paso al interior de la célula del Ca^{2+} extracelular, a través de los canales operados por receptor (fig. 2)²⁰. Una vez sintetizado, es desfosforilado rápidamente a inositol bifosfato, inositol monofosfato e inositol libre. Este último, se recombina con ácido fosfatídico, originado a partir del 1,2 diacilglicerol, y da lugar a fosfatidil inositol que, al ser fosforilado a fosfatidil inositol bifosfato, puede servir de nuevo como sustrato para la fosfolipasa C, cerrándose así el ciclo de los fosfoinosítidos de la membrana (fig. 2)^{21,22}.

El 1,2 diacilglicerol, responsable de la activación de una protein cinasa C —implicada en la puesta en marcha de mecanismos que completan la respuesta celular final (véase luego)—, es fosforilado por una diacilglicerol cinasa a ácido fosfatídico, o degradado a monoacilglicerol y ácido araquidónico merced a una diacilglicerol lipasa¹⁹. El ácido fosfatídico va a servir, como ya se expuso, para permitir la resíntesis de fosfatidil inositol bifosfato y, además, es posible que constituya un estímulo adicional para la apertura de canales de Ca^{2+} (fig. 2)¹⁹.

Finalmente, puede que la unión ligando-receptor en el músculo liso produzca, al igual que sucede en otros tipos de células, la metilación de determinados fosfolípidos de la membrana (vgr., fosfatidiletanolamina) con formación de fosfatidil colina. Esta podría ser hidrolizada por una fosfolipasa A, que a su vez se activa por el paso mismo de Ca^{2+} a través de los canales, con lo que se produce una fuente nueva de ácido araquidónico¹⁹.

Queda por definir, no obstante, el papel exacto que este último y sus derivados (leucotrienos, tromboxanos y prostaglandinas) desempeñan en el control del tono muscular.

Como consecuencia de todos estos hechos, tiene lugar el paso clave del proceso de contracción del músculo liso: la fosforilización de las cadenas ligeras de miosina²³. Cuando el $[\text{Ca}^{2+}]_i$ alcanza una concentración de alrededor de 10^{-5} M, se produce la unión de éste con su receptor proteico intracelular, la calmodulina^{23,24}. El complejo Ca^{2+} -calmodulina es capaz de activar la miosin-cinasa de cadenas ligeras, y ésta, una vez activada, fosforiliza las cadenas ligeras de miosina; la miosina fosforilada, en presencia de actina, cataliza rápidamente la hidrólisis de ATP a ADP, más fósforo inorgánico, con la subsiguiente liberación de energía^{24,25}. Esta energía va a ser empleada para facilitar el deslizamiento de los filamentos de actina a lo largo de la miosina generando así tensión (fig. 3)²⁵.

Sólo cuando disminuya el $[\text{Ca}^{2+}]_i$, el calmodulin y la miosincinasa se disocian, con lo que desaparece su actividad, y la miosina es desfosforilada e inactivada por fosfatasa Ca^{2+} -independientes^{23,24}. La disminución del Ca^{2+} va a ser posible gracias a un sistema de intercambio bidireccional Na^+ - Ca^{2+} , y a un proceso activo por el cual este Ca^{2+} sale de la célula contracorriente, o se acumula en diversas organelas citoplásmicas^{23,24,26}.

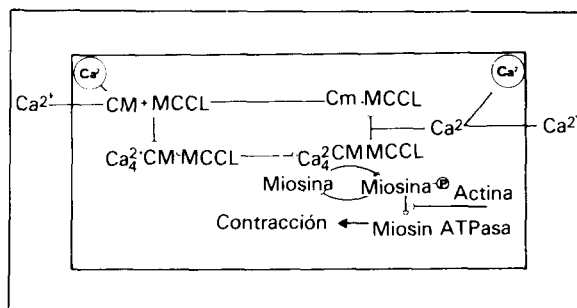


Fig. 3. Esquema general de la fosforilación de la miosina en el músculo liso. La unión de Ca^{2+} con la calmodulina (CM) activa la miosin cinasa de cadenas ligeras (MCCL) que es entonces capaz de fosforilar las cadenas ligeras de miosina. Esta, en presencia de actina, cataliza la hidrólisis de ATP a ADP con la subsiguiente liberación de energía y contracción. La disminución del Ca^{2+} libre intracitoplásmico, determina la disociación de la CM y la MCCL, con lo que desaparece la actividad de esta última y se produce relajación.

Sin embargo, se ha podido comprobar que el aumento en $[\text{Ca}^{2+}]_i$ y la subsiguiente fosforilación de las cadenas ligeras de la miosina no son suficientes para explicar toda la respuesta contráctil. Cuando, por ejemplo, el músculo liso vascular es expuesto a sustancias como noradrenalina o angiotensina II, tiene lugar una respuesta bifásica: un aumento inicial y rápido del tono, seguido de una contracción lenta y tónica¹². Estudios recientes han demostrado que en estas circunstancias, el incremento de $[\text{Ca}^{2+}]_i$ es transitorio²⁷, ya que el Ca^{2+} liberado por membrana y retículo endoplásmico es captado de nuevo por las mitocondrias, y la bomba de Ca^{2+} de la membrana celular, activada por el complejo Ca^{2+} -calmodulina, expulsa Ca^{2+} al medio extracelular. Por todo lo cual se alcanza finalmente un equilibrio entre la cantidad de Ca^{2+} que penetra y la que sale de la célula¹⁹, y ello ocasiona el que durante la segunda fase de la respuesta contráctil, el $[\text{Ca}^{2+}]_i$ sólo sea algo superior a lo detectado en situación basal²⁷ y que la fosforilación de las cadenas ligeras de miosina descienda entonces a niveles próximos a los observados cuando la célula no está estimulada²⁸.

Estos hechos han llevado a concluir que la contracción tónica se produce a través de un mecanismo diferente al de la activación de la miosincinasa de cadenas ligeras. Diversas investigaciones parecen indicar que esta fase se debe a un aumento de la sensibilidad de la miosina para el Ca^{2+} , producido por la enzima protein cinasa C. De este modo se posibilita la contracción muscular sin necesidad de que existan niveles elevados de $[\text{Ca}^{2+}]_i$, ni fosforilación de las cadenas ligeras de miosina^{19,22}. Parece pues, que el sistema mensajero del calcio vehiculiza el flujo de información desde la superficie de la célula hasta su interior, a través de dos vías operacionales distintas y, a su vez, complementarias: la vía de la calmodulina, responsable de la fase inicial de la respuesta contráctil, y la vía de la protein cinasa C, que va a determinar la fase sostenida de dicha respuesta celular (fig. 4)^{9,19}.

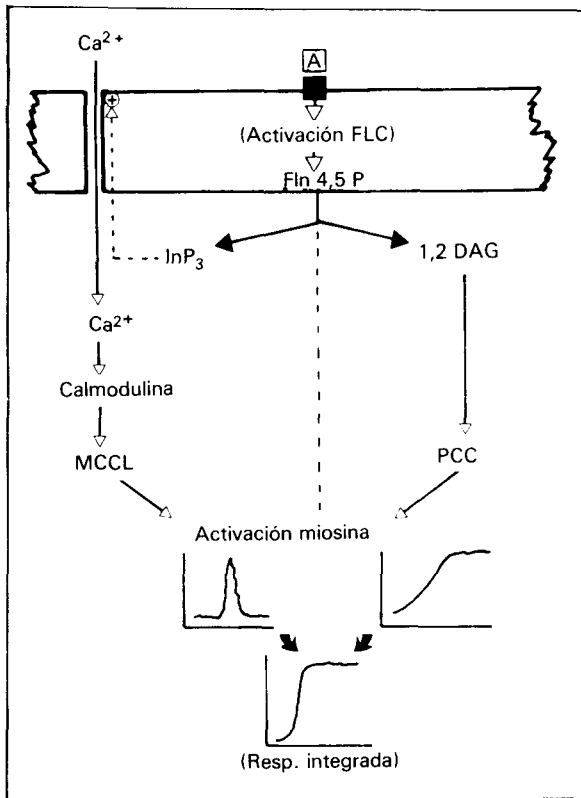
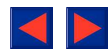


Fig. 4. Papel del Ca^{2+} y de la protein cinasa C (PCC) en la contracción del músculo liso. La síntesis del fosfatidil inositol 4,5 bifosfato (Fln 4,5P) (véase figura 2), da lugar a la producción de dos señales intracelulares: inositol trifosfato (InP_3) y 1,2 diacilglicerol (1,2 DAG) que son responsables respectivamente, del aumento en la concentración intracelular de Ca^{2+} y de la activación de la protein cinasa C (PCC). El aumento de Ca^{2+} citoplásmico, origina la fosforilización de la miosina y la respuesta contráctil inicial. La PCC es capaz, a su vez, de activar la miosina y ello da lugar a una contracción más sostenida. Puesto que ambas vías se ponen en funcionamiento simultáneamente, la respuesta contráctil final, resulta de la suma de ambas respuestas parciales.

El músculo liso de las vías aéreas ha sido mucho menos estudiado en estos aspectos que el músculo liso de otras localizaciones (vgr., territorio vascular). A pesar de ello, los datos actualmente disponibles permiten afirmar: a) que también posee canales dependientes de voltaje y operados por receptor^{5,6}; b) que, a diferencia del músculo vascular, utiliza para su contracción no sólo Ca^{2+} extracelular sino también intracelular, en función del agente contracturante y de la dosis a la que éste actúe, de forma que, por ejemplo, histamina activa por igual los dos tipos de canales⁶, serotonina moviliza el Ca^{2+} sólo vía canales voltaje-dependientes⁶ y, sin embargo, acetilcolina a concentraciones de 10^{-7} M activa canales dependientes de voltaje, mientras que a concentraciones de 10^{-4} M vehiculiza el Ca^{2+} sobre todo a través de los operados por receptor²⁹; y c) que también en él se cumple el esquema general de contracción-relajación descrito anteriormente de una manera sucinta^{5,30}. De todos modos, conviene tener presente que una gran parte de esa información procede de estudios *in vitro* llevados a cabo sobre músculo de

vías aéreas centrales (tráquea y grandes bronquios) procedentes de diversos animales de laboratorio. Es muy posible que existan diferencias cuantitativas y/o cualitativas en la compleja mecánica del sistema mensajero del Ca^{2+} y la regulación del tono bronquial entre las diferentes especies, e incluso dentro de una misma especie, entre músculo de vía aérea central y periférica^{3,31,32}. Por tanto, quizás estos resultados no puedan ser extrapolados en su totalidad al hombre y a todo el músculo liso de su vía aérea.

Antagonistas del calcio y músculo bronquial

Bajo el término genérico de antagonistas del Ca^{2+} , se engloba un gran número de sustancias con estructuras químicas distintas (desde simples metales catiónicos hasta moléculas antibióticas complejas) que presentan, en principio, la propiedad de neutralizar o inhibir los movimientos del Ca^{2+} a través de los diversos componentes de la célula^{15,33,34}. En alguno de estos casos, sin embargo, la posible acción bloqueante se ha establecido teniendo sólo en cuenta observaciones superficiales que únicamente indican cómo se ven alteradas en su presencia funciones dependientes del Ca^{2+} , sin que se haya aclarado si este efecto es debido a una acción directa o indirecta; en otros, la propiedad calcio-bloqueante aparece como un fenómeno secundario a otras actividades cuando se utilizan a concentraciones mucho más elevadas que aquellas con las que se observa el efecto farmacológico primario³⁴.

No obstante, en los últimos años se ha venido sintetizando un grupo de compuestos que sí parecen cumplir los criterios de potencia y selectividad de acción como calcio-bloqueantes. Estos agentes, que asimismo forman un grupo químicamente heterogéneo, reciben el nombre de antagonistas de los canales de Ca^{2+} , bloqueantes de la entrada de Ca^{2+} , o bloqueadores de los canales lentos, e incluye, entre otros, a verapamil, diltiazem, dihidropiridinas (nifedipina, nicardipina PY 108-068) y difenilalquilaminas (cinnaricina, flunaricina, fendilina, prenilaricina)³⁴. Su componente principal de acción en el músculo liso, es el bloqueo selectivo de la entrada de Ca^{2+} en respuesta a estímulos despolarizantes, es decir, actúan sobre los canales dependientes de voltaje impidiendo el acoplamiento electromecánico^{15,33-35}. Esto, no obstante, no define la zona ni el mecanismo íntimo de la actuación de dichos agentes, aunque sus distintas composiciones químicas sugiere la existencia de modos de actuación diferente de unos a otros³⁶. Por otro lado, se ha podido establecer que, adicionalmente y cuando actúan a altas concentraciones, poseen otras propiedades farmacológicas; por ejemplo, verapamil y diltiazem, a concentraciones $> 10^{-6}$ M, bloquean los canales del Na^+ , receptores muscarínicos y adrenérgicos e incluso posiblemente estimulan el intercambio $Ca^{2+}-Na^+$ ³⁷. Finalmente, se ha descrito un último grupo de sus-



tancias que se comportan como bloqueantes intracelulares del Ca^{2+} al actuar específicamente sobre la calmodulina, tal es el caso de la trifluoroperazina, W7 o pimocida³⁸.

Al igual que ha sucedido en otras áreas de la patología (recuérdese su uso en el espasmo coronario³⁹, cardiomiopatía hipertrófica⁴⁰, hipertensión arterial⁴¹, espasmo esofágico⁴² y fenómeno de Raynaud⁴³, los fármacos bloqueantes del Ca^{2+} también se han ensayado para el tratamiento de la broncoconstricción. Los estudios llevados a cabo en este sentido han puesto de manifiesto que, en determinadas condiciones experimentales, tales sustancias atenúan la broncoconstricción producida por fármacos y estímulos físicos contracturantes, poseen un efecto broncodilatador y potencian la broncodilatación producida por adrenérgicos^{3,6,8,44}. Pero mientras que su capacidad para disminuir la contracción del músculo liso aéreo inducida por fármacos o ejercicio ha podido ser demostrada *in vivo*, en el animal de laboratorio y en la población asmática, la acción broncodilatadora directa y el efecto potenciador sólo resultan cuantitativamente significativos en los estudios *in vitro*. Tanto verapamil como nifedipina producen relajaciones dosis-dependientes en el músculo liso de la vía aérea de cobayo con efectos máximos similares al producido por el isoproterenol⁴⁵ y, además, son capaces de relajar el músculo traqueal previamente contraído con histamina, con una potencia relajadora superior a teofilina, aunque el tiempo medio requerido para obtener una relajación del 50 % del reactivo farmacológico en estas condiciones experimentales, es significativamente mayor que con isoproterenol⁴⁶. Sin embargo, los estudios realizados con sujetos asmáticos, no han detectado que las sustancias estudiadas de este grupo (verapamil, nifedipina y diltiazem) produzcan *per se* modificaciones significativas del tono bronquial⁴⁷⁻⁵² o bien, cuando se ha observado alguna broncodilatación, ésta ha sido mucho menor que la que ocasionan los clásicos agonistas adrenérgicos β_2 ⁵³⁻⁵⁶.

Así pues, los antagonistas del Ca^{2+} analizados sólo parecen tener importancia clínica relevante en la prevención de la contracción bronquial mediada por fármacos o estímulos físicos contracturantes. Los efectos sobre la secreción bronquial y su capacidad para disminuir en los mastocitos la liberación de mediadores, aspectos ambos que no se contemplan en la presente revisión, constituyen otras posibles áreas de aplicación^{1-3,5}. De todos modos, en el primer caso todavía no existen estudios *in vivo* definitivos^{3,8}, y en el segundo está por aclarar si la disminución que producen de la broncoconstricción inducida por antígeno, *in vivo*, se debe a una inhibición significativa del acoplamiento estímulo-secreción, o por el contrario, al bloqueo de las acciones que producen los mediadores de la anafilaxia liberados sobre el músculo liso aéreo^{3,6,8}.

La inhibición de la broncoconstricción fármaco-inducida ha sido descrita, como ya se ha dicho, tanto

in vitro como *in vivo* no sólo en el animal de laboratorio sino también en el hombre. En estudios llevados a cabo en nuestro laboratorio con tira de parénquima pulmonar aislado de cobayo, hemos podido observar que el pretratamiento del preparado con verapamil o nifedipina, atenúa las contracciones evocadas por diversas sustancias estimulantes, vgr., acetilcolina, histamina, potasio y calcio⁴⁵. Ambos bloqueantes producen desplazamientos dosis-dependientes, a la derecha y hacia abajo, de las curvas dosis-respuesta control, si bien, y como era de esperar, poseen un mayor efecto inhibitorio sobre el Cl_2Ca ya que éstos no actúan a través de receptores específicos de membrana y vehiculizan el Ca^{2+} a través de los canales voltaje-operador⁴⁵. Resultados similares han sido descritos por Fanta et al⁵⁷ y Deal et al⁵⁸ sobre cobayo, y por Henderson et al⁵⁹ y Drazen et al⁶⁰ utilizando músculo traquebronquial humano. Asimismo, *in vivo*, la nifedipina, administrada por vía endovenosa o en forma aerosólica, inhibe en especies como el cobayo o el perro la broncoconstricción provocada por histamina, metacolina, ácido cítrico o $\text{PGF}_{2\alpha}$ ^{57,61,62} y atenúa, en el hombre, la respuesta broncomotora que ocasionan histamina⁴⁷⁻⁵⁰, colinomiméticos^{49-52,63} o ejercicio^{47,50,64}. Sin embargo, los estudios con verapamil en el animal de experimentación y en sujetos con asma^{65,66} indican que este antagonista no es capaz de disminuir de una manera efectiva la broncoconstricción inducida farmacológicamente. Esta diferencia de resultados con uno u otro atagonista posiblemente sea expresión de la mayor potencia que la nifedipina posee como bloqueante del Ca^{2+} ³².

Existe, pues, una abundante información sobre los efectos de este tipo de sustancias en el músculo bronquial en diversas condiciones experimentales y de laboratorio. Sin embargo, todavía no se ha realizado ningún estudio prospectivo a medio y largo plazo que aporte datos sobre cuál es la utilidad real de estas sustancias en la clínica diaria, y las ventajas e inconvenientes que ofrece su uso sobre los fármacos habitualmente empleados para el tratamiento de la broncoconstricción. No obstante, la impresión general que se tiene es, que en este campo, y a diferencia de lo que sucede en determinadas patologías cardiovasculares, los bloqueantes del Ca^{2+} ensayados hasta la fecha no parecen «funcionar» todo lo bien que cabría esperar si se tiene en cuenta su mecanismo de acción^{3,6,8}. Esta aparente paradoja se debe posiblemente a una combinación de factores: de un lado, el músculo liso de la vía aérea es menos sensible que el músculo vascular al bloqueo de la entrada de Ca^{2+} ya que utiliza para contraerse Ca^{2+} extra e intracelular; es posible que, además, la concentración que los antagonistas del Ca^{2+} alcanzan alrededor del músculo bronquial sea demasiado baja para ser eficaces, incluso cuando se administran en forma de aerosol; finalmente, y como luego se comentará, existen datos obtenidos en experiencias *in vitro* que indican cómo alguno de estos compuestos químicos son precisa-



mente menos efectivos en el músculo de vía aérea procedente de animal sensibilizado.

A la vista de todo ello, y aun a la espera de ese estudio prospectivo, parece lícito concluir con razonable seguridad que los bloqueantes del Ca^{2+} disponibles en la actualidad, no constituyen fármacos de primera línea para el tratamiento de la obstrucción bronquial. Por tanto, el lugar que ocupa este tipo de agentes dentro del arsenal broncodilatador es más teórico que real mientras no se disponga de nuevas sustancias de este grupo con una mayor selectividad de acción por el músculo liso de la vía aérea.

Anomalías en el músculo bronquial como factor patogénico de la hiperreactividad

La posible existencia del algún tipo de anomalía en el propio músculo liso de la vía aérea como causa de la hiperreactividad bronquial, fue apuntado hace algunos años por Holtzman et al⁶⁷ al sugerir que el aumento de la reactividad a la histamina y metacolina en sujetos atópicos podría ser debido a un mayor número de receptores muscarínicos en el músculo aéreo y/o a cambios en su afinidad. Pero los estudios *in vivo* no permiten, como es sabido, una valoración directa de la contracción muscular y en consecuencia difícil establecer con ellos si la hiperreactividad bronquial, por ejemplo a agentes farmacológicos, está relacionada o no con modificaciones en las propiedades intrínsecas del músculo liso de la vía aérea.

Por este motivo, se realizaron en nuestro laboratorio una serie de experimentos *in vitro*, con un preparado de vía aérea periférica procedente de cobayos normales y sensibilizados a albúmina sérica bovina, con el fin de analizar los cambios que la sensibilización ocasiona en las respuestas evocada por un grupo de fármacos autonómicos (acetilcolina, norepinefrina, y metoxamina) y autacoides (histamina, serotonina, bradikinina y prostaglandinas $\text{F}_{2\alpha}$ e I_2). Para determinar si tales cambios estaban o no motivados por alteraciones de la musculatura lisa aérea, se analizaron las diferencias observadas en las dosis eficaces 50 % y en los efectos máximos alcanzados en ambas condiciones experimentales^{68,69}. Los resultados que se obtuvieron pusieron de manifiesto la existencia de diferencias cualitativas y cuantitativas entre preparados obtenidos de animal normal y sensibilizado. Cualitativas por cuanto, y como era de esperar, sólo los reactivos farmacológicos procedentes de cobayo sensibilizado se contrayeron cuando fueron expuestos al antígeno específico; y cuantitativas porque en los preparados de animal sensibilizado, las curvas dosis-respuesta de todos los fármacos broncoconstrictores utilizados se desplazaron hacia arriba y hacia la izquierda respecto a las obtenidas en animales normales. Con ello aumentarían significativamente los efectos máximos alcanzados y las dosis eficaces 50 % se trasladaron hacia el rango de las concentraciones más bajas^{68,69}.

Estos cambios, que cumplen los criterios de supersensibilidad tipo II de Kalsner⁷⁰, y la potenciación inespecífica resultante, similar a la que se detecta en los fenómenos de supersensibilidad postjuncional⁷¹, sugieren la existencia de modificaciones en el músculo liso aéreo del animal sensibilizado, no por hipertrofia o hiperplasia del mismo, ni por aumento del número de receptores o cambios en su sensibilidad, sino debido a anomalías en algún paso posterior del fenómeno de acoplamiento excitación-contracción mediados por el Ca^{2+} y común a todos los agonistas contracturales.

El hecho observado en posteriores investigaciones^{72,73} de que sustancias broncomotoras que no actúan a través de receptores presentes en la membrana citoplásmica muscular (Cl_2Ca y ClK) tengan una mayor acción contracturante en los preparados de cobayo sensibilizado, y el que en estos reactivos farmacológicos el antagonista del calcio extracelular verapamil inhibe menos que en preparados procedentes de animal normal las contracciones fármaco-inducidas, son datos que parecen indicar que los receptores a agonistas contracturantes del músculo bronquial de animal sensibilizado permiten, una vez activados, la entrada al interior de la célula de una mayor cantidad de calcio que en condiciones normales.

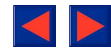
Una posible causa de esta anomalía podría ser la existencia de defectos en la propia estructura química de la membrana citoplásmica muscular en las situaciones de atopia. Recientemente se ha señalado que, en tráquea de cobayos sensibilizados, la cantidad de gangliósidos (glicoesfingolípidos presentes en dicha membrana) está significativamente reducida respecto a los valores encontrados en tráqueas de cobayos normales⁷⁴; asimismo, se ha descrito un aumento de la actividad de la lisofosfatidilcolina en la membrana del músculo traqueal de cobayos hiperreactivos⁷⁵. Los lípidos de las membranas celulares modulan no sólo el funcionalismo de los enzimas allí presentes, sino también la organización tridimensional de los receptores farmacológicos. Por tanto, cambios en la constitución lipídica de esta estructura pueden modificar la afinidad del ligando por el receptor, la interacción del complejo fármaco-receptor con la mitad efectora del mismo (es decir, con la apertura de los canales del Ca^{2+}) o, simplemente, alterar su permeabilidad para el Ca^{2+} ⁷⁶. Esta última posibilidad quizá justifique el que la capacidad del antagonista del calcio intracelular, trifluoroperazina, para inhibir las contracciones de acetilcolina, ClK y Cl_2Ca , sea significativamente mayor en la tira de parénquima pulmonar de cobayo sensibilizado que en los preparados procedentes de animal normal⁷⁷. Para Weiss^{78,79}, este cambio en la permeabilidad de la membrana se debería a la acción directa sobre el músculo, de algunos productos tóxicos del oxígeno, como el anión superóxido, originados como consecuencia de la liberación de leucotrienos desde el mastocito sensibilizado, tras la reacción antígeno-anticuerpo en su superficie.



Existen, por lo tanto, una serie de evidencias experimentales que parecen indicar la existencia de determinadas anomalías en el músculo liso de la vía aérea del animal sensibilizado, que condicionan una mayor biodisponibilidad de Ca^{2+} intracelular, posiblemente debido a cambios en la estructura y permeabilidad de su membrana. Parece, pues, lógico que el siguiente paso en esta línea de investigación deba incluir el estudio dinámico de los flujos de Ca^{2+} en el músculo traqueobronquial en condiciones normales, y las modificaciones que, a dicho nivel, introduce la sensibilización. En cualquier caso, la importancia y el significado que estas alteraciones puedan tener en la compleja patogenia de la hiperreactividad bronquial del asma humano están todavía por dilucidar, sobre todo si se tiene en cuenta la cautela con que deben ser extrapolados al hombre los resultados obtenidos en otras especies animales.

BIBLIOGRAFIA

- Middleton E Jr. Antiasthmatic drug therapy and calcium ions: review of pathogenesis and role of calcium. *J Pharm Sci* 1980; 69:243-251.
- Middleton E Jr. Role of calcium and calcium antagonists in airway function. *Eur J Respir Dis* 1983; 64 (suppl 128):123-132.
- Russi E, Ahmed T. Calcium and calcium antagonists in airway disease: a review. *Chest* 1984; 86:475-482.
- Sullivan TJ, Brown LJ. Roles of calcium in mediator release from mast cells. En: Weiss GB, ed. *New perspectives on calcium antagonists*. Baltimore, Williams & Wilkins 1981; 159-168.
- Middleton E Jr. Airway smooth muscle, asthma, and calcium ions. *J Allergy Clin Immunol* 1984; 73:643-650.
- Barnes PJ. Calcium-channel blockers and asthma. *Thorax* 1983; 38:481-485.
- Middleton E Jr. Calcium antagonists and asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1985; 76:341-346.
- Ahmed T, Abraham WM. Role of calcium-channel blockers in obstructive airway disease. *Chest* 1985; 88 (suplemento): 142S-151S.
- Nishizuka Y. Protein-kinases in signal transduction. *Trends Biochem Sci* 1984; 163-166.
- Gold WM. Role of cyclic nucleotides in airway smooth muscle. En: Nadel JA ed. *Physiology and pharmacology of the airways*. New York, Marcel Dekker 1980; 123-190.
- Sutherland EW, Robinson GS, Butcher RW. Some aspects of the biological role of adenosine 3'5'-monophosphate (cyclic AMP). *Circulation* 1968;37:279-306.
- Bolton TB. Mechanisms of action of transmitters and other substances on smooth muscle. *Physiol Rev* 1979; 59:606-717.
- Movsesian MA. Calcium physiology in smooth muscle. *Prog Cardiovasc Dis* 1982; 25:211-224.
- Lakshminarayanaiah N. Calcium channels in the barnacle muscle membrane. En: Weiss GB, ed. *New perspectives on calcium antagonists*. Baltimore, Williams & Wilkins 1981; 19-33.
- Trigle DJ. Biochemical pharmacology of calcium blockers. En: Flaim SF, Zelis R, eds. *Calcium channels blockers: mechanisms of action and clinical applications*. Baltimore, Urban & Schwarzenberg 1982; 121-134.
- Reuter H. Calcium channel modulation by neurotransmitters, enzymes and drugs. *Nature* 1983; 301:569-574.
- Berridge MJ. Receptor-operated calcium channels. *Handbook Exp Pharmacol* 1982; 58:227-270.
- Godfraind T. Calcium influx and receptor-response coupling. En: Weiss GB, ed. *New perspectives on calcium antagonists*. Baltimore, Williams & Wilkins 1981; 95-108.
- Rasmussen H, Barret PQ. Calcium messenger system: an integrated view. *Physiol Rev* 1984; 64:938-984.
- Joseph SK. Inositol triphosphate: an intracellular messenger produced by Ca^{2+} mobilizing hormones. *Trends Biochem Sci* 1984; 9:420-421.
- Fisher SK, Van Rooijen Laa, Agranoff BW. Renewed interest in the phosphoinositides. *Trends Biochem Sci* 1984; 9:53-56.
- Hirasawa K. Phosphatidylinositol turnover in receptor mechanism and signal transduction. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 1985; 25:147-170.
- Adelstein RS, Hathaway DR. Role of calcium and cyclic adenosine 3':5' monophosphate in regulating smooth muscle contraction. *Mechanisms of excitation-contraction coupling in smooth muscle*. *Am J Cardiol* 1979; 44:783-787.
- Adelstein RS. Regulation of contractile proteins by phosphorylation. *J Clin Invest* 1983; 72:1863-1866.
- Kamm KE, Stull JT. The function of myosin and myosin light chain kinase phosphorylation in smooth muscle. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 1985; 25:593-620.
- Van Breemen L, Aaronson P, Loutzenhiser R. Sodium-calcium interactions in mammalian smooth muscle. *Pharmacol Rev* 1979; 30:167-208.
- Morgan JP, Morgan KG. Vascular smooth muscle: the first recorded Ca^{2+} transients. *Pfluegers Arch* 1983; 395:75-77.
- Aksoy MO, Mras S, Kamm KE, Murphy RA. Ca^{2+} , cAMP, and changes in myosin phosphorylation during contraction of smooth muscle. *Am J Physiol (cell physiol 14)* 1983; 245:C255-C270.
- Farley JM, Miles FR. The sources of calcium for acetylcholine-induced contractions of dog tracheal smooth muscle. *J Pharmacol Exp Ther* 1978, 207:340-346.
- Stephens NL, Kroeger EA. Ultrastructure, biophysics, and biochemistry of airway smooth muscle. En: Nadel JA, ed. *Physiology and pharmacology of the airways*. New York, Marcel Dekker 1980; 31-122.
- Goodman FR. Calcium-channel blockers and respiratory smooth muscle. En: Weiss GB, ed. *New perspectives on calcium antagonists*. Baltimore, Williams & Wilkins 1981; 217-222.
- Fanta CH, Drazen JM. Calcium blockers and bronchoconstriction. *Am Rev Respir Dis* 1983; 127:673-674.
- Trigle DJ, Swamy VC. Pharmacology of agents that affect calcium: agonists and antagonists. *Chest* 1980; 78 (suppl): 174-179.
- Trigle DJ. Calcium antagonists: basic chemical and pharmacological aspects. En: Weiss GB, ed. *New perspectives on calcium antagonists*. Baltimore, Williams & Wilkins 1981; 1-18.
- Braunwald E. Mechanism of action of calcium channel blocking agents. *N Engl J Med* 1982; 307:1618-1627.
- Weiss GB. Sites of action of calcium antagonists in vascular smooth muscle. En: Weiss GB, ed. *New perspectives on calcium antagonists*. Baltimore, Williams & Wilkins 1981; 83-94.
- Smith RD. Calcium entry blockers: key issues. *Fed Proc* 1983; 42:201-206.
- Kanamari M, Naka M, Asano M, Hidaka H. Effects of N-(6-aminohexyl)-5-chloro-1-naphthalenesulfonamide and other calmodulin antagonists (calmodulin interacting agents) on calcium-induced contraction of rabbit aortic strips. *J Pharmacol Exptl Therap* 1981; 217:494-499.
- Antman E, Muller J, Goldberg S et al. Nifedipine therapy for coronary-artery spasm: experience in 127 patients. *N Engl J Med* 1980; 302:1269-1273.
- Lorell BH, Paulus W, Grossman W, Fulton MA, Wynne J, Cohn PF. Improved diastolic compliance to hypertro-



fic cardiomyopathy treated with nifedipine. *Circulation* 1980; 62 (suppl 3):317 (abstract).

41. Olivari MT, Bartorelli C, Polese A, Feorentini C, Morussin P, Guazzi MD. Treatment of hypertension with nifedipine, a calcium antagonistic agent. *Circulation* 1979; 59:1056-1062.

42. Bortolotti M, Labo G. Clinical and manometric effects of nifedipine in patients with esophageal achalasia. *Gastroenterology* 1981; 80:34-44.

43. Rodheffer RJ, Rommer JA, Wiglwy F, Smith CR. Controlled double-blind trial of nifedipine in the treatment of Raynaud's phenomenon. *N Engl J Med* 1983; 308:880-883.

44. Lever AML, Corris PA, Gibson GJ. Nifedipine enhances the bronchodilator effect of salbutamol. *Thorax* 1984; 39:576-578.

45. Cortijo J, Perpiñá M, Morcillo EJ, Esplugues J. Pharmacological characterization of the effects of verapamil and nifedipine on isolated guinea-pig lung parenchymal strip. *Gen Pharmacol* 1986; 17:211-217.

46. Perpiñá M, Cortijo J, Morcillo E, Esplugues J. Efecto de los antagonistas del Ca^{2+} sobre la contracción histamino-inducida en el músculo traqueal de cobayo. *Arch Bronconeumol* 1948; 20 (supl 1):14 (abstract).

47. Barnes PJ, Wilson NM, Brown MJ. A calcium antagonist, nifedipine, modifies exercise-induced asthma. *Thorax* 1981; 36:726-730.

48. Williams DO, Barnes PJ, Vickers HP, Rudolph M. Effect of nifedipine on bronchomotor tone and histamine reactivity in asthma. *Br Med J* 1981; 283:348.

49. Malik S, O'Reilly J, Sudlow MF. Effects of sublingual nifedipine on inhaled histamine and methacholine-induced bronchoconstriction in atopic subjects. *Thorax* 1982; 37:230 (abstract).

50. Corris PA, Nariman SA, Gibson GJ. Nifedipine in the prevention of asthma induced by exercise and histamine. *Am Rev Respir Dis* 1983; 128:991-992.

51. Marco V, Togores B, Perpiñá M, Pellicer C, Francés J. Comparison of the efficacy of nifedipine and ipratropium bromide to prevent methacholine-induced bronchoconstriction in asthmatics. *Bull Europ Physiopath Resp* 1984; 20:49A (abstract).

52. Perpiñá M, Pellicer C, Marco V. Nifedipine decreases sensitivity and reactivity to methacholine in mild asthmatics. *Respiration* 1986 (en prensa).

53. Patakas D, Vlachonianni E, Tsara V, Louridas G, Argiropoulou P. Nifedipine in bronchial asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1983; 72:269-273.

54. Nair N, Townley RG, Bewtra A, Nair CK. Safety of nifedipine in subjects with bronchial asthma and COPD. *Chest* 1984; 86:515-518.

55. Madrigal Vilata JA, Llopis Llombart R, Merino Sesma J, Muñoz Gil J, Insa Pérez L, López Merino V. Estudio del efecto de la nifedipina sobre las vías aéreas en pacientes afectados de broncopatía obstructiva crónica. *Arch Bronconeumol* 1985; 21:29-33.

56. Miller MR. *Thorax* 1985; 40:399 (carta al director).

57. Fanta CH, Venugopalan CS, Lacouture PG, Drazen JM. Inhibition of bronchoconstriction in the guinea pig by a calcium channel blocker, nifedipine. *Am Rev Respir Dis* 1982; 125:61-66.

58. Deal EC Jr, Cherniack AD, Eberlin LB. Effects of verapamil on histamine- and carbachol-induced contraction of pulmonary tissues in vitro. *Chest* 1984; 86:762-766.

59. Henderson AF, Heaton RW, Dunlop LS, Costello JF. Effects of nifedipine on antigen-induced bronchoconstriction. *Am Rev Respir Dis* 1983; 127:549-553.

60. Drazen JM, Fanta CH, Lacouture PG. Effect of nifedipine on constriction of human tracheal strips in vitro. *Br J Pharmacol* 1983; 78:687-691.

61. Malo PE, Wasserman MA, Griffin RL. Effects of intravenous and aerosol nifedipine on prostaglandin $F_{2\alpha}$ and histamine-induced bronchoconstriction in anesthetized dogs. *J Pharmacol Exp Ther* 1982; 221:410-415.

62. Brugman TM, Darnell ML, Hirshman CA. Nifedipine aerosol attenuates airway constriction in dogs with hyperreactive airways. *Am Rev Respir Dis* 1983; 127:14-17.

63. González JM, Morile RL, Bloom K, Akers S, Raizner AE, Stevens PM. Inhibition of airway reactivity by nifedipine in patients with coronary artery disease. *Am Rev Respir Dis* 1983; 127:155-157.

64. Cerrina J, Denjean A, Alexandre G, Lockhart A, Duroux P. Inhibition of exercise-induced asthma by a calcium antagonist, nifedipine. *Am Rev Respir Dis* 1981; 123:156-160.

65. Russi EW, Marchette B, Yerger L, Abraham WM, Ahmed T. Modification of allergic bronchoconstriction by a calcium antagonist: mode of action. *Am Rev Respir Dis* 1983; 127:14-17.

66. Patel KR. The effect of verapamil on histamine and methacholine-induced bronchoconstriction. *Clin Allergy* 1981; 11:441-447.

67. Holtzman MJ, Scheller JR, Dimeo M, Nadel JA, Boushey HA. Effect of ganglionic blockade on bronchial reactivity in atopic subjects. *Am Rev Respir Dis* 1980; 127:17-23.

68. Perpiñá M. Análisis farmacológico de la responsabilidad a autacoides y fármacos autonómicos en la tira de parénquima pulmonar aislado de varias especies animales. Tesis Doctoral, Universidad de Valencia, 1981.

69. Morcillo E, Perpiñá M, Esplugues J. Hyperresponsiveness to autacoids and autonomic drugs in lung parenchymal strips from sensitized guinea-pigs. *Am new Respir Dis* 1984; 129:948-951.

70. Kalsner S. A new approach to the measurement and classification of forms of supersensitivity of autonomic effector responses. *Br J Pharmacol* 1974; 51:427-434.

71. Fleming WW. The electrogenic Na^+ , K^+ -pump in smooth muscle: physiologic and pharmacologic significance. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 1980; 20:129-149.

72. Perpiñá M, Cortijo J, Morcillo E, Esplugues J. Hiperreactividad y calcio. III Reunión Nacional de la Sociedad Española de Patología Respiratoria, Madrid, junio de 1983.

73. Perpiñá M, Cortijo J, Esplugues J, Morcillo EJ. Different ability of verapamil to inhibit agonist-induced contraction of lung parenchymal strips from control and sensitized guinea-pigs. *Respiration* 1986 (en prensa).

74. Banerjee DK. Bronchial hyperreactivity associated with tracheal gangliosides. *Science* 1982; 218:569-571.

75. Nath P, Joshi AP, Agrawal KP. Biochemical correlates of airway hyperreactivity in guinea-pigs: role of lysophosphatidyl choline. *J Allergy Clin Immunol* 1983; 72:351-358.

76. Loh HH, Law Py. The role of membrane lipids in receptor mechanisms. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 1980; 20:201-234.

77. Perpiñá M, Cortijo J, Sanz C, Morcillo E, Esplugues J. Antagonismo del Ca^{2+} intracelular en el músculo liso de vías aéreas de cobayo normal y sensibilizado. *Arch Bronconeumol* 1985; 21 (suplemento 1):29-30.

78. Weiss EB. Toxic oxygen products alter calcium homeostasis in an asthma model. *J Allergy Clin Immunol* 1985; 75:692-697.

79. Weiss EB, Bellino JR. Interaction of leucotriene D_4 and superoxide anion induce airways hyperreactivity. *Am Rev Respir Dis* 1985; 131:A2 (abstract).