

290  
201

# Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

EFFECTO DE LA EXPOSICION A OZONO EN LA  
RESPUESTA DE CONTRACCION A LA HISTAMINA, EN  
TRAQUEAS Y PARENQUIMAS PULMONARES DE  
COBAYOS NORMALES Y ASMATICOS.

**TESIS PROFESIONAL**  
Que para obtener el Título de  
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA  
p r e s e n t a  
**PATRICIA SEGURA MEDINA**

A s e s o r e s :

M.V.Z. y M. en C. LUIS M. MONTAÑO R.  
DR. MARIO H. VARGAS BECERRA



MEXICO, D. F.

1 9 9 1

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



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.

## CONTENIDO

	<u>Página</u>
<b>RESUMEN</b>	
<b>INTRODUCCION</b> .....	1
Ozono .....	3
Efectos del ozono en las vías aéreas.....	3
<b>HIPOTESIS</b> .....	9
<b>•OBJETIVOS</b> .....	10
<b>MATERIAL Y METODOS</b> .....	11
Modelo de asma; sensibilización a ovoalbúmina	11
Exposición a ozono .....	12
Tejidos aislados .....	13
Fármacos .....	15
<b>ANALISIS ESTADISTICO</b> .....	15
<b>RESULTADOS</b> .....	17
Cadenas traqueales .....	17
Tiras de parénquima pulmonar .....	18
<b>DISCUSION</b> .....	20
<b>CONCLUSIONES</b> .....	27
<b>LITERATURA CITADA</b> .....	28
<b>CUADROS</b> .....	38
<b>FIGURAS</b> .....	41

**EFFECTO DE LA EXPOSICION A OZONO EN LA RESPUESTA DE CONTRACCION A LA HISTAMINA, EN TRAQUEAS Y PARENQUIMAS PULMONARES DE COBAYOS NORMALES Y ASMATICOS**

Segura Medina Patricia

Asesores: MVZ Luis M. Montaña Ramirez  
Dr. Mario H. Vargas Becerra

**RESUMEN.**

El ozono es el principal contaminante fotoquímico presente en el smog y a su vez es una molécula muy reactiva que cuando es inhalada genera la producción de radicales libres de oxígeno, los cuales pudieran ser responsables del daño del epitelio de las vías aéreas. Se ha propuesto que el daño de este epitelio es un mecanismo causal importante en la hiperreactividad de las vías aéreas inducida por el ozono. En este trabajo se exploró el efecto de la inhalación de ozono (3 ppm durante 60 min, 16 horas antes del estudio) sobre la contracción inducida por histamina en las vías aéreas centrales (traqueas con y sin epitelio) y periféricas (parénquima pulmonar) de cobayos normales y asmáticos. Para ello se realizaron curvas acumulativas concentración-respuesta a la histamina ( $1 \times 10^{-7}$  a  $1.7 \times 10^{-4}$  M), y se calculó la concentración de histamina que produce el 50% de la respuesta (CE<sub>50</sub>) y la contracción máxima obtenida. Los cobayos asmáticos fueron sensibilizados por vía inhalatoria a la ovoalbúmina. Las traqueas a las que se les quitó el epitelio mediante un raspado suave con un hisopo de algodón, presentaron un aumento en su sensibilidad (CE<sub>50</sub>) a la histamina, tanto para las provenientes de cobayos normales, como las de los asmáticos ( $10.43 \pm 1.82$  a  $2.98 \pm 0.89$  y de  $13.10 \pm 1.46$  a  $3.29 \pm 0.88$  µg/ml respectivamente) ( $p < 0.01$ ). Por otra parte encontramos que el ozono no modificó la CE<sub>50</sub> para la histamina en las traqueas con y sin epitelio en comparación con sus controles no expuestos. Para el caso del tejido pulmonar, el ozono sí incrementó su sensibilidad a la histamina en los cobayos normales ( $2.92 \pm 0.46$  vs.  $1.35 \pm 0.15$  µg/ml) ( $p < 0.01$ ), así como aumento la contracción máxima de los parénquimas de cobayos sensibilizados ( $132.29 \pm 12.24$  vs  $189.20 \pm 14.40$  mg) comparados con sus controles no expuestos al ozono ( $p < 0.05$ ). Estos resultados nos sugieren que el ozono produce hiperreactividad en las vías aéreas periféricas, mas no en las centrales, que la lesión epitelial no parece ser un factor causal primordial en este efecto y que un proceso inflamatorio podría ser un importante mecanismo involucrado en la hiperreactividad inducida por el ozono.

EFFECTO DE LA EXPOSICION A OZONO EN LA RESPUESTA DE CONTRACCION A LA HISTAMINA, EN TRAQUEAS Y PARENQUIMAS PULMONARES DE COBAYOS NORMALES Y ASMATICOS.

INTRODUCCION

La contaminación ambiental se puede definir como la presencia en la atmósfera de uno o más contaminantes, en cantidades y duración suficientes para ser dañinos a la salud y el bienestar humano, animal y vegetal <sup>42</sup>. Los contaminantes pueden ser de origen natural o antropogénicos; entre los primeros tenemos a las partículas suspendidas totales (polvos, polenes, cenizas, etc.), mientras que los originados por el hombre son el dióxido de azufre, hidrocarburos reactivos, oxidantes fotoquímicos (ozono principalmente), monóxido de carbono, dióxido de nitrógeno y plomo <sup>42</sup>. En la actualidad la contaminación representa un importante problema de salud pública en todo el mundo. En la Ciudad de México los principales contaminantes son el ozono ( $O_3$ ) y el dióxido de azufre ( $SO_2$ ) <sup>10</sup>. La calidad del aire en la zona metropolitana de la Ciudad de México se evalúa de acuerdo al contenido de contaminantes y sus efectos sobre la salud, asignándole puntos del Índice Metropolitano de la Calidad del Aire (IMECA). Para el caso del ozono, corresponde la siguiente puntuación:

Puntos	ppm O <sub>3</sub>	Efecto sobre la salud
0-50	0.06	Condición favorable para realizar todo tipo de actividades
51-100	0.07 a 0.11	Condición satisfactoria para realizar todo tipo de actividades
101-200	0.12 a 0.23	Condición no satisfactoria; se ven molestias menores en personas sensibles
201-300	0.24 a 0.35	Condición mala, aumentan las molestias e intolerancia al ejercicio en personas con padecimientos respiratorios y cardiovasculares
301-500	0.36 a 0.60	Condición muy riesgosa; aparición de diversos síntomas e intolerancia al ejercicio en la población sana

ppm = partes por millón (mg/l)

Fuente: SEDUE 1985.55

## Ozono

Este gas se encuentra normalmente en concentraciones altas en la estratósfera, y su función es la de absorber los rayos ultravioleta provenientes de la radiación solar. En las capas bajas de la atmósfera (tropósfera) también es normal su presencia, pero sólo a bajas concentraciones, menores a 0.11 ppm/hora, cuando éstas aumentan se le considera un contaminante <sup>10</sup>.

Al ozono se le denomina como contaminante secundario, pues se forma en la atmósfera a partir de reacciones fotoquímicas de otros contaminantes precursores, como son óxidos de nitrógeno e hidrocarburos reactivos al ponerse en contacto con los rayos ultravioleta del sol <sup>10, 42, 55</sup>. Bajo condiciones normales el ozono es una molécula muy inestable, ya que regresa rápidamente a oxígeno y bióxido de nitrógeno. Sin embargo, un excesivo incremento en la producción de ozono hace que éste se mantenga en la atmósfera por un periodo de tiempo más prolongado <sup>10</sup>.

## Efectos del ozono en las vías aéreas

La inhalación de 0.1 a 0.75 ppm de ozono en humanos <sup>24, 41</sup> o de 1 a 3 ppm en diversas especies animales como son perros, gatos, cobayos, monos y ovejas <sup>7, 25, 34, 48, 59</sup>

producen en ellos diferentes tipos de lesiones anatomofisiológicas <sup>19</sup>: En el Macaco radiata al inhalar persistentemente aire con 0.64 ppm de ozono se presenta un estrechamiento de los bronquios distales, debido a una hiperplasia epitelial con desarrollo de tejido conjuntivo peribronquial <sup>23</sup>. El estudio morfométrico de la rata sometida a 0.25 ppm de ozono muestra engrosamiento de la membrana basal del epitelio alveolar y pérdida de la proyección intraluminal del epitelio <sup>6</sup>. En la oveja el ozono disminuye el flujo del moco traqueal, efecto que persiste por más de una semana después de concluida la exposición a diversas concentraciones de ozono <sup>1</sup>. En el humano la inhalación de ozono se asocia a cambios fisiológicos específicos como tos, disnea, aumento en la resistencia de las vías aéreas <sup>63</sup>, así como aumento en la frecuencia de presentación de crisis asmáticas en individuos con este padecimiento <sup>19, 33, 41</sup> y en animales que presentan enfermedades que cursen con broncoespasmo.

Además, la inhalación de ozono provoca una alteración funcional importante como es la hiperreactividad de las vías aéreas que frecuentemente se halla en la mayoría de las especies estudiadas, incluyendo al hombre <sup>7, 15, 34, 41, 56, 57, 58</sup>. Se conoce como hiperreactividad de las vías aéreas a la presencia de una respuesta broncoconstrictora exagerada del músculo liso ante una gran variedad de estímulos <sup>8, 27</sup> tanto específicos (alergenos) como inespecíficos ( histamina metacolina, aire frío, ejercicio, ozono, etc.) <sup>51</sup>. Esta



hiperreactividad es la característica más sobresaliente del asma bronquial <sup>8</sup>.

En algunos animales domésticos se presenta en forma natural una enfermedad similar al asma de los humanos. En los perros ocurre Polenosis Alérgica <sup>52</sup>, que se caracteriza por tos, disnea, descargas de moco espeso e hiperreactividad bronquial, y que es desencadenada por hipersensibilidad al pasto, árboles, polvo casero y al Ascaris suum <sup>50</sup>. En los equinos se presenta una enfermedad llamada Huélfago o "asma equina" <sup>40</sup>, en la que existe obstrucción recurrente de las vías aéreas acompañada de hiperreactividad bronquial <sup>54</sup>. Esta enfermedad es muy semejante al asma ocupacional en el humano en cuanto a su fisiología, inmunología y patología<sup>14</sup>, ya que comúnmente sucede como una respuesta alérgica a la inhalación de heno o ciertos forrajes polvosos o enmohecidos <sup>14, 40, 54</sup>.

Como se mencionó, la hiperreactividad de las vías aéreas es el daño funcional más importante asociado al Asma humana, la Polenosis alérgica y el Huélfago equino. La fisiopatología de dicho incremento de la respuesta contractil del músculo liso de las vías aéreas en estas enfermedades es sumamente compleja y por tanto poco conocida. Actualmente su estudio se ha intensificado, por lo que se busca desarrollar, modelos experimentales de hiperreactividad en animales de laboratorio, y como es bien sabido, el ozono es un inductor de hiperreactividad en las

vías aéreas de los mamíferos, por lo que constituye un excelente modelo para el estudio de la fisiopatología del asma.

Existen varias teorías que tratan de explicar cuáles son los mecanismos desencadenados por el ozono que llevan a la hiperreactividad de las vías aéreas, destacando entre ellos el daño al epitelio respiratorio <sup>48</sup>. Se ha postulado que la exposición a ozono produce la liberación de radicales superóxido que causan oxidación de los componentes de la membrana celular ocasionando una lesión en el epitelio de las vías aéreas <sup>22, 31, 61</sup>. Se ha demostrado que la ausencia del epitelio respiratorio provoca que el músculo liso traqueobronquial responda exageradamente a diversos agonistas constrictores, es decir, provoca hiperreactividad de las vías aéreas <sup>5, 28, 46</sup>. Este incremento en la sensibilidad del músculo liso se debe principalmente a que el epitelio de las vías aéreas produce un factor de relajación, probablemente la prostaglandina  $E_2$  ( $PGE_2$ ), y cuando el epitelio se halla dañado su capacidad productora del factor relajador se ve afectada lo que ocasiona que las respuestas a los agonistas constrictores sean de mayor intensidad. <sup>9, 11</sup>.

Por otro lado, el ozono provoca degranulación de la célula cebada, con la subsecuente liberación de mediadores químicos preformados como la histamina <sup>58</sup> y de nueva formación como las prostaglandinas  $F_{2\alpha}$  y  $D_2$  ( $PGF_{2\alpha}$ ,  $PGD_2$ ),

el tromboxano  $A_2$  ( $TXA_2$ )<sup>43</sup>, los leucotrienos  $B_4$ ,  $C_4$ ,  $D_2$  y  $E_2$  ( $LTB_4$ ,  $LTC_4$ ,  $LTD_4$  y  $LTE_4$  respectivamente)<sup>47</sup>, así como probablemente la adenosina y el factor activador de plaquetas (PAF)<sup>17</sup>. Algunos de estos mediadores como el PAF, el  $LTC_4$  y el  $TXA_2$  son capaces de producir hiperreactividad<sup>3</sup>, mientras que la histamina, la  $PGD_2$  y la  $PGF_{2\alpha}$ , provocan aumento en la secreción de moco, vasodilatación y mayor permeabilidad vascular<sup>3</sup>, todos ellos fenómenos presentes en el asma bronquial, el húelfago y la polenosis alérgica. Además la inhalación de ozono desencadena un proceso inflamatorio con infiltrado de neutrófilos y macrófagos<sup>48</sup>, los cuales también liberan enzimas proteolíticas y radicales libres de oxígeno que dañan a las diversas poblaciones celulares, y provocan mayor liberación de mediadores químicos perpetuando así la hiperreactividad.<sup>4</sup>

Algunos autores plantean que otro mecanismo activado por la inhalación de ozono es el aumento de la permeabilidad del epitelio de las vías aéreas. A este respecto se han llevado a cabo experimentos en perros, cobayos y humanos<sup>13, 35, 38, 65</sup> donde demuestran que la inhalación de ozono facilita la absorción de sustancias exógenas haciendo que se pierda la función de barrera física por parte del epitelio lo que permite que estas sustancias lleguen con mayor facilidad al músculo liso traqueobronquial.

Por otra parte, como se mencionó anteriormente, la inhalación de concentraciones altas de ozono (1 a 3 ppm)

produce daño del epitelio respiratorio 12, 48, 60, lo que trae como consecuencia un aumento en la exposición de los receptores sensoriales de irritación 16, los cuales son entonces más susceptibles de ser estimulados por los mediadores químicos liberados de la célula cebada, generando reflejos vagales 26.

Estudios sobre el efecto del ozono en la broncoconstricción producida por la histamina en perros sugieren una importante participación del reflejo vagal. En este sentido se ha demostrado que el sulfato de atropina o la congelación de los vagos bloquean el incremento en la respuesta de contracción a la histamina producido por el ozono, lo que sugiere que este efecto se debe a un aumento en la liberación de acetilcolina por reflejo vagal 39. Sin embargo, otros investigadores demostraron que la vagotomía bilateral o la administración de hexametonio no tenía ningún efecto en la hiperreactividad inducida por el ozono a la administración de histamina o acetilcolina 24, 37. Estos últimos hallazgos demuestran la importancia de mecanismos independientes del reflejo vagal involucrados en la hiperreactividad inducida por el ozono.

## HIPOTESIS

- 1.- 16 horas después de la inhalación de 3 ppm de ozono durante 60 minutos, provoca que el músculo liso de las vías aéreas centrales y periféricas de cobayos normales y asmáticos muestre mayor sensibilidad a la estimulación con histamina.
- 2.- Esta hiperreactividad se ve incrementada cuando existe sensibilización previa a la ovoalbúmina (OA), en un modelo de asma alérgica en cobayos.
- 3.- La hiperreactividad es debida principalmente a la lesión del epitelio que el ozono provoca en las vías aéreas centrales.

**OBJETIVOS**

- 1.- Determinar si en cobayos normales o asmáticos la inhalación de ozono provoca aumento de la sensibilidad a la histamina del músculo liso de las vías aéreas centrales.
- 2.- Investigar si este aumento de la sensibilidad a la histamina en las tráqueas continua pesentandose al eliminar artificialmente el epitelio.
- 2.- Determinar si en cobayos normales o asmáticos la inhalación de ozono causa un incremento en la respuesta a la histamina de las vías aéreas periféricas a un agonista constrictor como es la histamina.

## MATERIAL Y METODOS

Se estudiaron 40 cobayos machos cepa Hartley, con un peso entre 400 y 500 g los cuales fueron agrupados de acuerdo a las siguientes condiciones experimentales:

- 1.- Normales, no expuestos a ozono (N)
- 2.- Normales, expuestos a ozono (NO)
- 3.- Asmáticos, no expuestos a ozono (A)
- 4.- Asmáticos, expuestos a ozono (AO)

### Modelo de asma: sensibilización a ovoalbumina

Los cobayos fueron inmunizados por vía inhalatoria a fin de obtener un modelo de asma alérgica de acuerdo al método descrito por Vargas y col. <sup>62</sup> el cual consiste en lo siguiente: El primer día los animales fueron nebulizados con 300 mg de OA como antígeno y 4 ml de vacuna inactivada de Bordetella pertussis como adyuvante, ambas disueltas en 50 ml de solución salina fisiológica. Una semana después fueron sometidos a nebulizaciones diarias con 75 mg de OA disuelta en 25 ml de solución salina durante dos semanas más. Para realizar las nebulizaciones los animales fueron introducidos en cajas de acrílico de 70 x 30 x 54 cm y los aerosoles que recibieron fueron generados por medio de un nebulizador Bennett US-1 con un flujo de 2 ml/min y con un

diámetro de las partículas de 7 a 9  $\mu\text{m}$ . Los cobayos fueron estudiados durante la semana siguiente a la terminación de las nebulizaciones.

#### Exposición a ozono

Diez cobayos no asmáticos y ocho asmáticos, fueron expuestos a una concentración de 3 ppm de ozono durante un lapso de 60 minutos. El ozono se obtuvo haciendo pasar un flujo constante de oxígeno al 100% a través de un generador de ozono (Welsbach Ozone System Corp., modelo T-23), de donde fue capturado disolviéndolo en agua destilada a 4°C hasta saturar la solución. Los animales se colocaron en una caja de acrílico, a través de la cual se hizo pasar un flujo constante de ozono liberado de la solución acuosa a temperatura ambiental. La concentración de ozono dentro de la cámara ( $3 \pm 0.1$  ppm,  $x \pm \text{DE}$ ) fue regulada añadiendo un flujo de aire a presión positiva dentro del matraz que contenía el ozono. Dicha concentración fue continuamente verificada con un analizador ultravioleta de ozono (Dasibi Environmental Corp., modelo 1008 AH). El estudio de los animales sometidos al ozono se realizó 16 horas después, ya que se ha demostrado que este tiempo es el adecuado para que se manifieste la hiperreactividad a acetilcolina en cobayos

48.



### Tejidos aislados

Los cobayos fueron sacrificados con una sobredosis de pentobabital sódico por vía intraperitoneal, para obtener de cada animal dos cadenas traqueales y dos tiras de parenquima pulmonar.

Cadenas traqueales. A fin de evaluar la respuesta de las vías aéreas centrales a la exposición con ozono se trabajó con cadenas de anillos traqueales. La preparación se realizó siguiendo el método de Foster <sup>21</sup>, el cual consiste en extraer la tráquea, separarla del tejido conjuntivo adyacente realizarle un corte longitudinal sobre la porción cartilaginosa, así como una serie de cortes transversales, de esta manera se obtuvieron cuatro fragmentos que incluían 3 anillos cartilaginosos cada uno. Cada cadena traqueal se formó por dos de dichos fragmentos unidos por sus extremos, tomando una porción cervical y una torácica a fin de evitar diferencias en la respuesta por variaciones regionales <sup>45</sup>.

Para determinar el efecto dañino que el ozono pudiera tener sobre el epitelio de las vías aéreas, a una de las cadenas traqueales se le removió el epitelio mediante un raspado suave de la mucosa con un hisopo de algodón humedecido con el propósito de tener un punto de comparación del máximo daño del epitelio respiratorio.

Tiras de parénquima pulmonar. Una vez sacrificado el animal sus pulmones se lavaron inyectando 40 ml de solución de Krebs bicarbonatada en el ventrículo derecho. Posteriormente los pulmones fueron extraídos de la cavidad torácica y se cortaban dos tiras de parénquima pulmonar de 3 x 3 x 15 mm del borde distal de los lóbulos diafragmáticos tanto izquierdo como derecho a fin de estudiar el efecto que la inhalación de ozono desencadenó en la respuesta de contracción de las vías aéreas periféricas.

Cada uno de los tejidos obtenidos (traqueas y parénquimas) se colocó en una cámara de órganos aislados que contenía 10 ml de solución de Krebs bicarbonatada [mM] (NaCl 120, KCl 4.77,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1.2,  $\text{MgSO}_4$  1.2,  $\text{NaHCO}_3$  25,  $\text{CaCl}_2$  2.5 y glucosa 11 ) mantenida a una temperatura de 37°C y burbujeada constantemente con una mezcla de 95% de  $\text{O}_2$  y 5% de  $\text{CO}_2$  , con un pH de 7.4. Los tejidos fueron sometidos a una tensión basal de 300 mg para los parénquimas pulmonares y de 1 g para las cadenas traqueales, y dejados en condiciones de reposo durante 60 minutos, durante los cuales recibieron lavados cada 15 minutos con solución de Krebs con el propósito de que se estabilizaran antes de empezar los experimentos. La tensión isométrica desarrollada por los tejidos fué medida a través de un transductor Gould Statham UC<sub>3</sub> conectado a un dinógrafo Beckman R612.

Se construyeron curvas acumulativas concentración-respuesta añadiendo concentraciones crecientes de histamina

que iban de  $1 \times 10^{-7}$  a  $1.7 \times 10^{-4}$  M ( 0.17 a 19  $\mu\text{g/ml}$ ) hasta alcanzar la respuesta máxima. De cada tejido sólo se realizó una curva concentración-respuesta.

### Farmacos

El diclorhidrato de histamina (Sigma Chem. Co.) y la ovoalbúmina (Lab. J.T. Baker) fueron disueltas en solución salina al 0.9 %. Todos los reactivos fueron preparados el mismo día de su aplicación y conservados mientras tanto en condiciones de almacenamiento adecuadas para cada uno de ellos, como es refrigeración para la histamina y temperatura ambiental para la ovoalbúmina. La vacuna de Bordetella pertussis (cepa 134,  $1.2 \times 10^9$  gérmenes/ml) fué donada generosamente por la Dirección General de Productos Biológicos y Reactivos de la Secretaría de Salubridad.

### ANALISIS ESTADISTICO

Los resultados obtenidos se expresaron como respuesta máxima de contracción en gramos para las tráqueas y en miligramos para los parénquimas pulmonares, así como concentración efectiva 50 en  $\mu\text{g/ml}$  que representa a la concentración de histamina con la cual se obtuvo el 50% de la contracción máxima, y que refleja la sensibilidad del tejido a este agonista. La  $CE_{50}$  se calculó mediante un

análisis de regresión lineal con las concentraciones transformadas previamente a logaritmos y las respuestas a unidades probabilísticas (probits). Para la evaluación estadística de los datos obtenidos se realizó análisis de varianza de una vía y, en los casos necesarios, para la comparación de las diferencias obtenidas entre los grupos experimentales se usaron pruebas de comparación múltiple aplicando el método de Bonferroni <sup>64</sup>. El nivel de significancia se estableció en valores de  $p < 0.05$  bimarginal.

## RESULTADOS.

La administración de histamina a los órganos aislados produjo una respuesta de contracción, tanto en las cadenas traqueales como en las tiras de parénquima pulmonar. La intensidad de esta respuesta fue dependiente de la concentración utilizada, es decir, a mayor dosis se desarrolló mayor respuesta (Fig. 1, 2 y 3).

### Cadenas traqueales.

En las tráqueas provenientes de cobayos normales, ya sea con o sin epitelio, la exposición a ozono no modificó la respuesta a la histamina (Fig. 1 y cuadro 1) comparadas con sus respectivos controles no expuestos al ozono.

Por su parte la remoción mecánica del epitelio en las tráqueas normales, tanto expuestas como no expuestas al ozono, desplazó en forma importante la curva concentración-respuesta hacia la izquierda, indicando un aumento hasta 3.5 veces mayor en la sensibilidad del tejido traqueal a la histamina (Fig. 1 y Cuadro 1), el cual fue estadísticamente muy significativo para la  $CE_{50}$  ( $p < 0.01$ ).

Todos los grupos presentaron un comportamiento similar, en cuanto a su contracción máxima (Fig.1 y cuadro 1).

Con respecto a las tráqueas de cobayos asmáticos los resultados obtenidos fueron muy similares a los antes descritos para las tráqueas de cobayos normales. Así la ausencia de epitelio provocó una disminución significativa de la  $CE_{50}$  ( $p < 0.01$ ) es decir incrementó 3.98 veces la sensibilidad del tejido a este autacoide, mientras que la exposición a ozono no modificó la respuesta de las tráqueas con o sin epitelio, con respecto a sus controles no expuestos a este gas. Asimismo, tampoco hubo diferencias significativas entre la contracción máxima alcanzada en estos cuatro grupos (Fig. 2).

#### Tiras de parénquima pulmonar.

Como se puede observar en la figura 3 en los parénquimas pulmonares la exposición al ozono produjo un desplazamiento hacia la izquierda de las curvas concentración-respuesta a la histamina, en comparación con las de los animales no expuestos al ozono; sin embargo esta diferencia sólo fue estadísticamente significativa ( $p < 0.005$ ) en el caso de los parénquimas pulmonares obtenidos a partir de los cobayos normales en los que el ozono incrementó 2.16 veces la  $CE_{50}$ . (Cuadro 3), mientras que la respuesta máxima alcanzada se vió incrementada, pero no alcanzó significancia en este grupo experimental.

En contraste en el tejido proveniente de animales asmáticos, el ozono no modificó significativamente la sensibilidad a la histamina; sin embargo, en estos últimos sí se observó un incremento significativo ( $p < 0.02$ ) de la contracción máxima alcanzada hasta de 1.43 veces cuando fueron sometidos a 3ppm de ozono comparados con sus controles no expuestos.

Por otra parte se comprobó que no existió un incremento en la respuesta contractil obtenida para la histamina cuando los animales fueron previamente sensibilizados a la ovoalbúmina, es decir en el modelo de asma alérgica.

## DISCUSION

Entre los efectos desencadenados en el aparato respiratorio por la inhalación de ozono, probablemente la hiperreactividad bronquial es el que con mayor frecuencia se observa en diversas especies de mamíferos incluyendo al hombre 7, 15, 34, 41, 48, 54. Los mecanismos a través de los cuales el ozono provoca este incremento en la respuesta de contracción del músculo liso traqueobronquial aún son inciertos.

En este estudio se investigó el efecto de la exposición aguda a ozono (3 ppm durante 60 minutos 16 horas antes del estudio) en la respuesta de contracción a la histamina en las vías aéreas centrales y periféricas de cobayos normales y asmáticos. Dicha respuesta se evaluó a las 16 horas después de la exposición al ozono ya que, como lo demostraron Murlas y Roum <sup>48</sup> los cobayos sometidos a la inhalación de 3 ppm de ozono durante 2 horas desarrollan hiperreactividad a la acetilcolina desde las 2 horas posteriores a la exposición y hasta 2 días después de la misma, ocurriendo la máxima respuesta entre las 14 y las 24 horas de realizada la exposición.

Se ha descrito que el epitelio de las vías aéreas juega un importante papel en la modulación de la respuesta contráctil del músculo liso traqueobronquial a diversos



agonistas constrictores, probablemente mediante la liberación de un factor relajador derivado del epitelio (FRDE)<sup>9</sup>. En 1985 dos grupos independientes de investigadores fueron los primeros en describir este papel modulador del epitelio: Flavahan y col.<sup>20</sup> informaron que en tráqueas aisladas de perros, el epitelio atenúa la respuesta del músculo liso a los agentes constrictores. Por otra parte Barnes y col.<sup>5</sup> demostraron que la eliminación mecánica del epitelio de tráqueas aisladas de bovinos, mediante un raspado suave de la mucosa respiratoria, hace que las respuestas de este tejido a los agonistas constrictores sean más intensas. Actualmente es bien sabido que las células epiteliales de las vías aéreas de diversos mamíferos<sup>18, 30</sup> incluyendo al hombre<sup>53</sup>, son capaces de producir y liberar el FRDE. Existen diversos estímulos que desencadenan la liberación de este factor relajador como son agentes farmacológicos y sustancias endógenas como histamina, serotonina, acetilcolina, carbacol, metacolina,  $\text{PGF}_2\alpha$ , factor activador de plaquetas, leucotrienos y sustancia P, los cuales estimulan a las células epiteliales, probablemente a través de receptores específicos. Las características fisicoquímicas del FRDE aún no son bien conocidas. Hay y col.<sup>29</sup> propusieron en 1988 que químicamente el FRDE es una prostaglandina, ya que su efecto modulador es inhibido por la indometacina, y que probablemente se trate de la  $\text{PGE}_2$ .

Con base en la existencia del FRDE, una de las hipótesis más mencionadas sobre el mecanismo de acción del ozono para provocar hiperreactividad en las vías aéreas es la de que al ser inhalado este gas produce lesión del epitelio respiratorio <sup>7, 48</sup> y con ello la subsecuente incapacidad del epitelio para producir el FRDE provocando un incremento en la respuesta del músculo liso traqueo-bronquial.

En un estudio realizado por Holroyde y Norris <sup>31</sup> sobre el efecto desarrollado a los 30 minutos posteriores a la inhalación de 3.5 ppm de ozono durante 60 minutos, en tráqueas de cobayos normales, se encontró una tendencia al desarrollo de hiperreactividad en las tráqueas con y sin epitelio, pero esta diferencia no llegó a ser estadísticamente significativa, por lo que sus datos no son concluyentes, sin embargo estos investigadores sugieren que el ozono provoca un daño funcional al epitelio traqueal.

Los resultados obtenidos en nuestra investigación in vitro difieren de los del trabajo antes mencionado en que no se observó que la exposición al ozono provocara una tendencia al incremento en la respuesta de las cadenas traqueales, tanto para el caso de las provenientes de cobayos normales como para las de los animales asmáticos. Además de este hecho; se observó que en las cadenas traqueales expuestas a ozono la remoción mecánica de la mucosa respiratoria provocó hiperreactividad, lo cual

demuestra que el epitelio aún estaba capacitado para producir el FRDE apesar de haber sido expuesto al ozono.

Un trabajo reciente de Jones y col.<sup>36</sup> apoya nuestros resultados, ya que en experimentos in vitro e in vivo demuestra que la exposición a 3 ppm de ozono durante 30 minutos en perros, no causa una incapacidad del epitelio traqueal para liberar el FRDE. Nuestros resultados sugieren que el daño epitelial no desempeña un papel primordial en la hiperreactividad que se presenta a las 16 horas posteriores a la exposición al ozono.

En contraste con las cadenas traqueales, en las que el ozono no modificó la respuesta de contracción inducida por la histamina, en las tiras de parénquima pulmonar se observó que el ozono produjo un incremento en dicha respuesta en comparación con sus respectivos controles no expuestos al ozono. Estos datos sugieren que las vías aéreas periféricas son el principal sitio donde el ozono induce cambios funcionales que generan hiperreactividad. Se podría especular que esta diferencia regional en la respuesta al ozono puede deberse a que en la tráquea existe un factor inhibitor, como el FRDE, que impide la aparición de la hiperreactividad inducida por ozono, o bien que en las vías aéreas periféricas el ozono desencadena algún mecanismo productor de hiperreactividad. La primera posibilidad podría descartarse por el hecho de que el ozono tampoco causó hiperreactividad en aquellas tráqueas sin epitelio, en las cuales no existía producción del FRDE. Por lo tanto, es más

probable que el ozono desencadene un mecanismo adicional en las vías aéreas periféricas.

En un estudio reciente realizado por nuestro grupo de investigación, donde se trabajó bajo las mismas condiciones experimentales que en el presente estudio (3ppm de ozono durante 60 minutos, 16 horas antes del estudio) se observó que el ozono provocó un incremento en el número de neutrófilos existentes en lavados broncoalveolares (LBA) de cobayos tanto normales como asmáticos que desarrollaron hiperreactividad a la exposición aguda de ozono <sup>44</sup>.

Con base en los datos anteriores es posible sugerir que un proceso inflamatorio podría ser el principal mecanismo involucrado en la hiperreactividad de las vías aéreas periféricas inducida por el ozono en cobayos normales y sensibilizados.

Ahora bien, contrariamente a lo reportado en este estudio, Gordon y col. <sup>25</sup> en una investigación previa con tiras de paréquima pulmonar de cobayos normales, reportan no haber encontrado hiperreactividad desencadenada por la inhalación de ozono, esta diferencia puede fundamentarse en el hecho de que ellos trabajaron los tejidos dos horas después de haber sido expuestos a 1.2 ppm de ozono y como ya ha sido demostrado por otros investigadores <sup>32, 48</sup> en este lapso de tiempo el proceso inflamatorio aún no se ha desencadenado, mientras que a las 16-18 horas es cuando mayor es la infiltración de polimorfonucleares (PMN) en la mucosa de las vías aéreas <sup>48</sup>. Estos datos apoyan en forma

indirecta la probable relación entre la hiperreactividad que encontramos en las tiras de parénquimas pulmonares y la existencia de un proceso inflamatorio.

La importancia del desarrollo de un proceso inflamatorio como agente causal de la hiperreactividad generada por el ozono ha sido estudiada por diversos autores: Holtzman y col.<sup>32</sup> en 1983 fueron los primeros en resaltar la importancia de la inflamación aguda como causa de la hiperreactividad desencadenada por el ozono en perros. Ellos demostraron que en biopsias provenientes de la pared bronquial de animales que habían desarrollado una respuesta exagerada a la inhalación de acetilcolina después de ser expuestos a ozono, existía un abundante infiltrado de PMN, mientras que los que no desarrollaron ese aumento en la respuesta constrictora al agonista colinérgico, tampoco presentaron un aumento en la población de células inflamatorias. Un trabajo subsecuente de Seltzer y col.<sup>56</sup> demostró que existe un marcado incremento en el porcentaje de PMN en lavados broncoalveolares (LBA) de personas que desarrollaron hiperreactividad después de ser expuestas a la inhalación de ozono. Estos investigadores también informaron haber encontrado un aumento en la concentración de los productos de la ciclooxigenación del ácido araquidónico en los LBA. O'Byrne y col.<sup>49</sup> en 1984 de igual manera estudiaron el incremento de neutrófilos en biopsias bronquiales de perros, así como el papel de los derivados ciclooxigenados en esta hiperreactividad generada por el

ozono, determinando que la indometacina (un inhibidor específico de esta vía metabólica) atenúa marcadamente los efectos del ozono. Subsecuentemente Aizawa y col. <sup>2</sup> sugieren que el ozono no sólo aumenta el infiltrado de PMN en la pared de las vías aéreas sino que también incrementa la liberación de tromboxanos por parte de estas células. Recientemente Murlas y Lee <sup>47</sup>, sugieren que la hiperreactividad desencadenada por la inhalación de ozono en un proceso inflamatorio, es abolida con inhibidores específicos de la producción de leucotrienos como son el BW 755C o FPL 55712, lo que involucra de manera importante a estos metabolitos de la lipooxigenación del ácido araquidónico en el desarrollo de incremento en la respuesta contractil de las vías aéreas del cobayo.

Tomando en cuenta las reflexiones anteriores y los resultados obtenidos en esta investigación es posible sugerir que a las 16 horas posteriores a la inhalación de 3 ppm de ozono durante 60 minutos, desencadena hiperreactividad de las vías aéreas periféricas, probablemente a través de mecanismos diferentes al daño funcional epitelial, como puede ser el desarrollo de un proceso inflamatorio, que se reflejó como un incremento en la respuesta contractil de las vías aéreas periféricas a la histamina

## CONCLUSIONES

- 1.- El ozono provoca hiperreactividad a la histamina en las vías aéreas periféricas mas no en las centrales, sugiriendo que existen diferencias regionales en cuanto a la respuesta de las vías aéreas a la exposición al ozono.
  
- 2.- Dicha hiperreactividad no se vió incrementada al sensibilizar previamente a los cobayos contra la ovoalbúmina, es decir hacerlos asmáticos.
  
- 3.- El ozono no induce daño funcional importante del epitelio traqueal, al menos al ser evaluado en su capacidad para producir factor relajador derivado del epitelio.

## LITERATURA CITADA

- 1.- Abraham, W.M., Januskiewicz, A.J., Mingle, M., Welker, M., Wanner, A. and Sacker, M.A.: Sensitivity of bronchoprovocation and tracheal mucous velocity in detecting airway responses to O<sub>3</sub>. J.Appl.Physiol., **48**: 789-793 (1980)
- 2.- Aizawa H., Chung, K.F., Leikauf, G.D., Ueki, I., Bethel, R.A., O'Byrne, P.M., Hirose, T. and Nadel, J.A.: Significance of thromboxane generation in ozone-induced hyperresponsiveness in dogs. J.Appl.Physiol., **59**: 1918-1923 (1985).
- 3.- Barnes, P.J., Chung, K.F. and Page C.P.: Inflammatory mediators and asthma. Pharm Rev., **40**: 49-84 (1988).
- 4.- Barnes, N.C. and Costello, J.F.: Airway hyperresponsiveness and inflammation. Br. Med. Bull., **43**: 445-459 (1987).
- 5.- Barnes, P.J., Cuss, F.M. and Palmer, J.B.: The effect of airway epithelium on smooth muscle contractility in bovine trachea. Br. J. Pharmacol., **86**: 685-691 (1985).
- 6.- Barry, B.E., Mercer, R.R. and Crapo, J.D.: Alterations in terminal bronchial epithelium following inhalation of low levels of ozone. Am. Rev. Resp. Dis., **127**: A164 (1983).



- 7.- Boatman, E.S., Sato, S. and Frank, R.: Acute effects of ozone on cat lungs. Am.Rev.Resp.Dis., 110: 157-169 (1974).
- 8.- Boushey, H.A., Holtzman, J., Sheller, J.R. and Nadel, J.A.: Bronchial hyperreactivity. State of art. Am. Rev. Respir. Dis., 121: 389-413 (1980).
- 9.- Braunstein G., Lavat, C., Brunelleschi, S., Benveniste, J., Marsac, J., and Brink. C.: Evidence that the histamine sensitivity and responsiveness of guinea pig isolated trachea are modulated by epithelial prostaglandin E<sub>2</sub> production. Br.J.Pharmacol., 95: 300-308 (1988.)
- 10.- Bravo, A. H., Perrin, F. G., Sosa, E.R. y Torres, J.R.: Incremento de la Contaminación Atmosférica por Ozono en la Zona Metropolitana de la Ciudad de México. Ingeniería Ambiental, 1: 8-15 (1988).
- 11.- Brunelleschi, S., Hays-Legrand, I., Lavat, C., Norel, X., Brink, C. and Benveniste.: Platelet-Activating-Factor-aceter induced relaxation of guinea pig airway muscle: role of prostaglandin E<sub>2</sub> and the epithelium. J. Pharmacol. Exp. Ther., 243: 356-363 (1987).
- 12.- Castleman, W.L., Dungworth, D.L., Schwartz, L.W. y Tyler W.S.: Acute respiratory broncholitis. Am. J. Pathol., 98: 811-840 (1980).
- 13.- Davis, J.D., Gallo, J., Hu. P.C., Boucher, R.C., and Bromber, P.A.: The effects of ozone on respiratory epithelial. Am. Rev. Respir. Dis., 121 : A231 (1980).

- 14.- Derksen, F.J., Scott, J.S., Miller, D.C., Slocombe, R.F. and Robinson, N.E.: Bronchoalveolar lavage in ponies with recurrent airway obstruction. Am Rev. Respir. Dis., 132: 1066-1070, (1985).
- 15.- Dimeo, M.J., Glenn, M.G., Holtzman, M.J., Sheller, J.R., Nadel, J.A. and Boushey, H.A.: Threshold concentration of ozone causing an increase in bronchial reactivity in humans and adaptation with repeated exposures. Am Rev Respir Dis, 124: 245-248 (1981)
- 16.- Empey, D.W., Laitinen, L.A., Jacobs, L., Gold, W.M. y Nadel, J.A.: Mechanisms of bronchial hyperreactivity in normal subjects after upper respiratory tract infection. Am. Rev. Respir. Dis., 113: 131-139 (1976).
- 17.- Fabbri, L.M., Aizawa, H., Alpert, S.E., Walters, E.H., O'Byrne, P.M., Gold, B.D., Nadel, J.A. and Holtzman, M. J.: Airway hyperresponsiveness and changes in cell counts in bronchoalveolar lavage after ozone exposure in dogs. Am. Rev. Respir. Dis., 129: 288-291 (1984).
- 18.- Farmer, S.G.: Airway smooth muscle responsiveness: modulation by the epithelium. TIPS, 8: 8-10 (1987).
- 19.- Favez, G.: El impacto de la contaminación atmosférica en los pulmones . Schweiz Med Wschr, 116 (25): 830-837 (1986).

- 20.-Flavahan, N.A., Aarhus, L.L., Rimele, T.J. and Vanhoutte  
Respiratory epithelium inhibits bronchial smooth muscle  
tone. J. Appl. Physiol., 58(3): 834-838 (1985).
- 21.- Foster, R.W.: Paired tracheal chain preparation. J.  
Pharm. & Pharmacol., 12: 189-191 (1960).
- 22.- Freeman, B.A. and Madd, J.B.: Reaction of ozone with  
human erythrocyte sulfhydryls. Arch. Biochem. Biophys.  
208: 212-220 (1981).
- 23.- Fujinaka, L.E., Hyde, D.M., Plopper, C.G. and Tyler, W.  
S.: Response of bronchiolar epithelium and  
peribronchial connective tissue to chronic ozone  
exposure. Amer Rev Res Dis, 127: A165 (1983).
- 24.- Golden, J.A., Madel, J.A. and Boushey, H.A.: Bronchial  
hyperirritability in healthy subjects after exposure to  
ozone. Am. Rev. Respir. Dis., 118: 287-294, (1978).
- 25.- Gordon, T., Drazen, J.M., Venugopalan, C.S. y Amdur,  
M.O.: Ozone-induced airway hyperreactivity in guinea  
pigs. J. Appl. Physiol., 57: 1034-1038 (1984).
- 26.- Greene, R., Fowler, J., MacGlashan, D. Jr. y Weinreich,  
D.: IgE-challenged human lung mast cells excite vagal  
sensory neurons in vitro. J. Appl. Physiol., 64: 2249-  
2253 (1988).

- 27.- Hargreave, F.E., Dolovich, J., O'Byrne, P.M. Ramsdale, E.H. and Daniel, E.E.: The origin of airway hyperresponsiveness. J. Allergy Clin. Immunol., 78 : 825-832 (1978).
- 28.- Hay, D.W., Farmer, S.G., Reaburn, D., Muccitelli, R.M., Wilson, K. A. and Fedan, J.S.: Differential effects of epithelium removal on the responsiveness of guinea pig tracheal smooth muscle to bronchoconstrictors. Br. J. Pharma., 86: 685-691 (1985).
- 29.- Hay, D.W., Muccitelli, R.M., Horstemeyer, D.L. and Reaburn, D.: Is the epithelium-derived inhibitory factor in guinea pig trachea prostanoid. Prostaglandins 35(4): 625-637 (1988).
- 30.- Holroyde M.C.: The influence of epithelium on the responsiveness of guinea-pig isolated trachea. Br. J. Pharmacol., 87: 501-507 (1986).
- 31.- Holroyde, M.C., and Norris, A.A.: The effect of ozone on reactivity of upper and lower airways in guinea-pigs. Br. J. Pharmacol., 94: 938-946 (1988).
- 32.- Holtzman, M. J., Fabbri, L.M., O'Byrne, P.M., Gold, B. D., Aizawa, H., Walters, E.H., Alpert, S.E. and Nadel J A.: Importance of airway inflammation for hyperresponsiveness induced by ozone. Am. Rev. Respir. Dis. 127:686-690 (1983)

- 33.- Holtzman, M.J., Cunningham, J.H., Sheller, J.R., Irsigler, G.B., Nadel, J.A. and Boushey, H.A.: Effect of Ozone on Bronchial Reactivity in Atopic and Nonatopic subjects. Am. Rev. Resp. Dis., 120: 1059-1067 (1979).
- 34.- Holtzman, M.J., Fabbri, L.M., Skoongh, B.E.: Time course of airway hyperresponsiveness induced by ozone in dogs. J. Appl. Physiol 55: 1232-1236, (1983).
- 35.- Hu, P.C., Miller, F.J., and Daniels, M.J.: Protein accumulation in lung lavage fluid following ozone exposure. Environ. Resch., 29: 377-388 (1982).
- 36.- Jones, G.L., Lane, C.G., Daniel, E.E. and O'Byrne, P.M.: Release of epithelium-derived relaxing factor after ozone inhalation in dogs. J. Appl. Physiol., 65(3): 1238-1243 (1988).
- 37.- Jones, G.L., Lane, C.G., Manning, P.J. y O'Byrne, P.M.: Role of the parasympathetic nervous system in airway hyperresponsiveness after ozone inhalation. J. Appl. Physiol., 63: 1174-1179 (1987).
- 38.- Kehrl, H.R., Vincent, L.M., Kowalsky, R.J., Hortsman, D.H., O'Neil, J.J., Mc Cartney, W.H. and Bromberg, P.A.: Ozone Exposure Increases Respiratory Epithelial Permeability in humans. Am. Rev. Respir. Dis., 135: 1124-1128 (1987).

- 39.- Lee, L.Y., Bleecker, E.R. y Nadel, J.A.: Effect of ozone on the bronchomotor response to inhaled histamine aerosol in dogs. J. Appl. Physiol., 43: 626 (1977).
- 40.- Lowell, F.C.: Observation on heaves. An asthma-like syndrome in the horses. J. Allergy, 35: 322-330 (1964).
- 41.- McDonnell, W.F., Horstman, D.H., Abdul-Salaam, S., Raggio, L.J. and Green, J.A.: The respiratory responses of subjects with allergic rhinitis to ozone exposure and their relationship to non specific airway reactivity. Toxicol. Indust. Healt, 3: 507-517 (1987).
- 42.- Michel, E.J.: La contaminación atmosférica y la salud. Cuadernos de divulgación., Universidad de Guadalajara Jalisco, México 1983.
- 43.- Miller, P.D., Ainsworth, D., Lam, H.F. and Amdur, M.O.: Effect of ozone exposure on lung functions and plasma prostaglandin and thromboxane concentrations in guinea pigs. Toxicol. Appl. Pharmacol., 88: 132-140 (1987).
- 44.- Montaña, L.M., Campos, G., Segura, M.P., Vargas, M.H., Ponce, H., Bravo, J.L. and Selman, M.: Effect of ozone exposure on the in vivo and in vitro responsiveness of guinea pig airways. Am. Rev. Respir. Dis., 141: A476 (1990)

- 45.- Montaño., L.M., Hong., E., and Selman., M.: Difference in beta-blockade on the inhibitory response of cervical and thoracic tracheas to electrical stimulation. Med. Sci. Res., 16: 193-194 (1988).
- 46.- Montaño, L.M., Selman, M., Ponce-Monter, H. and Vargas M.H.: Role of airway epithelium on the reactivity of smooth muscle from guinea pigs sensitized to ovalbumin by inhalatory method. Res. Exp. Med., 188: 167-173 (1988).
- 47.- Murlas, C.G. and Lee, H.L.: Ozone- Induced bronchial hyperreactivity in guinea pigs is abolished by BW 755C or FPL 55712 but not by indomethacin. Am. Rev. Respir. Dis., 132: 1005-1009, (1985).
- 48.- Murlas, C.G. and Roum, J.H.: Sequence of Pathologic change in airway mucosa of guinea pigs during ozone induced bronchial hyperreactivity. Am. Rev. Resp. Dis., 131: 314-340 (1985).
- 49.- O'Byrne, P.M., Walters, E.H., Aizawa, H., Fabbri, L.M., Holtzman, M.J., and Nadel, J.A.: Indomethacin inhibits the airway hyperresponsiveness but not the neutrophil influx induced by ozone in dogs. Am. Rev. Respir. Dis., 130: 220-224 (1984)
- 50.- Patterson, R. and Kelly, J.F.: Animal models of the asthmatic state. Ann. Rev. Med., 25: 53-68 (1974)

- 51.- Pauli, G., Bessot, J.C. and Kopferschmitt-Kubler, M.C.:  
Asthme, allergie réaginique et hyperreactivité  
bronchique. Presse Médicale, 18: 559-561 (1989).
- 52.- Philips, M.J., Barnes, P.J. and Gold, W.M.:  
Characterization of purified dog mastocytoma cells. Am.  
Rev. Respir. Dis., 132: 1019-1026, (1985).
- 53.- Reaburn, D.D., Hay, D.W., Farmer, S.G. and Fedan, J.S.:  
Epithelium removal increases the reactivity of human  
isolated tracheal muscle to methacholine and reduces  
the effect of verapamil. Eur. J. Pharmacol., 123: 451-453  
(1986).
- 54.- Scott, J.S., Broadstone, R.V., Derksen, F.J. and  
Robinson, N.E.:  $\beta$ -adrenergic Blockade in ponies with  
recurrent obstructive pulmonary disease. J. Appl.  
Physiol., 64: 2324-2328, (1988).
- 55.- SEDUE. Informe sobre el estado del Medio ambiente en la  
Ciudad de México, 1985
- 56.- Seltzer, J., Bigby, B.G., Stulbarg, M.S., Holtzman,  
M.J., Nadel, J.A., Ueki, I.F., Leikauf, G.D. and  
Goetzel, E.J.: Ozone-induced change in bronchial  
reactivity and airway inflammation in human subjects.  
J. Appl. Physiol., 60: 1321-1326 (1986).



- 57.- Sheppard., D.: Mechanisms of acute increases in airway responsiveness caused by enviromental chemicals. J. Allergy. Clin. Immunol., 81: 128-132, (1988)
- 58.- Shields, R.L. and Gold, W.M.: Effect of inhaled ozone on lung histamine in conscious guinea pigs. Environ. Res., 42: 434-445 (1987).
- 59.- Sielezak, M.W., Denas, S.M. and Abraham W.M.: Airway cell changes in tracheal lavages on sheep after ozone exposure. J.Toxicol.Environ.Healt., 11:545-553 (1983).
- 60.- Stephens, R.J., Sloan, M.F., Evans M.J. y Freeman, G.: Early response of lung to low levels of ozone. Am. J. Pathol., 74: 31-58 (1973).
- 61.- Transwell, A.K., Fraher, L.J. and Grose, E. C.: Circulating factors that modify lung cell DNA synthesis following exposure to inhaled oxidants. I. Efect of serum and lavage on lung fibroblasts following exposure of adults rats to 1 ppm ozone. J. Tox. Enviro.Health., 27: 239-254 (1989).
- 62.- Vargas, M.H., Montaño, L.M., Páramo, I. and Selman, L.M.: An Inhalatory method using ovoalbumin and Bordetella pertussis for inducing allergic bronchoconstriction in guinea pigs. Med. Sci. Res., 15: 179-180 (1987).

- 63.- Von, B.H., Fabel, H.: Efecto agudo de contaminantes atmosféricos sobre los pulmones y vías respiratorias de personas de riesgo. Prax.Klin. Pneumol., 41: 108-117 (1987).
- 64.- Wallenstein, S., Zucker, C.L. and Fleiss, J.L.: Some statistical methods useful in circulation research. Circ. Res., 47: 1-9 (1980).
- 65.- Yanai, M.T., Ohuri, T., Aikawa, H., Okayama, K., Sekizawa, K., Maeyama, H., Sasaki, and Takishima, T.: Ozone increases susceptibility to antigen inhalation in allergic dogs. J. Appl. Physiol., 68(60): 2267-2273 (1990)

CUADRO 1

Efecto de la exposición a ozono sobre la  $CE_{50}$  y la contracción máxima a la histamina del tejido traqueal de cobayos normales, con epitelio y sin epitelio. Los valores corresponden al promedio  $\pm$  el error estándar obtenidos para cada grupo experimental

<u>Grupo</u>	<u>n</u>	<u><math>CE_{50}</math></u> ( $\mu\text{g/ml}$ )	<u>Contracción máxima</u> ( g )
TN+	8	10.43 $\pm$ 1.82	1.087 $\pm$ 0.097
TN-	8	2.98 $\pm$ 0.89	1.134 $\pm$ 0.067
TNO <sub>3</sub> +	8	7.36 $\pm$ 0.96	1.181 $\pm$ 0.094
TNO <sub>3</sub> -	8	1.86 $\pm$ 0.42	1.310 $\pm$ 0.085

NS (between TN+ and TN-)  
 NS (between TNO<sub>3</sub>+ and TNO<sub>3</sub>-)  
 \*\* (between TN+ and TNO<sub>3</sub>-)  
 \*\* (between TN- and TNO<sub>3</sub>-)  
 NS (between TN+ and TNO<sub>3</sub>+)  
 NS (between TN- and TNO<sub>3</sub>+)

TN+ = Traqueas normales con epitelio

TN- = Traqueas normales sin epitelio

TNO<sub>3</sub>+ = Traqueas normales expuestas a ozono, con epitelio

TNO<sub>3</sub>- = Traqueas normales expuestas a ozono, sin epitelio

NS = No significativo

\*\* =  $p < 0.01$

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

CUADRO 2

Efecto de la exposición a ozono sobre la  $CE_{50}$  y la contracción máxima a la histamina de las cadenas traqueales con epitelio y sin epitelio, de cobayos asmáticos. Los valores representan al promedio  $\pm$  el error estándar obtenidos para cada condición experimental.

Grupo	n	$CE_{50}$ ( $\mu\text{g/ml}$ )	Contracción máxima ( g )
TA+	9	$13.10 \pm 1.46$	$1.34 \pm 0.101$
TA-	9	$3.29 \pm 0.88$	$1.24 \pm 0.113$
TAO <sub>3</sub> +	6	$9.28 \pm 1.94$	$1.471 \pm 0.241$
TAO <sub>3</sub> -	7	$1.98 \pm 0.22$	$1.79 \pm 0.242$

NS = no significativo  
\*\* = p ( 0.01 )

TA+ = tráqueas de cobayos asmáticos, con epitelio

TA- = tráqueas de cobayos asmáticos, sin epitelio

TAO<sub>3</sub>+ = tráqueas de cobayos asmáticos expuestas a ozono, con epitelio

TAO<sub>3</sub>- = tráqueas de cobayos asmáticos expuestas a ozono, sin epitelio

NS = no significativo

\*\* = p ( 0.01 )

CUADRO 3

Efecto de la exposición a ozono sobre el  $CE_{50}$  y la contracción máxima a la histamina del parenquima pulmonar de cobayos normales y asmáticos. Los valores corresponden al promedio  $\pm$  el error estándar de los resultados obtenidos para cada condición experimental

<u>Grupo</u>	<u>n</u>	<u><math>CE_{50}</math></u> ( $\mu g/ml$ )	<u>Contracción máxima</u> ( mg )
PN	9	2.924 $\pm$ 0.461	109.33 $\pm$ 9.43
PNO <sub>3</sub>	12	1.352 $\pm$ 0.144	144.66 $\pm$ 13.96
PA	14	2.098 $\pm$ 0.313	132.28 $\pm$ 14.24
PAO <sub>3</sub>	10	1.54 $\pm$ 0.255	189.20 $\pm$ 14.40

PN = Parénquimas normales

PNO<sub>3</sub> = Parénquimas pulmonares normales expuestos a ozono,

PA = Parénquimas pulmonares de cobayos asmáticos

PAO<sub>3</sub> = Parénquimas de cobayos sensibilizados, expuestos al ozono

NS = no significativo

\*\* = p ( 0.005

\* = p ( 0.02

## TRAQUEAS COBAYOS NORMALES

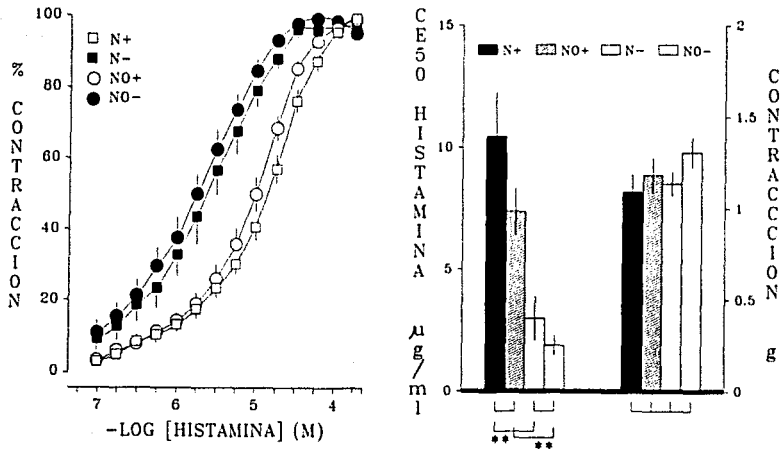


FIGURA 1.

Curvas acumulativas concentración-respuesta a la histamina, de cadenas traqueales de cobayos normales, con y sin epitelio, expuestos y no expuestos a ozono. Efecto del ozono en la  $CE_{50}$  y el porcentaje de contracción máxima.

# TRAQUEAS COBAYOS ASMATICOS

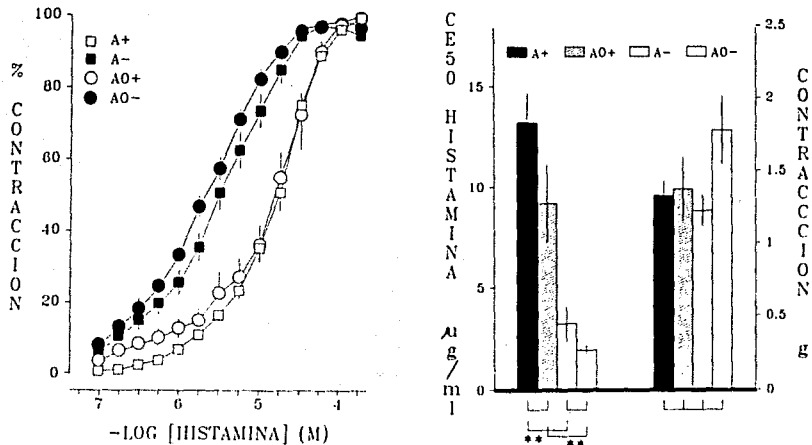


FIGURA 2.

Curvas acumulativas concentración-respuesta a la histamina, de cadenas traqueales de cobayos asmáticos, con y sin epitelio, expuestos y no expuestos a ozono. Efecto del ozono en la CE<sub>50</sub> y el porcentaje de contracción máxima.

# PARENQUIMAS PULMONARES

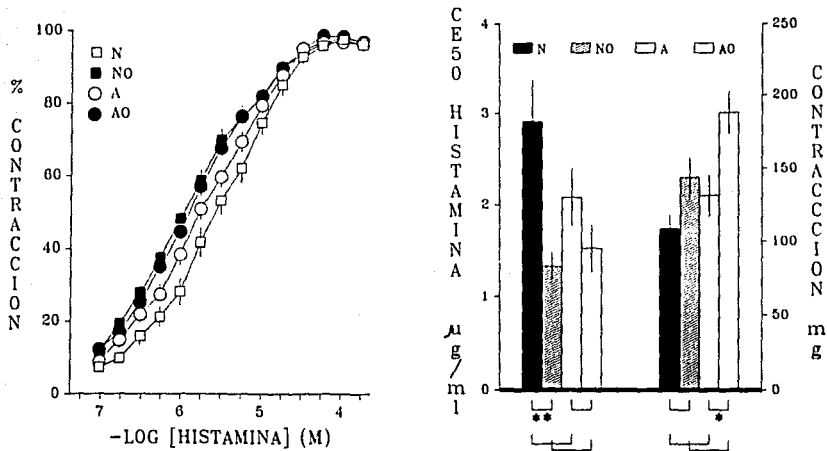


FIGURA 3.

Curvas acumulativas concentración-respuesta a la histamina, de tiras de parénquima pulmonar de cobayos normales y asmáticos, expuestos y no expuestos a ozono. Efecto del ozono en la CE<sub>50</sub> y el porcentaje de contracción máxima.