

Mecanismo de Acción Celular de los Extractos de la Hoja de Hiedra

Resumen objetivo elaborado por el Comité de Redacción Científica de SIIC en base al artículo

In-Vitro-Studien. Ein Beitrag zum Wirkmechanismus von Efeu

de los autores

Häberlein H, Runkel F, Prenner L

integrantes del

Rheinische Friedrich-Wilhelm Universität, Bonn, Alemania

El artículo original fue editado por

Pharmazeutische Zeitung

4, Ene 2005

La α -hederina de la hiedra inhibe la internalización de receptores β_2 en células alveolares tipo 2 y células musculares lisas bronquiales, lo que podría explicar las propiedades secretolíticas y espasmolíticas de este fitofármaco.

El empleo de hierbas medicinales constituye una de las formas más antiguas de tratamiento. Con el objetivo de asegurar su calidad, eficacia y seguridad, antes de ingresar al mercado, cada fármaco debe obtener una licencia. Esto también se aplica a los fitofármacos, que incluyen las preparaciones obtenidas a partir de las hojas de hiedra.

Un extracto herbal es el agente medicinal de una preparación que debe definirse mediante una descripción precisa de su fabricación. Las hojas de la hiedra se emplean como expectorante para los trastornos obstructivos del tracto respiratorio acompañados de tos productiva. Tiene efectos secretolíticos y broncodilatadores. Los estudios clínicos al respecto mostraron una mejoría en determinados parámetros de la función pulmonar medidos con espirometría y pletismografía corporal y en el estado general de los pacientes.

En un estudio comparativo entre el principio activo y placebo, el primero resultó significativamente más efectivo en el aspecto clínico y estadístico respecto de los parámetros de capacidad vital, volumen residual y resistencia respiratoria. Asimismo, estudios toxicológicos y clínicos han demostrado la excelente tolerabilidad de las preparaciones de hiedra. Sólo se observaron efectos colaterales en 0.22% de más de 52 000 niños tratados con jarabe para la tos con extracto de hojas de hiedra. Por lo tanto, este extracto es un expectorante con efectividad probada y excelente tolerabilidad. Su efecto espasmolítico sobre los músculos bronquiales se demostró en cobayos mediante la inhibición de la

broncoconstricción inducida por el factor activador de plaquetas. En consecuencia, el extracto tiene efectos β_2 miméticos que podrían explicar los efectos secretolíticos y broncoespasmolíticos.

Receptores pulmonares β_2

El intercambio gaseoso se produce en los alvéolos pulmonares recubiertos por surfactante, que reduce la tensión superficial, facilita el intercambio gaseoso y el transporte de mucus. Las células alveolares tipo II dentro de cuerpos lamelares producen el surfactante en forma constante que, por excitosis, es transferido a la superficie alveolar. El surfactante es una mezcla de fosfolípidos y proteínas A y D. Cuando la adrenalina se une al receptor β_2 , se activa la enzima adenilatociclasa y aumenta el segundo mensajero AMPc, lo que resulta en la producción de surfactante.

Los receptores β_2 adrenérgicos también se encuentran en células musculares lisas bronquiales y su estimulación produce la disminución de la concentración intracelular de calcio por su acumulación en el retículo sarcoplásmico y por su salida de la membrana celular por canales iónicos. La fosforilación de la miosinquinasa por proteinquinasa (PKA) dependientes de AMPc causa menor activación y conduce a la relajación de los músculos bronquiales.

Regulación de la transducción de la señal

El receptor β_2 adrenérgico –que pertenece a la familia de receptores acoplados a proteína G– está conformado por 7 dominios transmembrana. Luego de la unión de adrenalina al receptor β_2 , se intercambia difosfato de guanosina por trifosfato de guanosina (TPG) en la subunidad α del complejo de proteína G. Luego se separan las subunidades β y γ del complejo de proteína G y la subunidad α unida al TPG viaja dentro de la membrana celular hasta que alcanza a la proteína blanco; por ejemplo, la adenilatociclasa. El TPG la activa para la síntesis del segundo mensajero AMPc.

El complejo del receptor β_2 es fosforilado por fosfoquinasas, como la fosfoquinasa A (PKA) o la quinasa 2 del receptor β -adrenérgico (β ARK o GRK2), y desensibilizado por medio de la unión de componentes del citoesqueleto, como la proteína arrestina. La unión de proteínas citosólicas, como proteína asociada 2 y clatrina, conduce a la acumulación y el atrapamiento de complejos del receptor β_2 -ligando y a la formación de invaginaciones en la membrana celular.

En caso de que la transducción de la señal supere cierta intensidad, el complejo receptor β_2 -adrenalina es internalizado mediante endocitosis. De este modo, se reduce el número de receptores de membrana para prevenir una excesiva transducción de la señal. No obstante, el receptor puede ser posteriormente reciclado y reincorporado a la membrana en caso de una disminución en la concentración de ligando extracelular. Estos mecanismos permiten una transducción óptima de la señal, necesaria para el buen funcionamiento celular. Así, la activación del receptor β_2 inicia una cascada de transducción de la señal antes de que el receptor sea internalizado. Si el receptor permanece en la membrana celular, la adrenalina puede disociarse y el receptor puede activarse nuevamente.

Saponinas del extracto de hojas de hiedra

Los componentes principales de los extractos de la hoja de hiedra son las saponinas oleanólicas, representadas por la hederagenina, la α -hederina y el hederacósido C. La Comisión Europea de Farmacopea estipula un contenido mínimo de 3% de hederacósido C proveniente de las hojas de hiedra. Dado que los estudios realizados no pudieron demostrar un efecto directo adrenérgico β_2 de las saponinas, se ha postulado un efecto β_2 mimético indirecto para explicar los efectos secretolíticos y

broncodilatadores del extracto.

Inhibición de la internalización por α -hederina

Por inmunohistoquímica sobre células alveolares tipo 2 se demostró la internalización de receptores adrenérgicos β_2 . Para ello, las células fueron incubadas con un anticuerpo primario de ratón que reconoce en forma específica al receptor β_2 . Se agregó un anticuerpo secundario de cabra marcado con sustancia fluorescente de color verde dirigido específicamente contra el anticuerpo de ratón para visualizar el complejo receptor β_2 -anticuerpo. De este modo, y mediante el empleo de microscopía de fluorescencia, se visualizaron claramente los receptores β_2 en forma de pequeños puntos color verde.

Mediante el agregado de un agonista específico β_2 (terbutalina, 10 μ M) se detectó la internalización del receptor β_2 en forma de endosomas tempranos (20 minutos), visualizados como grandes puntos fluorescentes de color verde. En contraste, las células control no mostraron internalización de receptores β_2 . Luego de la incubación con 1 μ M de hederina durante 24 horas, las células fueron lavadas con solución amortiguadora y se removió la saponina de la hiedra. Estas células, tras la tinción inmunohistoquímica, no presentaron internalización de los receptores β_2 después de la estimulación con 10 μ M de terbutalina, en comparación con el control positivo. Por lo tanto, α -hederina inhibe la internalización de receptores β_2 en situaciones de estimulación e incrementa la reactividad celular β_2 adrenérgica, dado que la adrenalina se une nuevamente al receptor sobre la superficie celular. Esto fue confirmado mediante exploración de células vivas con láser. Para la detección por este método de receptores β_2 se empleó noradrenalina marcada con tinción fluorescente (10 nM Alexa NA). Transcurridos 20 minutos se observaron picos individuales del complejo receptor β_2 -ligando internalizados, localizados en endosomas tempranos dentro del citoplasma de células vivas. La incubación de estas células con 1 μ M de terbutalina incrementó significativamente el número de receptores β_2 internalizados. Cuando las células fueron preincubadas durante 24 horas con 1 μ M de α -hederina y luego del lavado de saponinas, tratadas con 10 nM Alexa NA y 1 μ M de terbutalina, se detectó sólo un número reducido de picos en el citoplasma luego de 20 minutos, en comparación con el control positivo. Esto significa que los receptores β_2 no fueron internalizados, incluso bajo condiciones de estimulación.

Este efecto no se detectó con hederagenina o hederacósido C.

Significado de los resultados y conclusión

Mediante estudios de inmunohistoquímica y procedimientos biofísicos se demostró la inhibición de la internalización de receptores β_2 en células alveolares tipo 2 por α -hederina in vitro, aun bajo condiciones de estimulación significativa. Como resultado de este efecto indirecto sobre la regulación de los receptores β_2 , aumenta la reactividad β_2 adrenérgica de las células. La estimulación de los receptores β_2 de las células alveolares tipo 2 deriva en una mayor producción de surfactante, que permite licuar el moco viscoso. Este efecto secretolítico también interviene en el alivio de la tos. Luego del estímulo β_2 adrenérgico en las células musculares bronquiales disminuye el nivel de calcio intracelular. En casos de bronquitis, relaja los músculos bronquiales contraídos; esto permite explicar el efecto broncodilatador de la hiedra.

Sólo la α -hederina (no la hederagenina o hederacósido C) inhibió la internalización de receptores β_2 adrenérgicos. No obstante, hederacósido C puede considerarse una prodroga dado que, por la acción de esterasas, in vivo se transforma en α -hederina. Por lo tanto, tiene sentido la exigencia de un contenido de hederacósido C del 3%, aunque esta sustancia en sí no causa un efecto en el proceso regulador del receptor β_2 adrenérgico.

En estudios de absorción realizados en seres humanos se detectó una concentración plasmática de 0.66 μ M de α -hederina. Una concentración de 0.5 μ M fue suficiente para lograr una inhibición de la internalización del receptor del 60%; esto permite concluir que α -hederina posee una adecuada biodisponibilidad. Los resultados obtenidos de estudios en cultivos celulares demostraron un mecanismo de acción de la hiedra a nivel molecular y citobiológico, que refuerza la importancia de los extractos de hiedra como fitofármacos para el tratamiento de enfermedades respiratorias obstructivas acompañadas por tos.