

## Nuevos fármacos en el tratamiento del asma

A. de Diego Damiá

Servicio de Neumología. Hospital Universitario La Fe. Valencia.

En los últimos años, los neumólogos hemos sido testigos de cómo los avances científicos en el conocimiento de los mecanismos patogénicos de una gran parte de las enfermedades respiratorias han derivado en importantes innovaciones terapéuticas, que, en algunos casos, han modificado de forma definitiva el pronóstico de estas patologías. Quizá por este hecho, no es fácil entender por qué el tratamiento del asma, una enfermedad que afecta a un gran porcentaje de la población y en cuyo estudio se han invertido muchos recursos económicos y humanos, se realice hoy día utilizando aún los mismos grupos farmacológicos que hace 20 años, fecha en la que se introdujeron por primera vez los esteroides inhalados en el arsenal terapéutico del asma<sup>1</sup>. Es cierto que, durante este período de tiempo, se han desarrollado modificaciones en algunos de estos grupos con el fin de incrementar su biodisponibilidad o efectividad –beta-2-adrenérgicos de larga duración o nuevos esteroides inhalados–, pero, desgraciadamente, no han aparecido, al menos en la utilización clínica definitiva, nuevos fármacos antiastmáticos.

A pesar de ello, estos años no pueden ser clasificados, precisamente, como un período baldío en el campo del asma. El progreso en el conocimiento de algunos fenómenos patológicos que acompañan a esta enfermedad ha permitido modificar de forma global la interpretación esencial de la patogenia del asma que, en la actualidad, reside fundamentalmente en un tipo especial de inflamación que ocurre en las vías aéreas<sup>2</sup>. La broncoconstricción, que hasta ahora constituía el mecanismo principal, es entendida, al igual que la hiperexcitabilidad bronquial, como una consecuencia más de los diversos procesos patológicos (edema, contracción muscular, infiltración celular, destrucción epitelial, etc.) que acompañan a la inflamación.

Una visión esquemática de este mecanismo patogénico (fig. 1) nos permitirá comprender cuáles son los principales puntos de acción terapéutica que han sido desarrollados en los últimos años y que posiblemente en

un tiempo no muy lejano comenzarán a dar ya sus rendimientos. El concepto de inflamación crónica en el asma, fue introducido en los años ochenta, en función de dos hechos: por un lado, la realización de fibrobronoscopias en pacientes asmáticos, que permitió observar cómo la mucosa bronquial de éstos, presenta signos importantes de edema y eritema, y, por otro, la biopsia bronquial mostraba un incremento significativo de células no residentes (eosinófilos y linfocitos T) junto con alteraciones en la composición normal del epitelio bronquial, endotelio vascular o del número de mastocitos<sup>3</sup>. El estudio *in vitro* de los eosinófilos y mastocitos hizo posible aislar múltiples sustancias que reproducían la mayoría de los procesos inflamatorios del asma. Hoy día, ambas células son consideradas como las efectoras principales en el asma y sus productos son los mediadores entre ellas y los fenómenos de vasodilatación, contracción muscular y destrucción celular<sup>4</sup>. La función de estas células viene regulada por un complejo mecanismo inmunológico en el que intervienen los macrófagos y linfocitos T a través de sus productos mediadores (interleucinas)<sup>5</sup>. El conocimiento de los mecanismos a tra-

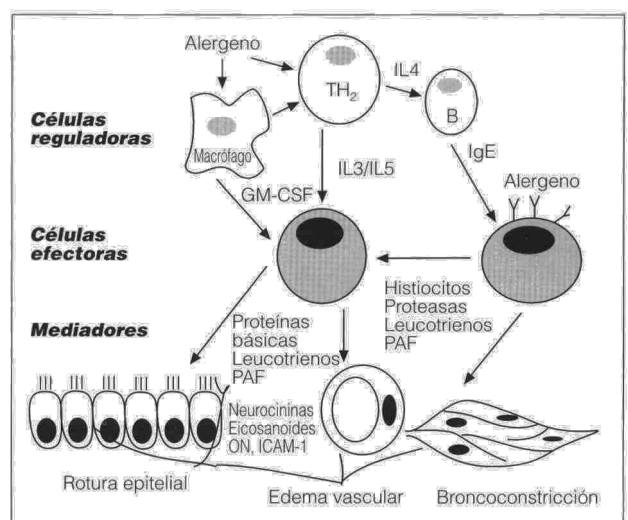


Fig. 1. Esquema del mecanismo inflamatorio en la patogenia del asma. TH<sub>2</sub>: linfocitos TH<sub>2</sub>; B: linfocitos B; GM-CSF: factor estimulante de colonias granulocíticas; ON: óxido nítrico; PAF: factor activador plaquetario; ICAM-1: molécula de adhesión celular.

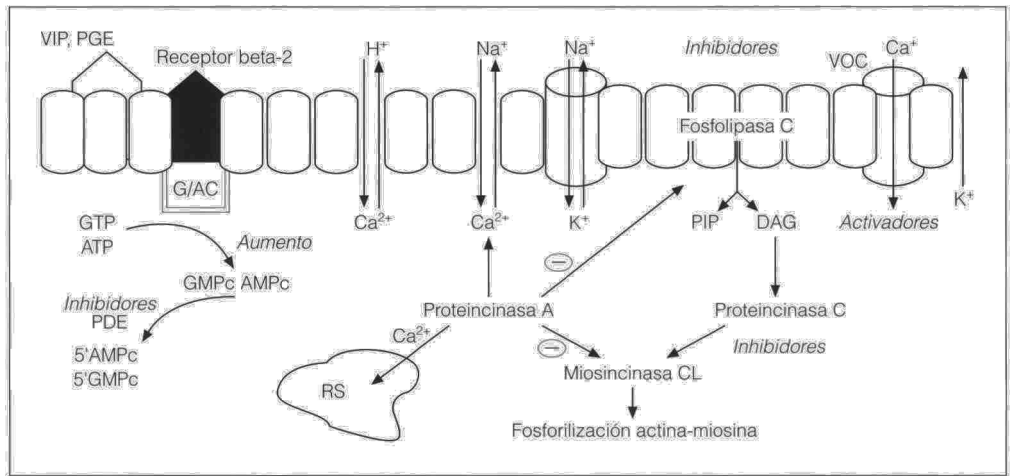
Correspondencia: Dr. A. de Diego Damiá.  
Servicio de Neumología. Hospital Universitario La Fe.  
Avda. Campanar, 21. 46009 Valencia.

Recibido: 12-12-95; aceptado para su publicación: 19-12-95.

Arch Bronconeumol 1996; 32: 357-365



**Fig. 2. Mecanismo de acción de los broncodilatadores en el sistema mensajero del calcio.** VOC: canales operados por voltaje; PIP: fosfoinositol fosfato; DAG: diacilglicerol; PDE: fosfodiesterasa; RS: retículo sarcoplásmico; miosincinasa CL: miosincinasa de cadenas ligeras; G/AC: complejo proteína G-adenilciclase. VIP: péptido intestinal vasoactivo; PGE: prostaglandina E.



vés de los cuales actúan los diversos mediadores en el epitelio bronquial, glándulas secretoras, músculo liso o las terminaciones nerviosas, son precisamente el origen principal del desarrollo de nuevas posibilidades terapéuticas.

De acuerdo con el esquema de la figura 1, el estudio de nuevos fármacos antiasmáticos debe superar la simple división entre broncodilatadores y antiinflamatorios para ampliar la clasificación en los siguientes puntos<sup>6</sup>:

1. Fármacos que actúan directamente sobre el músculo liso: agonistas de receptores betaadrenérgicos, aumento de nucleótidos cíclicos (AMPc y GMPc) y modificación en el sistema mensajero del calcio.

2. Fármacos que actúan sobre las células efectoras de la inflamación: estabilizadores de membrana y bloqueadores de la adherencia celular.

3. Fármacos que modifican los elementos reguladores de la inflamación: inmunomoduladores e inhibidores de las interleucinas.

4. Fármacos que modifican la acción de los mediadores: antihistamínicos, antileucotrienos y antagonistas del tromboxano, antagonistas del factor activador plaquetario (PAF), antagonistas de los mediadores de la inflamación neurogénica y amplificadores de la broncodilatación endógena.

**Fármacos relajadores del músculo liso de la vía aérea (MLVA)**

La relación establecida entre el aumento de calcio intracelular (Ca<sup>2+</sup>) y la contracción muscular lisa ha hecho suponer que el fenómeno opuesto, la relajación, se acompañe de una disminución en dicho *pool* de calcio. En este sentido, los procesos celulares que regulan la concentración de Ca<sup>2+</sup> intracelular son el punto de acción de la mayoría de fármacos broncodilatadores (fig. 2). Los mecanismos principales son: 1) aumento de nucleótidos cíclicos; 2) inhibición de enzimas cataboliza-

doras de nucleótidos cíclicos; 3) acción directa sobre los canales iónicos de membrana que regulan el transporte de calcio, y 4) acción sobre otros mecanismos intracelulares que regulan el Ca<sup>2+</sup>.

Un esquema de los nuevos broncodilatadores se muestra en la tabla I.

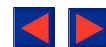
*Agonistas de receptores betaadrenérgicos*

El AMP cíclico (AMPc) es el transductor de señal más importante en la relajación del músculo liso. Este nucleótido es capaz de activar 2 sistemas enzimáticos (proteincinasas A y G), que a su vez, fosforilizan otras enzimas o proteínas encargadas de la inducción y mantenimiento de la contracción, provocando la relajación del MLVA<sup>7</sup>. El grupo farmacológico más efectivo como broncodilatador, los beta-2-adrenérgicos, actúa precisa-

**TABLA I**  
**Fármacos broncodilatadores. Nuevas posibilidades y mecanismos de acción**

<b>Aumento de nucleótidos cíclicos</b>
Receptores beta-2
Salmeterol
Formoterol
Activación proteína G <sub>1</sub>
Análogos del VIP o PGE <sub>2</sub>
Activación guanilatociclase
Nitratos y péptido atrial natriurético, forskolin
Inhibidores de la PDE
PDE III: SK&F 94836, milrinona, benzafentrina, zardaverina
PDE IV: rolipram, tibenelast, denbufilina
PDE V: zaprinast
<b>Antagonistas del calcio</b>
Canales voltaje-operados
Verapamilo, nifedipino, diltiazem
Inhibidores proteincinasa C
Estaurosporina, compuesto H-7
Inhibidores canales iónicos
Amilorida, furosemida, sulfato magnesio
<b>Activadores de los canales de potasio</b>
Cromakalim, lemakalim

VIP: péptido intestinal vasoactivo; PDE: fosfodiesterasa; PGE<sub>2</sub>: prostaglandina E<sub>2</sub>.



mente aumentando el AMPc intracelular. Su acción depende del acoplamiento a un receptor específico de membrana, que, mediante la interacción de una proteína de membrana (proteína G) con el sistema enzimático adenilciclase, cataliza el paso de ATP a AMPc. En los últimos años, la única innovación observada en este grupo ha sido la introducción de beta-2-adrenérgicos de cadena más larga (salmeterol y formoterol) que se unen de forma inespecífica a un exorreceptor de la membrana<sup>8,9</sup>. Este anclaje aumenta la duración del efecto broncodilatador y potencia su efecto protector sobre la broncoconstricción<sup>10</sup>. Se han intentado desarrollar beta-2-adrenérgicos más selectivos, pero existen dudas sobre las ventajas que aportarían, pues la mayoría de efectos secundarios son precisamente consecuencia de su efecto sobre los receptores beta-2.

#### *Fármacos que aumentan la concentración intracelular de nucleótidos cíclicos*

Algunos mediadores, como el VIP (péptido intestinal vasoactivo) o la PGE<sub>2</sub>, son capaces de activar la adenilciclase a través de la proteína G<sub>i</sub> estimuladora. Aunque se han desarrollado análogos sintéticos del VIP que se han mostrado como potentes relajadores *in vitro* del MLVA humano<sup>11</sup>, su efectividad *in vivo* es escasa debido a su dificultad en atravesar el epitelio bronquial o a la rápida degradación enzimática que sufren cuando se administran por vía inhalatoria. La administración sistémica se acompaña, por otro lado, de importantes efectos adversos cardiovasculares que impiden su utilización por esta vía.

Otro nucleótido cíclico que participa en la relajación de las vías aéreas es el GMPc, que se forma por la acción de la enzima guanilatociclase sobre el GTP. Los fármacos que aumentan su concentración intracelular son, por un lado, los nitratos, como el nitroprusiato sódico o el glicerilnitrato y, por otro, el péptido atrial natriurético. Ambos grupos han mostrado efecto broncodilatador cuando se administran por vía sublingual<sup>12</sup> o en infusión venosa<sup>13</sup>, sin embargo, su utilización como antiasmáticos no ha sido aún establecida en ensayos clínicos controlados.

El segundo grupo de broncodilatadores que modifican la concentración intracelular de los nucleótidos cíclicos lo constituyen los inhibidores de la fosfodiesterasa (PDE). Esta enzima es la encargada del catabolismo de los nucleótidos cíclicos transformándolos en sus metabolitos inactivos 5'AMPc o 5'GMPc. En la actualidad, se sabe que las fosfodiesterasas constituyen un grupo heterogéneo de isoenzimas, de las que se han descrito hasta 7 clases, cada una de las cuales tiene varias isoformas<sup>14</sup>. Aunque todas ellas están ampliamente distribuidas, son las isoenzimas III y IV, y en algunos casos la V, las que más intervienen en la relajación del MLVA. El conocimiento de su función y su potencial acción terapéutica ha sido posible en los últimos años gracias al desarrollo de fármacos que producen inhibición específica de cada una de estas isoenzimas. Tanto el SK&F 94836 como la milrinona son los principales inhibidores de la PDE III. Ambos fármacos poseen escaso efecto broncodilatador y

presentan como problema los efectos secundarios cardiológicos debidos a su acción inotrópica y vasodilatadora<sup>15</sup>. La PDE IV interviene además en la formación de mediadores en células inflamatorias, y su inhibición ha sido señalada también como mecanismo antiinflamatorio. Entre los fármacos inhibidores de la PDE IV se encuentran el rolipram, el tibenelast y la denbufilina. El rolipram sólo relaja el tono bronquial espontáneo a concentraciones altas pero es un potente relajador sobre tono inducido<sup>16</sup>. El tibenelast, en una dosis única de 150 mg, produjo un ligero aumento, aunque no significativo, del FEV<sub>1</sub> en un grupo de 40 asmáticos<sup>17</sup>. Se han desarrollado inhibidores no selectivos que modifican a la PDE III y PDE IV como la zardaverina o la benzafeintrina, pero su utilización se acompaña de importantes efectos gastrointestinales. Benzafeintrina produce broncodilatación si se administra por vía i.v. pero es inefectiva por vía oral. El zaprinast es un inhibidor de la PDE V que disminuye la broncoconstricción inducida por el esfuerzo en un grupo de asmáticos<sup>18</sup> pero carece de efecto en la broncoconstricción inducida por histamina.

#### *Fármacos que actúan sobre el sistema mensajero del calcio*

El contenido de Ca<sup>2+</sup> intracelular, como paso previo a la relajación, puede verse disminuido por la acción de fármacos que dificultan el transporte de iones a través de la membrana. Los antagonistas de los canales de calcio dependiente del voltaje como el verapamilo, diltiazem o nifedipino se comportan *in vitro* como relajantes del MLVA, tanto en preparados humanos como en modelos animales de asma experimental<sup>19</sup>. Su utilización clínica, sin embargo, no ha mostrado la eficacia que ha tenido en otros tipos de musculatura lisa como es el caso del sistema vascular. En pacientes asmáticos, este grupo farmacológico carece de efecto broncodilatador y sólo produce un discreto efecto protector frente a la broncoconstricción inducida<sup>20</sup>. Además, resulta poco útil la búsqueda de nuevos antagonistas con acción antiasmática, ya que todos ellos tienen efectos vasculares secundarios.

Los activadores de los canales de potasio, como el cromakalim (BRL 3491) o su enantiómero activo, el lemakalim (BRL 38227), son relajadores potentes del tono espontáneo e inducido del MLVA<sup>21</sup>. Al igual que ocurre con los antagonistas del calcio, cuando se emplean *in vivo* no tienen efecto broncodilatador ni protegen frente a la broncoconstricción. El cromakalim, a dosis de 0,25 y 0,5 mg, sólo ha sido efectivo en el asma nocturna<sup>22</sup>, donde disminuye el descenso matutino del FEV<sub>1</sub>. Su inconveniente principal son las cefaleas y la hipotensión postural. En la actualidad, se están diseñando activadores más selectivos y activos por vía inhalatoria con el fin de disminuir sus efectos secundarios.

Las posibilidades terapéuticas que abre la acción sobre el sistema mensajero del calcio no terminan en los canales iónicos, tanto la inhibición de la bomba de sodio por el amiloride, como los anticalmodulínicos, o la inhibición de la proteincinasa C con estaurosporina o el H-7<sup>23</sup>, son mecanismos que producen broncodilatación



in vitro y que pueden ser la vía de entrada para nuevos fármacos que se encuentran aún en fase experimental.

### **Fármacos que actúan sobre las células efectoras de la inflamación**

#### *Estabilizadores de membrana*

Desde la incorporación del grupo farmacológico de las cromonas, que incluyen al cromoglicato disódico y al nedocromil sódico, no han existido nuevos fármacos capaces de actuar sobre la membrana de mastocitos o eosinófilos, impidiendo la interacción de receptores como mediadores. La investigación de sustancias, análogas al receptor IgE, podrá modular, en un futuro, la respuesta alérgica dependiente de IgE.

#### *Bloqueadores de la adherencia celular*

La superficie de las células epiteliales de las vías aéreas contiene, en su porción basal, una serie de moléculas que desempeñan un papel importante en la regulación de la quimiotaxis celular al interior de la luz bronquial y que reciben el nombre de moléculas de adherencia intercelular (ICAM-1). Su expresión, medida con técnicas inmunológicas, aumenta durante los fenómenos inflamatorios en respuesta a la acción de algunos mediadores a interleucinas<sup>24</sup>. Anticuerpos monoclonales frente a ICAM-1 han sido utilizados en modelos experimentales animales y se ha visto que reducen la infiltración de eosinófilos y el grado de HRB<sup>25</sup>. No obstante, su utilidad clínica en el momento actual resulta muy escasa debido al efecto inmunosupresor que presentan. Otras moléculas de adherencia celular más específicas en la regulación de eosinófilos como son el VCAM-1 o el antígeno 4 de activación tardía (VLA-4), podrían obviar, en un futuro, este problema.

### **Fármacos que actúan sobre los elementos reguladores de la inflamación**

#### *Inmunomoduladores*

La importancia de los mecanismos inmunológicos en la patogenia del asma ha sido descrita ampliamente en numerosos estudios. A partir de los análisis realizados en biopsias bronquiales y lavado broncoalveolar de pacientes con asma bronquial<sup>26</sup>, se sabe que las vías aéreas inflamadas presentan un predominio de linfocitos TH<sub>2</sub>. Estas células, junto a las interleucinas (IL) que sintetizan, forman el eje central que regula toda la inflamación alérgica en el asma que incluye la formación de IgE por parte de linfocitos B y la quimiotaxis de otras células inflamatorias. Precisamente, uno de los mecanismos principales mediante los cuales se justifica la acción antiinflamatoria de los esteroides es su capacidad de inmunosupresión y, el grupo farmacológico que actúa a este nivel, ha sido también denominado como agente ahorrador de esteroides, dada la amplia utilización de éstos.

Las sales de oro constituyen uno de los primeros fármacos inmunomoduladores que se comenzaron a experimentar. Su utilización en el asma, al igual que ocurría en la artritis reumatoide, perseguía inhibir la actividad inflamatoria. Las sales de oro inhiben la liberación mediada por IgE de los mastocitos. Aunque algunos estudios han mostrado una reducción en la dosis de esteroides, no existe aún un acuerdo sobre sus posibles efectos beneficiosos<sup>27</sup>.

La ciclosporina A inhibe la activación de los linfocitos T y la liberación de interleucinas. En otras enfermedades inmunológicas su empleo está muy extendido. En pacientes asmáticos, se ha comprobado que la administración diaria durante 36 semanas de 5 mg/kg produce un aumento en el flujo espiratorio máximo (FEM) y una disminución en la dosis de esteroides<sup>28</sup>. Su utilización se acompaña de importantes efectos secundarios, derivados de la inmunosupresión, que hacen que esta terapia únicamente esté indicada en casos muy concretos de resistencia a esteroides.

El metotrexato es otro fármaco inmunosupresor cuya utilidad en el tratamiento del asma no ha sido aún definida. Algunos estudios han mostrado su eficacia como agente ahorrador de esteroides, pero otros estudios no encuentran diferencias con respecto al placebo<sup>29,30</sup>.

La hidroxycloquina es un inhibidor de la fosfolipasa A<sub>2</sub>. En un estudio abierto realizado en pacientes asmáticos, la administración oral de 300-400 mg/día durante 28 semanas produjo una mejoría en los síntomas, función respiratoria y dosis necesaria de esteroides<sup>31</sup>.

En este mismo grupo de inmunomoduladores se incluyen la colchicina y las inmunoglobulinas intravenosas. La colchicina inhibe la liberación de LTB<sub>4</sub> e IL1 por parte de linfocitos; aunque algunos estudios tratan de demostrar su eficacia en el asma<sup>32</sup>, ésta no ha sido bien establecida. En un trabajo que analizaba los efectos de la administración de inmunoglobulinas intravenosas en sujetos asmáticos se observó una disminución en la utilización de esteroides y una mejoría en el FEM y los síntomas<sup>33</sup>. La ausencia de nuevos estudios hace que la eficacia de este tratamiento tampoco esté comprobada.

#### *Inhibidores de las interleucinas*

Son varias las interleucinas que participan en la regulación de la respuesta inflamatoria en el asma; de todas ellas, las IL3, IL4 e IL5, producidas por los linfocitos CD4+, y el factor GM-CSF liberado por los macrófagos, constituyen las interleucinas que con mayor frecuencia han sido implicadas en los mecanismos patogénicos del asma. Otras interleucinas como la IL6 e IL8 son formadas por el propio epitelio de las vías aéreas y su efecto aún no ha sido aclarado definitivamente. Debido a su rápida metabolización, la investigación de fármacos que inhiban las interleucinas resulta muy dificultosa. La utilización de nucleótidos *antisense* que inactivan el ARN puede ser la línea de desarrollo en el futuro. Otras posibilidades como la IL1 recombinante o anticuerpos anti-IL5 están en fase de estudio<sup>34</sup>.

## Fármacos que modifican la acción de los mediadores

### Antihistamínicos

La histamina es un mediador autacoide que tiene un papel fundamental en la patogenia del asma, especialmente en la respuesta inmediata que se produce tras la inhalación del alérgeno o con el esfuerzo. Este mediador, cuya concentración sérica o en el lavado broncoalveolar se encuentra aumentada en las enfermedades alérgicas, se sintetiza y libera en los mastocitos y basófilos de las vías aéreas. Los efectos biológicos se ejercen a través de diversos tipos de receptores:  $H_1$ ,  $H_2$  y  $H_3$ . La activación de los receptores  $H_1$  estimula la formación de nucleótidos cíclicos y productos derivados del ácido araquidónico, favoreciendo la contracción del MLVA y la liberación de otros mediadores de la inflamación; su inhibición se ve acompañada de una disminución en la liberación de histamina por parte de mastocitos. Los receptores  $H_3$  se localizan en las fibras colinérgicas posganglionares donde inhiben la liberación de acetilcolina. También se encuentran en receptores presinápticos donde inhiben la liberación de taquicínina de las fibras C. Este último mecanismo explica la frecuente acumulación de mastocitos alrededor de las fibras C.

El empleo de antihistamínicos en el asma ha sido motivo de controversia. Los antihistamínicos clásicos (difenhidramina, cinnarizina, prometazina o ketotifeno) provocaban la aparición de efectos sedativos y sequedad de mucosas, por lo que su eficacia clínica era escasa. Los antihistamínicos de segunda generación presentan una mayor selectividad y seguridad. En un estudio, controlado con placebo, se observó que terfenadina, astemizol, cetirizina y ciproheptadina producen mejoría en el grado de broncoespasmo al tiempo que protegen frente a histamina<sup>35</sup>. De todos ellos, la cetirizina es el antihistamínico que, en la mayoría de estudios, presenta un efecto protector mayor sobre la HRB inducida por histamina<sup>36</sup>; sin embargo, carece de efecto frente a la broncoconstricción inducida por la inhalación de PAF<sup>37</sup>, metacolina, esfuerzo o en la respuesta inmediata tras la provocación con alérgenos<sup>38</sup>. En estudios clínicos prolongados, la cetirizina reduce los síntomas asmáticos en pacientes con asma asociada a rinitis estacional<sup>39</sup>, si bien es posible que esta mejoría fuese debida a sus efectos nasales.

### Antileucotrienos

Entre todos los grupos farmacológicos con acción antiasmática que se han desarrollado en los últimos años, los inhibidores de los leucotrienos, constituyen, sin duda alguna, el grupo experimentalmente más avanzado; de hecho, alguno de ellos (pranlukast) ya está siendo comercializado en fase III en algunos países como Japón. La administración de antileucotrienos en fase clínica ha permitido demostrar que son capaces de disminuir los síntomas asmáticos, mejorar la función respiratoria y disminuir la utilización de medicación broncodilatadora de rescate. No obstante, faltan estudios comparativos que demuestren mayor eficacia y seguridad con respecto a los esteroides inhalados, que son

en la actualidad los antiinflamatorios de referencia para cualquier grupo nuevo de fármacos antiasmáticos. Una de las ventajas principales de los antileucotrienos es su utilización oral, lo que permite un mejor cumplimiento de la medicación.

Los leucotrienos fueron descritos en el año 1979 por 3 grupos científicos distintos<sup>40</sup>, comprobándose que biológicamente se correspondían con la sustancia de reacción lenta de la anafilaxia (SRS-A) descrita hace ya muchos años en el sobrenadante de pulmones de cobaya cuando eran estimulados con veneno de cobra. Los leucotrienos, denominados así porque se aislaron a partir de leucocitos, se sintetizan a partir de la oxidación de lípidos de membrana<sup>41</sup>, concretamente el ácido araquidónico, por la acción de la 5-lipooxigenasa (5-LO) (fig. 3). Esta enzima, que se encuentra en el citosol, requiere para su activación de calcio y una proteína activadora (FLAP) situada en la membrana citoplasmática. La 5-LO se inactiva de forma irreversible tras la oxidación. Su acción conduce a la formación de un epóxido inestable, el  $LTA_4$ , que es rápidamente transformado en 2 mediadores distintos.

La hidrólisis del  $LTA_4$  conduce a la formación de  $LTB_4$ , que se sintetiza principalmente en los neutrófilos y, en menor cantidad, por mastocitos o eosinófilos. Ejerce una acción quimiotáctica sobre los neutrófilos. La concentración sérica se encuentra aumentada en pacientes asmáticos pero su inhalación no produce broncoconstricción<sup>42</sup>.

La segunda vía metabólica incluye la formación de  $LTC_4$  por la acción de la glutatión-sintetasa. El  $LTC_4$  es transportado fuera de la célula donde se transforma en  $LTD_4$  y  $LTE_4$  por la acción de la gammaglutamiltranspeptidasa y otras dipeptidasas. El  $LTE_4$  se excreta por la orina y su concentración sirve para estudiar la importancia de los leucotrienos<sup>43</sup>. Se encuentran principalmente en mastocitos y eosinófilos. En realidad, las SRAs

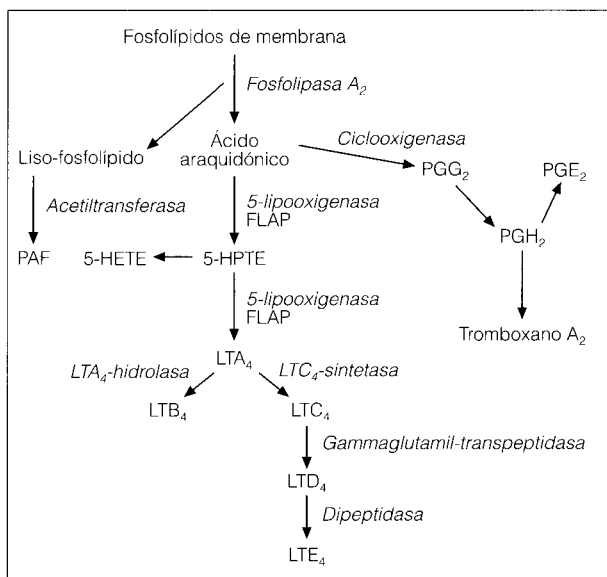
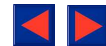


Fig. 3. Formación metabólica de los productos derivados de los fosfolípidos de membrana. PAF: factor activador plaquetario.



corresponde a la acción tanto del LTC<sub>4</sub>, como LTD<sub>4</sub> y LTE<sub>4</sub> que son definidos conjuntamente como sulfidopéptidos o cisteinil-leucotrienos. Estos mediadores son capaces de producir contracción in vitro del MLVA tanto de animales de experimentación como en preparados humanos<sup>44</sup>. La inhalación de LTD<sub>4</sub> produce broncoconstricción tanto en sujetos normales como en pacientes con asma, siendo la respuesta mayor en estos últimos<sup>45</sup>. La acción de los leucotrienos en el bronquio humano se debe a la estimulación de receptores específicos del LTD<sub>4</sub>. Además de su efecto broncoconstrictor, también producen un aumento en la permeabilidad vascular, secreción mucosa y un aumento en la HRB.

La importancia de estos mediadores en el asma viene dada por diversas razones: 1) los leucotrienos son capaces de reproducir in vitro todos los mecanismos patogénicos del asma; 2) la producción de leucotrienos por parte de leucocitos de pacientes asmáticos se encuentra aumentada con respecto a los controles normales<sup>46</sup>, y 3) la concentración de leucotrienos en suero, orina o lavado broncoalveolar (LBA) se ve aumentada tras la provocación alérgica y en la agudización asmática<sup>47</sup>. La utilización de fármacos antagonistas específicos ha permitido conocer con mayor profundidad la importancia que estos mediadores tienen en el asma.

Los fármacos antileucotrienos se dividen en dos grandes grupos dependiendo de su lugar de acción; por un lado, estarían los antagonistas de receptores de leucotrienos y, por otro, los inhibidores de la 5-LO.

*1. Antagonistas de receptores de leucotrienos.* Comprenden a su vez los siguientes grupos:

*a) Análogos estructurales del LTD<sub>4</sub> o LTE<sub>4</sub>:* entre ellos se encuentran el SKF 104353 y LY 170680 que son capaces de inhibir la broncoconstricción inducida por leucotrienos, pero no tienen biodisponibilidad oral, por lo que su utilidad se ve disminuida.

*b) Aminas heretocíclicas indólicas:* accolate o zafirlukast (ICI 204219) e ICI 198615. Son el grupo más efectivo frente a la broncoconstricción inducida por leucotrienos, PAF, esfuerzo<sup>48</sup> (inhiben la respuesta al 50%) o provocación con alérgenos<sup>49</sup> (producen una inhibición del 20%). Se pueden administrar por vía oral. En pacientes asmáticos, Hui y Barnes<sup>50</sup> demostraron que la administración de una dosis única de 40 mg produce un aumento en el FEV<sub>1</sub> (8%) a las 2 horas de su administración. Este efecto, además, es independiente de la relajación del MLVA, pues la administración posterior de beta-2-adrenérgicos produce un efecto broncodilatador adicional. Accolate inhibe la respuesta broncoconstrictora temprana y tardía inducida por alérgeno<sup>51</sup>, así como la HRB secundaria producida tras la inhalación del alérgeno. Cuando se administra por vía inhalatoria únicamente inhibe la respuesta temprana, debido probablemente a su rápida metabolización en las vías aéreas<sup>52</sup>. En estudios clínicos más prolongados y controlados por placebo, se ha podido observar que, en pacientes asmáticos, la administración oral de 20 mg/día durante 6 semanas produce una mejoría significativa en los síntomas, FEM matutino y síntomas nocturnos<sup>53</sup>.

*c) Antagonistas quinolínicos:* MK571, pranlukast (ONO 1078) y verlukast (MK679). En pacientes con asma estable, determinan atenuación de la broncoconstricción inducida por esfuerzo e inhiben la respuesta temprana y tardía frente al antígeno inhalado. La administración oral única (750 mg) de MK679 produce una mejoría del 18% en el FEV<sub>1</sub> en enfermos con asma sensible a la aspirina<sup>54</sup>. El pranlukast produce una disminución pequeña, pero significativa, en la HRB secundaria tras provocación con alérgeno después de una semana de administración<sup>55</sup> (125 mg/12 h). En los ensayos clínicos más prolongados también se han mostrado efectivos; así, la administración oral durante 6 semanas de MK571 en pacientes con asma moderada disminuyó en un 30% los síntomas y la utilización de medicación de rescate, al tiempo que mejoraba el FEV<sub>1</sub> en un 15%<sup>56</sup>.

## *2. Inhibidores de la 5-lipooxigenasa.*

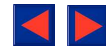
*a) Inhibidores redox.* La 5-LO es una enzima redox, que contiene hierro. Su inactivación por mecanismos redox tiene el inconveniente de su falta de especificidad al actuar también sobre otros sistemas enzimáticos, como la ciclooxigenasa, y de producir metahemoglobinemia. En este grupo no hay experiencia clínica.

*b) Análogos del ácido araquidónico* como los acetohidroxamatos (BWA 4c) o las N-hidroxiureas (zileuton A-64077). En asmáticos, el zileuton en una dosis única de 800 mg oral atenúa de forma significativa la broncoconstricción inducida por el frío y produce una mejoría en el FEV<sub>1</sub> del 14,6%<sup>57</sup>. En otros estudios<sup>58</sup>, se ha visto que su administración produce una mejoría en el FEV<sub>1</sub> del 21% que se mantiene a las 2 horas y que persiste igual después de su empleo durante 13 semanas. Aunque se muestra efectivo en el asma sensible a la aspirina, carece de efecto frente a la broncoconstricción inducida por el alérgeno<sup>59</sup>. En el asma clínico, la administración de zileuton durante 4 semanas (1,6 o 2,4 g/día) produjo una mejoría significativa en el FEV<sub>1</sub> y FVC que era máxima a las 2 semanas, también existían diferencias significativas con el grupo placebo con respecto a los síntomas, uso de medicación de rescate y FEM matutino<sup>60</sup>.

*c) Inhibidores no redox.* ICI 211965, ICI 16800 e ICI D2138 tienen el inconveniente de su falta de biodisponibilidad oral, por lo que apenas han sido experimentados en el asma clínico.

*d) Inhibidores del FLAP.* MK591, MK886 Bay X 1005, WY 50295. Constituyen un nuevo grupo que se ha desarrollado solo recientemente. Se ha demostrado que MK591 y MK886 reducen la respuesta broncoconstrictora temprana y tardía tras inhalación del alérgeno, pero no disminuyen la HRB secundaria. En un estudio clínico realizado en pacientes con esteroides inhalados, la adición de MK591 durante 4 semanas produjo una mejoría en el FEV<sub>1</sub>, FEM matutino y medicación de rescate<sup>61</sup>.

Uno de los problemas principales que presenta la utilización clínica de los antileucotrienos es la aparición



de posibles efectos tóxicos. Los leucotrienos son unos mediadores que intervienen en múltiples vías fisiológicas y, por tanto, su inhibición prolongada podría tener efectos adversos. Hasta el momento, la mayor frecuencia de efectos adversos descritos se dan a nivel hepático y no son específicos de clase, sino que han aparecido sólo con algunos leucotrienos. Por otro lado, en estudios experimentales en ratas desprovistas genéticamente de 5-LO no se observan alteraciones fisiológicas a largo plazo; es de esperar que estudios clínicos más prolongados puedan disipar esas dudas.

#### *Antagonistas del factor activador plaquetario*

El PAF es un fosfolípido de membrana formado por la acción de la fosfolipasa  $A_2$  y que recibe este nombre por aislarse en el sobrenadante de plaquetas. La investigación experimental con PAF reproduce los efectos inflamatorios que acontecen en el asma: edema vascular, aumento de la permeabilidad epitelial, reclutamiento de eosinófilos e hiperreactividad del MLVA. El hecho de que la concentración del PAF o sus metabolitos se encuentre aumentada en el LBA de pacientes asmáticos hace suponer que este mediador puede tener un papel importante en la patogenia del asma<sup>62</sup>. También se produce un incremento en las concentraciones séricas de PAF después de la provocación con alérgeno. La administración de PAF produce broncoconstricción tanto en sujetos asmáticos como en sanos, pero sólo induce HRB en los no asmáticos<sup>63</sup>. Los estudios clínicos con antagonistas del PAF han mostrado resultados contradictorios: mientras el pretratamiento (3 días) con la administración oral de BN 5063 en asmáticos inhibe la broncoconstricción tras provocación con alérgeno o el esfuerzo<sup>64</sup>, otros trabajos no encuentran diferencias tras la administración más prolongada. Otro antagonista más potente, el apafant (WEB 2086), produce una inhibición de la broncoconstricción inducida por PAF<sup>65</sup>. La utilización de la vía inhalatoria no se ha mostrado eficaz. En estudios a largo plazo (12 semanas) con el empleo de WEB 2086 tampoco se observaron diferencias con respecto a placebo en el efecto ahorrador de esteroides<sup>66</sup>. El Y-24180 es un antagonista 10 veces más potente que el WEB 2086 y ejerce un efecto más prolongado. La administración oral durante 2 semanas de Y-24180 produjo una mejoría en el grado de HRB frente a la metacolina en pacientes asmáticos pero no modificaba el grado de obstrucción basal<sup>67</sup>.

#### *Antagonistas del tromboxano*

El tromboxano  $A_2$  ( $TxA_2$ ) es un mediador inflamatorio que se forma, junto con las prostaglandinas, por la acción de la ciclooxigenasa sobre los fosfolípidos de membrana; su acción es mediada por receptores  $TxA_2$ , que son activados tanto por dicho prostanoide como por otras prostaglandinas. Este grupo incluye a los antagonistas del receptor y los inhibidores de la  $TxA$  sintetasa. Entre estos últimos, se encuentra el OKY-046 (ozagrel) que produce una inhibición moderada de la broncoconstricción inducida por alérgeno. Los antagonistas del re-

ceptor más conocidos son el GR32191 y el ICI 92605. Aunque el GR32191 inhibe la broncoconstricción inducida por alérgeno, su administración más prolongada durante 4 semanas no modifica los síntomas asmáticos o los valores de FEM<sup>68</sup>. Otro antagonista, el BAY u 3405 está siendo analizado en la actualidad.

#### *Antagonistas de los receptores de las neurocininas*

Las cininas son péptidos vasoactivos formados durante la respuesta inflamatoria por la acción de la kaliceína y otras cininogenasas sobre las alfa-2-globulinas séricas. La inhalación de bradicinina en pacientes asmáticos produce broncoconstricción y su concentración en LBA aumenta tras la provocación alérgica<sup>69</sup>. La bradicinina interacciona con diversos receptores BK2 que se encuentran en las células endoteliales vasculares, epitelio bronquial y en el MLVA. Interviene en la reacción inflamatoria neurogénica y es metabolizada por peptidasas como la endopeptidasa neutral. En la actualidad, se han desarrollado diversos antagonistas de los receptores BK2 como son el HOE 140, o el NPC 16731, pero aún se encuentran en fase de experimentación animal.

La regulación del tono bronquial del MLVA depende no sólo del sistema nervioso autónomo adrenérgico o colinérgico, sino también de un tercer sistema denominado no adrenérgico no colinérgico (NANC), en el que intervienen diversos neuropéptidos que son liberados bien sea de terminaciones sensoriales (fibras C) o de células neuroendocrinas. Entre estos neuropéptidos se encuentran la neurocinina A, sustancia P y el péptido relacionado con el gen de la calcitonina. Los efectos inflamatorios de las neurocininas son mediados por los receptores NK1. Un antagonista de este receptor, el CP96345, se está desarrollando en la actualidad. Los opioides inhiben la liberación de estos neuropéptidos y, de hecho, se ha visto que alguno de estos opioides sin efectos centrales (BW443C) puede reducir la secreción mucosa y la inflamación neurogénica, si bien no se ha mostrado eficaz en la obstrucción basal<sup>70</sup>.

#### *Amplificadores de la broncodilatación endógena*

El óxido nítrico (ON) es un producto altamente reactivo e inestable que se produce por la acción de la ON sintetasa sobre la L-arginina. La síntesis tiene lugar principalmente en el epitelio de las vías aéreas y en algunas células inflamatorias, como los macrófagos. En la actualidad sabemos que el ON corresponde al factor relajante derivado del epitelio cuya existencia había sido descrita en diversos trabajos de investigación<sup>71</sup>.

La ON sintetasa, de la que se han descrito 2 tipos, desempeña un papel fundamental en su regulación: la forma constitutiva es dependiente del calcio y se activa por estímulos físicos o por la activación de receptores para el PAF, bradicinina, histamina o acetilcolina. La forma inducible es independiente del calcio y se activa por la acción de mediadores derivados de los macrófagos.

El ON tiene efectos relajadores a nivel del bronquio y vascularización y actúa como neurotransmisor en el sistema NANC. El efecto broncodilatador se produ-



ce por aumento del GMPc. En pacientes asmáticos existe un aumento en el ON exhalado que disminuye con la pérdida del epitelio<sup>72</sup>. El aumento tiene lugar a expensas de un incremento de la ON sintetasa inducible y sería expresión de una mayor actividad inflamatoria en las vías aéreas. Las concentraciones altas de ON pueden ser citotóxicas y afectar al epitelio, perpetuando la inflamación. La inhibición de la ON sintetasa mediante el empleo de análogos de la L-arginina no produce sin embargo modificaciones en los patrones espirométricos<sup>73</sup>.

## Conclusiones

La investigación básica en los últimos años en el campo del asma ha sido el eje primario que ha modificado las pautas terapéuticas en el asma. La instauración del tratamiento antiinflamatorio en las primeras fases de la enfermedad, fundamentalmente con esteroides inhalados, ha disminuido significativamente la morbilidad del asma. A pesar de ello, aún resulta necesario disponer, en muchos casos, de otras alternativas terapéuticas que puedan suplir la ausencia de respuesta al tratamiento o la mala cumplimiento que muchos enfermos tienen con la medicación inhalada. En este sentido, la posibilidad de desarrollar nuevos fármacos antiasmáticos, imprevisible hace sólo unos años, ha abierto nuevas perspectivas en el tratamiento del asma. La comercialización de los antileuco-

trienos, que va a tener lugar en los próximos años, representa la punta de iceberg de lo que puede ser una nueva etapa en el campo de los antiinflamatorios con una actuación más selectiva a nivel de mediadores (tabla II). En el campo de los broncodilatadores, sin embargo, no va a resultar fácil encontrar nuevos fármacos al menos tan eficaces como los beta-2-adrenérgicos.

## BIBLIOGRAFÍA

- Morrow-Brown H, Storey G, George WHS. Beclomethasone dipropionate: a new steroid aerosol for the treatment of allergic asthma. *Br Med J* 1972; 1: 585-590.
- Kay AB. Asthma and inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 1991; 87: 893-910.
- Bentley AM, Menz G, Storz C et al. Identification of T-lymphocytes, macrophages and activated eosinophils in the bronchial mucosa in intrinsic asthma: relationship to symptoms and bronchial responsiveness. *Am Rev Respir Dis* 1992; 146: 500-506.
- Bousquet J, Chanez P, Lacoste JY et al. Eosinophilic inflammation in asthma. *N Engl J Med* 1990; 323: 1.033-1.039.
- Kelley J. Cytokines of the lung. *Am Rev Respir Dis* 1990; 141: 765-768.
- Frew A. Asking the right questions in asthma. *Quaeritur: Inflammation Focus Y. Eur Respir Review* 1994; 4: 24.
- Knox AJ, Tattersfield AE. Airway smooth muscle relaxation. *Thorax* 1995; 50: 894-901.
- Ullman A, Svedmyr N. Salmeterol, a new long-acting inhaled  $\beta_2$  adrenoceptor agonist: a comparison with salbutamol in asthmatic patients. *Thorax* 1988; 43: 674-678.
- Arvidsson P, Larsson S, Löfdhal CG et al. Formoterol: a new long acting bronchodilator for inhalation. *Eur Respir J* 1989; 2: 325-330.
- Cheung D, Timmers MC, Zwinderman A, Bel E et al. The prolonged effects of salmeterol on airway hyperresponsiveness in asthma. *N Engl J Med* 1992; 327: 1.198-1.203.
- Palmer JBD, Cuss FMC, Barnes PJ. VIP and PHM and their role in nonadrenergic inhibitory responses in isolated human airways. *J Appl Physiol* 1986; 61: 1.322-1.328.
- Okayama M, Sasaki H, Takishima T. Bronchodilator effect of sublingual isosorbide dinitrate in asthma. *Eur J Clin Pharmacol* 1984; 26: 151-155.
- Hirschleier L, Arora Y. Nitrates in the treatment of bronchial asthma. *Dis Chest* 1961; 39: 275-283.
- Rabe KF, Tenor H, Dent G et al. Phosphodiesterase isoenzymes modulating inherent tone in human airways: identification and characterization. *Am J Physiol* 1993; 264: 458-464.
- Torphy T, Udem B. Phosphodiesterase inhibitors: new opportunities for the treatment of asthma. *Thorax* 1991; 46: 512-523.
- Rabe KF, Magnussen H, Dent G. Theophylline and selective PDE inhibitors as broncodilators and smooth muscle relaxants. *Eur Respir J* 1995; 637-642.
- Israel E, Mathur PN, Tashkin D et al. LY 186655 prevents bronchospasm in asthma of moderate severity [resumen]. *Chest* 1988; 94: 71.
- Rudd RM, Gellert AR, Studdy PR et al. Inhibition of exercise-induced asthma by an orally absorbed mast stabiliser (M & B 22,948). *Br J Dis Chest* 1983; 77: 78-86.
- Barnes PJ. Calcium-channel blockers and asthma. *Thorax* 1983; 38: 481-485.
- Perpiñá M, Pellicer C, Marco V. Nifedipine decreases sensitivity and reactivity to methacholine in mild asthmatics. *Respiration* 1987; 51: 49-57.
- Black JL, Armour C, Johnson A et al. The action of a potassium channel activator, BRL 38227 (lemakalim) on human airway smooth muscle. *Am Rev Respir Dis* 1990; 142: 1.384-1.389.
- Williams AJ, Lee TH, Cochrane GM et al. Attenuation of nocturnal asthma by cromakalim. *Lancet* 1990; 336: 334-336.
- De Diego A, Cortijo J, Villagrana V et al. H-7, a protein kinase inhibitor, inhibits spontaneous tone and spasmogenic responses in normal and sensitized guinea-pig trachea. *Gen Pharmacol* 1995; 26: 1.747-1.755.
- Tosi MF, Stark JM, Smith CW et al. Induction of ICAM-1 expression on human airway epithelial cells by inflammatory cytokines: effects of neutrophil-epithelial cell adhesion. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1992; 7: 214-221.

TABLA II

### Nuevas perspectivas terapéuticas en la inflamación del asma

#### Células efectoras de la inflamación

- Estabilizadores de membrana
- Cromonas
- Bloqueadores de la adherencia celular
- Anticuerpos monoclonales anti-ICAM-1 VL4-4, VCAM, etc.

#### Células reguladoras inflamación

- Inmunomoduladores
- Ciclosporina, sales de oro, metotrexato, colchicina, inmunoglobulinas
- Inhibidores interleucinas
- Inhibidores síntesis: esteroides
- Anticuerpos anticitocinas: anti-IL5
- Antagonistas receptor: IL1 ra
- Anti-ARNm: nucleótidos *antisense*

#### Mediadores de la inflamación

- Antihistamínicos
- Cetirizina, terfenadina, astemizol
- Antagonistas del PAF
- Apafant, Y-24180
- Antagonistas del tromboxano
- Ozagrel, GR32191
- Antagonistas leucotrienos
- Antirreceptor: accolate, pranlukast
- Inhibidores 5-LO: zileuton
- Inhibidores del FLAP: MK591, MK886
- Antagonistas neurocininas
- CP-96345, BW443C
- Antagonistas bradicinina
- HOE 140, NPC 16731
- Amplificadores broncodilatación
- Análogos L-arginina

PAF: factor activador plaquetario; ICAM-1: molécula de adherencia celular; 5-LO: 5-lipooxigenasa.



25. Wegner CD, Gundel L, Reilly P et al. Intracellular adhesion molecule 1 (ICAM-1) in the pathogenesis of asthma. *Science* 1990; 247: 456-459.
26. Robinson DS, Hamid Q, Ying S et al. Predominant Th2-like bronchoalveolar T-lymphocyte population in atopic asthma. *N Engl J Med* 1992; 326: 298-304.
27. Bernstein DI, Bernstein IL, Bodenheimer SS et al. An open study of auranofin in the treatment of steroid-dependent asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1988; 81: 6-16.
28. Lock SH, Barnes NC, Kay AB. Cyclosporin A (CsA) as a corticosteroid sparing agent in corticosteroid dependent asthma. *Eur Respir J* 1994; (7 Supl 18): 282.
29. Mullarkey MF, Lammert JK, Blumenstein BA. Long-term methotrexate in corticosteroid-dependent asthma. *Ann Intern Medicine* 1990; 112: 577-581.
30. Coffey MJ, Sanders G, Eschenbacher et al. The role of methotrexate in the management of steroid-dependent asthma. *Chest* 1994; 105: 649-650.
31. Charous BL. Open study of hydroxychloroquine in the treatment of severe symptomatic or corticosteroid-dependent asthma. *Ann Allergy* 1990; 65: 53-58.
32. Schwarz YA, Kivity S, Feiermann E et al. A clinical and immunological study of colchicine in asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1990; 85: 578-582.
33. Mazer BD, Giclas PC, Gelfand EW. Immunomodulatory effects of intravenous immunoglobulin in severe steroid-dependent asthma. *Clin Immunol Immunopathol* 1989; 53: 156-163.
34. Van Oosterhooft AJM, Rudolf A, Ladenius C et al. Effect of anti-IL-5 and IL-5 in airway hyperreactivity and eosinophils in guinea-pig. *Am Rev Respir Dis* 1993; 147: 548-552.
35. Wood-Baker R, Holgate ST. The comparative actions and adverse effect profile of single doses of H1-receptor antihistamines in the airways and skin of subjects with asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1993; 91: 1.005-1.014.
36. Meltzer. The use of anti-H1 drugs in mild asthma. *Allergy* 1995; 50: 41-47.
37. Ghosh SK, Rafferty P, De Vos C et al. Effect of cetirizine, a potent H1 antagonist, on platelet activating factor induced bronchoconstriction in asthma. *Clin Exp Allergy* 1993; 23: 524-527.
38. Kopferschmitt-Kubler MC, Couchot A, Pauli G. Evaluation of the effect of oral cetirizine on antigen-induced immediate asthmatic response. *Ann Allergy* 1990; 65: 501-503.
39. Grant JA, Glowsky MM, Meltzer EO et al. Safety and efficacy of cetirizine in the prophylactic management of patients with seasonal allergic rhinitis and asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1993; 91: 197.
40. Samuelsson B. Leukotrienes: mediators of immediate hypersensitivity reactions and inflammation. *Science* 1983; 220: 568-575.
41. Lewis RA, Austen KF. The biologically active leukotrienes. *J Clin Invest* 1984; 73: 889-897.
42. Chanarin N, Johnston SL. Leukotrienes as a target in asthma therapy. *Drugs* 1994; 47: 12-24.
43. Smith CM, Christie PE, Hawksworth RJ et al. Urinary leukotriene E<sub>4</sub> levels after allergen and exercise challenge in bronchial asthma. *Am Rev Respir Dis* 1991; 144: 1.411-1.413.
44. Dahlen SE, Hedqvist P, Hammarström S et al. Leukotrienes are potent constrictors of human bronchi. *Nature* 1980; 288: 484-486.
45. Aldereth E, Morris MM, Hargreave FE et al. Airway responsiveness to LTC<sub>4</sub> and D<sub>4</sub> and to methacholine in patients with asthma and normal controls. *N Engl J Med* 1986; 315: 480-484.
46. Ampson AP, Thomas RU, Costello JF et al. Enhanced leukotriene synthesis in leukocytes of atopic and asthmatic subjects. *Br J Pharmacol* 1992; 33: 423-430.
47. Wardlaw AJ, Hay H, Cronwell O et al. Leukotrienes, LTC<sub>4</sub> and LTB<sub>4</sub> in bronchoalveolar lavage in bronchial asthma and other respiratory diseases. *J Allergy Clin Immunol* 1989; 84: 19-26.
48. Finnerty JP, Wood-Baker R, Thomson H et al. Role of cysteinyl-leukotrienes in exercise-induced asthma. Inhibitory effect of ICI 204219, a potent leukotriene D<sub>4</sub> receptor antagonist. *Am Rev Respir Dis* 1992; 145: 746-749.
49. Taylor IK, O'Shaughnessy KM, Fuller RW et al. Effect of cysteinyl-leukotriene receptor antagonist ICI 204219 on allergen-induced bronchoconstriction and airway hyperresponsiveness in atopic subjects. *Lancet* 1993; 337: 690-694.
50. Hui KP, Barnes NC. Lung function improvement in asthma with a cysteinyl-leukotriene receptor antagonists. *Lancet* 1991; 337: 1.062-1.063.
51. Findley SR, Bardem JM, Easley CB et al. Effects of the oral leukotriene antagonist ICI 204,219 on antigen-induced bronchoconstriction in subjects with asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1992; 89: 1.040-1.045.
52. O'Shaughnessy KM, Taylor IK, O'Connor B et al. Potent leukotriene D<sub>4</sub> receptor antagonist ICI 204.219 given by the inhaled route inhibits the early but not the late phase of allergen-induced bronchoconstriction. *Am Rev Respir Dis* 1993; 147: 1.431-1.435.
53. Spector SL, Smith LJ, Glass M, Accolate Asthma Trialists Group. Effects of 6-weeks of therapy with oral doses of ICI 204219, a leukotriene D<sub>4</sub> receptor antagonist in subjects with bronchial asthma. *Am J Respir Crit Care* 1994; 150: 618-623.
54. Dahlen B, Margolskee DJ, Zetterström O et al. Effect of the leukotriene receptor antagonists MK-0679 on baseline pulmonary function in aspirin sensitive asthmatic subjects. *Thorax* 1993; 48: 1.205-1.210.
55. Taniguchi Y, Tamura G, Honma M. The effect of an oral leukotriene antagonists ONO-1078 on allergen-induced immediate bronchoconstriction in asthmatic subjects. *J Allergy Clin Immunol* 1993; 92: 507-512.
56. Margolskee DJ, Bodman S, Dockhorn R et al. The therapeutic effect of MK-571 a potent and selective leukotriene (LT) D<sub>4</sub> receptor antagonist in patients with chronic asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1991; 87: 677.
57. Israel E, Dermarkarian R, Rosemberg M et al. The effects of a 5-lipoxygenase inhibitor on asthma induced by cold dry air. *N Engl J Med* 1990; 323: 1.740-1.744.
58. Fischer AR, McFadden C, Frantz R et al. Effect of chronic 5-lipoxygenase inhibition on airway hyperresponsiveness in asthmatic subjects. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 152: 1.203-1.207.
59. Hui KP, Taylor IK, Taylor GW. Effect of a 5-lipoxygenase inhibitor on leukotriene generation and airway responses after allergen challenge in asthmatic patients. *Thorax* 1991; 46: 184-189.
60. Israel E, Rubin P, Kemp JP et al. The effect of inhibition of 5-lipoxygenase by zileuton in mild to moderate asthma. *Ann Intern Med* 1993; 119: 1.059-1.066.
61. Chapman KR, Friedman BS, Singo S et al. The efficacy of an oral inhibitor of leukotriene synthesis (MK 0591) in asthmatics treated with inhaled steroids. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 149: 215.
62. Stenton SC, Court EN, Kingston WP et al. Platelet-activating factor in bronchoalveolar lavage fluid from asthmatic subjects. *Eur Respir J* 1990; 3: 408-413.
63. Chung KF, Barnes PJ. Effects of platelet-activating factor on airway caliber, airway responsiveness and circulating cells in asthmatic subjects. *Thorax* 1989; 44: 108-115.
64. Guinot P, Brambilla C, Duchier J et al. Effect of BN 52063, a specific PAF acether antagonist, on bronchial provocation test to allergens in asthmatic patients: a preliminary study. *Prostaglandins* 1987; 34: 723-731.
65. Freitag A, Watwon RM, Matsos G et al. Effect of a platelet activating factor antagonist, WEB 2086 on allergen induced asthmatic responses. *Thorax* 1993; 48: 594-598.
66. Spence D, Johnston PM, Calverley PMA et al. The effect of the orally active platelet-activating antagonists WEB 2086 in the treatment of asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 149: 1.142-1.148.
67. Hozawa S, Haruta Y, Ishioka S et al. Effects of PAF antagonist Y-24180 on bronchial hyperresponsiveness in patients with asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 152: 1.198-1.202.
68. Keittelman S, Svendesen UJ, Sjögren P et al. The effect of a thromboxane receptor antagonist (GR32191B) in moderate to severe asthma. *Clin Exp Allergy* 1990; 20 (Supl 1): 96.
69. Christiansen SC, Proud D, Sarnoff RB et al. Elevation of tissue kallikrein and kinin in the airways of asthmatic subjects after endobronchial allergen challenge. *Am Rev Respir Dis* 1992; 145: 900-905.
70. Barnes PJ. New drugs for asthma. *Eur Respir J* 1992; 5: 1.126-1.136.
71. Jorens PG, Vermeire PA, Herman AG. L-arginine-dependent nitric oxide synthase: a new metabolic pathway in the lung and airways. *Eur Respir J* 1993; 6: 258-256.
72. Kharitonov S, Yates D, Logan-Sinclair E et al. Endogenous nitric oxide is increased in the exhaled air of asthmatic patients. *Lancet* 1994; 343: 133-135.
73. Yates D, Kharitonov S, Robbins RA et al. Effect of a nitric oxide synthase inhibitor and a glucocorticosteroid on exhaled nitric oxide. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 152: 892-896.