

Bezpieczeństwo i skuteczność długo działających betamimetyków

Safety and efficacy of long-acting beta-agonists

MARTA GAWŁOWSKA, RAFAŁ PAWLICZAK

Zakład Immunopatologii, Wydział Nauk Biomedycznych i Kształcenia Podyplomowego UM w Łodzi

Streszczenie

Wzrastające wskaźniki zachorowalności na astmę oraz często niewystarczająca kontrola choroby, jaką udaje się uzyskać przy zastosowaniu dostępnych metod, powodują konieczność poszukiwania nowych, bezpiecznych i skutecznych opcji terapeutycznych. Długo działające betamimetyki mają udokumentowane działanie na komponentę bronchokonstrykcyjną astmy, ale nie wykazują działania przeciwzapalnego. W związku z tym nie powinny być stosowane jako leki pierwszego rzutu w terapii astmy. Dostępne wyniki badań sugerują jednak, że w grupie pacjentów, u których nie udaje się uzyskać pełnej kontroli choroby przy zastosowaniu sterydów wziewnych, korzystne może okazać się włączenie LABA. Równocześnie podkreśla się fakt, że terapia przeciwastmatyczna powinna mieć bardzo indywidualny charakter, uwzględniać choroby współistniejące pacjenta oraz jego indywidualną odpowiedź na leczenie. Celem pracy jest przedstawienie aktualnych wyników badań dotyczących działania długo działających betamimetyków oraz próba obiektywnej oceny ich bezpieczeństwa i skuteczności.

Słowa kluczowe: *astma, długo działające β_2 -mimetyki, receptor β_2 -adrenergiczny, synergizm, desensytyzacja*

Summary

Rising asthma morbidity rates and often insufficient control of the disease achievable by means of currently available methods make it necessary to find new, safe and efficient therapeutic options. Long-acting beta-agonists have well-documented effect on the bronchoconstriction component of the asthma, but they lack the anti-inflammatory effect. Thus, they should not be used as the first line therapy in asthma treatment. The available data suggest that in patients whose asthma is not sufficiently controlled by means of anti-inflammatory drugs alone, the addition of LABA may bring good results. At the same time it has been stressed that the antiasthmatic therapy should be individualized and take into consideration all coexisting factors and individual patients' response to the therapy. The aim of this review article is presentation of current results of the research on the mechanism of action of long-acting beta-agonists and the objective evaluation of their safety and efficacy.

Key words: *asthma, long-acting β_2 -agonists, β_2 -adrenergic receptor, synergy, desensitization*

© Alergia Astma Immunologia, 2007, 12(3): 142-154

www.mediton.pl/aa

Nadesłano: 17.08.2006

Zakwalifikowano do druku: 19.09.2006

Adres do korespondencji / Address for correspondence

Rafał Pawliczak

Zakład Immunopatologii, Wydział Nauk Biomedycznych i Kształcenia Podyplomowego UM w Łodzi

92-213 Łódź, ul. Pomorska 251, bud. C5, pok. 46

tel.(42) 675 73 09, fax (42) 678 22 92, e-mail: rtp@csk.umed.lodz.pl

Wykaz skrótów:

LABA (*long-acting β_2 -agonists*) – długo działające β_2 -mimetyki
SABA (*short-acting β_2 -agonists*) – krótko działające β_2 -mimetyki

ICS (*inhaled corticosteroids*) – wziewne glikokortykosteroidy
LTRAs (*leucotriene receptor antagonists*) – antagoniści receptora leukotrienowego

FEV₁ (*forced expiratory volume*) – natężona objętość wydechu pierwszosekundowa

PEF (*peak expiratory flow*) – szczytowy przepływ wydechowy

BAL (*bronchoalveolar lavage*) – popłuczyny pęcherzykowo-oskrzelowe

Wstęp

Wprowadzenie do leczenia astmy długo działających β_2 -mimetyków (LABA – *long-acting beta-agonists*) miało poprawić kontrolę choroby. Celem pracy jest przedstawienie aktualnych wyników badań dotyczących działania LABA i próba oceny, czy β_2 -agoniści spełnili pokładane w nich nadzieje w terapii choroby o tak złożonych mechanizmach patogenetycznych jak astma.

Współczesne strategie leczenia astmy

Cele leczenia astmy, określone przez Global Initiative for Asthma (GINA 2005) [1] obejmują osiągnięcie trwałej kontroli objawów choroby, przy zapewnieniu możliwie najwyższej jakości życia chorego. Efektem skutecznego leczenia powinno być osiągnięcie dobrej kontroli astmy,

którą charakteryzują następujące parametry:

- występowanie co najwyżej minimalnych objawów,
- rzadkie zaostrzenia choroby,
- niewielkie zapotrzebowanie na β_2 -mimetyki stosowane doraźnie,
- aktywność życiowa nie jest ograniczona,
- dobową zmienność PEF <20%,
- wartości parametrów wentylacyjnych są prawidłowe lub zbliżone do prawidłowych,
- działania niepożądane stosowanych leków są jak najmniejsze.

Astma jest chorobą o podłożu zapalnym, skuteczna terapia powinna być prowadzona w oparciu o leki działające na elementy procesu zapalnego. Aktualne wytyczne jako leki pierwszego rzutu w leczeniu łagodnej, umiarkowanej i ciężkiej astmy rekomendują sterydy wziewne [1]. Badanie START potwierdziło korzyści wynikające z jak najwcześniejszego zastosowania glikokortykosteroidów w zakresie takich parametrów, jak:

- zmniejszenie częstości ostrych zdarzeń związanych z astmą w porównaniu z grupą pacjentów leczonych placebo,
- znaczący spadek częstości zagrażających życiu zaostrzeń w przebiegu astmy,
- zmniejszone zużycie krótko działających β_2 -mimetyków.

To samo badanie wykazało także skuteczność wziewnych leków sterydowych w zakresie prewencji pogarszania czynności płuc w przebiegu astmy, podkreślając, iż nawet 2-, 3-letnie opóźnienie włączenia leczenia może skutkować nieodwracalną utratą ich funkcji i zmniejszeniem skuteczności w leczeniu nadreaktywności oskrzeli [2,3].

Glikokortykosteroidy, wykazując silne i skuteczne działanie przeciwzapalne, pozwalają u wielu pacjentów z astmą uzyskać satysfakcjonującą kontrolę choroby stosowaną w monoterapii. Nie mają jednak wpływu na produkcję i działanie mediatorów leukotrienowych, odpowiedzialnych m.in. za szereg objawów astmy i alergicznego nieżytu nosa [4,5] i dlatego nie we wszystkich przypadkach terapia przy zastosowaniu wyłącznie ICS (wziewne glikokortykosteroidy) okazuje się wystarczająca. Brak zwalczania składowych zapalenia, niezależnych od działania sterydów, może prowadzić do utraty trwałej kontroli procesu chorobowego [6,7]. Racjonalnym rozwiązaniem u tych pacjentów, u których objawy choroby utrzymują się pomimo zastosowania sterydu wziewnego w dawce dobowej 400-800 μg beklometazonu, po uwzględnieniu czynników wynikających z nieprawidłowej aplikacji i dawkowania leku, jest włączenie do terapii innych dostępnych leków przeciwzapalnych o odmiennym mechanizmie działania.

Miejsce dla LABA w terapii astmy

Zgodnie z ówczesnym stanem wiedzy uważa się, że kluczowym zagadnieniem w leczeniu astmy jest działanie przeciwzapalne. Bez opanowania toczącego się zapale-

nia nie jest możliwe uzyskanie długotrwałej kontroli choroby. U znaczącej większości pacjentów takie postępowanie terapeutyczne jest wystarczające do utrzymania prawidłowej funkcji płuc i poprawy jakości życia.

LABA nie wykazują działania przeciwzapalnego [8,9]. Dostępne badania zaprzeczają, aby długo działające β_2 -mimetyki miały wpływ na bezpośrednie parametry kontroli procesu zapalnego w drzewie oskrzelowym. Nie zmniejszają one nacieku komórek zapalnych mierzonych po prowokacji alergenowej w preparatach z biopsji lub BAL (popłuczyny pęcherzykowo-oskrzelowe) [10,11], nie wpływają na poziom eozynofilii we krwi lub w płwocinie [12,13], nie hamują uwalniania mediatorów zapalenia w drzewie oskrzelowym [14,15].

LABA w połączeniu ze sterydem nie mają także udowodnionej przewagi nad innymi schematami leczenia astmy. Nie zmniejszają znacząco liczby zaostrzeń w porównaniu z terapią wysokimi dawkami ICS [16,17], a ich wpływ na kontrolę choroby jest porównywalny do uzyskiwanej dzięki zastosowaniu LTRAs (antagoniści receptora leukotrienowego) [18,19].

Wobec powyższych faktów zastanawiający jest sukces, jaki odniosły długo działające β_2 -mimetyki na rynku leków przeciwastmatycznych. Opierając się na wynikach dostępnych badań klinicznych, trudno zaprzeczyć istnieniu korzyści, jakie może wnieść włączenie LABA do terapii w uzasadnionych przypadkach. Jednakże dane dotyczące zużycia leków mogą sugerować, że prawdopodobnie są one niejednokrotnie nadużywane i nie stosowane zgodnie z obowiązującymi wskazaniem (IMS Health) [20].

Liczba rzeczywistych wskazań do zastosowania leku oddziaływującego na komponentę bronchokonstrykcyjną astmy jest ograniczona. Uzyskanie dodatkowego efektu bronchodylatacyjnego, wynikającego z działania LABA na mięśniówkę gładką oskrzeli, może okazać się korzystne w grupie pacjentów z umiarkowaną i ciężką astmą, u których wyjściowe parametry FEV₁ i PEF są niezadowolające, pomimo pełnego leczenia przeciwzapalnego i kontroli chorób współistniejących. Ze względu na wolno narastający efekt bronchodylatacyjny terapii przeciwzapalnej, dołączenie długo działającego β_2 -mimetyku w początkowym etapie leczenia może stanowić skuteczne zabezpieczenie w stosunku do czynników działających kurcząco na oskrzela i wymiennie poprawić jakość życia pacjenta. Możliwość zmniejszenia dawki stosowanych sterydów lub ograniczenia zużycia SABA, w przypadkach gdy są one stosowane w dużej ilości, może stanowić wskazanie do włączenia LABA do terapii.

Tymczasem okazuje się, że terapia skojarzona „ICS+LABA” jest najczęściej stosowanym schematem terapeutycznym, bez względu na stopień nasilenia objawów astmy (IMS Health) [20]. Jeszcze bardziej niepokojącym zjawiskiem jest fakt, iż pewna grupa pacjentów, zachęcona zapewne pozorną poprawą stanu klinicznego,

rezygnuje z terapii przeciwzapalnej i stosuje LABA w monoterapii. Brak dostatecznej kontroli ze strony lekarza prowadzącego leczenie może w takich przypadkach doprowadzić do ciężkich powikłań krążeniowych oraz utraty kontroli choroby.

Zastosowanie LABA w terapii dzieci

U podłoża astmy, zarówno u dzieci, jak i dorosłych leży ten sam mechanizm patofizjologiczny. Jakkolwiek, ze względu na aktywny wzrost i rozwój młodego organizmu, efekty leczenia i skutki uboczne terapii u dzieci mogą być znacząco różne. Dane uzyskane z badań nad skutecznością leków u dorosłych nie mogą być przenoszone na dzieci.

Aktualne wytyczne [1] jako najskuteczniejszy lek, pozwalający uzyskać możliwie pełną kontrolę choroby na każdym stopniu zaawansowania, rekomendują sterydy wziewne. Badania skuteczności terapii przeciwzapalnej u dzieci wykazały, że w większości przypadków udaje się uzyskać znaczącą i szybką poprawę objawów i parametrów funkcji płuc już na niskich dawkach ICS (około 100 µg/dobę) [21,22,23]. Bisgaard i wsp. [24] potwierdzili ponadto, że w tej grupie pacjentów flutikazon w dawce 200 µg był najskuteczniejszym środkiem zapobiegającym zaostrzeniom i łagodzącym objawy choroby. Obiecujące wyniki uzyskano także w badaniach oceniających skuteczność alternatywnego schematu przeciwzapalnego z zastosowaniem leków antyleukotrienowych, stosowanych w monoterapii u pacjentów chorych na astmę lekką [25,26,27,28].

Skuteczność LABA u dzieci nie jest dostatecznie udokumentowana. W odróżnieniu od wyników uzyskanych u dorosłych, dostępne badania nie dostarczają jednoznacznych dowodów dla zarekomendowania LABA jako uzupełnienia terapii przeciwzapalnej ICS [29,30,31]. Większość z nich udowodniła niewielką poprawę parametrów funkcji płuc, ale pozostałe wyniki, takie jak nasilenie objawów czy częstość zaostrzeń, pozostały niemal niezmienione. Natomiast badanie Verberne i wsp. [32] wykazało wyższość schematu z zastosowaniem ICS w podwojonej dawce w porównaniu do ICS+LABA w zmniejszeniu liczby zaostrzeń w tej grupie wiekowej.

Niepokojące były także wyniki uzyskane z analizy danych z ramienia pediatrycznego badania nad bezpieczeństwem stosowania formoterolu [33]. W badaniu 049 częstość rejestrowanych zaostrzeń była znacząco wyższa w grupie pacjentów leczonych Foradilem – odpowiednio 11 w grupie leczonej dawką 24 µg dwa razy dziennie i 8 w grupie leczonej dawką o połowę mniejszą w porównaniu do pacjentów przyjmujących placebo [33].

Przytoczone dane wyraźnie wskazują na fakt, że w chwili obecnej nie ma przekonujących dowodów przemawiających za korzyściami wynikającymi z terapii kombinowanej u dzieci. Leczenie przeciwzapalne pozostaje najskuteczniejszym i prawdopodobnie najbezpieczniejszym schematem terapeutycznym. Uzasadnione za-

stosowanie β_2 -agonistów sprowadza się do krótkotrwałego doraźnego łagodzenia objawów astmy przy zastosowaniu preparatów SABA.

Budowa i synteza długo działających β_2 -mimetyków wziewnych (LABA)

Struktura chemiczna beta-agonistów

Zarówno krótko jak i długo działający β_2 -agoniści mają podobną strukturę, opartą na pierścieniu benzenu. Większą selektywność leku uzyskuje się poprzez rozbudowanie łańcucha α -węglowego (przy pierwszej cząsteczce węgla za cząsteczką węgla, do którego przyłączona jest grupa funkcyjna) [34]. Celem przedłużenia czasu aktywności cząsteczki stosuje się modyfikacje jej struktury, polegające na repozycji grupy 3,4-hydroksylowej na pozycję 3,5-hydroksylową (np. fenoterol) bądź też substytucję grupy 3-hydroksymetylowej (podstawnik – CH₂OH, np.: albuterol, salmeterol) lub grupy foraminowej (podstawnik – NH₂, np.: formoterol) grupą 3-hydroksylową, co zapewnia zwiększoną oporność na działanie katecholo-O-metyltransferazy [34].

Struktura molekularna β_2 -agonistów determinuje sposób ich oddziaływania na receptor. Leki, takie jak formoterol czy salmeterol, posiadają wysoko lipofilną strukturę cząsteczki, która zapewnia im okres działania powyżej 12 godzin po inhalacji [35]. Salmeterol początkowo szybko przyłącza się do zewnętrznej pętli receptora w błonie komórkowej, a następnie stopniowo pokonuje jej powierzchnię, przyłączając się do aktywnej wewnątrzkomórkowej części receptora, co jest przyczyną jego opóźnionego początku działania (~30 min). Cząsteczka salmeterolu wiąże się z β -receptorem poprzez wydłużony boczny łańcuch węglowy, przyłączający się do pomocniczego miejsca wiążącego, które stanowi wysoko hydrofobowa domena w czwartej pętli β_2 -receptora [36]. Takie połączenie pozwala aktywnej części łańcucha alkoholu salicylowego (tzw. „głowie saligeninowej”) cząsteczki na powtarzalną stymulację receptora związanego z białkiem G i w konsekwencji przedłużone pobudzenie cykazy adenylanowej, niezależne od dawki leku [34].

Przedłużone działanie formoterolu jest niezależne od jego związania z proksymalnym odcinkiem receptora (tzw. *exosite*). Lipofilna struktura formoterolu umożliwia mu wiązanie z błoną komórkową w formie nieaktywnej, a następnie stopniowe uwalnianie do fazy wodnej z formy depot. Jego szybkie i długotrwałe działanie jest uwarunkowane między innymi zastosowaną dawką i stężeniem leku [36].

Mechanizm działania LABA poprzez β -receptor

Budowa i działanie β_2 -receptora adrenergicznego

β_2 -receptory występują najliczniej na powierzchni komórek mięśni gładkich dróg oddechowych (średnio 30-40 000/komórkę) ale spotyka się je także na komórkach na-

blonka, endotelium, pneumocytach typu II i mastocytach [36].

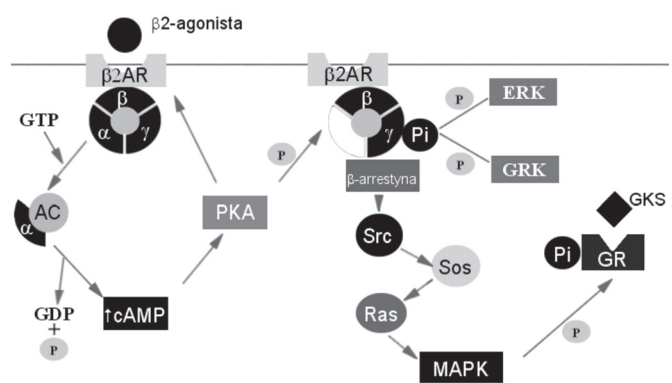
Ludzki receptor β_2 -adrenergiczny, o masie cząsteczkowej 46,500 daltonów, należy do nadrodziny receptorów zależnych od białek G (tzw. GPCR – *G protein coupled receptors*). Jest produktem genu na chromosomie 5 (*locus* genowe 5q31-q32) [37] i tworzy go 413 aminokwasów. Podobnie jak wszystkie receptory tej grupy, utworzony jest przez 7 przezblonowych α -helis [38], z 3 pętlami wewnątrz- i 3 zewnątrzblonowymi. Miejsca krytyczne dla interakcji β_2 -receptora z agonistą zlokalizowane są odpowiednio pozycji 113 (licząc od N-końca) – reszta kwasu asparaginowego w trzeciej domenie, 2 reszty serynowe w pozycjach 204 i 207 w domenie piątej i reszta asparaginowa na pozycji 293 w domenie szóstej [38]. N-glikolizowane reszty aminowe 6, 15 i 187 odgrywają znaczącą rolę w związaniu receptora z powierzchnią błony komórkowej oraz aktywowaniu go przez β -agoniste [39]. Palmitynowana cysteina reszty aminokwasowej w pozycji 341 jest odpowiedzialna za przymocowanie karboksylowego końca cząsteczki do błony komórkowej [40]. β_2 -receptor w aktywnej formie jest związany z podjednostką α białka Gs i cząsteczką GTP. Zastąpienie wyskoenergetycznej GTP cząsteczką GDP znacząco zmniejsza powinowactwo podjednostki α do receptora, powodując jej oddysocjowanie i powrót receptora do formy nieaktywnej. Jako że różne szlaki efektorowe są aktywowane poprzez β_2 -receptor wydaje się oczywiste, że dla każdego z nich istnieje odmienna konformacja cząsteczki, warunkująca takie a nie inne działanie.

Przekazywanie sygnału przez β_2 -receptor

Aktywacja β_2 -receptora poprzez jego agonistę powoduje oddysocjowanie podjednostki α związanego z receptorem białka Gs i jej przyłączenie do cząsteczki cykazy adenylationowej (CA). Aktywacja CA prowadzi do produkcji cAMP (na drodze konwersji z ATP), który aktywuje z kolei kinazę białkową A (PKA) (rys. 1) Aktywna kinaza białkowa A fosforyluje kluczowe białka regulatorowe, zaangażowane w regulację napięcia mięśniówki gładkiej (m.in. hamuje kinazę lekkiego łańcucha miozyny) [36]. Skutkiem działania cAMP jest zahamowanie uwalniania jonów Ca^{2+} z magazynów wewnątrzkomórkowych, redukcja napływu Ca^{2+} do komórki oraz sekwestracja wewnątrzkomórkowego stężenia tego jonu, co powoduje zmniejszenie ogólnego stężenia wapnia wewnątrzkomórkowego i relaksację mięśni gładkich oskrzeli. Ostatnie badania sugerują również możliwość inicjowania odpowiedzi rozkurczowej przez mechanizmy cAMP-niezależne, angażujące bezpośrednią interakcję Gs z kanałami potasowymi obecnymi w błonie komórkowej mięśni gładkich [36].

Chociaż większość efektów pobudzenia β_2 -receptora jest mediowana przez białka Gs i cAMP-zależny system kinazy białkowej A, β_2 -receptory mogą się także wiązać z białkami Gi [41]. Przełączanie oddziaływania receptora

z białka Gs na Gi wydaje się być również zależne od jego fosforylacji przez kinazę białkową A [41]. Aktywacja białka Gi prowadzi do pobudzenia kinaz regulowanych sygnałami zewnątrzkomórkowymi (ERK – *extracellular signal-regulated kinase*) grupy MAPK, poprzez szlaki zależne od podjednostek $\beta\gamma$ białka Gi i aktywację Ras [42]. Pobudzenie receptora prowadzi także do indukowanej przez kinazy związane z białkiem G (GRK – *G protein receptor kinase*) fosforylacji β_2 -receptora, skutkującej jej interakcją z β -arrestyną. β -Arrestyna może działać jako łącznik w oddziaływaniu β_2 -receptora zarówno ze szlakami ERK jak i GRK, skutkując pobudzeniem MAPK [43,44] (rys. 1). Ostateczny efekt pobudzenia β_2 -receptora jest zatem zależny od równowagi tych przeciwstawnych procesów.



Ryc. 1. Wewnątrzkomórkowe szlaki przewodzenia sygnału przez β_2 -receptor

Znaczenie polimorfizmów receptora β_2 -adrenergicznego

Aktualnie prowadzone badania polimorfizmów receptorowych β_2 -receptora adrenergicznego wyodrębniły 9 polimorfizmów pojedynczych nukleotydów, z których 3 wydają się mieć znaczenie kliniczne, warunkując zróżnicowaną odpowiedź na działanie β_2 -agonistów.

Najwięcej uwagi poświęca się kodonowi 16, z częstością występowania alleli odpowiednio 35% dla Arg i 65% dla Gly. Pierwsze doniesienia o możliwym niekorzystnym działaniu terapii bronchodylatacyjnej w pewnej grupie pacjentów pochodziły z badania ACRN [45]. Wśród pacjentów homozygotycznych Arg:Arg16 stosujących regularnie przez 16 tygodni albuterol wykazano obniżenie wartości PEF, utrzymujące się także w trakcie kolejnych 4 tygodni badania, podczas których pacjenci stosowali albuterol do doraźnej kontroli objawów.

Również prospektywne badanie BARGE (*The Beta-Adrenergic Response by Genotype*) [46] potwierdziło zmiennie częściej występujące zaostrzenia i obniżenie PEF i FEV₁ w grupie Arg:Arg16 leczonej albuterolem (4 x 400 μ g) w porównaniu do placebo. Wymienione parametry kontroli astmy ulegały wyraźnej poprawie po od-

stawieniu albuterolu i włączeniu do leczenia leku alternatywnego (bromek ipratropium). W grupie pacjentów homozygotycznych pod względem allelu Gly (Gly:Gly16) uzyskane wyniki wskazywały na korzystne działanie SABA w uzyskaniu kontroli choroby, mierzonej wartościami parametrów PEF, FEV₁ oraz doraźnego stosowania leków bronchodylatoryjnych.

Badania Israel i wsp. [47] sugerują, że podobne zależności występują także w odniesieniu do długodziałających β_2 -mimetyków. Zgodnie z tymi wynikami, regularne stosowanie LABA może prowadzić do pogorszenia parametrów wentylacyjnych płuc, nasilenia objawów i wzrostu zużycia doraźnie działających leków rozkurczających oskrzela, mimo równoczesnego przyjmowania ICS. Z kolei badania Dorinsky'ego i wsp. [48] nie wykazały znaczących różnic w odpowiedzi na leczenie salmeterolem (w połączeniu z flutikazonem) w grupie pacjentów z polimorfizmem genu dla β_2 -receptora typu Arg:Arg, Arg:Gly czy Gly:Gly po 12 tygodniach terapii.

Wyniki dostępnych badań sugerują zatem, iż istnieje grupa pacjentów, u której korzystne wydaje się zastosowanie terapii bronchodylatoryjnej z wyłączeniem zarówno SABA, jak i LABA i mogą odnieść największe korzyści dzięki optymalnie dobranej terapii przeciwzapalnej.

Polimorfizm w kodonie 27 związany jest z występowaniem w tej pozycji glutaminy (Gln) lub kwasu glutaminowego (Glu). W badaniach na hodowlach komórkowych wykazano, że forma receptorowa Glu:Glu27 wydaje się zapobiegać rozwojowi zjawiska *downregulation* [49], co wyraża się zarówno w utrzymującej się względnie stałej liczbie receptorów jak i zmniejszonej wrażliwości oskrzeli na czynniki kurczące w porównaniu do osobników Gln:Gln27 [50].

Rzadki polimorfizm w pozycji 164 (treonina lub izoleucyna) wydaje się wpływać na specyfikę wiązania agonisty z β_2 -receptorem. W hodowlach komórkowych komórki z ekspresją Ile:Ile164 wykazywały czterokrotnie mniejsze powinowactwo do receptora, wyrażające się zmniejszonym pobudzeniem przez cząsteczkę β_2 -receptora układu cykazy adenylanowej w porównaniu do typu Tre:Tre164 [51].

Wpływ SABA i LABA na zaburzenia funkcji β_2 -receptora

Proces desensytyzacji receptorów β_2 -adrenergicznych jest autoregulacyjnym mechanizmem związanym z jego aktywacją. Działa jako naturalny środek zabezpieczający przed nadmiernym pobudzeniem receptorów, wobec ich częstego, regularnego pobudzania. Na mechanizm desensytyzacji β_2 -receptorów składają się 3 główne mechanizmy, których nasilenie zależy od stopnia i czasu pobudzenia β_2 -receptora przez agonistę:

- przerwanie oddziaływania β_2 -receptora z cyklazą adenylanową,

- internalizacja wolnych receptorów,
- fosforylacja zinternalizowanych receptorów.

Główny mechanizm krótkotrwałej desensytyzacji β_2 -receptora jest zależny od jego fosforylacji przez kinazę białkową A, kinazę β_2 -receptora lub inną kinazę związaną z białkiem G [36]. Fosforylowane są zwykle reszty serynowe i treoninowe trzeciej pętli wewnątrzkomórkowej receptora lub jego odcinka proksymalnego. Następnym etapem fosforylacji jest przyłączenie β -arrestyny do kompleksu receptora, częściowe przerwanie oddziaływań kompleksu receptorowego z białkiem Gs i tym samym – ograniczenie funkcji receptora. Alternatywnie β -arrestyna może również wpływać pośrednio na zaburzenia funkcjonowania układu stymulującego poprzez związanie w środowisku receptora innych protein, takich jak fosfodiesteraza IV, które metabolizując lokalnie zgromadzony cAMP hamują efekt pobudzenia receptora. Mechanizm desensytyzacji ma charakter przemijający i może być odwrócony w ciągu kilku minut.

W przypadku dłuższej ekspozycji na agonistę dochodzi do częściowej internalizacji receptora, tzw. sekwestracji. Ten mechanizm może odgrywać kluczową rolę w krótkotrwałej regulacji czynności β_2 -receptora poprzez jego fosforylację i zaburzenie funkcji [36]. Do pełnego cofnięcia następstw tego procesu dochodzi zwykle w ciągu kilku godzin i nie prowadzi on do trwałych zaburzeń funkcji receptora, jeżeli nie ma nadmiaru ligandu.

Po wielogodzinnej ekspozycji β_2 -receptora adrenergicznego na działanie agonisty dochodzi do znacznego zmniejszenia liczby receptorów na powierzchni komórek, określanego jako *downregulation*. Proces katalizowany przez ligazę E3 prowadzi do ubikwitynacji (przyłączenia cząsteczki ubikwityny) β_2 -receptora [52]. Niezależnie od tego procesu, interakcja agonisty z β_2 -receptorem poprzez szlaki cAMP-zależne moduluje także poziom ekspresji genu dla receptora. W doświadczeniach z izoproterenolem ekspozycja komórek na duże stężenie leku skutkowała zmniejszeniem transkrypcji genu o ok. 50% [53].

Poziom desensytyzacji różni się znacząco w obrębie różnych komórek i tkanek. Przy ekspozycji na β_2 -agonistę ludzkie limfocyty podlegają gwałtownej desensytyzacji, podczas gdy w komórkach mięśni gładkich dróg oddechowych proces ten zachodzi znacznie wolniej [54]. Ze względu na niską aktywność kinaz związanych z β_2 -receptorem lub białkami G w komórkach mięśniówki gładkiej, podlegają one jedynie niewielkiej, krótkotrwałej desensytyzacji wobec działającego na nie agonisty. W odróżnieniu od limfocytów, w pobudzonych komórkach mięśni gładkich poziom cAMP po pobudzeniu β_2 -receptora szybko osiąga plateau i nie obniża się przy dłuższej ekspozycji [55].

Fakt postępującej w trakcie leczenia desensytyzacji receptorów sugeruje możliwość wystąpienia niekorzystnych implikacji klinicznych, wynikających z regularnego

stosowania β_2 -mimetyków. Regularnie stosowanie zarówno SABA, jak i LABA w krótkim czasie prowadzi do rozwoju tolerancji nie tylko w zakresie działań bronchodylatoryjnych ale także utraty protekcji przeciwko czynnikom kurczącym oskrzela [56]. Metaanaliza badań oceniających skuteczność długotrwałej terapii LABA wykazała postępujące w przebiegu leczenia niekorzystne zmiany w zakresie takich parametrów jak: zmniejszenie maksymalnego wzrostu FEV₁, zmniejszenie FEV₁ w odpowiedzi na stosowaną dawkę leku, spadek wartości PC₂₀ podczas prowokacji alergenowej, a także zmniejszenie gęstości β_2 -receptorów (*downregulation*), powinowactwa wiązania β_2 -receptora (desensytyzacja) i odpowiedzi na działanie isoproterenolu (*in vitro*) [56].

Stosowanie SABA i LABA

Kwestia możliwych zagrożeń wynikających ze stosowania leków przeciwastmatycznych po raz pierwszy stała się bardzo głośna w połowie lat 60^{tych}, kiedy dane z wielu krajów potwierdziły znaczący wzrost liczby zgonów wywołanych astmą, który korespondował z wprowadzeniem na rynek nieselektywnego β -agonisty – izoprenaliny.

W latach 1961-1963 doniesienia z Wielkiej Brytanii wskazywały na wyraźny wzrost śmiertelności wśród pacjentów stosujących Isuprel Forte. Podobne zjawisko zaobserwowano w Australii i kilku krajach europejskich, w których dopuszczono do sprzedaży preparat izoprenaliny w wysokiej dawce [57,58].

W latach 70. w Nowej Zelandii zanotowano kilkaset zgonów wśród pacjentów przyjmujących fenoterol i na podstawie badań przypadków i badań kohortowych potwierdzono związek jego stosowania ze wzrostem nadwrażliwości oskrzeli, pogorszeniem kontroli astmy i zwiększonym ryzykiem zgonu w jej przebiegu [59,60,61,62]. Epidemia zgonów w Nowej Zelandii na przełomie lat 1975-1981 stała się przyczyną do zapoczątkowania międzynarodowych, masowych badań nad możliwymi efektami ubocznymi terapii bronchodylatoryjnej.

Pierwsze przeprowadzone badanie, obejmujące 25 000 pacjentów – *Serevent Nationwide Surveillance* (SNS) [63], porównując terapię salmeterolem (2 x 50 μ g) z zastosowaniem albuterolu (4 x 200 μ g), jako uzupełnienie aktualnej terapii wykazało, że częstotliwość występowania ciężkich zaostrzeń w przebiegu astmy w obu grupach pacjentów jest porównywalna. Interesujący był jednak fakt, że częstość zgonów w pierwszej grupie była liczebnie, choć nie statystycznie większa w porównaniu do grupy kontrolnej przyjmującej albuterol (12 zgonów zarejestrowanych w grupie leczonej salmeterolem w porównaniu do 2 wśród leczonych albuterolem).

Niepokojące doniesienia z badania SNS, sugerujące potencjalne ryzyko wprowadzenia na rynek nowego leku o nie w pełni udokumentowanym profilu bezpieczeństwa

zaowocowały zainicjowaniem w Stanach Zjednoczonych w 1996r badania SMART (*The Salmeterol Multicenter Asthma Research Study*) [64]. Wyniki 28-tygodniowego cyklu leczenia salmeterolem (2 x 42 μ g), ukończonego przedwcześnie ze względu na trudności w rekrutacji oraz negatywne skutki zarejestrowane w trakcie leczenia, wykazały m.in. znaczące statystycznie różnice zaobserwowano w zakresie przypadków: 1) zgonów związanych z układem oddechowym (24 w grupie leczonej salmeterolem w porównaniu do 11 w grupie placebo); 2) łącznych przypadków zgonów związanych z astmą lub zagrażających życiu zaostrzeń astmy (37 wobec 22) oraz 3) zgonów związanych z astmą (odpowiednio: 13 i 3).

Analiza przypadków zgonów w trakcie badania wykazała, że dotyczyły one pacjentów z ciężkim przebiegiem choroby, niejednokrotnie obciążonych innymi schorzeniami, a także w większości – nie stosujących wziewnego sterydu celem kontroli choroby podstawowej, znacznie częściej pacjentów czarnoskórych.

W grupie pacjentów nie stosujących ICS wyższa była także częstość odnotowywanych ciężkich, zagrażających życiu zaostrzeń w porównaniu z grupą leczoną placebo. Wśród pacjentów stosujących terapię skojarzoną przy zastosowaniu ICS, wyniki badania nie różniły się znacząco pomiędzy obydwoma ramionami badania.

Najnowsza metaanaliza Salpeter i wsp. [65] potwierdziła, że przewlekłe stosowanie LABA wiąże się ze wzrostem ryzyka hospitalizacji, ciężkich zaostrzeń oraz zgonu w przebiegu astmy zarówno u pacjentów stosujących jak i nie stosujących sterydów. Pomimo równoczesnego leczenia ICS, ryzyko hospitalizacji w przebiegu choroby jest nadal dwukrotnie wyższe w porównaniu do pacjentów nie leczonych β_2 -mimetykiem.

Ocena efektywności terapii bronchodylatoryjnej

Dołączenie długo działającego β_2 -mimetyku pozostaje najczęstszym schematem terapeutycznym, pomimo że nie wykazano jego znaczącej wyższości nad terapią w oparciu o leki przeciwzapalne.

Badania nad zastosowaniem leków antyleukotriennych jako alternatywnego uzupełnienia terapii wziewnym sterydem potwierdzają istotne korzyści wynikające z takiego połączenia. Istnieją dane dowodzące, iż dodanie montelukastu do sterydu wziewnego pozwala na redukcję dawki glikokortykosteroidu o 47% w porównaniu do placebo [66]. Dodanie zafirlukastu do sterydu stosowanego w wysokiej dawce (1000-4000 μ g/dobe) skutkuje poprawą wskaźników PEF, FEV₁, zmniejszeniem nasilenia objawów, częstości zaostrzeń i konieczności stosowania doraźnych leków bronchodylatoryjnych [67]. Bjermer i wsp. [19] porównując częstość występowania zaostrzeń wśród pacjentów leczonych salmeterolem/flutikazonem i montelukastem/flutikazonem nie wykazał znamiennych statystycznie różnic w zakresie tego parametru. Zgodnie

z tymi wynikami są dane uzyskane w wyniku metaanalizy dostępnych dziewięciu randomizowanych kontrolowanych badań porównujących te dwa alternatywne schematy leczenia [18]. Terapia ICS w połączeniu z montelukastem znacząco zmniejsza eozynofilię mierzoną w płwocinie [19] oraz nadreaktywność oskrzeli [68]. LTRAs nieznacznie ustępują LABA w zakresie poprawy funkcji płuc, mierzonych miarą FEV₁ i PEF, co wynika ze znacznie silniejszego działania bronchodylatoryjnego agonistów receptora β_2 -adrenergicznego.

Żadne z dostępnych badań nie wykazało, że zastosowanie połączenia sterydu wziewnego z LABA umożliwia uzyskanie pełnej kontroli choroby u wszystkich leczonych pacjentów.

Badanie GOAL (*Gaining Optimal Asthma control*) [69] wykazało, że wśród pacjentów nieadekwatnie kontrolowanych steroidami, pomimo dodania długo działającego betamimetyku, nie udaje się uzyskać pełnej kontroli choroby u od 50 do ponad 70% badanych. Ponadto, nie odnotowano znaczących korzyści terapii skojarzonej w zakresie parametrów funkcji płuc, mierzonych miarą FEV₁ oraz częstości rejestrowanych skutków ubocznych.

Roczne badanie FACET [16], oceniając efekt włączenia formoterolu do terapii ICS, wykazało porównywalne wyniki monoterapii wyższą dawką sterydu w stosunku do formoterolu w połączeniu ze sterydem w niższej dawce w zakresie redukcji objawów, poprawy funkcji płuc oraz zmniejszenia częstości zarówno ciężkich jak i łagodnych zaostrzeń astmy. Wykazano także, że pomimo dołączenia do terapii długo działających β_2 -mimetyków, u 20 do 30% nie udaje się wyeliminować ciężkich zaostrzeń w przebiegu choroby. Istnieją także dane przemawiające za zdecydowaną przewagą terapii w oparciu o ICS nad LABA w zakresie kontroli choroby i redukcji liczby zaostrzeń w jej przebiegu [70].

Kwestionuje się także zasadność stosowania schematu ICS+LABA u pacjentów z łagodną astmą, u których pełną kontrolę choroby udaje się uzyskać przy zastosowaniu małej dawki steroidów. Badanie OPTIMA [71], porównując efekty leczenia budesonidem z terapią kombinowaną (budesonid+formoterol), w ciągu 12 miesięcy nie wykazało znamienych statystycznie różnic w częstości występowania zaostrzeń choroby, wartościach FEV₁ i porannego pomiaru PEF w obu grupach pacjentów. U pacjentów nie leczonych wcześniej sterydem wziewnym, jego włączenie do terapii pozwalało na uzyskanie pełnej kontroli choroby, bez dalszych korzyści wynikających z dołączenia LABA. W grupie przyjmującej ICS w małej dawce w okresie przed przystąpieniem do badania, włączenie LABA do terapii skutkowało jedynie poprawą parametrów wentylacyjnych.

Profil działania LABA

Działania pozabronchodylatoryjne LABA

Włączenie LABA do armentarium leków stosowanych celem uzyskania kontroli astmy uzasadniają także ich potencjalne działania pozabronchodylatoryjne, poprzez działanie na inne funkcje komórkowe, głównie komórek zapalnych. Dostępne dane, pochodzące z badań na zwierzętach, sugerują m.in. zdolność długo działających β_2 -mimetyków do hamowania uwalniania histaminy i cyteinylowych leukotrienów z komórek tucznych [72,73], zapobiegania tworzeniu wysięku poprzez działanie na komórki endotelium naczyń żylnych [74], redukcji migracji granulocytów do ściany oskrzeli [75,76], czy możliwość modulowania odpowiedzi skurczowej przewodzonej włóknami NANC (*non-adrenergic non-cholinergic*) [77]. Dotychczas, brak dowodów na obecność podobnych działań u ludzi. LABA nie działają na proces zapalny leżący u podłoża astmy [8,9] i nie stanowią formy leczenia, uzasadniającej ich zastosowanie jako leku pierwszego rzutu.

Maskowanie zaostrzeń choroby

Brak działania przeciwzapalnego LABA jest powodem obaw związanych z możliwym maskowaniem zaostrzeń przebiegu choroby przy zachowanym dobrym samopoczuciu pacjenta oraz wzrostem ryzyka ciężkich powikłań choroby, w związku z opóźnieniem włączenia niezbędnego leczenia. Jednakże aktualne dane nie potwierdzają istnienia takiej zależności.

Badania z użyciem formoterolu, stosowanego w kombinacji z wziewnym budesonidem potwierdziły jego skuteczność w redukcji częstości występowania zarówno ciężkich jak i łagodnych zaostrzeń astmy. Ponadto wykazano, że profil ewentualnych zaostrzeń w przebiegu terapii pozostał niezmienny – nie odnotowano niekorzystnych zmian w ich częstości, nasileniu czy czasie trwania [16]. Skuteczność tego schematu terapeutycznego potwierdziły także badania Wallin'a i wsp. [78], wykazując znamienne obniżenie liczby eozynofili i komórek tucznych w biopsjach pobranych po 8 tygodniach leczenia.

Podobne wyniki uzyskano w badaniu porównującym skuteczność leczenia kombinacją salmeterolu i flutikazonu w stosunku do dużej dawki sterydu wziewnego w monoterapii [79]. Oprócz znaczącej poprawy parametrów funkcji płuc (FEV₁, PEF) uzyskano porównywalną skuteczność leczenia przeciwzapalnego, mierzoną miarą liczby eozynofili i komórek tucznych w preparatach z biopsji i popłuczynach oskrzelowo-pęcherzykowych (BAL). Wykazano, że obydwa schematy leczenia mają porównywalną skuteczność i zaprzeczono możliwości maskowania lub zaostrzenia przebiegu zapalenia w przebiegu leczenia kombinacją ICS + LABA.

Dostępne dane sugerują zatem, że przy odpowiednio ustawionym, zindywidualizowanym leczeniu przeciwzapalnym, LABA nie powodują rozprzestrzeniania się zapalenia w drzewie oskrzelowym i nie pogarszają uzyskanej kontroli choroby.

Działania niepożądane LABA

Pobudzenie receptorów β_2 w mięśniu przedsionków może skutkować tachykardią, trzepotaniem przedsionków oraz niedokrwieniem mięśnia sercowego [34,80,81,82]. Pobudzenie receptorów naczyniowych – wywołać odruchową tachykardię w konsekwencji zmniejszenia ciśnienia rozkurczowego w komorach [34,81]. Skutki metaboliczne, takie jak hipokaliemia, mogą prowadzić do wydłużenia okresu repolaryzacji (zespół długiego QT) i predysponować do wystąpienia groźnych dla życia arytmii komorowych [81,82]. Skutkiem pobudzenia β_2 -receptorów w mięśniach szkieletowych jest drżenie [34,80,82].

Metaanaliza dostępnych danych [83], oceniających ryzyko wystąpienia skutków krążeniowych w następstwie stosowania β_2 -agonistów, potwierdziła obecność wyraźnej korelacji pomiędzy stosowaniem tej grupy leków, a ilością rejestrowanych przypadków niedokrwienia mięśnia sercowego, zawału, zaburzeń rytmu czy nagłej śmierci sercowej. Szczególne znaczenie ma ocena ryzyka włączenia tej grupy leków do terapii pacjentów dodatkowo obciążonych kardiologicznie. W chwili obecnej brak przekonujących dowodów na to, że korzyści stosowania LABA kompensują ich możliwe groźne skutki uboczne.

Analiza znaczenia synergizmu LABA i glikokortykosteroidów

Najskuteczniejszym lekiem przeciwzapalnym stosowanym w celu uzyskania pełnej kontroli przewlekłej astmy są glikokortykosteroidy. W postaci wziewnej w zalecanych dawkach są lekami dobrze tolerowanymi i w pełni bezpiecznymi. Jakkolwiek, aby zredukować ryzyko wystąpienia potencjalnych efektów ubocznych, bardzo istotny jest fakt aby uzyskać kontrolę choroby przy zastosowaniu jak najmniejszych dawek leku. Metaanaliza dostępnych badań [84] wskazuje na możliwość uzyskania porównywalnej kontroli choroby przy zastosowaniu ICS w mniejszej dawce w połączeniu z LABA. Inny punkt uchwytu dla działania tych grup leków umożliwia uzyskanie satysfakcjonującej poprawy stanu klinicznego pacjenta przy zastosowaniu możliwie najmniejszych dawek obu leków.

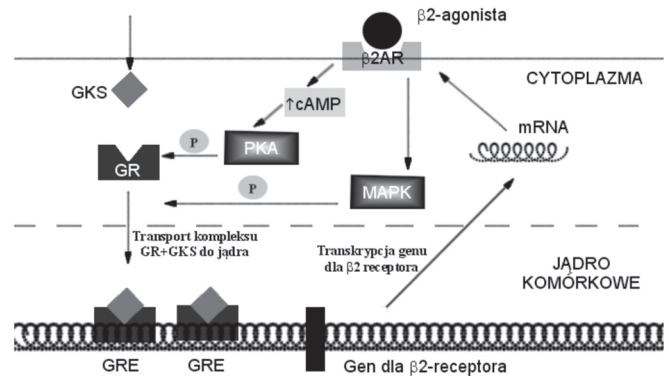
Synergizm LABA i glikokortykosteroidów na poziomie molekularnym

Większość dostępnych danych opisujących mechanizmy współdziałania ICS i LABA na poziomie molekularnym pochodzi z badań na zwierzętach. Obecnie nie można jednoznacznie określić, czy i w jakim stopniu podobne zależności występują u ludzi. Dalsze badania są niezbędne

nie dla pełnego poznania korzyści i ewentualnego ryzyka takiej terapii.

Działanie glikokortykosteroidów na β_2 -receptory

Ludzki gen dla receptora β_2 -adrenergicznego posiada w swojej sekwencji promotorowej kilka sekwencji zależnych od działania glikokortykosteroidów – GRE (*glucocorticoid response elements*) [85,86] (ryc. 2).



Ryc. 2. Wzajemne oddziaływanie GKS i LABA na poziomie molekularnym

Kortykosteroidy zwiększają transkrypcję genu dla β_2 -receptora w doświadczeniach *in vitro* na tkankach ludzkich i *in vivo* na komórkach nabłonka dróg oddechowych szczura, podwajając efektywność tego procesu [87,88]. Przewlekła terapia LABA skutkuje zjawiskiem *downregulation* β_2 -receptorów w płucach na skutek ograniczonej aktywności czynnika transkrypcyjnego CREB i zmniejszonej transkrypcji mRNA dla receptora [89,90]. W badaniach doświadczalnych wzmożona transkrypcja genu dla β_2 -receptora pod wpływem glikokortykosteroidów kompensuje zatem ujemny wpływ przewlekłej terapii bronchodylatacyjnej i pozwala na utrzymanie niezmiennego poziomu ekspresji receptorów dla LABA [88].

Odwracalność szkodliwych efektów działania β_2 -agonistów

Przewlekłe zapalenie toczące się w drogach oddechowych może prowadzić do utrudnionego wiązania leku z β_2 -receptorem i w związku z tym – z gorszą odpowiedzią na leczenie. Przyczynę tego zjawiska tłumaczy się zwiększoną aktywacją kinazy GRK-2 (*G-protein receptor kinase-2*), która fosforyluje β_2 -receptor, uniemożliwiając jego interakcję z aktywującym białkiem Gs [91]. Glikokortykosteroidy mogą przeciwdziałać temu zjawisku poprzez zmniejszenie ekspresji GRK-2 i w związku z tym – częściowe zapobieganie desensytyzacji na działanie β -agonistów [92]. Stosowanie wziewnych β_2 -mimetyków zwiększa ekspresję receptorów dla tachykininy neurokininy typ1 komórek NK2 w mięśniówce gładkiej dróg oddechowych, co może nasilać odpowiedź skurczową w odpowiedzi na nieswoiste czynniki. Równoczesne zastosowanie kortykosteroidów zapobiega temu zjawisku poprzez

odwrotne działanie na transkrypcje genu dla receptora NK2 [93,94]. Kortykosteroidy wykazują także działania ochronne przeciwko możliwym efektom prozapalnym stosowania β_2 -agonistów. W odróżnieniu od LABA, wpływają na zmniejszenie przeżywalności eozynofili w drogach oddechowych i hamowanie fazy późnej w odpowiedzi na alergen [11,95].

Wpływ β_2 -agonistów na efekty działania glikokortykosteroidów

β_2 -agoniści zwiększają wewnątrzkomórkowe stężenie cAMP, co aktywuje kinazę białkową A i może mieć bezpośredni wpływ na translokację kompleksu steroid-receptor do jądra komórkowego i zwiększoną transkrypcję genów zależnych od glikokortykosteroidów [96] (ryc. 2).

β_2 -agoniści mogą także zwiększać wrażliwość szlaków molekularnych wykorzystywanych przez steroidy, wpływając na procesy acetylacji i deacetylacji histonów [97,98] lub poprzez aktywację czynników transkrypcyjnych, takich jak NF κ B [99].

Na poziomie funkcjonalnym w badaniach *in vitro* LABA nasilają efekt hamujący sterydów na działania cytokin uwalnianych z ludzkich monocytów krwi [100] oraz wspólnie hamują ekspresję cząstek adhezyjnych ICAM-1 i VCAM-1 w fibroblastach płodu [101].

Synergizm LABA i glikokortykosteroidów na poziomie klinicznym

Jakkolwiek synergizm flutikazonu i salmeterolu znalazł potwierdzenie w wielu badaniach doświadczalnych *in vitro* należy podkreślić że, jak do tej pory, nie wykazano jego obecności *in vivo*. Badania porównujące efektywność działania flutikazonu w monoterapii w porównaniu do leczenia flutikazonem i salmeterolem *in vitro* nie potwierdziły wyższości terapii kombinowanej w stosunku do oznaczanych biomarkerów zapalenia (wydychany NO, białko kationowe eozynofilów) [102,103]. Silniejsza odpowiedź bronchodylatoryjna, uzyskiwana dzięki terapii łączonej sterydem i LABA mogłaby być zatem interpretowana jedynie jako wynik addycji efektów działania na odrębne szlaki procesów zapalenia i kurczliwości mięśniówki gładkiej. Wyniki niektórych badań tłumaczą zmniejszenie częstości obserwowanych zaostrzeń astmy w grupie pacjentów leczonych salmeterolem jedynie działaniem stabilizującym na mięśnie gładkie dróg oddechowych, nie potwierdzając wzmocnienia działania przeciwzapalnego stosowanych leków sterydowych [104].

Metaanaliza danych z badań porównujących skuteczność kombinacji flutikazonu z salmeterolem w porównaniu do terapii z zastosowaniem odrębnych dozowników dla każdego z leków wykazała, że średnia poprawa wartości porannego PEF uzyskana dzięki zastosowaniu terapii łączonej wyniosła jedynie 5l/min, co nie miało istotnego znaczenia klinicznego [105].

Równocześnie należy podkreślić, że ta sama analiza potwierdziła, że w pewnej grupie pacjentów wyniki terapii mogą być bardziej wymierne, co przemawia za słusznością zindywidualizowania terapii w przypadku każdego pacjenta. Analiza leczenia alternatywnym schematem: formoterol+budezonid nie wykazała znaczących klinicznych korzyści w przebiegu długotrwałej terapii [106].

Stanowisko FDA

Amerykańska Agencja Leków i Żywności – FDA, po przeanalizowaniu dostępnych wyników badań dotyczących działania LABA, ostatecznie potwierdziło wyższość korzyści ich stosowania nad ich znanym lub potencjalnym ryzykiem. Mimo tego, efektem najnowszych ustaleń FDA jest obowiązek wprowadzenia rozszerzonej informacji o leku, dołączanej do każdego opakowania preparatu β_2 -mimetyku, zawierającej doniesienia o przypadkach śmiertelnych po stosowaniu tej grupy leków [107,108]. Takie działania nakładają na każdego lekarza, włączającego LABA do terapii swojego pacjenta, obowiązek poinformowania go o możliwych działaniach ubocznych leku i konieczność przedyskutowania z pacjentem możliwych korzyści i ryzyka związanego ze stosowaniem leku.

W trosce o bezpieczeństwo chorych FDA ustaliło także zasady stosowania LABA, zapewniające możliwie najbezpieczniejszy profil działania [109]. Określając wskazania do stosowania preparatów długo działających β_2 -mimetyków, podkreślono ich podrzędną rolę wobec terapii przeciwzapalnej preparatem sterydu wziewnego, wykazano konieczność jak największego zindywidualizowania terapii (stosowanie leku w możliwie najniższej skutecznej dawce) oraz wyraźnie rozgraniczono zakres działania LABA i SABA.

Podsumowanie

Wprowadzenie na rynek grupy leków, jaką stanowią LABA było niewątpliwie postępowaniem w dziedzinie leczenia astmy i przewlekłej obturacyjnej choroby płuc.

LABA mają obecnie udowodnione działanie w zakresie:

- poprawy parametrów funkcji płuc,
- zmniejszenia nasilenia objawów nocnych,
- zmniejszenia zapotrzebowania na doraźnie stosowane leki rozkurczające oskrzela.

Dostrzegając zalety tej grupy leków, nie należy jednak zapominać o możliwych niekorzystnych następstwach, wynikających z mechanizmu ich działania. Związek pomiędzy stosowaniem salmeterolu a wyraźnym wzrostem częstości ciężkich zaostrzeń i zgonów w przebiegu astmy wydaje się być niepodważalny. Równocześnie jednak porównywalne wyniki badań dla salmeterolu i placebo w grupach pacjentów stosujących terapię kombinowaną z wziewnym glikokortykosteroidem sugerują ostrożność w interpretacji badań tak długo, jak długo pozostaje nie-

wyjaśniona przyczyna tych zależności. Czynniki osobnicze, takie jak nieodpowiednia technika aplikacji i dawkowanie leku, ograniczony dostęp do wykwalifikowanej kadry medycznej, opóźnienie rozpoznania i rozpoczęcia leczenia, choroby współistniejące czy palenie tytoniu, są niewątpliwie związane z gorszymi wynikami leczenia i przebiegu choroby. Coraz częściej podnosi się również kwestię możliwych uwarunkowań genetycznych, które mogą mieć wpływ na odpowiedź na leczenie i jego finalny efekt.

Dla dokładnego określenia grupy pacjentów, u których terapia długo działającymi β_2 -mimetykami może odnieść wymierne efekty, bez ryzyka utraty kontroli przebiegu choroby, niezbędne są zarówno dalsze badania populacyjne, jak i uważny, indywidualny dobór leków dla każdego z pacjentów.

Przeprowadzone badania, choć nie pozwalają jeszcze sformułować jednoznacznej odpowiedzi na istotne pytanie o celowość stosowania LABA, umożliwiają względnie dokładną ocenę tej grupy leków. Większość badaczy zgadza się ze stwierdzeniem, że zarówno salmeterol jak i formoterol, w uzasadnionych przypadkach, wykazują korzystne działanie. Znajduje to także wyraz w najnowszych międzynarodowych opracowaniach wytycznych (w tym GINA 2005).

Piśmiennictwo

1. Asthma Management and Prevention. Global Initiative for Asthma. A Practical Guide for Health Officials and Health Care Professionals Bethesda, MD: National Heart, Lung, and Blood Institute; National Institutes of Health; 1996. Publication No. 96-3659A.
2. Pauwels RA, Busse WW, O'Byrne PM i wsp. The inhaled Steroid Treatment as Regular Therapy in early asthma (START) study: Rationale and design. *Control Clin Trials*. 2001; 22: 405-419.
3. Pauwels RA, Pedersen S, Busse WW i wsp. Early intervention with budesonide in mild persistent asthma: A randomised, double-blind trial. *Lancet*. 2003; 361: 1071-1076.
4. Dworski R, Fitzgerald GA, Oates JA i wsp. Effect of oral prednisone on airway inflammatory mediators in atopic asthma. *Am J Respir Crit Care Med*. 1994; 149: 953-9.
5. Pavord ID, Ward R, Woltmann G i wsp. Induced sputum eicosanoid concentrations in asthma. *Am J Respir Crit Care Med*. 1999; 160: 1905-9.
6. Bousquet J, Gaugris S, Sazonov Koccevar V i wsp. Increased risk of asthma attacks and emergency visits among asthma patients with allergic rhinitis: a subgroup analysis of the improving asthma control trial. *Clin Exp Allergy*. 2005; 35: 723-727
7. Goodall RJ, Earis JE, Cooper DN i wsp. Relationship between asthma and gastro-oesophageal reflux. *Thorax*. 1981; 36(2): 116-121.
8. Roberts JA, Bradding P, Britten KM i wsp. The long-acting β_2 -agonist salmeterol xinafoate: effects on airway inflammation in asthma. *Eur Respir J*. 1999; 14: 275-82.
9. Howarth PH, Beckett P, Dahl R. The effect of long-acting β_2 -agonists on airway inflammation in asthmatic patients. *Respir Med*. 2000; 94,suppl.: S22-S25.
10. O'Connor J, Kane GC, Tolino M i wsp. Inhaled albuterol does not inhibit cellular influx or lung injury produced by segmental antigen challenge in humans. *Pulm Pharmacol*. 1995; 8(6): 237-43.
11. Gauvreau GM, Jordana M, Watson RM i wsp. Effect of regular inhaled albuterol on allergen-induced late responses and sputum eosinophils in asthmatic subjects. *Am J Respir Crit Care Med*. 1997; 156(6): 1738-45.
12. Pedersen B, Dahl R, Larsen BB i wsp. The effect of salmeterol on the early- and late-phase reaction to bronchial allergen and postchallenge variation in bronchial reactivity, blood eosinophils, serum eosinophil cationic protein, and serum eosinophil protein X. *Allergy*. 1993; 48(5): 377-82.
13. Dente FL, Bacci E, Bartoli ML i wsp. One week treatment with salmeterol does not prevent early and late asthmatic responses and sputum eosinophilia induced by allergen challenge in asthmatics. *Pulm Pharmacol Ther*. 2004; 17(3): 147-53.
14. Soler M, Joos L, Bolliger CT i wsp. Bronchoprotection by salmeterol: cell stabilization or functional antagonism? Comparative effects on histamine - and AMP-induced bronchoconstriction. *Eur Respir J*. 1994; 7(11): 1973-7.
15. Tool AT, Mul FP, Knol EF i wsp. The effect of salmeterol and nimesulide on chemotaxis and synthesis of PAF and LTC4 by human eosinophils. *Eur Respir J Suppl*. 1996; 22: 141s-145s.
16. Tattersfield AE, Postma DS, Barnes PJ i wsp. Exacerbations of asthma: a descriptive study of 425 severe exacerbations. The FACET International Study Group. *Am J Respir Crit Care Med*. 1999; 160(2): 594-9.
17. Matz J, Emmett A, Rickard K i wsp. Addition of salmeterol to low-dose fluticasone versus higher-dose fluticasone: an analysis of asthma exacerbations. *J Allergy Clin Immunol*. 2001; 107(5): 783-9.

18. Currie GP, Lee DK, Srivastava P. Long-Acting Bronchodilator or Leukotriene Modifier as Add-on Therapy to Inhaled Corticosteroids in Persistent Asthma. *Chest*. 2005; 128: 2954-62.
19. Bjermer L, Bisgaard H, Bousquet J i wsp. Montelukast and fluticasone compared with salmeterol and fluticasone in protecting against asthma exacerbation in adults: one year, double blind, randomised, comparative trial. *BMJ*. 2003; 327: 891.
20. IMS Health – dane dotyczące zużycia leków przeciwastmatycznych w okresie: 01.2005-09.2005.
21. Pedersen S, Hansen OR. Budesonide treatment of moderate and severe asthma in children: a dose-response study. *J Allergy Clin Immunol*. 1995; 95: 29-33.
22. Pedersen S, O'Byrne P. A comparison of the efficacy and safety if inhaled corticosteroids in asthma. *Allergy*. 1997; 52: 1-34.
23. MacKenzie CA, Weinberg EG, Tabachnik E i wsp. A placebo controlled trial of fluticasone propionate in asthmatic children. *Eur J Pediatr*. 1993; 152: 856-60.
24. Bisgaard H, Gillies J, Groenewald M i wsp. The Effect of Inhaled Fluticasone Propionate in the Treatment of Young Asthmatic Children. *Am J Respir Crit Care Med*. 1999; 180: 126-131.
25. Knorr B, Franchi LM, Bisgaard H i wsp. Montelukast, a leukotriene receptor antagonist, for the treatment of persistent asthma in children aged 2 to 5 years. *Pediatrics*. 2001; 108: 48.
26. Pearlman DS, Lampl KL, Dowling PJ Jr i wsp. Effectiveness and tolerability of zafirlukast for the treatment of asthma in children. *Clin Ther*. 2000; 22: 732-47.
27. Kemp JP, Dockhorn RJ, Shapiro GG i wsp. Montelukast once daily inhibits exercise-induced bronchoconstriction in 6- to 14-year-old children with asthma. *J Pediatr*. 1998; 133: 424-8.
28. Knorr B, Matz J, Bernstein JA i wsp. Montelukast for chronic asthma in 6- to 14-year-old children: a randomized, double-blind trial. Pediatric Montelukast Study Group. *JAMA*. 1998; 279: 1181-6.
29. Langton Hewer S, Hobbs J, French D i wsp. Pilgrim's progress; the effect of salmeterol in older children with chronic severe asthma. *Respir Med*. 1995; 89: 435-40.
30. Russel G, Williams DA, Weller P i wsp. Salmeterol xinafoate in children on high dose inhaled steroids. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 1995; 75: 243-8.
31. Meijer GG, Postma DS, Mulder PG i wsp. Long-term circadian effect of salmeterol in asthmatic children treated with inhaled corticosteroids. *Am J Respir Crit Care Med*. 1995; 152: 1887-92.
32. Verberne AA, Frost C, Duiverman EJ i wsp. Addition of salmeterol versus doubling the dose of beclomethason in children with asthma. The Dutch Asthma Study Group. *Am J Respir Crit Care Med*. 1998; 158: 213-19.
33. Mann M, Chowdhury B, Sullivan E i wsp. Serious asthma exacerbations in asthmatics treated with high-dose formoterol. *Chest*. 2003; 124: 70-4.
34. Zitt M, Siegel SC, Bosworth T. Optimum Use of Beta-Adrenergic Receptor agonists in Treatment of Asthma CME, <http://www.medscape.com/viewprogram/233>
35. Van der Woude HJ, Aalbers R. Long-acting β_2 -agonists: comparative pharmacology and clinical outcomes. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002; 1: 55-74.
36. Johnson M. The β -adrenoceptor. *Am J Respir Crit Care Med*. 1998; 158: S146-153.
37. Kobilka BK, Dixon RA, Frielle HG i wsp. cDNA for the human β_2 adrenergic receptor: a protein with multiple spanning domains and encoded by a gene whose chromosomal location is shared with that of a receptor for platelet growth factor. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1987; 84: 46-50.
38. Liggett SB. Update on current concepts of the molecular basis of β_2 -adrenergic receptor signaling. *J Allergy Clin Immunol*. 2002; 110(suppl): 223-8.
39. Miale-Perez J, Green SA, Miller WE i wsp. A primate-dominant third glycosylation site of the β_2 -adrenergic receptor routes receptors to degradation during agonist regulation. *J Biol Chem*. 2004; 279: 38603-7.
40. O'Dowd BF, Hnatowitch M, Caron MG i wsp. Palmitoylation of the human β_2 -adrenergic receptor: mutation of Cys 341! In the carboxyl tail leads to an uncoupled nonpalmitoylated form of the receptor. *J Biol Chem*. 1989; 164: 7564-9.
41. Daaka Y, Luttrell LM, Lefkowitz RJ. Switching of the coupling of the adrenergic receptor to different G-proteins by protein kinase A. *Nature*. 1997; 390: 88-91.
42. Zou Y i wsp. Both Gs and Gi proteins are critically involved in isoproterenol-induced cardiomyocyte hypertrophy. *J Biol Chem*. 1999; 274: 9760-9770.
43. Tohgo A i wsp. The stability of the G protein-coupled receptor-beta-arrestin interaction determines the mechanism and functional consequence of ERK activation. *J Biol Chem*. 2003; 278: 6258-6267.
44. Hall RA, Lefkowitz RJ. Regulation of G protein-coupled receptor signaling by scaffold proteins. *Circ Res*. 2002; 91: 672-680
45. Israel E, Drazen JM, Liggett SB i wsp. The effect of polymorphism of the β_2 -adrenergic receptor on the response to regular use of albuterol in asthma. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000; 162: 75-80.
46. Israel E, Chinchilli VM, Ford JG i wsp. Use of regularly scheduled albuterol treatment in asthma: genotype-stratified, randomized, placebo-controlled cross-over trial. *Lancet*. 2004; 364: 1505-12.
47. Israel E, Wechsler ME, Lehman E i wsp. Beta-Adrenergic receptor polymorphisms and response to salmeterol. *Am J Respir Crit Care Med*. 2006; 173(5): 519-26.
48. Dorinsky P, Yancey S, Edwards L i wsp. Rates of asthma exacerbations are not affected by β_2 -adrenergic receptor genotype in patients with persistent asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2005; 115(suppl): S6.
49. Hall IP. β_2 -Adrenoreceptor polymorphisms: are they clinically important? *Thorax*. 1996; 51: 351-3.
50. Holroyd KJ, Levitt RC, Dragwa C i wsp. Evidence for β_2 -adrenergic receptor polymorphism at amino acid 16 as a risk factor for bronchial hyper-responsiveness [abstract]. *Am J Respir Crit Care Med*. 1995; 151: A673.
51. Green SA, Cole G, Jacinto M i wsp. A polymorphism of the human β_2 -adrenergic receptor within the fourth transmembrane domain alters ligand binding and functional properties of the receptor. *J Biol Chem*. 1993; 268: 23116-21.
52. Shenoy SK, McDonald PH, Kohout TA i wsp. Regulation of receptor fate by ubiquitination of activated β_2 -adrenergic receptor and β -arrestin. *Science*. 2001; 294: 1307-13.
53. Wang S, Collins S. Regulation of the β_2 -adrenergic receptor by the long-acting agonist salmeterol in human bronchial epithelial cells [abstract]. *Am J Respir Crit Care Med*. 1996; 153: A730.
54. O'Connor BJ, Aikman S, Barnes P J. Tolerance to the nonbronchodilator effects of inhaled beta 2-agonists in asthma. *N Engl J Med*. 1992; 327: 1204-1208.
55. McGraw DW, Liggett SB. Heterogeneity of β -adrenergic receptor kinase expression in the lung accounts for cell-specific desensitization of the β_2 -adrenergic receptor. *J Biol Chem*. 1997; 272: 7338-44.
56. Salpeter SR, Ormiston TM, Salpeter EE. Meta-Analysis: Respiratory Tolerance to Regular β_2 -Agonist Use in Patients with Asthma. *Ann Intern Med*. 2004; 140: 802-813.

57. Inman WHW, Adelstein AM. Rise and fall of asthma mortality in England and Wales in relation to the use of pressurized aerosols. *Lancet*. 1969; 294: 279-281.
58. Speizer FE, Doll R, Heaf P. Observations on Recent Increase in Mortality from Asthma. *BMJ*. 1968; 1: 335-39.
59. Beasley R, Pearce N, Crane J i wsp. Asthma mortality and inhaled beta agonist therapy. *Aust N Z J Med*. 1991; 21: 753-763.
60. Pearce N, Beasley R, Crane J i wsp. End of the New Zealand asthma mortality epidemic. *Lancet*. 1995; 345: 41-44.
61. Crane J, Pearce N, Burgess C i wsp. Asthma and the beta agonist debate. *Thorax*. 1995; 50(suppl 1): S5-10.
62. Spitzer WO, Suissa S, Ernst P i wsp. The use of beta-agonists and the risk of death and near death from asthma. *N Engl J Med*. 1992; 326: 501-6.
63. Castle W, Filler R, Hall J i wsp. Serevent nationwide surveillance study: comparison of salmeterol with salbutamol in asthmatic patients who require regular bronchodilator treatment. *BMJ*. 1993; 306: 1034-7.
64. Nelson HS, Weiss ST, Bleecker ER i wsp. The salmeterol multicenter asthma research trial (SMART): a comparison of usual pharmacotherapy for asthma or usual pharmacotherapy plus salmeterol. *Chest*. 2006; 129: 15-26.
65. Salpeter S, Buckley NS, Ormiston TM i wsp. Meta-Analysis: Effect of long-acting beta-agonists on severe asthma exacerbations and asthma-related deaths. *Ann Intern Med*. 2006; 144: 904-12.
66. Lofdahl CG, Reiss TF, Leff JA i wsp. Randomized, placebo controlled trial of effect of a leukotriene receptor antagonist, montelukast, on tapering inhaled corticosteroids in asthmatic patients. *BMJ*. 1999; 319: 87-90.
67. Virchow JC, Prasse A, Naya I i wsp. The Zafirlukast Study Group. Zafirlukast improves asthma control in patients receiving high-dose inhaled corticosteroids. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000; 162: 578-585.
68. Currie GP, Lee DK, Haagart K i wsp. Effect of montelukast on surrogate inflammatory markers in corticosteroid-treated patients with asthma. *Am J Respir Crit Care Med*. 2003; 167: 1232-38.
69. Bateman ED, Boushey HA, Bousquet J i wsp. Can Guideline-defined Asthma Control Be Achieved? *Am J Respir Crit Care Med*. 2004; 170: 836-844.
70. Green RH, Brightling CE, McKenna S i wsp. Asthma exacerbations and sputum eosinophil counts: a randomized controlled trial. *Lancet*. 2002; 360: 1715-21.
71. O'Byrne PM, Barnes PJ, Rodriguez-Roisin R i wsp. Low dose inhaled budesonide and formoterol in mild persistent asthma: the OPTIMA randomized trial. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001; 164: 1392-7.
72. Nials AT, Ball DI, Butchers PR i wsp. Formoterol on airway smooth muscle and human lung mast cells: a comparison with salbutamol and salmeterol. *Eur J Pharmacol*. 1994; 251: 127-135.
73. Chong LK, Cooper E, Vardey CJ i wsp. Salmeterol inhibition of mediator release from human lung mast cells by β -adrenoreceptor-dependent and independent mechanisms. *Br J Pharmacol*. 1998; 123: 1009-1015.
74. Baluk P, McDonald DM. The β 2-adrenergic receptor agonist formoterol reduces microvascular leakage by inhibiting endothelial gap formation. *Am J Physiol*. 1994; 266: L461-L488.
75. Bolton PB, Lefevre P, McDonald DM. Salmeterol reduces early- and late-phase plasma leakage and leukocyte adhesion in rat airways. *Am J Respir Crit Care Med*. 1997; 155: 1428-35.
76. Bowden JJ, Sulakvelidze I, McDonald DM. Inhibition of neutrophil and eosinophil adhesion to venules of rat trachea by β 2-adrenergic agonist formoterol. *J Appl Physiol*. 1994; 77: 397-405.
77. Verleden GM, Belvisi MG, Rabe KF i wsp. β 2-Adrenoreceptors inhibit NANC neural bronchoconstrictor responses in vitro. *J Appl Physiol*. 1993; 74: 1195-99.
78. Wallin A, Sandstrom T, Soderberg M i wsp. The effects of regular inhaled formoterol, budesonide and placebo on mucosal inflammation and clinical indices in mild asthma. *Am J Respir Crit Care Med*. 1998; 159: 79-86.
79. Wallin A, Sue-Chu M, Bjermer L i wsp. Effect of inhaled fluticasone with and without salmeterol on airway inflammation in asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2003; 112: 72-78.
80. Sears MR. Adverse effects of beta-agonists. *J Allergy Clin Immunol*. 2002; 110: S322-S328.
81. Bremner P, Woodman K, Burgess C i wsp. A comparison of the cardiovascular and metabolic effects of formoterol, salbutamol and fenoterol. *Eur Respir J*. 1993; 6: 204-210.
82. Guhan AR, Cooper S, Osborne J i wsp. Systemic effects of formoterol and salmeterol: a dose-response comparison in healthy subjects. *Thorax*. 2000; 55(8): 650-656.
83. Salpeter SR, Ormiston TM, Salpeter EE. Cardiovascular effects of β -agonists in patients with asthma and COPD: A Meta-analysis. *Chest*. 2004; 125: 2309-21.
84. Shrewsbury S, Pyke S, Britton M. Meta-analysis of increased dose of inhaled steroid or addition of salmeterol in symptomatic asthma (MIASMA). *BMJ*. 2000; 320: 1368-73.
85. Collins S, Caron MG, Lefkowitz RJ. β 2-adrenergic receptors in hamster smooth muscle cells are transcriptionally regulated by glucocorticoids. *J Biol Chem*. 1988; 263: 9067-70.
86. Scott MG, Swan C, Wheatley AP i wsp. Identification of novel polymorphisms within the promoter region of the human β 2-adrenergic receptor gene. *Br J Pharmacol*. 1999; 126: 841-44.
87. Mak JCW, Nishikawa M, Barnes PJ. Glucocorticosteroids increase β 2-adrenergic receptor transcription in human lung. *Am J Physiol*. 1995; 12: L41-L46.
88. Mak JCW, Nishikawa M, Shirasaki H i wsp. Protective effects of a glucocorticoid on down-regulation of pulmonary β 2-adrenergic receptors in vivo. *J Clin Invest*. 1995; 96: 99-106.
89. Nishikawa M, Mak JCW, Shirasaki H i wsp. Long term exposure to norepinephrine results in down-regulation and reduced mRNA expression of pulmonary β -adrenergic receptors in guinea pigs. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 1994; 10: 91-99.
90. Nishikawa M, Mak JCW, Shirasaki H i wsp. Differential down-regulation of pulmonary β 1- and β 2-adrenoreceptor mRNA with prolonged in vivo infusion of isoprenaline. *Eur J Pharmacol (Molecular Section)*. 1993; 247: 131-38.
91. Finney PA, Belvisi MG, Donnelly LE i wsp. Albuterol-induced down-regulation of Gs α accounts for pulmonary β 2-adrenoreceptor desensitization in vivo. *J Clin Invest*. 2000; 106: 125-135.
92. Mak JCW, Hisada T, Salmon M i wsp. Reversal of IL-1 β -induced up-regulation of G-protein-coupled receptor kinase activity by dexamethasone. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001; 163: A228.
93. Katsunuma T, Roffel AF, Elzinga CR i wsp. β 2-Adrenoreceptor agonist-induced upregulation of tachykinin NK2 receptor expression and function in airway smooth muscle. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 1999; 21: 409-17.

94. Katsunuma T, Mak JCW, Barnes PJ. Glucocorticoids reduce tachykinin NK2-receptor expression in bovine tracheal smooth muscle. *Eur J Pharmacol.* 1998; 344: 99-107.
95. Meagher LC, Cousin JM, Seckl JR i wsp. Opposing effects of glucocorticoids on the rate of apoptosis in neutrophilic and eosinophilic granulocytes. *J Immunol.* 1996; 156: 4422-28.
96. Eickelberg O, Roth M, Lox R i wsp. Ligand-independent activation of the glucocorticoid receptor by β 2-adrenergic receptors agonists in primary human lung fibroblasts and vascular smooth muscle cells. *J Biol Chem.* 1999; 274: 1005-1010.
97. Ito K, Barnes PJ, Adcock IM. Glucocorticoid receptor recruitment of histone deacetylase inhibits IL-1 β -induced histone H4 acetylation on lysines 8 and 12. *Mol Cell Biol.* 2000; 20: 6891-6903.
98. Ito K, Jazwari E, Cosio B i wsp. P65-activated histone acetyltransferase activity is repressed by glucocorticoids: mifepristone fails to recruit HDAC2 to the p65/HAT complex. *J Biol Chem.* 2001; 276: 30208-30215.
99. Farmer P, Pugin J. Beta-adrenergic agonists exert their "anti-inflammatory" effects in monocytic cells through the I κ B/NF- κ B pathway. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2000; 279: L675-682.
100. Oddera S, Silvestri M, Testi R i wsp. Salmeterol enhances the inhibitory activity of dexamethasone on allergen-induced blood mononuclear cell activation. *Respiration.* 1998; 65: 199-204.
101. Silvestri M, Fregonese L, Sabatini F i wsp. Fluticasone and salmeterol downregulate in vitro fibroblast proliferation and ICAM-1 or H-CAM expression. *Eur Respir J.* 2001; 18: 139-45.
102. Currie GP, Bates CE, Lee DK i wsp. Effects of fluticasone plus salmeterol versus twice the dose of fluticasone in asthmatic patients. *Eur J Clin Pharmacol.* 2003; 59: 11-15.
103. Lee DK, Jackson CM, Currie GP i wsp. Comparison of combination inhalers vs inhaled corticosteroids alone in moderate persistent asthma. *Br J Clin Pharmacol.* 2003; 56: 494-500.
104. Currie GP, Jackson CM, Ogston SA i wsp. Airway-stabilizing effect of long-acting beta2-agonists as add-on therapy to inhaled corticosteroids. *Q J Med.* 2003; 96: 435-440.
105. Nelson HS, Chapman KR, Pyke SD i wsp. Enhanced synergy between fluticasone propionate and salmeterol inhaled from a single versus separate inhalers. *J Allergy Clin Immunol.* 2003; 112: 29-36.
106. Zetterstrom O, Buhl R, Mellem H i wsp. Improved asthma control with budesonide/formoterol in a single inhaler, compared with budesonide alone. *Eur Respir J.* 2001; 18: 262-68.
107. Szeffler SJ, Whelan GJ, Leung DY. "Black box" warning: wake-up call or overreaction? *J Allergy Clin Immunol.* 2006; 117(1): 26-9.
108. Pearlman DS. Primum non nocere and "black box" warnings. *J Allergy Clin Immunol.* 2006; 117(1): 30-1.