

Porównanie wpływu blokady receptorów muskarynowych: M_1 (pirenzepiną) oraz M_2 i M_3 (bromkiem ipratropium) na powysiłkowy skurcz oskrzeli u chorych na astmę oskrzelową

JERZY LIEBHART, ANNA DOR, EWA LIEBHART, JÓZEF MAŁOLEPSZY

Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych i Alergologii Akademia Medyczna, ul. Traugutta 57/59, 50-417 Wrocław

Celem oceny wpływu receptorów muskarynowych na powysiłkowy skurcz oskrzeli, u 14 chorych na astmę oskrzelową z komponentem wysiłkowym przeprowadzono cykl badań metodą podwójnie ślepej próby z zastosowaniem blokerów receptorów M_1 oraz M_2 i M_3 .

U każdego badanego trzykrotnie wykonywano test prowokacyjny z obciążeniem submaksymalnym wysiłkiem na poziomie 80%. Druga i trzecia próba były poprzedzone nebulizacją 0,25 mg bromku ipratropium (bloker receptorów M_2 i M_3) lub 5 mg pirenzepiny (bloker receptorów M_1) w losowo ustalonej kolejności. Test uznawano za dodatni jeżeli w którymkolwiek z kolejnych pomiarów (w 5, 10, 20 lub 30 minucie po zakończeniu wysiłku) stwierdzano spadek FEV_1 o co najmniej 15% w stosunku do wartości wyjściowej. Wszystkie próby rozkurczowe nie poprzedzone nebulizacją były dodatnie. Po inhalacji bromku ipratropium odnotowano statystycznie istotne zablokowanie powysiłkowego bronchospazmu w 5, 10 i 20 minucie po zakończeniu obciążenia wysiłkiem. Efekt ten po pirenzepinie był słabo wyrażony i statystycznie nieznamienisty.

Patomechanizm powysiłkowego skurczu oskrzeli u chorych na astmę wciąż budzi wiele kontrowersji. Daleka od wyjaśnienia jest zwłaszcza rola, jaką w tym zjawisku odgrywa cholinergiczny układ nerwowy.

Układ oddechowy ma bogate unerwienie parasympatyczne. W jego obrębie wyróżnia się dwa typy receptorów: muskarynowe i nikotynowe [1]. Pierwsze z nich dzieli się na 3 podtypy: M_1 , M_2 i M_3 .

Pobudzenie receptorów M_1 i M_3 powoduje skurcz mięśni gładkich oskrzeli i zwiększenie wydzielania śluzu, natomiast receptory M_2 mają działanie przeciwnie, ich pobudzenie wywołuje bronchodilatację [1,2].

Receptory M_1 , blokowane przez pirenzepinę, nie występują na mięśniach gładkich oskrzeli; natomiast stwierdza się ich obecność w zwojach układu parasympatycznego, w obwodowych neuronach cholinergicznych i adrenergicznych, a także na gruczołach podśluzowych dużych oskrzeli i w ścianach pęcherzyków płucnych [1,3].

Receptory M_2 charakteryzują się zdolnością do hamowania uwalniania acetylocholinozyny z nerwów cholinergicznych. Są one zlokalizowane w pozazwojowych nerwach parasympatycznych i blokowane są przez gallaminę [2].

Receptory M_3 znajdują się w dominującej ilości na mięśniach gładkich oskrzeli, zarówno dużego jak i małego kalibru, występują również na gruczołach śluzowych (w proporcji do receptorów M_1 ok. 2:1). Są one blokowane przez atropinę, bromek ipratropium i bromek oxitropium, które jednocześnie hamują także receptory M_2 [4].

Receptory nikotynowe, zlokalizowane głównie w zwojach układu parasympatycznego, wydają się nie mieć istotnego wpływu na przebieg reakcji bronchospastycznej [5].

Dotychczas ukazało się niewiele publikacji poświęconych ocenie wpływu zablokowania receptorów M_3 (a „przy okazji” również M_2) na powysiłkowy bronchospazm u chorych na astmę oskrzelową [6,7,8]. Nie ma natomiast żadnych doniesień na temat znaczenia blokady receptorów M_1 dla przebiegu astmy wysiłkowej.

Celem pracy było porównanie wpływu zablokowania receptorów M_1 (pirenzepiną) oraz M_3 (bromkiem ipratropium) na przebieg powysiłkowego skurczu oskrzeli u chorych na astmę i wykazanie, które z receptorów muskarynowych są za niego współodpowiedzialne.

MATERIAŁ I METODY

Pacjenci

Ogółem przebadano 22 pacjentów z astmą oskrzelową, z czego 8 nie zakwalifikowano do II etapu badań.

Pełny cykl badań wykonano u 14 chorych na astmę oskrzelową, w tym u 9 z atopową i u 5 z nieatopową postacią choroby. Wszystkie osoby były pacjentami Kliniki Chorób Wewnętrznych i Alergologii Akademii Medycznej we Wrocławiu; każda została poinformowana o celu i metodyce badań oraz wyraziła zgodę na ich przeprowadzenie. Podstawowe dane opisujące tę grupę zawiera tabela I.

Tabela I. Charakterystyka badanych osób

n	Płeć n (%)		Wiek n ± SD	Astma atopowa n (%)	Astma nieatopowa	FEV ₁ (% nal)	PC ₂₀ H [mg/ml]
	M	K					
14	4 (29%)	10 (71%)	33,9±11,2	9 (64%)	5 (36%)	\bar{x} = 95,2% SD = 14,3 Me = 95,97 min = 73,89 max = 117,24	\bar{x} = 1,01 SD = 2,02 Me = 0,29 min = 0,09 max = 7,16

\bar{x} – średnia arytmetyczna
SD – odchylenie standardowe

Me – mediana
min – wartość najmniejsza
max – wartość największa

Wstępnie do próby kwalifikowano chorych na astmę z komponentem wysiłkowym w anamnezie i dodatnim wynikiem prowokacji oskrzelowej z histaminą, u których nie stwierdzono przeciwwskazań do wykonania testu wysiłkowego pod postacią: upośledzenia wentylacji płuc (FEV₁ < 70% wartości należącej), współistnienia określonych schorzeń innych narządów oraz przyjmowania leków, które mogłyby zmienić końcowy wynik [9,10,11].

Plan badania

Protokół badawczy dzielił pracę na dwa etapy. W pierwszym wykonywano wziewny test prowokacyjny z histaminą, a następnie test wysiłkowy nie poprzedzony nebulizacją blokera receptorów muskarynowych. Do drugiego etapu zostali zakwalifikowani wyłącznie pacjenci z dodatnim wynikiem prowokacji wysiłkiem (14 opisanych wyżej osób). Zastosowano metodę podwójnie ślepej próby. Po upływie 1-2 dni od pierwszego badania chorzy mieli wykonywane 2 kolejne testy wysiłkowe (również w odstępie 1-2 dni), każdy poprzedzony nebulizacją 0,25 mg bromku ipratropium (Atrovent firmy Boehringer Ingelheim) w 2 ml 0,9% NaCl lub 5 mg pirenzepiny (Gastrozepin firmy Boehringer Ingelheim) w 2 ml 0,9% NaCl. Lek podawano 60 minut przed rozpoczęciem obciążenia wysiłkiem, kolejność zastosowania antycholinergików była losowa, nieznaną ani pacjentowi, ani lekarzowi przeprowadzającemu próbę.

Badania spirometryczne przy użyciu aparatu Vitalograph firmy Vitalograph Ltd. wykonywano bezpośrednio przed nebulizacją Atroventu lub Gastrozepinu oraz 15 i 60 minut po jej zakończeniu. Ten ostatni pomiar był jednocześnie badaniem wstępnym przed próbą wysiłkową (sprawdzano, czy wartość FEV₁ nie jest mniejsza od 70% normy). Test wysiłkowy przeprowadzano na cykloergometrze rowerowym ER 800 firmy Jaeger. Obciążenie zwiększano stopniowo aż do osiągnięcia częstości tętna odpowiadającej wysiłkowi submaksymalnemu rzędu 80%, a następnie utrzymywano je na tym poziomie przez 6 minut. Oznaczenia

spirometryczne powtarzano bezpośrednio po wysiłku oraz po 5, 10, 20 i 30 minutach od jego zakończenia. Test uznawano za dodatni, jeżeli w którymkolwiek z kolejnych pomiarów obserwowano spadek wartości natężonej objętości wydechowej pierwszosekundowej o co najmniej 15% w odniesieniu do badania wstępnego.

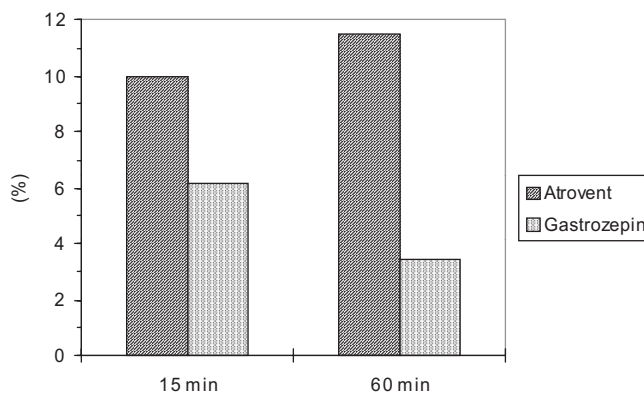
Analiza statystyczna

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej, obliczając parametry statystyki opisowej (średnie arytmetyczne, odchylenia standardowe i mediany). Ponieważ rozkłady wartości większości zmiennych odbiegały od rozkładu normalnego, stosowano nieparametryczny test rang Wilcozona dla zmiennych zależnych. Istotność różnic występowania określonego wyniku próby wysiłkowej badano jednostronnym testem Fishera.

WYNIKI

Na rycinie 1 przedstawiono mediany wartości Δ FEV₁ po nebulizacji Atroventu i Gastrozepinu.

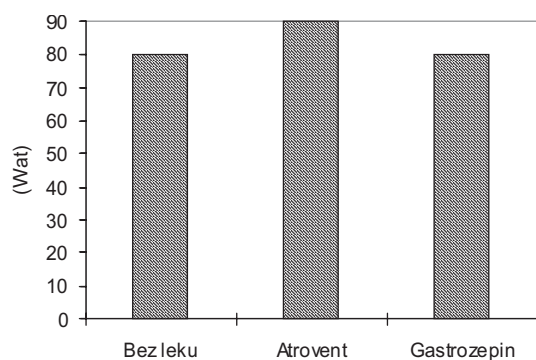
Po inhalacji Atroventu obserwowano umiarkowany, ale statystycznie istotny ($p = 0,01$ oraz $p = 0,002$) wzrost median wartości FEV₁ o 10% po 15 minutach i o 11,5% po 60 minutach (obliczone średnie



Ryc. 1. Mediany wartości Δ FEV₁ (%) po nebulizacji Atroventu i Gastrozepinu.

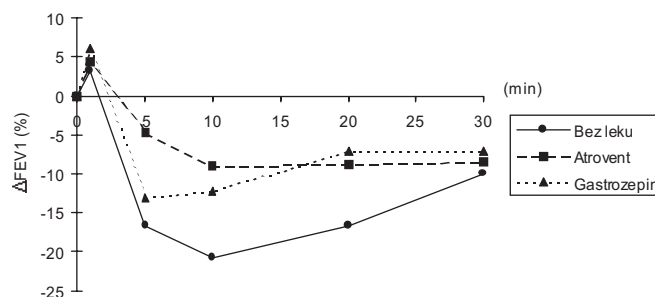
arytmetyczne były wyższe od median i wynosiły odpowiednio 15,6% oraz 18,7%). Gastrozepin wywoływał znikome, nieistotne statystycznie zmiany FEV₁ o 6,2% i 3,5% (średnio o 2,6% i 2,2%).

Nie stwierdzono statystycznie znamiennych różnic pomiędzy wartościami obciążenia zastosowanego dla uzyskania submaksymalnego (na poziomie 80%) obciążenia wysiłkiem (ryc. 2).



Ryc. 2. Wartości obciążenia wysiłkiem w próbach przeprowadzonych bez uprzedniego podania leku oraz po nebulizacji Atroventu i Gastrozepinu. Różnice nieistotne statystycznie.

Gastrozepinie ($p = 0,02$). Jednocześnie jednak, przy rozpatrywaniu uzyskanych rezultatów w skali



Rycina 3. Zmiany wartości median Δ FEV₁ (%) po wysiłku.

trzystopniowej (ujemny, umiarkowanie dodatni, wybitnie dodatni), zaobserwowano wzrost liczby wyników wybitnie dodatnich z 2 do 4 po zastosowaniu pirenzepiny.

Przebieg zmian w czasie wartości Δ FEV₁ zilustrowano na rycinie 3.

Bezpośrednio po wysiłku we wszystkich trzech próbach wystąpił wzrost wartości Δ FEV₁, a następnie ich spadek, najgłębszy w testach nie poprzedzonych inhalacją blokera receptorów muskarynowych. Po

Tabela II. Ocena wyników testu wysiłkowego z uwzględnieniem skali trzystopniowej

	Δ FEV ₁ > -15% (wynik ujemny) n (%)	-40% < Δ FEV ₁ ≤ -15% (wynik umiarkowanie dodatni) n (%)	Δ FEV ₁ ≤ -40% (wynik wybitnie dodatni) n (%)	Razem testów dodatnich n (%)
Bez leku	0 (0%)	12 (85,7%)	2 (14,3%)	14 (100%)
Atrovent	7 (50%)	5 (35,7%)	2 (14,3%)	7 (50%)
Gastrozepin	5 (35,7%)	5 (35,7%)	4 (28,6%)	9 (64,3%)

Ocenę rezultatów testu wysiłkowego z uwzględnieniem podziału na wynik ujemny (Δ FEV₁ > -15%), umiarkowanie dodatni (-40% < Δ FEV₁ ≤ -15%) oraz wybitnie dodatni (Δ FEV₁ ≤ -40%) przedstawiono w tabeli II.

Zgodnie z kryterium kwalifikującym pacjentów do drugiego etapu badań, wszystkie próby wysiłkowe ($n = 14$) nie poprzedzone nebulizacją blokera receptorów muskarynowych były dodatnie. Po nebulizacji bromku ipratropium połowa testów ($n = 7$) zakończyła się wynikiem ujemnym, natomiast po pirenzepinie w 5 z 14 prób nie obserwowano powysyłkowego bronchospazmu. Dokładnym testem Fishera stwierdzono statystyczną istotność zmian wyników pod wpływem Atroventu ($p = 0,002$) oraz (w mniejszym stopniu) po

nebulizacji bromku ipratropium stwierdzono statystycznie istotne zablokowanie powysyłkowego bronchospazmu w 5, 10 i 20 minut po zakończeniu obciążenia. Obliczone testem Wilcoxon wartości p wynosiły odpowiednio: 0,022, 0,025 i 0,037. Inhalacja pirenzepiny spowodowała słabiej wyrażone, statystycznie nieznamienne zredukowanie obniżania się wartości FEV₁ po wysiłku ($p = 0,57, 0,22$ i 0,093).

DYSKUSJA

Leki blokujące receptory muskarynowe M₃, bromek ipratropium i bromek oxitropium od kilkunastu lat znajdują zastosowanie w leczeniu astmy oskrzelowej. Ich efekt bronchodilatacyjny jest jednak słabszy niż β -mimetyków [12,13,14]. Pirenzepina, bloker receptorów

M₁, jest używana do hamowania wydzielania żołądkowego. W naszych badaniach nebulizacja 0,25 mg Atroventu powodowała umiarkowaną poprawę wentylacji płuc, manifestującą się wzrostem FEV₁ średnio o 15,6% po 15 minutach i o 18,7% po upływie godziny. Należy jednak pamiętać, że wszyscy pacjenci zakwalifikowani do badań mieli wyjściowe wartości tego parametru większe od 70% normy (=95,2%), co ograniczało możliwość dalszego rozkurczu oskrzeli. Natomiast inhalacja 5 mg Gastrozepinu praktycznie nie wywierała efektu bronchodilatoryjnego.

Problem hamowania powysiłkowego skurczu oskrzeli u chorych na astmę oskrzelową był przedmiotem wielu badań. Wykazano, że największą skutecznością w tym zakresie charakteryzują się agonści receptorów β -adrenergicznych, mniejszą preparaty teofiliny, kromoglikan disodowy i nedokromil sodu [6,7].

Efektywność preparatów antycholinergicznycy jest w tym zakresie tylko częściowa. Okazało się, że atropina podana w inhalacji zmniejszała powysiłkowy spadek wentylacji o około 60% [7], a bromek ipratropium zapobiegał jego wystąpieniu u 54% badanych chorych [6]. Należy również odnotować, iż Poppius i wsp. [8] nie wykazali skuteczności Atroventu, nawet stosowanego w dużej dawce (do 1,2 mg). Badania te przeprowadzono u 10 chorych metodą podwójnie ślepej próby z zastosowaniem podwójnej prowokacji: wysiłkiem i zimnym powietrzem.

W naszej pracy stwierdziliśmy zahamowanie przez Atrovent powysiłkowego bronchospazmu u połowy badanych. Jest to wynik prawie identyczny z tym, który uzyskali Boulet i wsp. [6]. Ochronne działanie tego preparatu rozciągało się na cały okres wczesnej fazy powysiłkowego skurczu oskrzeli. Statystycznie istotne zredukowanie spadku wartości FEV₁ obserwowano w 5, 10 i 20 minucie po zakończeniu obciążenia, największe w 5 minucie, bo aż o około 75%, najmniejsze w 20 minucie, wynoszące 52%. Z przedstawionych liczb wynika, że efektywność bromku ipratropium, aczkolwiek wyraźna i statystycznie znamienne, jest jednak połowiczna. Dokładna analiza poszczególnych przypadków potwierdziła to, co można pośrednio wnioskować z wyliczeń statystycznych. Ujemny wynik testu wysiłkowego po nebulizacji Atroventu uzyskiwano na ogół u tych chorych, u których w pierwszej próbie Δ FEV₁ nie przekraczała granicy -25%. Być może Poppius i wsp. [8] m.in. dlatego nie wykazali skuteczności Atroventu w astmie wysiłkowej, że ich dziesięcioosobowa grupa badana składała się z pacjentów o wysokim stopniu reaktywności oskrzeli na prowokację wysiłkiem.

Wyraźnie gorsze wyniki obserwowaliśmy po zastosowaniu Gastrozepinu. Lek ten powodował jedynie umiarkowane, statystycznie nieznamienne zredukowanie

spadku wartości FEV₁ w obserwowanych punktach czasowych. Zahamowanie pod jego wpływem indukowanego wysiłkiem bronchospazmu u 5 z 14 badanych jest co prawda zjawiskiem mieszczącym się w kategoriach istotności statystycznej ($p = 0,02$), ale jednoczesny dwukrotny (z 2 do 4) wzrost liczby wybitnie dodatnich wyników testu rodzi wątpliwość, czy obserwowanych po tym leku zmian przebiegu próby wysiłkowej nie należałoby, do pewnego stopnia, traktować jako zdarzenia losowego. Przeciwnie takiej interpretacji przemawiałyby dane literaturowe podkreślające dobrą powtarzalność testu wysiłkowego w krótkich przedziałach czasowych [15]. Obciążenie wysiłkiem było we wszystkich trzech seriach testów podobne, można więc wykluczyć wpływ zmian jego natężenia na uzyskane wyniki.

Spotęgowanie przez Gastrozepin u niektórych chorych odpowiedzi skurczowej oskrzeli na prowokację wysiłkiem stawia pod znakiem zapytania celowość ewentualnych prób poprawienia jego efektywności poprzez zwiększanie dawki.

Przedstawione w tej pracy wyniki potwierdzają współdziałanie receptorów muskarynowych M₃ w patomechanizmie powysiłkowego skurczu oskrzeli, podczas gdy rola receptorów M₁ wydaje się być w tym względzie wyraźnie mniejsza lub wręcz dyskusyjna. Być może podanie pirenzepiny inną drogą niż wziewna byłoby bardziej efektywne. Receptory M₁ nie występują bowiem na mięśniach gładkich oskrzeli, a na gruczołach śluzowych są reprezentowane w stosunku do receptorów M₃ w proporcji 1:2.

Można spekulować, że czynnikiem ograniczającym skuteczność bromku ipratropium jest blokowanie przez niego również receptorów M₂ [1,4].

Reasumując, wykazano, że bromek ipratropium podawany w nebulizacji w dawce 0,25 mg powoduje zahamowanie powysiłkowego skurczu oskrzeli u 50% chorych z wysiłkową astmą oskrzelową. Pirenzepina w dawce 5 mg stosowana w nebulizacji nie ma właściwości bronchodilatoryjnych, a jej wpływ ograniczający powysiłkowy bronchospazm jest niewielki lub wręcz dyskusyjny. Uzyskane wyniki sugerują, że receptory muskarynowe M₃ odgrywają rolę w patomechanizmie powysiłkowego skurczu oskrzeli. Nie zdołano natomiast udowodnić podobnej roli w odniesieniu do receptorów M₁.

Piśmiennictwo

1. Barnes P.J.: Muscarinic receptor subtypes in airways. *Eur.Respir. J.* 1993, 6: 328-331.
2. Lemanske R. F., Kaliner M. A.: Autonomic nervous system abnormalities and asthma. *Am.Rev.Respir.Dis.* 1990, 141: 157-161.
3. Goldie R.G.: Receptors in asthmatic airways. *Am.Rev.Respir.Dis.* 1990, 141: 151-156.
4. Buczek W.: Leki działające na układ cholinergiczny. *Farmakoterapia chorób alergicznych*. Pod red. S. Chyrek-Borowskiej i K. Wiśniewskiego. PZWL, Warszawa 1993, 59-61.
5. Jinno S., Hua X., Yakish T.L.: Nicotine and acetylcholine induce release of calcitonin gene-related peptide from rat trachea. *J.Appl.Physiol.* 1994, 76: 1651-1656.
6. Boulet L.B. i wsp.: Prevalence and characteristics of late asthmatic responses to exercise. *J.Allergy Clin.Immunol.* 1987, 80: 655-662.
7. Godfrey S., Konig P.: Inhibition of exercise induced asthma by different pharmacological pathways. *Thorax*, 1976, 31: 137-143.
8. Poppius H. i wsp.: Lack of protective effect of high dose ipratropium on bronchoconstriction following exercise with cold air breathing in patients with mild asthma. *Eur.J.Respir.Dis.* 1986, 68: 319-325.
9. Anderson S.D.: Issues in exercise induced asthma. *J. Allergy Clin.Immunol.* 1985, 76: 763-772.
10. Eggleston P.A. i wsp.: Guidelines for the methodology of exercise challenge testing of asthmatics. *J.Allergy Clin.Immunol.* 1979, 64: 642-645.
11. Zieliński J.: *Badania wysiłkowe w ocenie czynności płuc*. PZWL, Warszawa 1992: 54.
12. Gross N.: Ipratropium bromide, *N.Engl.J.Med.* 1988, 319: 486-494.
13. Higgins B. i wsp.: Effect of salbutamol and ipratropium bromide on airway calibre and bronchial reactivity in asthma and chronic bronchitis, *Eur.Respir.J.* 1991, 4: 415-420.
14. Leitch A.G. i wsp.: The effect of aerosol ipratropium bromide and salbutamol on exercise tolerance in chronic bronchitis. *Thorax*, 1978, 33: 711-713.
15. Speelberg B. i wsp.: Late asthmatic responses after exercise challenge are reproducible. *J.Allergy Clin.Immunol.* 1991, 87: 1128-1137.

Comparison of the effects of muscarinic receptor antagonists M₁ or M₂ and M₃ on exercised induced bronchoconstriction in asthmatic patients

JERZY LIEBHART, ANNA DOR, EWA LIEBHART, JÓZEF MAŁOLEPSZY

Summary

To assess the effects of muscarinic receptors on exercise induced bronchoconstriction an exercise provocation test at 80% of VO₂ max was repeated 3 times in 14 patients with exercise induced asthma. The 2nd and 3rd challenges were conducted under double-blind conditions after 0,25 mg of ipratropium bromide (M₂ and M₃ antagonist) or 5 mg of pirenzepine (M₁ receptor antagonist) given in nebulization. The test was considered as positive if a decrease in FEV₁ by at least 15% of initial value was observed in any of consecutive spirometric measurements performed at 5, 10, 20 or 30 minutes after completing the exercise. All the results of the provocations conducted without pretreatment with anticholinergics were positive. After ipratropium bromide, the statistically significant reduction of exercise induced bronchoconstriction was found at 5, 10 and 20 min after exercise, while the effect of pirenzepine was small and statistically non significant.