

Wpływ inhibitora fosfodiesterazy 4-tej (rolipramu) na przebieg doświadczalnej astmy alergicznej – badania na modelu świnki morskiej

Effect of phosphodiesterase 4 inhibitor (rolipram) on experimental allergic asthma-guinea pig model

Patrycja Nejman-Gryz¹, Hanna Grubek-Jaworska¹, Jarosław Glapiński², Ryszarda Chazan¹

¹ Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych, Pneumologii i Alergologii, AM, Warszawa.
Kierownik prof. dr hab. med. R. Chazan

² Zakład Bioprzepliwów Inst. Biocybernetyki i Inżynierii Biomedycznej PAN Warszawa, Kierownik: prof. dr hab. A. Weryński

Summary: Selective phosphodiesterases (PDE) inhibitors are the new group of antiasthmatic drugs, which integrate antiinflammatory activity with bronchoconstriction counteraction. Selective inhibitors of phosphodiesterase type 4 are used as alternative or assist drugs in treatment of respiratory system diseases. So far glucocorticosteroids remain the most efficient and widely used medicine in the treatment of asthma. However application of glucocorticosteroid is greatly limited because of numerous side effects, what induce to permanent search for new antiasthmatic drugs. Examination new substances are executed on animal models. Guinea pig model is widely used to research course of asthmatic reaction. This model is especially convenient on the ground of that: lung is major shock organ, airway respond to histamine, animals demonstrated early asthmatic reaction (EAR) and late asthmatic reaction (LAR), eosinophils flow in bronchoalveolar space during LAR. In ovalbumin (OA) sensitized guinea pigs hypersensitivity reaction breaks out as a result of OA provocation.

Aims of our experiments, execute on guinea pig model were to determine the influence of rolipram (PDE 4 inhibitor) on modulation experimental asthmatic reaction and comparison activity of rolipram versus dexamethasone in attribution to chosen parameters of allergic reaction such as: lung resistance, influx of protein and inflammatory cells in airways, and mastocytes degranulation. Experiments were made on guinea pigs sensitized and provoked with ovalbumin. The obtain data indicate that rolipram was effective in reduction the rise of lung resistance during EAR, restricted influx of eosinophils to bronchoalveolar space between 1,5 and 24 hours after provocation, and reduced increase of histamine concentration in bronchoalveolar lavage fluid (BALf). Rolipram had no influence on number of neutrophils present in BALf. Dexamethasone in double dose of 1,2mg/kg effectively bordered the growth of lung resistance during EAR, and broke influx of eosinophils and neutrophils to bronchoalveolar space.

Pneumonol. Alergol. Pol. 2006, 74, 106:112

Key words: guinea pigs, dexamethasone, allergy asthma, phosphodiesterase4 inhibitor

Wstęp

Fosfodiesteraza 4 (PDE4) jest enzymem swoistym dla cAMP i należy do rodziny, izoenzymów, która jest jednym z ważnych molekularnym celów dla nowoczesnych leków przeciwastmatycznych. Selektywne inhibitory fosfodiesterazy 4-tej są nową grupą leków łączących działanie przeciwzapalne z działaniem rozszerzającym oskrzela. Stosuje się je jako leki alternatywne, bądź wspomagające w leczeniu chorób układu oddechowego.

cAMP jako przekaźnik II-go rzędu pośredniczy (obok cGMP) w fizjologicznej odpowiedzi na hormony, neurotransmitery lub leki i pełni ważne regulatorowe funkcje we wszystkich typach komórek zaangażowanych w patofizjologię astmy. Wzrost stężenia cAMP hamuje uwalnianie preformowanych i nowotworzonych mediatorów z mastocytów i bazofili (13), degranulację i tworzenie tlenowych

metabolitów w neutrofilach i eozynofilach (11), proliferację limfocytów T (10), generowanie kluczowych cytokin takich jak TNF- α , IL-2, IFN- γ , IL-4 (23). cAMP i cGMP pośredniczą w relaksacji mięśni gładkich dróg oddechowych na drodze klasycznej przy udziale kinazy proteinowej (17). cAMP promuje sekrecję Cl⁻, HCO₃⁻ i Na⁺ z komórek epitelium (32), nasila i synchronizuje ruch rzęsek (22), wzrost zawartości cAMP pomaga utrzymać integralność bariery śródbłonkowej i chroni przed wzrostem przepuszczalności, ponadto cAMP hamuje ekspresję ELAM-1 i VCAM-1, które odgrywają centralną rolę w rekrutacji komórek zapalnych do dróg oddechowych (15). W przebiegu chorób alergicznych, układu oddechowego metabolizm cAMP przez fosfodiesterazy uznaje się za zjawisko niekorzystne, czego konsekwencją jest terapeutyczne zastosowanie inhibitorów tego enzymu.

W drogach oddechowych człowieka, zarówno w tchawicy, jak i w obwodowych drogach oddechowych zidentyfikowano obecność fosfodiesteraz: PDE1, 2, 3, 4 i 5. Z badań nad aktywnością PDE4 wynika, że właśnie zahamowanie aktywności tego izoenzymu może znaleźć zastosowanie w leczeniu chorób układu oddechowego (1). PDE4 występuje w eozynofilach, mastocytach, monocytach, neutrofilach, a wraz z PDE3 w bazofilach, makrofagach pęcherzykowych i limfocytach T (23). Biochemiczna i funkcjonalna analiza izozymów PDE sugeruje, że PDE3 i PDE4 wspólnie regulują zawartość cAMP w mięśniach gładkich ludzkich dróg oddechowych. (25)

Archetypowym nieselektywnym inhibitorem PDE stosowanym od wielu lat w leczeniu astmy jest teofilina (24). Pomimo atrakcyjnego terapeutycznego profilu, użyteczność, tego leku jest ograniczona przez szeroki zakres efektów ubocznych występujących w układzie pokarmowym, sercowo-naczyniowym i centralnym systemie nerwowym (14). Teofilina wykazuje wysoką zdolność do hamowania aktywności PDE poza płucami, co jest głównym czynnikiem ograniczającym atrakcyjność terapeutyczną tego związku. Aktualnie prowadzone są wielokierunkowe badania nad aktywnością selektywnych, z mniejszymi działaniami niepożądanymi, inhibitorów fosfodiesteraz: roflumilastu, cilomilastu, milironu, sildenafilu (30, 12)

Aktywność większości izoenzymów PDE wykazano w mięśniach gładkich dróg oddechowych u szeregu gatunków zwierząt (20), przy czym inhibitory PDE4 wykazywały stosunkowo najszersze spektrum działań przeciwzapalnych. Zastosowane inhibitory PDE4 hamowały indukowany antygenem skurcz oskrzeli, zmniejszały nadreaktywność dróg oddechowych oraz przepuszczalność mikronaczyń płucnych m.in. u świnek morskich (7). Wykazano, że u świnek morskich inhibitory PDE3 i PDE4 działają synergistycznie w zapobieganiu zwięźnia oskrzeli wywołanego podaniem histaminy lub leukotrienu D₄ (27). Właśnie ten model doświadczalny wybrano w przedstawianej pracy do oceny wpływu aktywności inhibitora PDE4 na przebieg eksperymentalnej astmy.

Celem pracy była ocena wpływu rolipramu – inhibitora PDE4 – na przebieg eksperymentalnej reakcji astmatycznej u świnek morskich oraz porównanie na tym modelu doświadczalnym aktywności rolipramu i deksametazonu. W przebiegu reakcji astmatycznej analizowano skład płynu z płukania oskrzelowo-pęcherzykowego (bronchoalveolar lavage fluid –BALf) we wczesnej i późnej fazie reakcji astmatycznej (odpowiednio EAR

– early astmatic reaction oraz LAR – late asthmatic reaction) oraz wartości oporu płucnego (LR – lung resistance) w przebiegu EAR.

Materiały i metody

Zwierzęta i schemat immunizacji. Całość doświadczeń wykonano dwuetapowo. Doświadczenia dotyczące analizy BALf przeprowadzono na świnkach morskich rasy Hartley Dunkin (samce, 250-300g). Zwierzęta pochodziły z hodowli firmy Charles-River i były wolne od pasożytów (PF). Pomiary oporu płucnego przeprowadzono na trójkolorowych świnkach morskich obu płci (250 -300g,) zwierzęta pochodziły z Hodowli Zwierząt Laboratoryjnych (Długosiodło- Jagiel).

W obu etapach doświadczeń stosowano podobny schemat immunizacji, oraz podawania deksametazonu i rolipramu. Zwierzęta immunizowano albuminą jaja kurzego w stężeniu 10 µg/ml z wodorotlenkiem glinu jako adjuwantem wg schematu Iijima H. (8): 1000 µg albuminy rozpuszczano w 3 ml wody, dodawano 1,35 ml 1M NaHCO₃, a następnie wolno wkraplano, stale mieszając 3 ml 0,2M KAl(SO₄)₂ x 12 H₂O i dopełniano do 100 ml wodą. Zawiesinę pozostawiano w temperaturze pokojowej na 15 minut, następnie wirowano 300 x g, 15 minut w +4°C, nadsącz dekantowano i odrzucano, a osad płukano trzykrotnie PBS i zawieszano w 100 ml PBS otrzymując koloidalną Al(OH)₃ zawiesinę antygeny. Immunizacja obejmowała dwukrotne, w odstępie 14 dni wstrzyknięcie 1 ml otrzymanej zawiesiny: 0,25 ml dootrzewnowo a pozostałość podskórnie (5 razy po 0,15 ml) w kark, okolicę węzłów pachowych i pachwinowych. Inhalację alergenu przeprowadzano 10 dnia po drugim szczepieniu. W badaniu parametrów biochemicznych i cytologicznych BALf stosowano 2 minutową inhalację 0,5% roztworem albuminy w PBS przy użyciu inhalatora dyszowego – MEDBRYT. Zwierzęta inhalowano roztworem antygeny, jednocześnie 5 świnek morskich w komorze o pojemności 17dm³. W badaniu oporu oddechowego stosowano 2 minutową inhalację 0,5 % roztworem albuminy w PBS przy użyciu nebulizatora ultradźwiękowego Thomex L-2 z przepływem 1,2 ml/ min z wykorzystaniem prototypowego respiratora dla małych zwierząt (Instytut Biocybernetyki Polskiej Akademii Nauk).

Deksametazon (Dexaven -Jelfa Jelenia Góra) w stężeniu 1,2 mg/kg masy ciała świnki wstrzykiwano dootrzewnowo dwukrotnie: na 20 godzin przed prowokacją antygenową, oraz 1 godzinę 20 minut przed prowokacją.

Rolipram w stężeniu 1 mg/kg masy ciała świnki wstrzykiwano jednorazowo- dootrzewnowo 30 minut przed inhalacją OA.

Clemastinum w stężeniu 2 mg/ kg masy ciała podawano dootrzewnowo na 1,5 godziny przed inhalacją OA w celu uniknięcia układowej anafilaksji.

Pomiar parametrów oddechowych. Świnki morskie usypiano wstrzykując dootrzewnowo ketaminę w stężeniu 40 mg/kg masy ciała z ksylazyną w stężeniu 5mg/kg masy ciała świnki. Wyłaniano tchawicę i żyłę szyjną, kaniulowano tchawicę, a do żyły szyjnej wstrzykiwano pancuronium bromide w stężeniu 1,5 mg/kg masy ciała świnki. LR określano w badaniu ciągłym przez pierwsze 12 minut po prowokacji antygenowej w układzie oddechów wymuszonych, przy objętości równej 3ml i częstotliwości 100 oddechów/ minutę. Odniesieniem dla wartości oporu płucnego po prowokacji alergicznej był opór płucny uzyskany po wstępnej 2 min inhalacji PBS przyjęty za 100%. Ze stu pomiarów wartości oporu oddechowego z każdej minuty wyliczono medianę.

BAL-f. Płukanie oskrzelowo-pęcherzykowe przeprowadzono zgodnie z procedurą wg. Iijima H. (8). Świnie morskie usypiano Vetbutalem (Biowet-Puławy, 50 mg/kg). Płuca płukano dwukrotnie 10 ml PBS z 10 IU heparyny /ml. Odzysk BALf wynosił średnio 16 ml±1,3 ml. Po przesączeniu przez gazę BALf wirowano przy 300 x g, przez 15 minut przy + 4°C. Nadsącz w kilku porcjach zamrażano w - 70°C do dalszych badań. Osad komórek zawieszano w 100 µl RPMI, z zawiesiny pobierano 20 µl w celu oznaczenia liczby komórek w zawiesinie, oraz 2 razy po 5 µl do sporządzenia mikroskopowych preparatów rozmazowych. Płukanie oskrzelowo- pęcherzykowe przeprowadzono w 3 punktach czasowych, przed prowokacją antygenową – punkt określony jako 0h, oraz w 2 punktach czasowych po prowokacji: 1,5h, 6-8h. W każdym punkcie czasowym przebadano 4-6 zwierząt. W płynie z płukania oskrzelowo pęcherzykowego określano:

- całkowitą liczbę komórek – przy użyciu komory Burker-a
- skład odsetkowy komórek – rozmazy zawiesiny komórek barwiono metodą May- Grunwalda / Giemsa (metoda Pappenheima) i mikroskopowo oceniano odsetek limfocytów, makrofagów, neutrofilów i eozynofili analizując 300 komórek z pominięciem komórek nabłonka
- całkowite stężenie histaminy – stężenie histaminy w nadsączach oznaczano stosując metodę radioimmunoenzymatyczną (RIA) przy użyciu kit Histamine REF-1659 (Immunotech)

Układ doświadczeń. Zarówno w doświadczeniu dotyczącym oceny parametrów BALf, jak i pomiarów RL, zwierzęta dzielono losowo na trzy równoliczne grupy: grupę kontrolną, (K), grupę, która otrzymała wstrzyknięcia deksametazonu (I), oraz grupę, która otrzymała wstrzyknięcia rolipramu (II). Zwierzęta wszystkich grup były immunizowane OA i wszystkie poddano inhalacyjnej prowokacji OA. Zwierzęta immunizowane i inhalowane OA bez wstrzyknięć deksametazonu i rolipramu (K), stanowiły grupę odniesienia dla obu pozostałych grup.

Analiza statystyczna wyników W analizie statystycznej stosowano test U Manna- Whitneya. Poziom istotności różnic

między porównywanymi grupami przyjęto jako równy lub mniejszy od 0,05. Stosowano program komputerowy STATISTICA 5.1.

Na wykonane doświadczenia uzyskano zgodę Komisji Etycznej Akademii Medycznej w Warszawie.

Wyniki badań

Zmiany wartości oporu płucnego.

W kontrolnej grupie zwierząt począwszy od 6 minuty po inhalacji OA stwierdzono statystycznie znamienne wzrost wartości oporu płucnego w stosunku do wartości przed prowokacją. W grupie zwierząt, którym przed prowokacją OA podano deksametazon, a także w grupie świnek, którym przed prowokacją OA wstrzyknięto rolipram nie zaobserwowano istotnych zmian wartości oporu płucnego w stosunku do wartości wyjściowych. (Ryc. 1)

Pomiędzy 1-szą i 6-tą minutą po inhalacji OA nie obserwowano istotnych różnic w wartości LR między poszczególnymi grupami świnek morskich. Począwszy od 6 min. obserwowano statystycznie istotne różnice w wartościach oporu oddechowego pomiędzy grupami eksperymentalnymi, a grupą kontrolną. Najniższe wartości oporu oddechowego stwierdzono u zwierząt, którym wstrzyknięto rolipram. We wszystkich punktach czasowych nie przekraczały one wartości wyjściowej, a w 6 -12 minucie badania, były znamienne niższe w porównaniu z grupą kontrolną. W grupie świnek morskich, którym podano deksametazon notowano statystycznie istotne niższe wartości oporu płucnego w

Ryc.1 Wartości oporu płucnego w czasie po inhalacji OA
Fig.1. LR values after OA inhalation.

9-tej, 10-tej, oraz 12-tej minucie po prowokacji OA w stosunku do grupy kontrolnej. (Ryc.2)

Zmiany parametrów cytologicznych w BAL-f.
Wpływ deksametazonu i rolipramu na dynamikę napływu komórek do przestrzeni oskrzelowo-pęcherzykowej po inhalacji albuminą w poszczególnych grupach zwierząt obrazuje Ryc.3.

Statystycznie znaczne oddziaływanie rolipramu na komórki pozyskiwane z BALf w porównaniu z grupą kontrolną zaznaczyło się przede wszystkim wybiórczym zahamowaniem napływu eozynofili. Za wybiórczością oddziaływania rolipramu na eozynofile przemawia fakt, że ogólna liczba leukocytów pozyskiwanych z BALf we wszystkich punktach

Ryc.2 Porównanie wartości median oporu płucnego w poszczególnych grupach zwierząt

Fig.2. Comparison of LR medians values in different groups of animals.

Ryc.3 Komórki BAL-f przed oraz 1,5 i 6-8 godzin po inhalacyjnej prowokacji OA

Fig.3. BAL-f cells before, 1,5 and 6-8hrs after OA inhalation.

czasowych grupy kontrolnej oraz grupy poddanej działaniu rolipramu nie różniła się znamienne, a w przypadku makrofagów i neutrofilii wstrzyknięcia rolipramu skutkowało nawet statystycznie znaczącym zwiększeniem napływu tych komórek do przestrzeni oskrzelowo-pęcherzykowej (w odniesieniu do makrofagów w 1,5 godz., w odniesieniu do neutrofilii w 6-8 godzinie po prowokacji).

Deksametazon, w odróżnieniu od rolipramu, ograniczał napływ wszystkich typów komórek, przy czym, również w odróżnieniu od rolipramu, zaznaczało się to znamienne jeszcze przed prowokacją i z jednym wyjątkiem dla neutrofilii (w 6-8 godz.) obejmowało wszystkie komórki w badanych punktach czasowych.

Stężenia histaminy w BAL-f. Zarówno rolipram, jak i deksametazon ograniczały uwalnianie histaminy w porównywalnym stopniu w zestawieniu z kontrolną reakcją astmatyczną, chociaż dla deksametazonu tylko w 6-8 godz. była to różnica statystycznie znamienne w odniesieniu do zwierząt kontrolnych. (Ryc.4)

Omówienie wyników

Autorzy współczesnych opracowań podkreślają przydatność modelu świnek morskich w badaniach dotyczących farmakologicznej modyfikacji przebiegu astmy u ludzi (26). Ze względów technicznych najczęściej bada się jedynie niektóre spośród wszystkich możliwych do odtworzenia parametrów na tym modelu zwierzęcym (EAR, LAR, napływ komórek do dróg oddechowych, stężenie mediatorów w BALf, zmiany histopatologiczne). Również w przedstawianej pracy dokonano takiego wyboru.

Opór płucny. W porównaniu wpływu rolipramu i deksametazonu na mechanikę oddychania ograniczono się do śledzenia oporu płucnego we wczesnej fazie reakcji astmatycznej. W stosowanych dawkach (1mg/kg), jednorazowe podanie rolipramu na 0,5 godziny przed antygenową prowokacją inhalacyjną okazało się bardziej skuteczne od efektów uzyskanych po dwukrotnym podaniu deksametazonu w dawce 1,2 mg/kg. Uzyskane wyniki dotyczące

Ryc.4 Stężenie histaminy w BAL-f przed prowokacją oraz w 1,5 i 6-8 godzinie po inhalacyjnej prowokacji OA.

Fig.4. Histamine concentration before, 1,5 and 6-8hrs after OA inhalation.

rolipramu korespondują z pracami innych autorów, którzy na podobnym modelu zwierzęcym badali wpływ tego związku in vivo i in vitro na drogi oddechowe. In vivo, podobnie jak w naszych doświadczeniach, rolipram stosowany przez różnych autorów w różnych dawkach hamował indukowany albuminą skurcz oskrzeli i wczesną reakcję astmatyczną (16). In vitro aktywność rolipramu powodowała relaksację fragmentów tchawicy (28, 27). W omawianych doświadczeniach własnych deksametazon w nieznacznie mniejszym stopniu znosił narastanie oporu oddechowego indukowanego prowokacją alergenową. Stężenia glikokortykoidów stosowane przez innych autorów w ograniczaniu reakcji astmatycznej u świnek morskich wahają się w bardzo szerokich granicach – deksametazon we wstrzyknięciach dootrzewnowych od 0,25 mg/kg do 20 mg/kg (2, 9, 26). Glikokortykoidy podawano zazwyczaj przed prowokacją alergenową, niekiedy również po inhalacji alergenu. W przedstawianej pracy przy doborze dawek i schemacie podawania deksametazonu kierowano się danymi z piśmiennictwa (29) oraz własnym doświadczeniem stosowania deksametazonu w płucnej reakcji alergicznej na modelu świnki morskiej (5). Szczegółowa dyskusja z wynikami innych autorów jest trudna ze względu na różnice w stosowanych dawkach glikokortykosteroidów. Istnieje jednak zgodność opinii, że glikokortykosteroidy będąc lekami z wyboru w długiej historii leczenia astmy, są dobrym odniesieniem w ocenie aktywności nowych terapeutyków.

Analiza płynu BAL. Ograniczenie przez glikokortykoidy napływu komórek do przestrzeni oskrzelowo-pęcherzykowej w przebiegu indukowanej OA reakcji astmatycznej u świnek morskich obserwowane w naszym doświadczeniu jest powszechnie znane i opisywane przez wielu badaczy (3, 9, 26). Sporadyczne obserwacje dotyczące braku wpływu deksametazonu na rekrutację eozynofili do dróg oddechowych (2) nie znajdują potwierdzenia w naszych doświadczeniach. W odróżnieniu od deksametazonu, rolipram w wyraźny sposób ograniczał jedynie napływ eozynofili, natomiast był nieskuteczny w odniesieniu do innych komórek izo-

lowanych z dróg oddechowych. Napływ komórek do dróg oddechowych jest wypadkową działania wielu, niekiedy miejscowo wydzielanych czynników: np. w przypadku neutrofilii są to IL-8, TNF-alfa, eozynofili – IL-5, GM-CSF i eotaksyny (31), limfocytów – CD11/18, ICAM-1 (4). Przypuszczać można, że aktywność deksametazonu i rolipramu w odniesieniu do tych czynników nie jest tożsama.

Przenikanie histaminy pochodzącej z degranulacji mastocytów śluzówki dróg oddechowych do przestrzeni oskrzelowo-pęcherzykowej w przebiegu reakcji astmatycznej jest faktem opisywanym w podręcznikach. Obserwowano to również w przedstawianej pracy, a dynamika wzrostu stężenia histaminy w BALf po prowokacji w naszych doświadczeniach jest zgodna z obserwacjami innych autorów (26). W prezentowanych doświadczeniach zarówno deksametazon jak i rolipram były jednakowo skuteczne w stabilizacji mastocytów. Istnieją rozbieżności w ocenie wpływu glikokortykosteroidów na uwalnianie histaminy z mastocytów płucnych. Stabilizacja mastocytów przez glikokortykoidy jest dyskutowana w piśmiennictwie. Według niektórych autorów glikokortykosteroidy nie hamują uwalniania histaminy z mastocytów, w odróżnieniu od bazofili – badania na komórkach ludzkich (18). Inni badacze dowodzą, że deksametazon wykazuje słabe działanie hamujące na uwalnianie histaminy-badania prowadzone na naczelnych (6). W piśmiennictwie brak jest danych dotyczących wpływu deksametazonu na uwalnianie histaminy we wczesnym okresie rozwoju płucnej reakcji astmatycznej u świnek morskich. Dotychczasowe dane dotyczące skuteczności rolipramu w hamowaniu wydzielania histaminy pochodzą przede wszystkim

z doświadczeń *in vitro* na komórkach ludzkich (19). W przeciwieństwie do naszych obserwacji, cytowani autorzy nie stwierdzali hamowania uwalniania histaminy z mastocytów. Według niektórych badaczy rolipram ogranicza uwalnianie histaminy jedynie z aktywowanych bazofili (33). Własne (*in vivo*) oraz cytowane układy doświadczalne (*in vitro*) nie mogą być jednak w prosty sposób porównywane. Zagadnienie wymaga dalszych rozstrzygnięć doświadczalnych. Mechanizm regulacji odpowiedzi mastocytów na inhibitory fosfodiesterazy 4 nie jest dotychczas poznany (21).

Jeżeli w odniesieniu do astmy za najważniejsze elementy kaskady alergicznej uważa się skurcz oskrzeli, oraz napływ eozynofili, to w przedstawianych doświadczeniach w przebiegu eksperymentalnej EAR, rolipram okazał się porównywalnie skuteczny przy jednorazowym podaniu przed prowokacją alergenową w zestawieniu z dwukrotnym podaniem deksametazonu. Nie upoważnia to do wnioskowania, że jednorazowe podanie rolipramu może być równie korzystne w zahamowaniu późnej reakcji astmatycznej, bowiem z niektórych badań wynika, że rolipram w odróżnieniu od deksametazonu nie był równie skuteczny w ograniczaniu LAR (26).

Wnioski

Jednorazowe podanie rolipramu przed prowokacją alergenową ogranicza wzrost oporu oddechowego, zmniejsza napływ eozynofili i hamuje uwalnianie histaminy podczas wczesnej fazy alergicznej reakcji astmatycznej na modelu świnki morskiej

Piśmiennictwo

1. Barnes P.J. i wsp.: Asthma, Lippincot Raven Publishers, Philadelphia, 1997, 37
2. Ewans C.M., Jacoby D.B., Fryer A.D.: Effects of dexamethasone on antigen-induced airway eosinophilia and M(2) receptor dysfunction. *Am J Respir Crit Care Med* 2001, 163, 1484-92
3. Gallico L. I wsp.: Effects of moguisteine, a peripheral nonnarcotic antitussive agent, on airway inflammation in guinea-pigs *in vivo* *Eur Respir J.* 1996, 9, 478-85
4. Gosset P. i wsp.: The role of endothelial cells in asthma. *Asthma.* 1997, 37, 507-522
5. Grubek-Jaworska H. i wsp.: Wpływ krótkotrwałego podawania deksametazonu na wybrane parametry popłuczyn oskrzelowo-pęcherzykowych w przebiegu reakcji opóźnionej nadwrażliwości w płucach świnek morskich. *Pneumonol Alergol Pol* 1994, 62, 15-23.
6. Gundel R.H. i wsp.: Antigen-induced mediator release in primates. *Am Rev Respir Dis.* 1991, 144, 76-82
7. Howell R.E., Sickels B.D., Woepel S.L.: Pulmonary antiallergic and bronchodilator effects of isozyme-selective phosphodiesterase inhibitors in guinea pigs. *J Pharmacol Exp Ther.* 1993, 264, 609-615
8. Iijima H. i wsp.: Bronchoalveolar lavage and histologic characterization of late asthmatic response in guinea pigs. *Am Rev Respir Dis.* 1987, 136, 922-929
9. Kuss H. i wsp.: *In vivo* efficacy in airway disease models of N-(3,5-dichloropyrid-4-yl)-(1-(4-fluorobenzyl)-5-hydroxyindole-3-yl)-glyoxylic acid amide (AWD12-281), a selective phosphodiesterase 4 inhibitor for inhaled administration. *J Pharmacol Exp Ther.* 2003, 307, 373-85
10. Lingk D.S., Chan M.A., Gelfand E.W.: Increased cyclic adenosine monophosphate levels block progression but not initiation of human T-cell proliferation. *J Immunol.* 1987, 145, 449-455

11. Nielson C.P., Vestal R.E.: Effects of adenosine on polymorphonuclear leucocyte function, cyclic 3':5' adenosine monophosphate and intracellular calcium. *Br J Pharmacol.* 1989, 97, 882-888
12. Oger S. i wsp.: Anti-inflammatory and utero-relaxant effects in human myometrium of new generation phosphodiesterase 4 inhibitors. *Biol Reprod.* 2004, 70, 458-64
13. Peachell P.T. i wsp.: Regulation of human basophil and lung mast cell function by cyclic adenosine monophosphate. *J Immunol.* 1988, 140, 571-579
14. Persson C.G.A.: Overview of effects of theophylline. *J Allergy Clin Immunol.* 1986, 78, 780-787
15. Pober J.S. i wsp.: Elevated cAMP inhibits endothelial cell synthesis and expression of TNF- induced endothelial leukocyte adhesion molecule -1, and vascular cell adhesion molecule-1, but not intercellular adhesion molecule-1. *J Immunol.* 1993, 150, 5114-5123
16. Reaburn D., Underwood S.L., Lewis S.A.: Anti-inflammatory and bronchodilator properties of RP 73401, a novel and selective phosphodiesterase type IV inhibitor. *Br J Pharmacol.* 1994, 113, 1423-1431
17. Schramm C.M., Grunstein M.M.: Assessment of signal transduction mechanisms regulating airway smooth muscle contractility. *Am J Physiol.* 1992, 262, 119-139
18. Schroeder J.T. i wsp.: Regulation of IgE-dependent IL-4 generation by human basophils treated with glucocorticoids. *J Immunol.* 1997, 158, 5448-54
19. Shichijo M. i wsp.: Role of cyclic 3',5' -adenosine monophosphate in the regulation of chemical mediator release and cytokine production from cultured human mast cells. *J Allergy Clin Immunol.* 1999, 103, 421-428
20. Silver P.J. i wsp.: Differential pharmacologic sensitivity of cyclic nucleotide phosphodiesterase isozymes isolated from cardiac muscle, arterial and airway smooth muscle. *Eur J Pharmacol.* 1988, 150, 85-94
21. Spina D. i wsp.: *Drugs for the treatment of respiratory diseases*, Cambridge, 2003
22. Tamaoki J., Kondo M., Takizawa T.: Effect of cAMP on ciliary function in rabbit tracheal epithelial cells. *J Appl Physiol.* 1989, 66, 1035-1039
23. Torphy T.J.: Phosphodiesterase inhibitors. *Asthma.* 1997, 120, 1755-1773
24. Torphy T.J.: Phosphodiesterase isozymes. *Am J Respir Crit Care Med.* 1998, 157, 351-370
25. Torphy T.J. i wsp.: Identification, characterization and functional role of phosphodiesterase isozymes in human airway smooth muscle. *J Pharmacol Exp Ther.* 1993, 265, 1213-1223
26. Toward T.J., Broadley K.J.: Early and late bronchoconstriction, airway hyperreactivity, leucocyte influx and lung. *Clin Exp Allergy.* 2004, 34, 91-102
27. Underwood D.C., Kotzer C.J., Bochnowicz S: Comparison of phosphodiesterase III, IV and dual III/IV inhibitors on bronchospasm and pulmonary eosinophil influx in guinea pig. *J Pharmacol Exp Ther.* 1994, 270, 250-259
28. Underwood D.C. i wsp.: Inhibition of antigen- induced bronchoconstriction and eosinophil infiltration in the guinea pig by the cyclic AMP-specific phosphodiesterase inhibitor, rolipram *J Pharmacol Exp Ther.* 1993, 266, 306-13
29. Vargas M.H. i wsp.: Pharmacological characterization of mediators and vagal influence in the acute allergic bronchoconstriction in guinea pigs *Naunyn-Schmiedeberg Arch. Pharm.* 1990, 342, 278-83
30. Vignola A.M.: PDE4 inhibitors in COPD-a more selective approach to treatment. *Resp.Medi.* 2004, 98, 495-503
31. Walker C. i wsp.: Increased expression of CD11b and functional changes in eosinophils after migration across endothelial cell monolayers. *Immunol.* 1993, 69, 264-270
32. Welsh M.J.: Electrolyte transport by airway epithelia. *Physiol Rev.* 1987, 67, 1143-1184
33. Weston M.C., Anderson N., Peachell P.T.: Effects of phosphodiesterase inhibitors on human lung mast cell and basophil function. *Br J Pharmacol.* 1997, 121, 287-29

patrycja@amwaw.edu.pl