

## Nuevos avances en medicamentos: Avances en el tratamiento de las enfermedades pulmonares

JULIO CORTIJO Y ESTEBAN J. MORCILLO

*Departamento de Farmacología. Facultad de Medicina y Odontología  
Universidad de Valencia*

Para entender el interés que tiene el descubrimiento de nuevos fármacos activos en el aparato respiratorio debe advertirse:

- a) Que las enfermedades respiratorias, globalmente consideradas, constituyen el principal motivo de primeras consultas en medicina primaria y suponen la tercera causa de mortalidad en Europa.
- b) Que los estudios sobre utilización de medicamentos demuestran que los productos activos sobre el aparato respiratorio ocupan uno de los primeros puestos, en cuanto a consumo. Así el 'grupo terapéutico' correspondiente al aparato respiratorio representa por sí sólo el 14,4% del total de unidades (tercer puesto en este *ranking*) con una contribución al gasto del 10,7% (cuarto lugar) según datos de ventas del mercado farmacéutico español para el año 2000.
- c) Que desde el punto de vista de la investigación farmacológica, el interés predominante radica en el sector de 'antiasmáticos y broncodilatadores', y es por ello que dedicaremos nuestros esfuerzos a este apartado de modo casi exclusivo. El tratamiento de las infecciones respiratorias, las neoplasias pulmonares, o la hipertensión pulmonar suelen considerarse más bien como un apartado de las correspondientes especialidades, es decir, de los antitumorales, los antiinfecciosos y del aparato cardiovascular, respectivamente.

Así pues, en este capítulo se examinarán los fármacos utilizados en el tratamiento del asma, de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), de la tos (antitusígenos) y en la regulación de la secreción bronquial (mucolíticos).

## 1. FÁRMACOS ANTIASMÁTICOS

Aproximadamente el 5% de la población adulta y el 10-12% de la pediátrica padece asma bronquial, en los países desarrollados. A diferencia de otras patologías prevalentes, la morbimortalidad por asma aumenta, a pesar del uso cada vez mayor de los fármacos antiasmáticos.

Los tres aspectos característicos de esta enfermedad son:

- *Obstrucción bronquial reversible*, con manifestación clínica como episodios de disnea y tos. El término reversible indica que responde bien a la medicación broncodilatadora. Se considera aceptable una respuesta de VEMS (volumen espiratorio máximo en el primer segundo de la espirometría forzada) superior al 15%.
- *Inflamación*: Hasta hace poco se contaba con escasa información sobre las características del proceso inflamatorio de la mucosa bronquial en el asma, sin embargo la utilización del fibroscopio y la posibilidad de obtener biopsias bronquiales ha permitido indicar que las alteraciones histológicas consisten básicamente en: (i) infiltración de la mucosa por eosinófilos activados que segregan diversos productos citotóxicos (radical superóxido, proteína básica mayor, proteína catiónica, peroxidasa y neurotoxina), linfocitos T-helper (CD4+) y mastocitos; (ii) descamación de células epiteliales; y (iii) engrosamiento de la membrana basal por incremento de los depósitos de colágeno de los tipos I, III y V, junto con fibronectina.
- *Hiperreactividad bronquial*: La descamación y daño del epitelio de las vías aéreas permite la exposición directa a agentes irritantes de las terminaciones nerviosas subepiteliales, lo cual provoca reflejos axónicos locales y vagales que pueden producir broncoconstricción, hipersecreción de moco, tos y vasodilatación con extravasación, lo que ocasiona edema e infiltración de células inflamatorias. El grado de hiperreactividad frente a estímulos farmacológicos (metacolina e his-

tamina) se correlaciona con la gravedad clínica del asma. La hiperreactividad bronquial se ha atribuido a distintas causas, entre otras, a anomalías de la inervación adrenérgica, a alteraciones en los niveles de catecolaminas circulantes, a defectos de los receptores  $\beta$ -adrenérgicos y/o al aumento del tono vagal. Aunque estas diferentes hipótesis continúan siendo discutidas, se ha podido comprobar que en el asma la disminución de la inflamación bronquial se acompaña de una reducción del grado de hiperreactividad bronquial.

En resumen, el énfasis en el asma ha pasado de ser considerado una reacción de hipersensibilidad tipo I, donde lo importante era el episodio de broncoespasmo desencadenado por la liberación de mediadores, tras la desgranulación del mastocito al producirse la reacción alérgeno-IgE específica, a ser interpretado en la actualidad como un proceso inflamatorio crónico de las vías aéreas, puesto en marcha por una serie de factores desencadenantes. De acuerdo con estos avances en el conocimiento de los mecanismos patogénicos del asma, esta patología necesita un tratamiento global contra el broncoespasmo y la inflamación de las vías aéreas.

El actual tratamiento del asma no es enteramente satisfactorio. Frente a otras patologías como la hipertensión esencial o el *ulcus* gástrico, en las que se han ido introduciendo medicamentos con ‘nuevos’ mecanismos de acción y en primera línea de tratamiento (inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina y de la bomba de protones, respectivamente), en el asma bronquial esto no ha sucedido todavía, a pesar de la muy reciente incorporación de los antagonistas de receptores de leucotrienos *CysLT<sub>1</sub>* (montelukast, zafirlukast, y pranlukast, ya comercializados) y de los inhibidores de la 5-lipoxigenasa (zileutón, comercializado en E.E.U.U.), que se añaden pero no desplazan al tratamiento convencional con agonistas  $\beta_2$ -adrenérgicos y esteroides. Puede, por tanto, afirmarse que, desafortunadamente, ha habido pocas innovaciones en los fármacos antiasmáticos durante los últimos 30 años.

A continuación comentaremos algunos de los posibles fármacos que pueden aparecer en los próximos años:

- ***Inhibidores de fosfodiesterasa 4***

En concreto los inhibidores selectivos PDE4 denominados de «segunda generación» como «cilomilast» y «roflumilast».

Las fosfodiesterasas (PDE) integran una familia de enzimas que catalizan la hidrólisis de la función diéster fosfato de los segundos mensajeros AMPc y GMPc para dar lugar al 5'-AMPc y 5'-GMPc que son inactivos.

Los isoenzimas de la PDE contienen en su estructura tres dominios funcionales:

- 1) *Lugar catalítico* (estable): en la secuencia de las regiones catalíticas de las diferentes familias de PDEs existe una considerable similitud (identidad ( 50% a nivel de aminoácidos).
- 2) *Extremo N-terminal* (variable): tiene un papel regulador en varias familias de PDEs, ya que posee un dominio de unión a calmodulina en la PDE I, sitios de unión a GMPc en la PDE II, lugares de fosforilación para varias proteína quinasas en PDEs I, III, IV y V, un dominio de unión a la transducina en la PDE VI y en algunas PDEs existe, además, un dominio dirigido a la membrana que es importante ya que determina la compartimentación celular y funcional.
- 3) *Extremo C-terminal* (variable): su papel funcional específico no está claro todavía, aunque se sugiere que este dominio es importante para la dimerización de PDE IVD1. Al igual que para los extremos N-terminal, las secuencias de aminoácidos de estas regiones entre las diferentes familias de PDEs son muy heterogéneas.

Estos tres dominios están conectados por regiones «bisagra» cuya flexibilidad permite que los dominios N- o C-terminales se plieguen sobre la región catalítica modulando, de este modo, el acceso del sustrato a esta porción. Esta circunstancia permite que los reguladores alostéricos puedan incrementar o disminuir la actividad enzimática alterando la estructura terciaria de la enzima.

En la actualidad, se han descrito hasta once clases de isoenzimas (PDE1 a PDE11), cada una codificada por genes independientes, aunque existen isoformas dentro de cada una de las familias derivadas de los correspondientes isogenes. Frente a la nomenclatura inicial en números romanos, en la actualidad se ha impuesto la utilización de números arábigos.

ISOENZIMAS DE LA PDE

<i>Familia (Inhibidores)</i>	<i>Mecanismos de regulación</i>		<i>Km (μM)</i>	<i>Subtipos</i>
	<i>Moleculares</i>	<i>Hormonales</i>		
<b>PDE 1</b> Ca <sup>2+</sup> /CaM activada (Vinpocetina)	Ca <sup>2+</sup> /calmodulina Fosforilación	Agonistas muscarínicos colinérgicos	AMPc ≥ GMPc (1-30) (3)	3
<b>PDE 2</b> GMPc estimuladas (EHNA)	GMPc	ANF Óxido nítrico	GMPc < AMPc (50) (50)	1
<b>PDE 3</b> GMPc inhibida (Milrinona) Fosforilación	GMPc	Insulina Glucagón Dexametasona	GMPc ~ AMPc (0.3) (0.3)	2
<b>PDE 4</b> AMPc específica (Rolipram, RO 20-1724)	AMPc (expresión génica) Fosforilación	TSH FSH Agonistas β- adrenérgicos	GMPc >> AMPc (>3000) (4)	4
<b>PDE 5</b> GMPc específica (Zaprinast, Sildenafil)	GMPc Fosforilación	ANF	AMPc >> GMPc (150) (1)	1
<b>PDE 6</b> GMPc específica	Transducina (proteína G)	Luz	AMPc >> GMPc (2000) (60)	4
<b>PDE 7</b> AMPc específica no inhibidapor rolipram (IBMX)	Mg-independiente	No se conocen	GMPc >> AMPc (>1000) (0.2)	1
<b>PDE 8</b> AMPc específica (Dipiridamol)	No se conocen	No se conocen	AMPc >> GMPc (0.05) (>1000)	1
<b>PDE 9</b> GMPc específica (SCH1866)	No GMPc Fosforilación	No se conocen	GMPc >> AMPc (0.1) (>1000)	1

### Clase 1

Esta clase se denomina también PDE  $\text{Ca}^{2+}$ /calmodulina estimulada porque su actividad hidrolítica sobre los nucleótidos cíclicos se estimula por el  $\text{Ca}^{2+}$  y la calmodulina. Estos reguladores aumentan la  $V_{\text{max}}$  (velocidad máxima de reacción en reacciones enzima-sustrato, que en cinética enzimática, es la velocidad de reacción obtenida en condiciones de saturación de la enzima por el sustrato para unas condiciones determinadas de pH, temperatura y fuerza iónica) de hidrólisis de los nucleótidos cíclicos o reducen el valor  $K_m$  (constante de Michaelis-Menten: concentración de sustrato para la que la velocidad de una reacción enzimática es la mitad de la máxima. Es una medida de la afinidad de la enzima por el sustrato) o simultáneamente incrementan la  $V_{\text{max}}$  y reducen el valor  $K_m$ , determinando diferencias cinéticas entre las distintas isoformas. La actividad de la PDE 1 también está modulada por la fosforilación proteín quinasa-inducida AMPc-dependiente (PDE 1A) y por la calmodulin quinasa II (PDE 1B), lo cual disminuye la afinidad de la PDE 1 por la  $\text{Ca}^{2+}$ /calmodulina y, consecuentemente, atenúa la actividad enzimática.

### Clase 2

Se caracteriza porque su actividad hidrolítica de los nucleótidos cíclicos. Se estimula alostéricamente por la presencia de otros nucleótidos cíclicos, así la hidrólisis del GMPc por la isoenzima PDE 2 se incrementa en la presencia de AMPc y, recíprocamente, la hidrólisis de AMPc aumenta en la presencia de GMPc. A concentraciones fisiológicas, estas isoenzimas de PDE 2 parece que actúan más como PDE AMPc-estimuladas por GMPc. Esta estimulación de la hidrólisis del AMPc es consecuencia de un incremento en la afinidad por el sustrato con pequeños cambios en la  $V_{\text{max}}$ .

### Clase 3

La característica principal de las isoenzimas de la PDE 3 es la de poseer una alta afinidad ( $\downarrow K_m$ ) tanto para el AMPc como para el GMPc y que el GMPc actúa a concentraciones muy bajas como un inhibidor competitivo, uniéndose al centro activo de la enzima. Tanto el AMPc como el GMPc son sustratos para estas isoenzimas pero, la  $V_{\text{max}}$  para la hidrólisis del AMPc es mucho mayor que la del GMPc. El GMPc actúa como sustrato en la hidrólisis mediada por PDE III y como un inhibidor de la disminución del AMPc.

La actividad fosfodiesterasa está también regulada por la fosforilación por las proteína quinasas. Los dos subtipos de PDE 3 son sustratos para la proteína quinasa-A (PKA), siendo además PDE 3B sustrato de las proteína quinasas sensibles a la insulina. La fosforilación de estas isoenzimas por estas quinasas aumenta su actividad enzimática.

#### **Clase 4**

Esta clase posee una elevada actividad para la hidrólisis del AMPc. El GMPc ni modula la hidrólisis del AMPc ni es un sustrato de estas isoenzimas y solamente algunos subtipos de PDE 4D que contienen un lugar consensuado para la fosforilación por PKA dentro del dominio *N*-terminal, son activados a través de la vía de la PKA.

#### **Clase 5**

Esta clase hidroliza específicamente el GMPc, aunque no todas las isoenzimas de esta familia tienen una elevada afinidad por este nucleótido cíclico, pero todas tienen baja actividad hidrolítica para el AMPc. Estas isoenzimas se fosforilan tanto por la PKA como por la proteína quinasa GMPc-dependiente (PKG), siendo la PDE V el primer sustrato fisiológico descrito para la GMPc-quinasa; aunque la relevancia funcional de esta fosforilación es desconocida, podría conducir a incrementar su actividad enzimática.

#### **Clase 6**

Las isoenzimas de esta clase hidrolizan selectivamente el GMPc. En un principio los tipos PDE 5 y 6 se agruparon en una única familia, pero tras el esclarecimiento de la estructura primaria de la PDE V en pulmón se puso de manifiesto que la PDE 5 y la PDE 6, que se expresa fundamentalmente en la retina, son estructuralmente distintas y, por lo tanto, se separaron en dos familias diferentes.

#### **Clase 7**

Estas enzimas hidrolizan el AMPc específicamente y, como en el caso de la PDE 4, el GMPc no tiene ningún efecto. Todavía no se han iden-

tificado inhibidores selectivos de esta isoenzima, siendo resistente a todos los inhibidores estándar de las PDE, como la milrinona o el rolipram, que son inhibidores específicos de la PDE 3 y PDE 4, respectivamente, o como la 3-isobutil-1-metilxantina (IBMX), que es un inhibidor no selectivo. Se expresa abundantemente en el músculo esquelético, lo cual sugiere una posible implicación en el control de la contracción.

### **Clase 8**

Estas enzimas hidrolizan el AMPc específicamente y, como en el caso de la PDE 4, no presentan ningún activador/inhibidor bioquímico. Se han identificado inhibidores selectivos de esta isoenzima, como el dipiridamol, siendo resistente a la IBMX.

### **Clase 9**

Son enzimas que hidrolizan el GMPc específicamente pero, al contrario que la PDE 5, no presentan ningún lugar de unión al cGMP. Se han identificado inhibidores selectivos de esta isoenzima, como el SCH1866.

En estas nueve familias de isoenzimas de la PDE se reconocen más de 25 isoformas distintas, muchas de las cuales se encuentran distribuidas de forma diversa en diferentes tipos celulares.

Es importante tener presente esta distribución tisular de las isoenzimas de la PDE a la hora de ensayar fármacos inhibidores, selectivos o no selectivos de la PDE, tanto en la búsqueda de acciones terapéuticas sobre enfermedades específicas como en la posible aparición de efectos secundarios o colaterales. Así, hay numerosos estudios que documentan la presencia de isoenzimas de la PDE 1 en corazón y SNC; de la PDE 2 en hígado, corazón, SNC, plaquetas, piel, etc; de la PDE 3 en corazón, músculo liso, hígado, adipocitos, etc; de la PDE 4 en SNC, células inflamatorias, sistema reproductivo, piel, etc y de la PDE 5 en retina, tejido pulmonar, músculo liso vascular, etc. La clase PDE 6 se expresa fundamentalmente en retina y la PDE 7 abundantemente en músculo esquelético.



<i>Isoenzima PDE</i>	<i>Distribución tisular</i>
1	Corazón, SNC, hígado, riñón, adipocitos.
2	SNC, corazón, hígado, músculo liso vía aérea, riñón, etc.
3	Corazón, plaquetas, músculo liso, riñón hígado, etc.
4	Músculo liso, células inflamatorias, cerebro, hígado, etc.
5	Retina, músculo liso, plaquetas, etc.
6	Retina
7	Músculo esquelético

Los incrementos en el contenido de AMPc y GMPc que producen los inhibidores de PDE conllevan la relajación del músculo liso de las vías aéreas por dos mecanismos generales:

- 1) El aumento de las concentraciones del AMPc conduce a una disminución del  $Ca^{2+}$  libre citosólico, por disminuir la movilización del  $Ca^{2+}$  desde depósitos intracelulares, inhibir la entrada de  $Ca^{2+}$  extracelular y estimular la salida de  $Ca^{2+}$  y el secuestro de  $Ca^{2+}$  dentro de los lugares de depósito intracelulares.
- 2) La activación por AMPc y GMPc de las cascadas de fosforilación de proteínas puede inhibir directamente la activación de las proteínas contráctiles.

Varias de estas vías bioquímicas parecen ser activadas simultáneamente y actúan de una forma coordinada para reducir el tono del músculo liso de la vía aérea.

Además, hay datos recientes que sugieren que el AMPc puede relajar el músculo liso vía activación de la PKG. Todavía no se sabe claramente la relativa importancia de los diferentes mecanismos de acción del AMPc sobre la maquinaria contráctil y el mecanismo por el cual el GMPc atenúa la contracción en el músculo liso de las vías aéreas todavía no está bien definido.

Podemos producir un aumento en el contenido intracelular de los nucleótidos cíclicos bien incrementando su velocidad de formación o bien disminuyendo su velocidad de degradación. Los agonistas  $\beta$ -adrenérgicos y las prostaglandinas  $PGE_2$  y  $PGI_2$ , tras unirse a sus receptores específicos en la membrana celular activan proteínas G que enlazan GTP, las cua-

les activan la adenilato ciclasa incrementando los niveles celulares de AMPc. Otros fármacos, como los nitrovasodilatadores, y el factor relajante derivado del endotelio, activan directamente la enzima guanilato ciclasa sin interactuar con ningún receptor de superficie celular.

Por otra parte, los inhibidores de la PDE actuarían disminuyendo la actividad de estas isoenzimas y, por tanto, la hidrólisis de AMPc y GMPc queda inhibida. Los nucleótidos cíclicos, AMPc y GMPc, actúan sobre sus enzimas diana intracelulares (PKA y PKG) las cuales, una vez activadas, fosforilan y cambian la actividad de sus sustratos. Entre éstos se encuentran determinadas enzimas y sistemas de transporte de iones, que están implicados en la regulación del tono del músculo liso.

La presencia y distribución de las diferentes *isoenzimas de la PDE* en el músculo liso de las vías aéreas humanas varía ligeramente según el tejido considerado: en el *tejido bronquial* encontramos isoenzimas de la PDE tipo 1, 3, 4 y 5, mientras que en el *tejido traqueal* se han encontrado las isoenzimas 1<sub>α</sub>, 1<sub>β</sub>, 2, 3, 4 y 5.

Las células inflamatorias más claramente asociadas con el asma son los mastocitos (en los primeros estadios del ataque asmático); los neutrófilos, los macrófagos y los eosinófilos (en las fases tardías del ataque asmático) y los linfocitos-T (en el asma crónico). También hay evidencia de que los basófilos, los monocitos, las plaquetas y las células endoteliales, juegan un papel en la inflamación asmática.

<i>Isoenzima PDE predominante</i>	<i>Célula humana</i>
4	EOSINÓFILO, NEUTRÓFILO
4	MONOCITO
4 = 3 = 1	MACRÓFAGO LAVADO BRONCOALVEOLAR
4 = 3	MASTOCITO
4 = 3	LINFOCITO T
4	LINFOCITO B
1 = 4	CÉLULAS EPITELIALES
5	PLAQUETAS
3 = 4 = 5	MÚSCULO LISO BRONQUIAL

El AMPc actúa como un mensajero que inhibe la producción y liberación del mediador inflamatorio, además de inhibir otras funciones como la quimiotaxis, la citotoxicidad y la agregación celular. Aunque hay poca información acerca del mecanismo específico que media este efecto, parece ser debido a mecanismos múltiples. Al igual que en el músculo liso, uno de los mecanismos implicados aquí sería un efecto inhibitorio del aumento de los niveles celulares de  $Ca^{2+}$ , el cual es un disparador para algunas actividades celulares, incluyendo la producción y liberación de mediadores. Sin embargo, también hay evidencias de que el AMPc puede inhibir la liberación del mediador inflamatorio sin grandes cambios en las concentraciones citosólicas de  $Ca^{2+}$ . En el caso de la biosíntesis de eicosanoides, se ha sugerido que la activación de la cascada del AMPc puede causar directamente inhibición de una o más enzimas en la vía biosintética -v.g. fosfolipasa  $A_2$ .

Todavía se conoce mucho menos del papel que juega el GMPc en la regulación de la célula inflamatoria y su efecto parece ser modesto en comparación con el profundo efecto inhibitorio del AMPc .

*En resumen, al menos dos efectos terapéuticamente beneficiosos podrían, potencialmente, resultar de la inhibición de la actividad fosfodiesterasa y la consecuente elevación en las concentraciones intracelulares de AMPc o GMPc en células clave implicadas en la patología del asma: el efecto broncodilatador y el antiinflamatorio.*

Se han desarrollado un gran número de inhibidores de isoenzimas de la PDE con diferente grado de selectividad por las mismas:

- 1) Los **inhibidores no selectivos** son fármacos análogos a la teofilina que continúan utilizándose en el tratamiento tanto del asma como de la EPOC.
- 2) Los **inhibidores selectivos de PDE 4, ahora conocidos como de primera generación**, son análogos del 'rolipram'. Estos fármacos están bien caracterizados farmacológicamente pero presentan inconvenientes derivados de sus efectos adversos en humanos (principalmente náuseas y emesis), por lo que han sido ya abandonados desde el punto de vista de su desarrollo clínico. Estos fármacos se caracterizan por su elevada potencia en el denominado 'sitio de alta afinidad para rolipram' en cortex cerebral de rata.

- 3) Los **inhibidores selectivos de PDE 4, de segunda generación** mantienen una elevada potencia en el sitio catalítico de la enzima PDE IV, pero en cambio exhiben menor potencia relativa en el sitio de alta afinidad para rolipram. Esta característica disminuye o elimina los efectos adversos gastrointestinales producidos por los inhibidores de la PDE IV de primera generación y, en consecuencia, han logrado alcanzar fases avanzadas de desarrollo clínico (fase 3 para cilomilast y roflumilast).

A título de muestra recogemos en la siguiente tabla algunos de los fármacos más interesantes

<i>Fármaco</i>	<i>Industria farmacéutica</i>	<i>Estado de desarrollo</i>
Cilomilast (SB207499)	SmithKline Beecham	Fase II(asma)/fase III (EPOC)
Piclamilast (RP73401)	Rhone Poulenc Rorer	Discontinuado (toxicidad)
Roflumilast	Byk Gulden	Fase III asma/EPOC
CDP840	Celltech (UK)	Fase II (asma)
AWD12-281	Asta Medica	Pre-clínico
UCB 29936	UCB Pharma, Bélgica	Pre-clínico (toxicidad?)
V-11294A	Purdue/NAPP Pharma UK	Fase I
D4418	Chiroscience	Fase I
L-826141	Merck Frosst	Pre-clínico

- 4) Los **inhibidores de ‘tercera generación’ (?)**. Aunque esta denominación no está acuñada en la literatura, la podríamos utilizar eventualmente aquí para referirnos a compuestos que presentan selectividad para subfamilias e isoformas de PDE4, y podrían representar un avance adicional en el campo de los antiasmáticos . Su importancia dependerá de la relevancia funcional de las isoformas expresadas en cada tejido. Así, por ejemplo, se ha demostrado recientemente que la isoforma predominante en neutrófilos humanos es la **PDE 4B2**. Si se dispusiera de un inhibidor selectivo de este subtipo de fosfodiesterasa, se podría actuar de forma muy selectiva sobre esta célula inflamatoria relevante en asma y EPOC sin afectar a otras células. En la actualidad, no se ha descrito aún ningún fármaco con estas características.

Investigaciones recientes han demostrado la existencia de PDE 4 en bronquio humano y en células pro-inflamatorias (mastocitos, monocitos/macrófagos, linfocitos T, eosinófilos y neutrófilos), así como la capacidad de los inhibidores selectivos de la PDE 4 para producir la relajación del bronquio humano aislado y para interferir la transducción de señales en células inflamatorias. La extensión de la capacidad inhibidora de un compuesto a otras isoenzimas de la PDE, principalmente los tipos 3 y/o 5, constituye un tema interesante pero polémico, al no existir consenso sobre la presencia y/o relevancia de estas isoenzimas en bronquio humano y células inflamatorias.

Aunque desde los primeros estudios experimentales se advirtió claramente la capacidad de los inhibidores selectivos de la PDE 4 para interferir los procesos de tráfico celular (v.g. la entrada de eosinófilos en el lavado broncoalveolar), ha sido recientemente cuando se han iniciado los estudios más concretos *in vitro* e *in vivo* para conocer mejor cuáles son las moléculas de adhesión que se interfieren por estos fármacos. Se sabe que los fármacos que aumentan los niveles de AMPc son capaces de inhibir la inducción por citoquinas de E-selectina, integrinas  $\beta 2$  y VCAM-1 en diversos tipos celulares. En concreto, el rolipram (inhibidor PDE4 arquetipo), suprime la expresión y liberación de E-selectina en células endoteliales umbilicales humanas activadas por TNF- $\alpha$ . La inhibición de PDE 4 también inhibe la inducción de la expresión de E-selectina en células endoteliales de la microvasculatura pulmonar humana, y la inhibición de PDE III/PDE 4 inhibe VCAM-1 pero no ICAM-1 (Figura 1).

A la hora de valorar el efecto de estos inhibidores selectivos, hay una serie de factores a tener en cuenta: muchos de estos agentes poseen sitios de acción adicionales, de forma que un determinado inhibidor selectivo puede incidir, al aumentar los niveles de un nucleótido cíclico, sobre la actividad de isoenzimas de la PDE distintos al primitivamente inhibido. *In vivo*, la velocidad de recambio de los nucleótidos cíclicos está aumentada y los efectos de los inhibidores de isoenzimas de la PDE son mucho mayores sobre sus niveles que en los experimentos realizados *in vitro*.

En conclusión, los fármacos inhibidores selectivos de segunda generación de la PDE 4 representan un nuevo grupo farmacológico de interés potencial como agentes terapéuticos no sólo en el asma, sino también en otras patologías pulmonares (v.g. EPOC) y extrapulmonares (v.g. artritis,

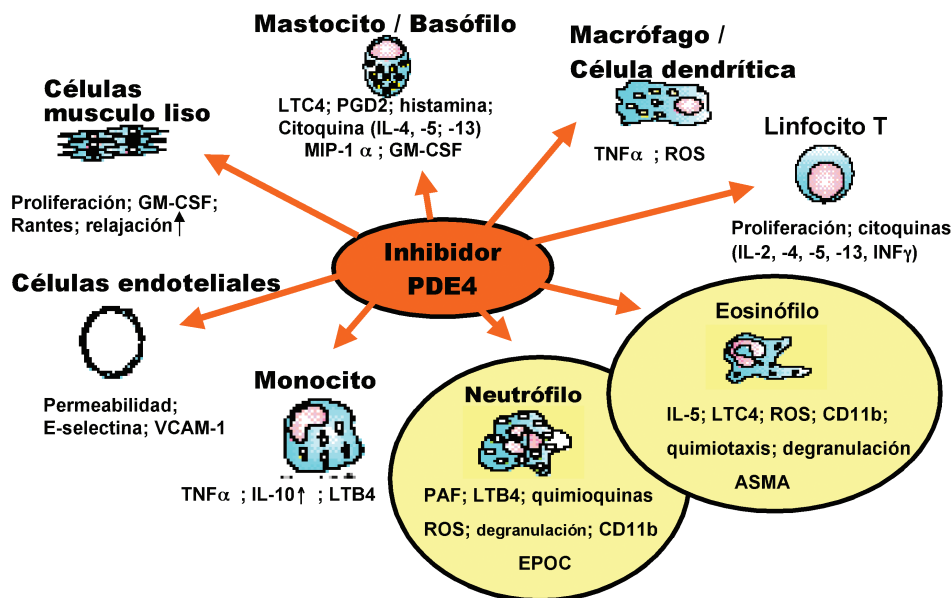


FIGURA 1

SNC, etc.) e incluso podrían tener otras aplicaciones, por ej. como tocolíticos. Los inhibidores selectivos de PDE4 producen broncodilatación en una diversidad de especies animales, e interfieren la liberación de mediadores por células inflamatorias. Este perfil, es decir, una combinación de actividad broncodilatadora y anti-inflamatoria, confiere a estos agentes un atractivo especial como antiasmáticos (Figura 2). Para esta indicación (antiasmáticos) se encuentran ya algunos de estos fármacos en fases 2 y fase 3 de desarrollo clínico. Resulta interesante que también están demostrando actividad clínica (fase 3) para el tratamiento de la EPOC (Figura 3), como indicaremos más adelante.

- *Nuevos corticoides de uso local y sus isómeros activos*

Dada la importancia capital de la corticoterapia inhalada en el tratamiento del asma, la posible mejora de los esteroides inhalados es importante. Una posibilidad es la utilización de enantiómeros puros en lugar de la forma racémica. Así, el isómero 22R de budesonida tiene una actividad antiinflamatoria superior y presenta un mayor grado de biotransformación que el isómero 22S. Otra posibilidad interesante es el diseño de esteroides

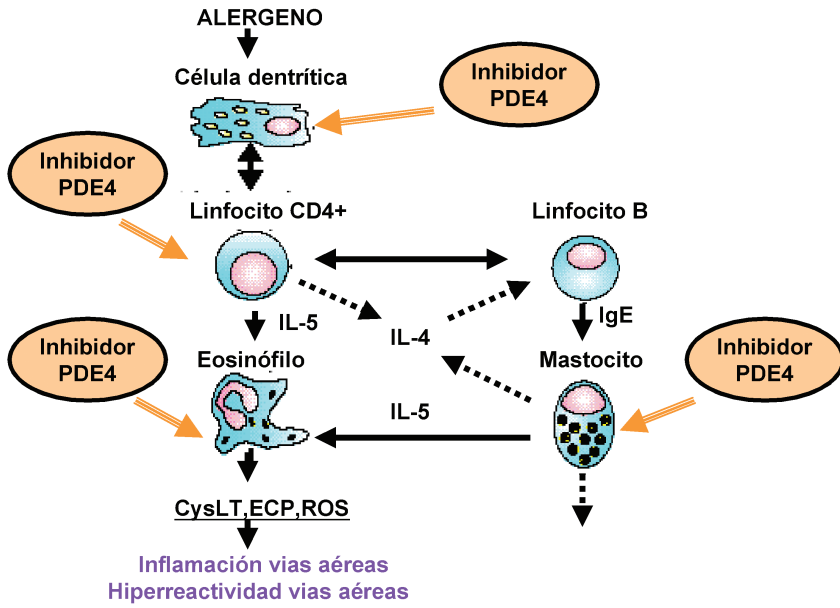


FIGURA 2

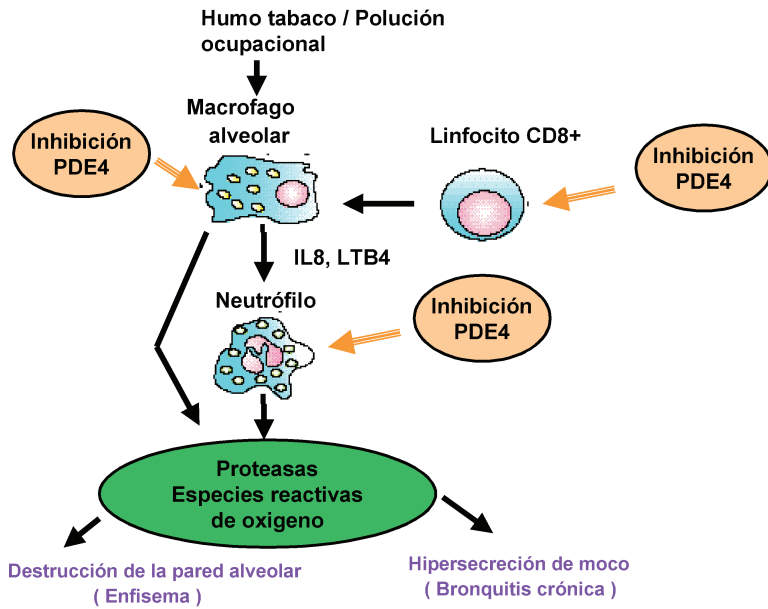


FIGURA 3

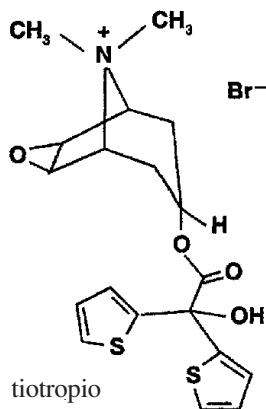
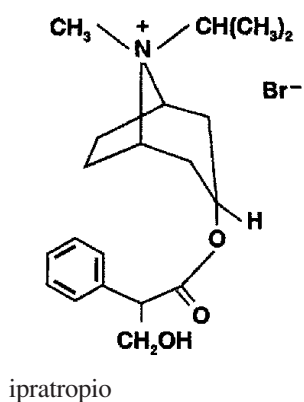
con actividad preferente ‘trans-represora» sobre la ‘trans-activadora’, como ocurre en el compuesto RU24858, cuya actividad terapéutica sería consecuencia de la inactivación de determinados genes, mientras que los efectos adversos estarían producidos por la activación de otros genes.

- **Agonistas de canales de potasio ( $K_{ATP}$ ) broncoselectivos**

Estos fármacos han demostrado actividad anti-hiperreactividad de las vías aéreas en diversos modelos experimentales. Se trabaja en una nueva generación de fármacos broncoselectivos y, por tanto, con mayor ventana terapéutica (v.g. SDZ217-744) pero su efectividad clínica está por demostrar.

- **Antimuscarínicos selectivos ( $M_3$ )**

Aunque la actividad de los antimuscarínicos es más valorada en el contexto de la EPOC, su papel en asma es también reconocido. Actualmente, se utilizan antagonistas no selectivos (anti- $M_1, M_2, M_3$ ), lo cual, al menos teóricamente se presta a algún tipo de interacción indeseada con los autorreceptores prejuncionales. Sin embargo, el uso clínico no parece favorecer totalmente esta hipótesis. Se trabaja en antagonistas de larga duración de acción como tiotropio (actividad mantenida durante 24 h, lo que resulta muy atractivo para asma nocturno). El tiotropio no es un antagonista selectivo pero se disocia rápidamente de los receptores  $M_2$  y lentamente de los  $M_1/M_3$  (selectividad cinética más que farmacodinámica). Se está diseñando la posible incorporación de antagonistas selectivos  $M_3$ .





- ***Fármacos que actúan sobre receptores de adenosina***

Se ha demostrado un papel diverso para receptores  $A_{2B}$  y  $A_3$  en la patofisiología del asma, y en consecuencia, los antagonistas selectivos  $A_{2B}$  y agonistas  $A_3$  podrían constituir alternativas potenciales al uso de teofilina.

- ***Estrategias inhibitoras de citoquinas***

Las células y mediadores que están implicados en la patogenia del asma y la EPOC son excelentes dianas para los anticuerpos monoclonales. En realidad, los anticuerpos monoclonales tienen varias ventajas sobre las moléculas farmacológicas tradicionales. Así, son muy selectivos para sus dianas y por ello producen principalmente los efectos buscados sin apenas reacciones adversas y no compiten con los demás fármacos en los procesos de biotransformación y distribución, lo cual descarta la aparición de interacciones farmacocinéticas. Adicionalmente, presentan una farmacocinética predecible y prolongada (en el caso de la IgG la vida media es de semanas). La vía de administración para los anticuerpos monoclonales es la parenteral. Aunque en un primer momento se pensó que era menos adecuada que la oral, en la actualidad se ha indicado que esta vía mejora el cumplimiento del tratamiento por parte del paciente y, además, como requiere la supervisión del personal sanitario, permite un mejor control del mismo. De todas formas, hay que señalar que se están diseñando equipamientos para la administración de los anticuerpos por vía inhalatoria. Como última ventaja, hay que resaltar que el tiempo de descubrimiento de anticuerpos monoclonales específicos, con altas probabilidades de éxito, es más corto que el necesario para el descubrimiento de una nueva molécula química activa.

El asma como enfermedad inflamatoria pulmonar crónica está regulada por los linfocitos T, subpoblación CD4, subtipo Th2 (produciendo IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10 y IL-13). Por ello, actuando directamente sobre los linfocitos T o los productos liberados por ellos se puede obtener un control del asma. Las siguientes aproximaciones han sido propuestas y estudiadas:

1. Depleción de los linfocitos T activados a través de sus marcadores específicos. Esta aproximación consigue, con unos mínimos efectos inmunosupresores, un efecto clínico beneficioso. El Keliximab es un anticuerpo monoclonal anti-CD4 que ha sido evaluado en pacientes asmáticos con una reducción importante del número total de  $CD^{4+}$ .

2. Inhibición de la respuesta de los linfocitos T activados por bloqueo de su maquinaria de activación.
3. Activación de linfocitos T reguladores que supriman a los linfocitos T patogénicos.

**DIANAS PARA LA TERAPEUTICA CON ANTICUERPOS MONOCLONALES  
EN EL ASMA Y LA EPOC**

<i>Categoría</i>	<i>Asma</i>	<i>EPOC</i>
IgE Y RECEPTOR IgE	IgE	—
RECEPTOR LIFOCITOS T Y MOLÉCULAS ESTIMULADORAS	CD3 CD4 CD28-B7 CD40L-CD40 OX40-OX40L	CD3 CD8
CITOQUINAS DE LIFOCITOS T	IL-4 IL-5 IL-9 IL-13	IFN $\gamma$ IL-1 IL-16
CITOQUINAS PROINFLAMATORIAS	TNF $\alpha$ IL-1 IL-16	TNF $\alpha$ TGF $\beta$ IL-1 IL-6 IL-11 IL-18
QUIMIOQUINAS Y SUS RECEPTORES	EOTAXINA.CCR3 MCPs-CCR2 TARC-CCR4 MDC-CCR8 RANTES	IL-8-CXCR1 CXCR2 MCPs-CCR2 RANTES-CCR1,3,5
MOLÉCULAS DE ADHESIÓN	VLA-4 VCAM-1 ICAM-1 MMPS	ICAM-1 CD18 E-SELECTINA
PROTEASAS	—	ELASTASA CATEPEPSINAS MMPs

#### 4. Neutralización de las citoquinas producidas por los linfocitos T patogénicos.

Por otro lado, hay que indicar que el asma en ocasiones tiene como patogenia un proceso alérgico, estando entonces asociados directamente con la inmonoglobulina E, la cual mediaría la degranulación de los mastocitos y el acumuló de eosinófilos y linfocitos Th2. Es en este caso cuando aparece una nueva diana para los anticuerpos monoclonales: la IgE.

Todos estos planteamientos han dado como resultado que sean varios los anticuerpos monoclonales que se encuentran en desarrollo clínico.

**Anticuerpos monoclonales con potencial utilización en el asma**

<i>Fármaco</i>	<i>Industria</i>	<i>Mecanismo</i>	<i>Indicación</i>	<i>Estado</i>
RhuMAb-E-25 Omalizumab	Genentech	Anti-IgE	Asma, alergia, rinitis	Pre-registro
CGP 56901	Tanox	Anti-IgE	Asma, alergia, rinitis	FASE II
MAB, CD23	INDEC	Anti-CD23	Asma, alergia, rinitis	FASE II
Clenoliximab	INDEC	Anti-CD4	Artritis reumatoide, soriasis, asma	FASE II
SB 240683	GlaxoSmithKline	Anti-IL-4	Asma	FASE I
Nuvance	Inmunes	Receptor soluble IL-4	Asma, alergia, trasplantes	FASE II
SB 240563	GlaxoSmithKline	Anti-IL-5	Asma	FASE II
SCH 55700	Schering-Ploug	Anti-IL-5	Asma, alergia	FASE II

La EPOC es una inflamación crónica caracterizada por la infiltración de neutrófilos, macrófagos y linfocitos T CD8+ en los pulmones. Estas células son activadas por citoquinas y quimioquinas liberadas del pulmón como respuesta a factores externos. Obviamente estas citoquinas son presuntas dianas de los anticuerpos monoclonales, siendo IL-1, IL-8 y TNF $\alpha$ , las principales candidatas.

**Anticuerpos monoclonales con potencial utilización en la EPOC**

<i>Fármaco</i>	<i>Industria</i>	<i>Mecanismo</i>	<i>Indicación</i>	<i>Estado</i>
Cytolin	CytoDyn	Anti-CD8	Junto con anti-SIDA	FASE II
LDP-01	Millenium	Anti-CD18	Neuroprotección	FASE II

**Anticuerpos monoclonales con potencial utilización en la EPOC (Continuación)**

<i>Fármaco</i>	<i>Industria</i>	<i>Mecanismo</i>	<i>Indicación</i>	<i>Estado</i>
INSERM	Anti-IL-6	Cáncer	FASE I	
ABX-IL-8	Abgenix	Anti-IL-8	Soriasis, EPOC	FASE II
Cetuzimab	ImClone	Anti-EGF-receptor	Cáncer	FASE III
Infliximab	Centocor	Anti-TNF(	Artritis reumatoide	Comercial
Kineret	Amgen	Antagonista receptor IL-1	Artritis reumatoide	Comercial

• ***Interferencia con moléculas de adhesión***

El notable influjo de células inflamatorias es importante en la fisiopatología del asma y la EPOC y, por tanto, modular la expresión secuencial de las moléculas de adhesión intercelular es una diana atractiva para nuevos antiasmáticos. Se puede modular la expresión en la superficie celular de estas moléculas mediante oligonucleótidos antisentido (v.g. ISIS 2302), inhibidores de fucosiltransferasa y de metaloproteinasa, así como también a través de la manipulación de determinadas citoquinas. Alternativamente, se puede bloquear la función de las moléculas de adhesión utilizando anticuerpos monoclonales (BIRRI y CDP850), oligosacáridos (CG69669A), glicomiméticos (TBC1269), e inhibidores selectivos que están en vías de desarrollo. Algunos fármacos como los inhibidores selectivos PDE4, también actúan modulando la expresión de moléculas de adhesión.

• ***Oligonucleotidos antisentido***

Están considerados como los fármacos del futuro. En esencia tienen como diana una secuencia específica del ARNm y presentan una serie de ventajas sobre los agentes farmacoterapéuticos clásicos.

1. Actúan sobre la causa de la enfermedad y no sobre el síntoma
2. Aumentan su especificidad, ya que los oligonucleótidos antisentido se hibridan con la diana en el ARN con mucha más especificidad que un fármaco normal. Igualmente poseen una gran afinidad como consecuencia de que la suma de los puentes de hidrógeno formados entre el oligonucleótido y la secuencia de ARN supera en varios órdenes de magnitud a las fuerzas de Van der Waals que generan los fármacos clásicos en su unión con proteínas.

3. Se puede comprobar fácilmente su unión a puntos diferentes de sus dianas, ya que los oligonucleótidos anti-sentido tienen como diana una secuencia específica y unidimensional. Por ello, es posible generar secuencias de genes conocidos y comprobar la hibridación de estos oligonucleótidos. Todo ello era imposible con los fármacos clásicos, dada su interacción con estructuras proteicas tridimensionales de difícil síntesis.
4. Efectos más duraderos. La inhibición de una determinada secuencia del ARNm se produce en periodos de tiempo muchos más largos que la inhibición de la proteína que este último codificada.
5. Rápido desarrollo. Los oligonucleótidos antisentido pueden diseñarse y ensayarse mucho más rápidamente. Así, se calcula que que utilizando librerías de compuestos químicos las posibilidades de encontrar un fármaco que se una a la diana proteica son del 0,02 %, mientras que en el caso de las librerías de oligonucleótidos, el éxito es del 10 %.

Por todo ello, hay poderosas razones para pensar que estos agentes biológicos pueden dar lugar a la aparición de futuros fármacos, aunque no hay que olvidar que determinadas preguntas como ¿Qué dosis?, ¿Cuál es la vida media? o ¿Cuál es la eficacia?, deben ser respondidas antes de aceptar su eficacia terapéutica.

Las aplicaciones prácticas de los oligonucleótidos antisentido, han estado limitadas por una serie de razones que no se pueden obviar, aunque algunas de ellas han sido ya solucionadas.

1. La presencia de nucleasas que pueden degradarlos rápidamente. Esto ha sido resuelto con la síntesis de compuestos con modificaciones químicas que los hacen resistentes.
2. La dificultad de hacer llegar el oligonucleótido al tejido diana en cantidades suficientes para ser beneficioso. Esta puede ser evitada mediante su aplicación local; de hecho, los oligonucleótidos antisentido inhalados (RASONS) representan una forma muy atractiva de dosificación.
3. Otro aspecto que puede limitar la obtención de oligonucleótidos antisentido, es el hecho de la especificidad de especie. Los modelos animales no son útiles para comprobar la eficacia de los

oligonucleótidos, ya que solo los primates tienen altos niveles de homología con el ADN humano.

- ***Antihistamínicos***

Los antihistamínicos son fármacos de primera elección en el tratamiento de las patologías alérgicas como la rinoconjuntivitis y la urticaria; sin embargo su papel en el tratamiento de los síntomas del asma es dudoso. Basados en los múltiples estudios de la literatura, se puede decir que los que están actualmente disponibles no son alternativa a ninguna de las terapias antiasmáticas clásicas.

Sin embargo, hay que indicar que algunas nuevas moléculas (terfenadina, fexofenadina, certirizina o loratadina) tienen propiedades anti-alérgicas que les permiten inhibir la expresión de moléculas de adhesión (ICAM-1), así como disminuir la supervivencia de eosinófilos y la liberación de radicales libres y leucotrienos.

- Existen por supuesto otras muchas posibilidades en distintos grados de desarrollo. Así, por ejemplo, se ha estudiado la actividad de los isómeros activos de agonistas ( $\zeta$ ). También se ha avanzado en el desarrollo como antiasmáticos de algunos antihistamínicos de segunda generación. Los antagonistas del PAF, a pesar de la aparente implicación de este mediador lipídico en la inflamación, han dado resultados muy decepcionantes en clínica. Los inhibidores de la proteína quinasa C (PKC) tendrán que esperar hasta que se consiga un mejor conocimiento de las isoenzimas implicadas en el asma y al desarrollo de inhibidores selectivos de estas isoenzimas.
- Nos gustaría hacer referencia por último al ***conjunto de fármacos usados en el asma de difícil manejo***. Este grupo heterogéneo constituye una alternativa para el tratamiento con corticoides en aquellos pacientes que reciben la terapia estándar y quizás puedan orientarnos sobre nuevos mecanismos de futuras terapias antiasmáticas:
  - ✓ Metotrexato: Se han propuesto diferentes razones para explicar su efecto antiinflamatorio, pero su mecanismo de acción exacto es desconocido. Tiene capacidad para inhibir la quimiotaxis de los neutrófilos y eosinófilos *in vitro*, es un inhibidor de la expresión de la (marcador de la activación de los macrófagos) y de la producción de IL-6, IL-8.

- ✓ Troleandomicina: Antibiótico macrólido con un efecto sinérgico al de los corticoides orales. *In vitro* ha demostrado reducir un 44 % la dosis necesaria de metilprednisolona para inhibir en un 50% la proliferación linfocitaria. El mecanismo no está claro, pero se postula que actúa a nivel farmacocinético, por una reducción del metabolismo hepático y la excreción, lo cual conllevaría un aumento de la biodisponibilidad del corticoide.
- ✓ Sales de oro: Aunque su mecanismo de acción es desconocido se han utilizado para diferentes procesos inflamatorios y autoinmunes. Se ha demostrado que disminuyen la fagocitosis de neutrófilos y macrófagos, inactivan C1, disminuyen la producción de leucotrienos, prostaglandinas y la liberación de histamina de basófilos y mastocitos. Tienen un efecto apoptótico sobre los eosinófilos cuya supervivencia ha sido aumentada con IL-5.
- ✓ Ciclosporina: Fármaco reconocido como inmunomodulador y antiinflamatorio que ha sido usado ampliamente en el asma corticoide-resistente. Tiene capacidad para reducir la síntesis y la liberación de mediadores de la inflamación de mastocitos y basófilos y de Huye por los linfocitos B. La ciclosporina reduce la síntesis de IL-1, TNF $\alpha$ , súperóxido y agua oxigenada, la quimiotaxis, y el receptor de la IL-2. Tiene un efecto apoptótico sobre los eosinófilos cuya supervivencia ha sido aumentada.
- ✓ IVIG: Ha demostrado disminuir la cantidad de IgE total en sangre, la activación y proliferación de linfocitos y la producción de IL-2 e IL-4.
- ✓ Heparina: Inhibe diferentes mediadores de la inflamación y sustancias citotóxicas como la proteína catiónica eosinofílica y las peroxidasas. También aumenta la producción del inhibidor de proteasa por parte del neutrófilo y disminuye la activación linfocitaria, la quimiotaxis neutrofílica y el crecimiento del músculo liso.
- ✓ Furosemida: Es un diurético que no actúa sobre el asma de forma sistémica y es necesario administrarla por vía inhalatoria a altas dosis para observar el efecto antiasmático. *In vitro* se ha sugerido que atenúa la broncostricción por la reducción de la actividad del canal de cloro apical de las células epiteliales. Esta misma acción

sería la responsable de la inhibición de la liberación de mediadores por parte de los eosinófilos y del efecto modulador sobre la liberación de neoropéptidos en la terminaciones no adrenérgicas y no colinérgicas de tipo sensitivo. El efecto de la furosemida sobre la síntesis de prostaglandinas permanece en controversia. Así, se ha propuesto que furosemida produce una estimulación de la síntesis de prostaglandinas inhibitorias en el epitelio de vías aéreas. Otros datos sugieren que lo que produce es la inhibición de la síntesis de prostaglandinas broncoconstrictoras.

## 2. FÁRMACOS ANTI EPOC

El término «enfermedad pulmonar obstructiva crónica» (EPOC) fue acuñado para designar el espacio común correspondiente a diversas patologías respiratorias crónicas caracterizado por una disminución progresiva y frecuentemente irreversible del VEMS. Este aspecto le diferencia marcadamente del asma, donde la obstrucción aérea es reversible. La limitación u obstrucción del flujo aéreo se acompaña de tos, producción de esputo (hipersecreción de moco), disnea, y empeoramiento del intercambio gaseoso. A esta situación clínica común abocan patologías tan diversas como la bronquitis crónica, el enfisema, o el mismo asma, que *strictu sensu* no deben ser confundidas con la EPOC propiamente dicha. La definición de **bronquitis crónica** es puramente clínica y consiste en la presencia de tos y expectoración durante más de tres meses al año, al menos dos años consecutivos.

Desde el punto de vista epidemiológico, la prevalencia de EPOC es, en pacientes comprendidos entre 40-69 años, de aproximadamente el 11%. Existe una tendencia alcista evidente en su prevalencia, y también en las tasas de morbimortalidad. En España, la EPOC representa la cuarta causa de mortalidad, con una tasa global de 33/100.000 habitantes que aumenta a 176/100.000 habitantes en poblaciones de más de 75 años. De hecho, según datos de la OMS, se ha calculado que la EPOC será la tercera causa de mortalidad mundial para el 2020, y ocupará el 5.<sup>o</sup> lugar en causas de morbilidad. Nos encontramos por tanto frente a un problema clínico relevante, con importantes repercusiones socioeconómicas, que merece todo el interés de profesionales y autoridades sanitarias.



Prácticamente todos los casos de EPOC están asociados al consumo de tabaco, si bien sólo el 15-20% de los fumadores desarrollan esta patología debido a diferencias en susceptibilidad de naturaleza aún desconocida. Otros factores de riesgo son: contaminación atmosférica, exposición laboral a determinados agentes pulverulentos, factores genéticos (déficit de  $\alpha_1$ -antitripsina; enfisema familiar), antecedentes de neumopatías pediátricas, hiperreactividad bronquial y atopia.

Una vez establecido el diagnóstico de EPOC, el pronóstico de estos pacientes dependerá sobre todo del grado de obstrucción al flujo aéreo y del abandono del consumo de tabaco. La evolución o historia natural de la EPOC sigue un curso lento, pero inexorable, en el que pueden sobrevenir episodios de exacerbación, con desarrollo de insuficiencia respiratoria e hipercapnia, potencialmente graves, incluso mortales, que constituyen por tanto una emergencia médica potencial.

Desde el punto de vista funcional, la EPOC se define por un aumento de la resistencia al flujo aéreo al que contribuyen: (1) disminución de la luz bronquial por engrosamiento de la pared; (2) contracción de la musculatura lisa de las vías aéreas; y (3) pérdida de elasticidad del parénquima pulmonar. Se considera plausible que el proceso de deterioro se inicia por el daño epitelial e inflamación bronquiolar causados por el humo del tabaco como sugieren los estudios anatomopatológicos. La liberación de mediadores a partir de células epiteliales, así como la inflamación neurogénica causada por la exposición de terminaciones nerviosas aferentes, desencadena un círculo vicioso que conduce a la inflamación crónica con hipertrofia/hiperplasia del músculo liso, fibrosis de la pared de las vías aéreas, y destrucción de los tabiques alveolares (enfisema centrolobulillar). En la actualidad se hace énfasis en la importancia patogénica del daño causado por radicales libres de oxígeno presentes en el humo del tabaco o liberados por macrófagos activados y otras células inflamatorias. Estas especies reactivas de oxígeno inactivan la  $\alpha_1$ -antitripsina (favorecen así el daño tisular por elastasa), causan peroxidación lipídica, daño a proteínas y el ADN, activación del factor nuclear- $\kappa\beta$ , y comprometen diversos mecanismos de defensa. En este sentido, en la EPOC existiría un imbalance entre el estrés oxidativo celular y las defensas antioxidantes endógenas. A diferencia del asma, las células inflamatorias que parecen ejercer un papel dominante en la EPOC son los neutrófilos, los linfocitos CD8+, los macrófagos y las células epiteliales de las vías aéreas.

La patogenia y fisiopatología de la EPOC sólo son parcialmente conocidas. En la actualidad se hace énfasis en la importancia del estrés oxidativo en la EPOC. El arsenal terapéutico empleado para su tratamiento es compartido casi en su totalidad con el utilizado para el tratamiento del asma con matizaciones bien conocidas, como el menor papel de los corticoides. Sin embargo, como indicamos antes, la investigación farmacológica en EPOC tiene ahora una gran actualidad como demuestra la serie de revisiones recientemente aparecidas. A título de sumario podríamos resaltar algunas posibilidades de futuro, sin pretensiones de exhaustividad:

- *Inhibidores del PDE4 (ver el apartado correspondiente)*

Los inhibidores de PDE4 tienen un efecto inhibitor sobre varias células inflamatorias implicadas en la EPOC: neutrófilos, macrófagos, linfocitos T CD8+ y células epiteliales. El cilomilast y roflumilast han demostrado que mejoran la función pulmonar y los síntomas en pacientes con EPOC, aunque su uso en clínica puede estar limitado por la aparición de náuseas o dolor de cabeza. Intentos de encontrar nuevos PED IV con menos efectos adversos están siendo realizados por diferentes compañías farmacéuticas.

- *Antioxidantes (N-acetilcisteína, análogos de glutatión, vitaminas E y C, nitronas)*

El estrés oxidativo es un componente muy importante de la EPOC y se ha podido determinar la existencia de altos niveles de marcadores de estrés oxidativo en el aire exhalado de los pacientes con EPOC.

- *Antagonistas de leucotrieno B<sub>4</sub> (SB 201146, LY 29311 y otros)*
- *Inhibidores de IL-8 (inhibidores de síntesis de IL-8 y antagonistas del receptor CXCR2) e IL-10*
- *Inhibidores del factor de transcripción NFκB*
- *Inhibidores de TNFα (anticuerpos monoclonales, inhibidores de TNF-convertasa)*
- *Antibióticos macrólidos (eritromicina, claritromicina, roxitromicina). En concreto, resultaría atractivo la síntesis de nuevos macrólidos que disocien la actividad anti-inflamatoria de la antimicrobiana.*

## 2. FÁRMACOS ANTITUSÍGENOS

La tos es un acto reflejo con una función protectora tendente a evitar el bloqueo mecánico de las vías respiratorias. El reflejo de la tos genera altos flujos espiratorios (como 'espiración explosiva' ha sido calificada la tos en algunos textos clínicos) y, por tanto, facilita el aclaramiento de patógenos inhalados, aeroalérgenos, irritantes y materia particulada (humo, polvo o contaminantes atmosféricos), secreciones mucosas respiratorias, material aspirado (v.g. de contenido gástrico), y cuerpos extraños, protegiendo así las vías aéreas del daño mucosal. Un reflejo tusígeno insuficiente favorece la infección pulmonar. Por tanto, la tos juega un papel integral en la defensa inmunitaria, ayuda a mantener la vía aérea patente y preserva el intercambio gaseoso. Sin embargo, la ausencia de teleonomía de esta función se hace evidente cuanto la tos excede la mera necesidad de expulsar partículas o secreciones, convirtiéndose por su frecuencia, severidad o duración en una fuente de patología (trastorno del estado general, insomnio, dolor, e incluso neumotórax y problemas cardiovasculares) que exige tratamiento.

No existe un estímulo tusígeno específico, ni un tipo específico de receptor cuya activación esté vinculada o sea desencadenante de la tos. El reflejo de la tos se inicia por estímulos irritantes de fibras nerviosas sensoriales con terminales sobre todo en la mucosa de laringe, tráquea, y bronquios extrapulmonares, siendo estos estímulos aferentes vehiculados principalmente por el nervio neumogástrico, también denominado nervio vago (décimo par craneal). La contribución de otros nervios (trigémino, glossofaríngeo, y laríngeo superior) como portadores de estímulos aferentes también se ha demostrado. Al menos dos tipos distintos de fibras sensoriales vagales pueden iniciar el reflejo tusígeno. Un tipo de fibra se caracteriza por su bajo umbral mecanosensor que se adapta rápidamente a un estímulo mecánico supraumbral constituyendo así los 'receptores de adaptación rápida'. Estas fibras mielinizadas conducen potenciales de acción en el rango A $\delta$ . Probablemente se trate de los 'receptores de la tos' primarios. Los otros tipos de fibras son las capsaicina-sensibles, difíciles de estimular mecánicamente pero sensibles a algunos mediadores inflamatorios y a los agonistas de los receptores vaniloides tipo 1 (VR1) como la mencionada capsaicina. Estas fibras son análogas a las somatosensoriales, caracterizadas como nociceptivas. Aunque algunas de estas fibras

conducen potenciales de acción en el rango A $\delta$ , otras no son mielinizadas y conducen potenciales de acción en el rango C ( $< 1 \text{ m s}^{-1}$ ). Aunque se ha discutido el papel de las fibras C aferentes broncopulmonares para evocar el reflejo tusígeno, su estimulación produce broncoconstricción e hipersecreción de moco, y por tanto se encuentran directa o indirectamente implicadas en el reflejo de la tos. Estas aferencias se integran en un centro nervioso, el centro de la tos, situado en el bulbo raquídeo, de identidad aún no bien definida, pero al parecer independiente del centro respiratorio. Una diversidad de vías eferentes (nervio laríngeo recurrente, nervios espinales) articulan una compleja respuesta muscular (músculos espiratorios torácicos y abdominales, glotis, broncoconstricción) que constituye el acto de la tos, así como la posibilidad de su reiteración inmediata, el «acceso de tos» o tos paroxística. Por tanto, la tos consta de tres fases en secuencia o consecutivas: 1) inspiración profunda, 2) compresión con aumento de presión intratorácica (contracción de músculos espiratorios contra glotis cerrada y relajación diafragmática) y 3) expulsión dinámica con glotis abierta y alto flujo espiratorio ( $>12 \text{ L s}^{-1}$ ).

Atendiendo a su patocronia, la tos puede dividirse en aguda y crónica. La tos aguda se debe generalmente a infecciones virales del tracto respiratorio (especialmente el resfriado común) y también a sinusitis bacteriana aguda y pertusis, aunque puede también deberse a patologías más graves (neumonía, embolia pulmonar, e insuficiencia cardíaca congestiva). La tos aguda es generalmente benigna y autolimitada y, con frecuencia, no precisa o no se busca atención o ayuda médica, pero su importancia se manifiesta en el importante consumo de automedicación que asciende a cifras económicas muy elevadas en los países desarrollados.

La tos crónica es la que dura más de diez días, más de tres semanas o más de ocho semanas, según diferentes autores. Las tres causas más comunes de tos crónica son: (i) la patología asmática y la EPOC, (ii) la enfermedad gastroesofágica incluido el reflujo, y (iii) el síndrome de rinitis y goteo postnasal (tos asociada a rinitis y sinusitis). Debe también recordarse la tos postviral que puede persistir durante meses tras una infección aguda del tracto respiratorio superior. Asimismo, las neoplasias infiltrantes de la pared bronquial (v.g. carcinoma broncogénico) o el tumor carcinóide, la infiltración granulomatosa de las vías aéreas (sarcoidosis endobronquial, tuberculosis), la compresión de las vías aéreas por nodos

linfáticos, tumores mediastínicos o aneurisma de aorta, las neumopatías intersticiales, la neumonía, y los abscesos pulmonares son también causantes de tos, así como la insuficiencia cardiaca congestiva. Finalmente, existe una tos crónica que aparece en el 5 a 20% de los pacientes entre una semana y seis meses de recibir tratamiento antihipertensivo con inhibidores de la enzima de conversión de la angiotensina II (no ocurre con los antagonistas del receptor de angiotensina II), relacionada con la elevación de péptidos bioactivos como sustancia P y bradiquinina, que son también sustratos de la enzima conversora de angiotensina.

De hecho la tos es uno de los síntomas más comunes por los que el paciente busca atención médica (su prevalencia oscila entre el 5 y el 40%), y los antitusígenos son una de las clases terapéuticas más ampliamente utilizadas en clínica.

Finalmente, es importante recordar que además de su característica de acto reflejo, la tos puede tener también el carácter de acto voluntario. Existe efectivamente un control voluntario o consciente de la tos que se ejerce mediante la influencia superior del cortex cerebral sobre el acto reflejo articulado a nivel del tronco cerebral.

Los fármacos antitusígenos han sido objeto de revisiones exhaustivas siendo escasas las aportaciones recientes. Clásicamente, los fármacos antitusígenos se clasifican como de *acción central* (depresión del centro de la tos) y de *acción periférica* (extra-SNC). Sin embargo, los denominados antitusígenos periféricos o al menos algunos de ellos, están dotados de actividad anestésica local y tienen un componente central en su mecanismo de acción antitusiva.

El mecanismo de acción de los fármacos antitusígenos dista de ser conocido con precisión. Así, continúa ignorándose el mecanismo exacto de la acción antitusígena de la codeína, fármaco prototipo, ampliamente estudiado y usado durante más de un siglo. El hecho de que la naloxona bloquee la actividad antitusígena de la codeína sugiere la participación de receptores opioides. Por otro lado, se ha demostrado, mediante estudios de fijación, la existencia de sitios de unión de alta afinidad para dextrometorfano en varias regiones del cerebro, sitios de unión que no se bloquean con naloxona. Estos sitios de unión no parecen estar relacionados con la actividad antagonista de receptores NMDA descrita para dextrometorfano. Otros antitusivos como carbetapentano y caramifeno, se unen

también a este sitio, mientras que codeína y otros opioides antitusivos como levopropoxifeno, no se fijan en este mismo sitio de unión. También la noscapina parece disponer de sitios de fijación distintos. En consecuencia, la acción central antitusígena de codeína y dextrometorfano, así como la de otros antitusígenos centrales, podría tener mecanismos diferentes aún no esclarecidos.

Los estudios en animales de laboratorio y la investigación clínica con tos provocada han proporcionado un número elevado de fármacos de interés potencial, aunque la capacidad de estas técnicas para predecir la eficacia terapéutica de un producto es cuestionable. Por otro lado, los ensayos clínicos deben tener en cuenta el componente subjetivo de la tos y su difícil cuantificación. No es pues extraño que nos encontremos con una diversidad de fármacos etiquetados y comercializados como antitusígenos, de los que pocos han demostrado su eficacia en ensayos clínicos controlados.

No parece que se puedan incorporar al arsenal terapéutico nuevos antitusígenos basados en mecanismos de acción innovadores en un plazo de tiempo corto. Los fármacos antagonistas de los receptores opioides de tipo  $\delta$  (subtipo  $\delta_1$ ) producen un efecto antitusivo potente en pruebas experimentales, al parecer relacionado con la modulación intracelular de calcio y debido a su acción central, aunque no hay productos en desarrollo clínico.

La nociceptina (orfanina FQ) es un péptido ligando endógeno del receptor 'tipo-opioide'  $NOP_1$  (previamente denominado  $ORL_1$ ). Estos receptores  $NOP_1$  se localizan en vías aéreas pulmonares y están relacionados con la inhibición de liberación de taquicininas por fibras C en el pulmón y con una menor respuesta a estímulos tusígenos. Su acción antitusiva potencial sería, por tanto, de tipo periférico aunque podría añadirse un componente central. También es posible que se desarrollen antagonistas de neuroquininas con actividad antitusígena.

#### **4. FÁRMACOS MUCOLÍTICOS**

El moco de las vías respiratorias parece mayoritariamente el producto de dos genes de mucina el MUC5AC y el MUC5B. Estos genes codifican apoproteínas que luego son intensamente glicosiladas dando lugar a las glicoproteínas maduras o mucinas, de alto peso molecular, que otor-

gan al moco sus características propiedades tipo gel. Estas mucinas se encuentran almacenadas en gránulos de células caliciformes (*goblet cells*) listos para su rápida secreción para proteger al epitelio de agresiones externas. Las células caliciformes secretan principalmente MUC5AC y las células mucosas de las glándulas submucosas secretan principalmente MUC5B. Las células caliciformes y las glándulas submucosas se encuentran localizadas sobre todo en las vías aéreas centrales y se hacen cada vez menos frecuentes al disminuir el diámetro de estas vías hasta desaparecer. En patologías respiratorias crónicas puede darse una hipertrofia de glándulas submucosas y una hiperplasia de células caliciformes detectadas además en las vías aéreas más periféricas, con aparición de metaplasia de células epiteliales hacia células caliciformes.

La hipersecreción crónica de moco es una característica importante de algunas enfermedades respiratorias crónicas como la EPOC, incluyendo la bronquitis crónica y la bronquiectasia, la fibrosis quística y el mismo asma bronquial. Además, estos estados hipersecretorios pueden incrementar la frecuencia y duración de infecciones respiratorias, exacerbaciones que pueden requerir la hospitalización, y en consecuencia un incremento de la morbimortalidad.

La mayor parte de la obstrucción de vías aéreas en bronquitis crónica y asma sucede en aquéllas aéreas pequeñas donde se encuentran células caliciformes pero no glándulas submucosas. En el ser humano, a diferencia de otras especies animales, la secreción de células caliciformes está regulada por factores no neuronales quedando la regulación neuronal limitada a las glándulas submucosas. La presencia de infecciones o de factores inflamatorios en las vías aéreas que den lugar a la entrada de células inflamatorias y a fenómenos de daño y destrucción celular también pueden ocasionar un aumento en la viscosidad del moco por la presencia de cantidades elevadas de ADN. Por tanto, estrategias terapéuticas que reduzcan la infiltración y activación de las células inflamatorias darán como resultado una disminución de la secreción de moco y eventualmente también de su viscosidad.

Recientemente se han realizado varios intentos de clasificaciones sistemáticas de los fármacos activos sobre el moco respiratorio, aunque en la práctica es suficiente referimos a ellos como expectorantes y mucolíticos. Los *expectorantes* debieran estimular los mecanismos de expulsión del moco, bien incrementando el movimiento ciliar que traslada la secreción



hacia la faringe donde es eliminado por la expectoración o deglutido, o aumentando el reflejo tusígeno. También para algunos, los expectorantes son los fármacos que provocan un aumento de la secreción, sobre todo del volumen hídrico de la misma, facilitando así su expulsión, ya que el contenido de agua es determinante de la viscoelasticidad del moco. Los *mucolíticos* afectan a las características físico-químicas del moco (v.g. disminuyen su viscosidad), de modo que se facilita la expectoración. Sin embargo, un fármaco puede disminuir la viscosidad del moco *in vitro* y resultar de escasa utilidad *in vivo*, porque no aumenta el aclaramiento ni mejora la función pulmonar. Otros términos como fluidificantes, balsámicos, mucorreguladores, mucocinéticos, etc., son prescindibles o bien carecen de una base farmacológica inequívoca. En la práctica, la distinción entre estos fármacos es difícil y por ello suelen ser estudiados en conjunto.

El número de fármacos a los que se atribuye actividad enmarcable dentro de este objetivo terapéutico es muy elevado. Existen grandes dificultades metodológicas para la evaluación clínica de estos fármacos, y de hecho su eficacia, aunque puede existir, no es fácil de demostrar de manera categórica.

Al menos tres estrategias nuevas se encuentran en desarrollo clínico, la modulación de los receptores P2Y<sub>2</sub>, el uso de anticolinérgicos, y el de agonistas de receptores dopaminérgicos D<sub>2</sub>. Los nucleótido-trifosfato ATP y UTP estimulan la secreción de moco por activación de receptores P2Y<sub>2</sub>. No se dispone de antagonistas selectivos para demostrar su papel, ni tampoco sabemos si se modifican los niveles de estos nucleótidos en la enfermedad. Quizá la elevada concentración de ATP en el interior celular pueda hacer que se libere por irritación o necrosis y aumente notablemente en el líquido extracelular, produciendo así una mayor secreción de moco. Los fármacos agonistas de este receptor pueden, en consecuencia, resultar beneficiosos en bronquitis moderada a pesar de que aumentaría la secreción de moco, lo que no está claro. Sin embargo es un receptor con potencial pro-inflamatorio ya que estimula la liberación de elastasa de los neutrófilos y favorece la generación de especies reactivas de oxígeno. Alternativamente, se podría estudiar la actividad de fármacos antagonistas o moduladores de este receptor.

La reciente introducción del antimuscarínico de larga duración de acción, tiotropio, con selectividad cinética por receptores M<sub>3</sub>, permitirá conocer su posible incidencia en la secreción de moco, como un valor añadido a su actividad broncodilatadora.



Finalmente, se han estudiado en clínica, agonistas duales de receptores dopaminérgicos  $D_2$  y de  $\beta_2$ -adrenérgicos. La activación de los receptores  $D_2$  puede inhibir a nivel presináptico la liberación de neurotransmisores secretadores (v.g. acetilcolina) inhibiendo así la secreción de moco. Algunos datos de ensayos clínicos en fase II son alentadores en el sentido de reducir la secreción de moco, pero el fármaco mejor estudiado, viozan, ha sido abandonado recientemente a pesar de haber alcanzado la fase III para su aplicación en la EPOC.

## 5. TERAPIA INHALADA

En la terapéutica de las enfermedades pulmonares caracterizadas por la obstrucción del flujo aéreo (asma y EPOC) es muy importante la vía de administración del fármaco. La preferencia de la terapia inhalada frente a otras vías de administración, es fácil de comprender cuando recordamos que la administración sistémica requiere altas dosis que afectan a todo el sistema, para conseguir una concentración moderada de fármaco en los órganos diana. Ésto lleva consigo la aparición de efectos secundarios en otros órganos y la eliminación de gran parte de la dosis empleada. Sin embargo, la administración local de un fármaco, en este caso por vía inhalada, consigue con menores dosis una mayor concentración de fármaco en los órganos diana, pasando menos cantidad de fármaco a la circulación sistémica y produciéndose menos efectos secundarios y eliminación de fármaco.

El acceso del fármaco a la vía aérea se ve afectado por distintos aspectos:

1. **Características del propio fármaco:** Partículas entre 2 y 6 micras son capaces de alcanzar las vías aéreas intrapulmonares; las de mayor tamaño se depositan en la orofaringe y la vía aérea superior, mientras que las menores de 1 micra son exhaladas con el aire expirado.
2. **El flujo aéreo:** Un flujo inspiratorio lento y constante es la condición para mantener las partículas de fármacos en suspensión en la corriente aérea y, por tanto, facilitar su depósito pulmonar. Un flujo alto provoca turbulencias que facilitan la impactación de las partículas en las ramificaciones de la vía aérea. La llegada de par-

tículas a las vías aéreas periféricas es mayor a mayor volumen inspirado y con inspiración más lenta. La realización de una apnea postinspiratoria (10 segundos) favorece el depósito del fármaco en las vías aérea periféricas.

3. **Calibre de la vía aérea:** Cuanto mayor es el grado de obstrucción bronquial, mayor es el depósito en las vías aéreas centrales que en las periféricas.

Sin embargo hay que recordar que la cantidad de fármaco que llega a la vía aérea es pequeña, ya que el depósito pulmonar es menor del 20 % de la dosis administrada y el otro 80 % se deposita en la faringe y la laringe, se absorbe por vía digestiva y produce efectos sistémicos. Dependiendo del dispositivo empleado: nebulizadores, cartuchos presurizados de dosis controlada, dispositivos espaciadores e inhaladores de polvo seco y de la correcta cumplimentación por el paciente de las instrucciones de manejo del equipo.

Todo esto hace necesario asegurar la máxima eficacia en el diseño y sencillez en las instrucciones de uso de los equipos de administración de fármacos por vía inhalatoria. Por ello, hemos considerado necesario hacer una sucinta referencia a estos dispositivos galénicos.

Desde su introducción en 1956, el cartucho presurizado de dosis controlada ha sido el sistema de elección para la terapia inhalada. En este dispositivo el fármaco micronizado está acompañado de propelentes como los clorofluorocarbonos (CFC) presurizados a 2 ó 3 atmósferas. Una vez mezclados, por agitación previa, ambos componentes forman una suspensión que se libera de forma uniforme y dosificada al actuar una válvula dosificadora colocada en la salida. En la actualidad existe el convencimiento de la necesidad de reemplazar los CFC como consecuencia del daño causado a la capa de ozono de la estratosfera, siendo el año 2005 la fecha límite aceptada por un acuerdo internacional.

Existe una alternativa para los CFC y es que es posible reformular los cartuchos presurizados con gases propelentes de tipo hidrofluoroalcanos (HFA) [HFA-134.<sup>a</sup>; HFA-227]. Estos compuestos no dañan la capa de ozono, pero sí que participan en la génesis del cambio climático al impedir la disipación del calor producido por la vida en el mundo [1.5-5.8 °C para el 2100]. Aunque estos compuestos son menos potentes que el

dióxido de carbono para producir este efecto impermeabilizante al calor, tienen una permanencia en la atmósfera 2000 veces mayor. En suma, estos gases no van a representar una solución segura y segura y deberán someterse a legislaciones restrictivas en los próximos años.

A pesar de esta «mala situación» para los cartuchos presurizados con gases CFC o HFA, se han ofertado al mercado farmacéutico nuevos dispositivos como el *Autohaler*® (3M Pharmaceuticals) y el *Easi-Brethle*®, en un intento de minimizar una de las principales dificultades observadas en el uso de estos equipos «la coordinación entre la inspiración y la apertura de la válvula de dosificación».

La mejor alternativa a estos cartuchos presurizados la constituyen los inhaladores de polvo seco. Estos dispositivos se activan con la inspiración del paciente al hacer pasar el aire a través del fármaco disponible en polvo seco, con ello se evita la necesidad de coordinación del cartucho presurizado y la destrucción de la capa de ozono por los clorofluorocarbonos usados hasta el momento. El tamaño de partícula suele ser de 1 a 2 micras y la inspiración puede repetirse las veces que se quiera, pues solo se dispone de una dosis, asegurándose con ello la completa inhalación del fármaco. El principal inconveniente de estos equipos es que para inhalar estas partículas se necesitan flujos inspiratorios altos, lo cual es difícil en situaciones como son los ataques agudos de asma y EPOC, donde el paciente es incapaz de obtener suficiente fármaco de estos inhaladores.

El primer equipo utilizado fue el *Spinhaler*® (1967) de Fisons, más tarde apareció el *Rotahaler*® de GlaxoSmithKline y el *Aerohaler* de Boehringer Ingelheim. Tienen como principal problema el tener que cargar cada vez, que se quiere aplicar el fármaco, una cápsula de polvo seco y que su estabilidad está comprometida por las altas temperaturas y la humedad.

En la actualidad se han ido introduciendo en el mercado farmacéutico nuevos dispositivos. De ellos destacaremos las características del *Turbuhaler*® y el *Accuhaler*®, recomendando al lector interesado en el tema una revisión de I.J. Smith y M. Parry Billings.

- *Turbuhaler*®: Se utiliza para fármacos como budesonida o terbutalina. El sistema dispone de 200 dosis, que se cargan con un solo giro de la base del aparato. Para su correcto uso se requiere un flujo inspiratorio alto, superior a 1 litro/seg. Con él se provoca una

impactación orofaríngea similar a la obtenida con los cartuchos presurizados (80 %).

- *Accuhaler*®: El sistema dispone de 60 dosis y de un marcador de dosis utilizadas. Requiere un flujo inspiratorio algo menor que el anterior. El salmeterol es uno de los fármacos que se administra por en este sistema.

## BIBLIOGRAFÍA

- Barnes, P.J. (1998) Chronic obstructive pulmonary disease: New opportunities for drug development. *Trends Pharmacol. Sci.* 19: 415-423.
- Barnes, P.J. (1999) Strategies for novel COPD therapies. *Pulm. Pharmacol. Ther.* 12: 67-71.
- Barnes, P.J. (2002) New treatments for COPD. *Nature Rev. Drug Discov.* 1: 437-446.
- Barnes, P.J. (2000) The pharmacological properties of tiotropium. *Chest* 117: 63S-66S.
- Barnes, P.J. (2002) New treatments for COPD. *Nature Rev. Drug Discov.* 1: 437-446.
- Barnes, P.J. (2003) Therapy of chronic obstructive pulmonary disease. *Pharmacol. Ther.* 97: 87-94.
- Cortijo, J., Bou, J., Beleta, J., *et al.* (1993) Investigation into the role of phosphodiesterase IV in bronchorelaxation, including studies with human bronchus. *Br. J. Pharmacol.* 108: 562-568.
- Cortijo, J., Marti-Cabrera, M., Berto, L., *et al.* (1997) Pharmacological activity of PF-904 in guinea pig in vivo, and on human bronchus and neutrophils in vitro. *Eur. J. Pharmacol.* 333: 69-78.
- Cortijo, J., Naline, E., Ortiz, J.L., *et al.* (1998) Effects of fenspiride on human bronchial cyclic nucleotide phosphodiesterase isoenzymes: functional and biochemical study. *Eur. J. Pharmacol.* 341: 79-86.
- Cortijo, J., Pons, R., Dasi, F., *et al.* (1997) Bronchodilator and anti-inflammatory activities of SCA40: studies in human isolated bronchus, human eosinophils, and in the guinea-pig in vivo. *Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 356: 806-814.
- Cortijo, J., Villagrasa, V., Navarrete, C., *et al.* (1996) Effects of SCA40 on human isolated bronchus and human polymorphonuclear leukocytes: comparison with rolipram, SKF94120 and levcromakalim. *Br. J. Pharmacol.* 119: 99-106.
- Cortijo, J., Villagrasa, V., Pons, R., *et al.* (1999) Bronchodilator and anti-inflammatory activities of glaucine: In vitro studies in human airway smooth muscle and polymorphonuclear leukocytes. *Br. J. Pharmacol.* 127: 1641-1651.

- Cortijo, J., Morcillo, E.J. (2004) Broncodilatadores y anti-inflamatorios en asma y EPOC. En: Farmacología y su Proyección a la Clínica. Lorenzo, P., Moreno, A., Leza, J.C., Lizasoain, I., Moro, M.A. (17.<sup>a</sup> Ed). Madrid: Editorial Panamericana. (En prensa).
- Davis, C.W., Abdullah, L.H. (1997) In vitro models for airways mucin secretion. *Pulm. Pharmacol. Ther.* 10: 145-155.
- Fozard JA, Rabe KF, Schudt C, and several authors. (1998) New drugs for asthma, 4<sup>th</sup> International Conference in Konstanz, Germany, 23-25 July, 1998. *Pulm. Pharmacol. Ther.* 12: 61-144.
- Grandjean, E.M., Berthet, P., Ruffmann, R., *et al.* (2000) Efficacy of oral long-term N-acetylcysteine in chronic bronchopulmonary disease: a meta-analysis of published double-blind, placebo-controlled clinical trials. *Clin. Ther.* 22: 209-221.
- Karlsson, J.A., Fuller, R.W. (1999) Pharmacological Regulation of the Cough Reflex —from experimental models to antitussive effects in man. *Pulm. Pharmacol. Ther.* 12: 215-228.
- Li, L., Das, A.M., Torphy, T.J., *et al.* (2002) What's in the pipeline? Prospects for monoclonal antibodies (mAbs) as the therapies for lung diseases. *Pulm. Pharmacol. Ther.* 15: 409-416.
- Jackson, A.D. (2001) Airway goblet-cell mucus secretion. *Trends Pharmacol. Sci.* 22: 39-45.
- Jarvis, B., Markham, A. (2000) Montelukast: a review of its therapeutic potential in persistent asthma. *Drugs* 59: 891-298.
- Miyata, T., Kai, H., Isohama, Y., *et al.* (1998) Current opinion of muco-active drug research: strategies and problems. *Eur. Respir. J.* 11: 480-491.
- Morcillo, E.J., Estrela, J., Cortijo, J. (1999) Oxidative stress and pulmonary inflammation: pharmacological intervention with antioxidants (review). *Pharmacol. Res.* 40: 393-404.
- Morcillo, E.J., Cortijo, J. (2004) Antitusígenos, expectorantes y mucolíticos. En: Farmacología y su proyección a la clínica. Lorenzo, P., Moreno, A., Leza, J.C., Lizasoain, I., Moro, M.A. (17.<sup>a</sup> Ed). Madrid: Editorial Panamericana (En prensa).
- Morcillo, E.J., Cortijo, J. (2000) Antiasmáticos y broncodilatadores. *7 Días Médicos N.º Especial/50-56* (21 de enero).
- Niven, A.S., Argyros, G. (2003) Alternate treatments in asthma. *Chest* 123: 1254-1265.
- Ortiz, J.L., Cortijo, J., Valles, J.M., *et al.* (1992) Rolipram inhibits PAF-induced airway microvascular leakage in guinea-pig: a comparison with milrinone and theophylline. *Fund. Clin. Pharmacol.* 6: 247-249.
- Ortiz, J.L., Valles, J.M., Marti-Cabrera, M., *et al.* (1996) Effects of selective phosphodiesterase inhibitors on platelet-activating factor- and antigen-induced airway hyperreactivity, eosinophil accumulation, and microvascular leakage in guinea pigs. *Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 353: 200-206.

- Owen, C.E. (2002) Anti-immunoglobulin E. Therapy for asma. *Pulm. Pharmacol. Ther.* 15: 417-424.
- Page, C.P. (1999) Recent advances in our understanding of the use of theophylline in the treatment of asthma. *J. Clin. Pharmacol.* 39: 237-240.
- Poole, P.J., Black, P.N. (2001) Oral mucolytic drugs for exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease: systematic review. *Br. Med. J.* 322: 1-6.
- Ríos-Santamarina, I., García-Doménech, R., Gálvez, J., *et al.* (1998) New bronchodilators selected by molecular topology. *Bioorg. Med. Chem. Letter* 8: 477-482.
- Rogers, D.F. (1997) *In vivo* preclinical tests models for studying airway mucus secretion. *Pulm. Pharmacol. Ther.* 10: 121-128.
- Rogers, D.F., Barnes, P.J. (1999) COPD: new developments and therapeutic opportunities. *Trends Pharmacol. Sci.* 20: 352-354.
- Rubin, B.K. (2002) The pharmacologic approach to airway clearance: mucoactive agents. *Respir. Care* 47: 818-822.
- Schudt, C., Gantner, F., Tenors, H., *et al.* (1999) Therapeutic potential of selective PDE inhibitors in asthma. *Pulm. Pharmacol. Ther.* 12: 123-9.
- Smith IJ, Parry M. (2003) *The inhalers of the future? As review of dry powder devices on the market today*». *Pulm. Pharmacol. Ther.* 16: 79-95.
- Tanaka, M., Nyce, J.W. (2001) Respirable antisense oligonucleotides : a new drug class for respiratory disease. *Respir. Res.* 2: 5-9.
- Torphy, T.J. (1998) Phosphodiesterase isozymes. Molecular targets for novel antiasthma agents (State of the art) *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 157: 351-370
- Torphy, T.J., Barnette, M.S., Underwood, D.C., *et al.* (1999) Ariflo™ (SB 207499), a second generation phosphodiesterase 4 inhibitor for the treatment of asthma and COPD: from concept to clinic. *Pulm. Pharmacol. Ther.* 12: 131-5.
- Widdicombe, J. (Guest Editor) (2002) Cough: Pharmacology and Therapy. Special Issue (2nd Intl Symposium on Cough, London, 25-27 October 2001). *Pulm. Pharmacol. Ther.* 15: 185-338.
- Wills, P.J., Cole, P.J. (1996) Mucolytic and mucokinetic therapy. *Pulm. Pharmacol.* 9: 197-204.