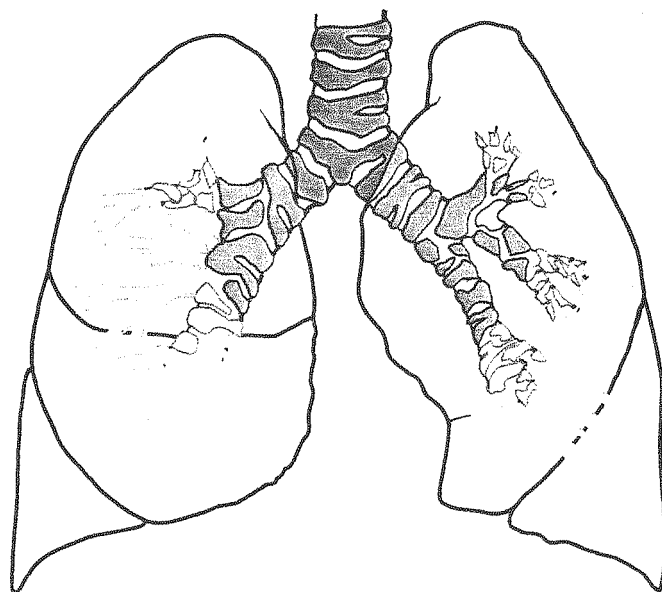


Cristiane Sá Roriz Fonteles



*Reatividade bronco-alveolar e vascular
à Histamina no pulmão isolado do
cobaio: efeitos de diversos tratamentos
farmacológicos e imunológicos*

FC: 00002620-9

Tize
615
16822/14
1291

1994

Esta dissertação foi submetida como parte dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Mestre em Farmacologia, outorgado pela Universidade Federal do Ceará e encontra-se à disposição dos interessados na Biblioteca Central da referida Universidade.

A citação de qualquer trecho desta Tese é permitida, desde que seja feita em conformidade com as normas da ética científica.

Cristiane Sá Roriz Fonteles

Dissertação aprovada em / /1994

Dr. Manassés Claudino Fonteles

Orientador da Dissertação

Dr. Talapala G. Naidin

Dr^a Adriana Costa e Forti

AGRADECIMENTOS

Ao único e supremo Deus, Majestade provedora e sustentáculo de todos os meus passos, o qual fez convergir todos os elementos necessários à elaboração e concretização deste trabalho.

Dentro deste mover decorre agradecimentos:

Ào Prof. Manassés C. Fonteles, pela orientação deste trabalho,

À Dr^a Graça Sá Roriz Fonteles, pelo desprendimento e presteza de serviços,

Ào Prof. Alberto Melo Soares, pelo auxílio na elaboração dos gráficos,

Ào Sr. José Mário de Lima Chaves, pela digitação eletrónica,

À Sr^a Sílvia Helena Freire de França, pelo manuseio e preparo de todos os experimentos,

Ào Sr. Bento Francisco Oliveira, pelo seu auxílio junto ao biotério.

RESUMO	7
SUMMARY	9
INTRODUÇÃO	11
Fisiopatologia da Asma Brônquica	11
Efeitos dos Broncodilatadores e de outros agentes farmacodinâmicos	43
Histamina e seus Receptores	51
Reatividade Brônquica	54
Pulmão: Inervação, vascularização; Isolado como Preparo	57
Bloqueio de Prostaglandinas	60
Bloqueio do NO Sintase e Guanilato Ciclase – Nitroarginina e Endotélio Vascular – Azul de Metileno	63
Bloqueio Adrenérgico e Pulmão	66
Broncoconstrição x Pressão de Perfusão no Pulmão Isolado – Resistência da Pressão Arterial Pulmonar	68
Anestésicos Locais	70
Objetivos	72
MATERIAL E MÉTODOS	73
Animais Experimentais	73
Sistema de Perfusão do Pulmão	73
Curva de Calibração do Fluxo e Pressão no Sistema de Perfusão	73
Soluções Perfusoras	74
Técnica Cirúrgica	74
Protocolo Experimental	74
Substâncias Utilizadas	76
Determinação da Resistência Brônquica	76
Determinação da Pressão de Perfusão	77
Determinação do Fluxo	77
Determinação do Escape Vascular Pulmonar	77
Avaliação Estatística	78

RESULTADOS.....	79
Reatividade Vascular e Bronquiolar à Histamina em Pulmões Controles.....	79
Pulmões de Animais Imunizados pela Ovoalbumina	79
Pulmões de Cobaios Tratados pelo Propranolol.....	90
Pulmões de Cobaios Tratados pela Indometacina	90
Pulmões de Cobaios Tratados pelo Azul de Metileno.....	90
Pulmões de Cobaios Perfundidos na Presença de Arginina	98
Pulmões de Cobaios Perfundidos na Presença de Arginina+NADPH.....	98
Pulmões de Cobaios Perfundidos na Presença de Nitroarginina.....	98
Pulmões de Cobaio Perfundidos na Presença de Lidocaína e Procaína.....	104
Fluxos de Perfusato Pulmonar	104
Escape Pulmovascular	104
DISCUSSÃO DOS RESULTADOS.....	114
CONCLUSÕES	120
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	124

LISTA DE TABELAS

I	- Fluxos de Perfusão Pulmonar.....	109
II	- Fluxos de Perfusão Pulmonar.....	110
III	- Fluxos de Perfusão Pulmonar.....	111
IV	- Índices de Escape para os diversos grupos	112
V	- Índices de Escape para os diversos grupos	112

LISTA DE FIGURAS

1	- Sistema de Perfusão.....	73b
2	- Controle - Pressão de Perfusão.....	80
3	- Controle - Broncoconstrição.....	81
4	- Albumina - Broncoconstrição	82
5	- Albumina - Pressão de Perfusão	83
6	- Controle - Albumina (Pressão de Perfusão)	84
7A	- Imunizado (G_1) - Broncoconstrição	85
7B	- Imunizado (G_1) - Pressão de Perfusão	86
8	- Controle - Imun. G_1 (Pressão de Perfusão).....	87
9A	- Controle - Imun. G_2 (Pressão de Perfusão).....	88
9B	- Controle - Imun. G_2 (Broncoconstrição)	89
10	- Propranolol - Broncoconstrição.....	91
11	- Controle - Propranolol (Pressão de Perfusão).....	92
12	- Controle - Indometacina (Broncoconstrição).....	93
13	- Controle - Indometacina (Pressão de Perfusão).....	94
14	- Controle - Azul de Metileno (Broncoconstrição).....	95
15	- Controle - Azul de Metileno (Pressão de Perfusão).....	96
16	- Azul de Metileno - Pressão de Perfusão.....	97
17	- Arginina/NADPH - Arginina (Broncoconstrição)	99
18	- Arginina/NADPH - Arginina (Pressão de Perfusão)	100
19	- Arginina/NADPH - Nitroarginina (Broncoconstrição)	101

20	- Nitroarginina - Broncoconstrição	102
21	- Arginina/NADPH - Nitroarginina (Pressão de Perfusão)	103
22	- Lidocaína (Pressão de Perfusão)	105
23	- Lidocaína (Broncoconstrição)	106
24	- Procaína (Broncoconstrição).....	107
25	- Procaína (Pressão de Perfusão).....	108

Em um modelo de asma experimental, em pulmões perfundidos de cobaios sensibilizados com ovoalbumina e pulmões de cobaios normais foram investigados os efeitos dos bloqueadores adrenérgicos, inibidores da cicloxigenase, ativadores e inibidores da síntese de EDRF e anestésicos locais sobre o endotélio bloco-pulmonar e sobre a reatividade bronco-vascular.

Cobaios adultos de ambos os sexos foram anestesiados com pentobarbital intraperitoneal na dose de 40 mg/kg peso. A seguir procedeu-se a traqueostomia com subsequente retirada do pulmão que foi perfundido com solução de Krebs-Henseleit, a 37°C, num sistema não recirculado constante de uma bomba de perfusão, um dispositivo para medir pressão de perfusão e uma câmara pulmonar.

Foram estudados parâmetros funcionais pulmonares, tais como: pressão de perfusão pulmonar, resistência brônquica e fluxo do perfusato. Estes mesmos parâmetros foram estudados em reação anafilática induzida "in vitro" em pulmões isolados de cobaios previamente sensibilizados com ovoalbumina.

Em todos os grupos estudados procedeu-se injeção de doses crescentes de histamina (50, 100, 200 e 400 µg/ml) em bôlus, verificando se um aumento significativo da pressão de perfusão, normalmente baixa num dos grupos, acrescentou-se albumina (0,25%) ao perfusato, mas ao comparar os resultados com o grupo controle, o estudo da resistência brônquica não demonstrou diferença estatística. Quanto à pressão de perfusão verificou-se que a albumina aumenta significativamente este parâmetro.

Animais imunizados pela ovoalbumina em meio contendo hidróxido de alumínio, demonstraram significativa redução da broncoconstrição em relação aos controles, com um aumento da pressão de perfusão. Propranolol administrado na dose de 1 µg/ml ao banho perfusor apresentou a resistência brônquica ligeiramente maior que a do grupo controle. Entretanto a pressão de perfusão, comparada aos controles foi significativamente maior.

Quando indometacina foi adicionada ao perfusato na concentração de 10 µg/ml observou-se uma potenciação do efeito broncoconstritor para todas as doses de histamina usadas, entretanto seu efeito mais notável foi observado na pressão de perfusão.

Ao administrar-se azul de metileno na dose de 8,25 $\mu\text{g/ml}$ ao perfusato, a broncoreatividade demonstrou uma intensificação da resistência já no período de controle interno. A comparação da pressão de perfusão revelou que a mesma mais que duplicou, em relação ao grupo controle.

Quando L-arginina (3,5 $\mu\text{g/ml}$) foi adicionada, a broncoconstrição reduziu em relação ao grupo controle. A pressão de perfusão elevou-se igualmente neste grupo. Na presença de L-arginina e NADPH (1 $\mu\text{g/ml}$) houve redução significativa da broncoconstrição em relação ao controle interno e em relação aos pulmões que continham somente arginina. A pressão de perfusão se mostrou significativamente maior que os controles, mas semelhante ao grupo da arginina.

A adição de nitroarginina, um análogo da arginina, ao perfusato na concentração de 2,5 $\mu\text{g/ml}$, manteve a broncoconstrição a nível do grupo controle. Ao comparar-se entretanto a pressão de perfusão com o grupo controle verificou-se um aumento de mais de três vezes neste parâmetro.

Lidocaína ou Procaína (10 $\mu\text{g/ml}$) na solução de Krebs levou a uma broncoconstrição diferente da encontrada no grupo controle, mas a relação dose-resposta da histamina foi mantida. A pressão de perfusão foi diferente, demonstrando-se muito mais elevada que no grupo controle.

De acordo com os dados observados nesta pesquisa concluiu-se que há uma relação muito estreita entre endotélio bronco-pulmonar e a reatividade bronco-vascular, bem como a modulação deste sistema por bloqueadores adrenérgicos, inibidores da cicloxigenase, bloqueadores e ativadores de síntese de EDRF e anestésicos locais. Estes dados constituem mais uma contribuição para o estudo da asma experimental.

SUMMARY

In an experimental model of asthma in perfused lungs of guinea pigs sensitized with ovalbumin and of normal guinea pigs, the effects of adrenergic blockers, cyclooxygenase inhibitors, activators and inhibitors of EDRF synthesis and local anaesthetics, on broncho-pulmonary endothelium and broncho-vascular reactivity, were investigated.

Adult guinea-pigs from both sexes were anaesthetized with pentobarbital (40 mg/ml) by intraperitoneal route. Tracheostomy was done, the lungs were removed and perfused with Krebs-Henseleit solution, at 37 °C, in a non-recirculating system composed of a perfusion pump, a device to measure the perfusion pressure and a pulmonary chamber.

Pulmonary functional parameters, such as pulmonary perfusion pressure, bronchial resistance and perfusate flow, were studied. These parameters were also measured "in vitro" during the anaphylactic reaction in lungs isolated from guinea-pigs previously sensitized with ovalbumin.

In all the groups studied, histamine injections were given (50, 100, 200, 400 µg/ml) in bolus and a significant increment in the usually low perfusion pressure was verified. In one of the groups, albumin (0.25%) was added to the perfusate. Compared to the control group, the results of the bronchial resistance did not show statistical difference. We also verified that the perfusion pressure parameter was significantly increased.

Animals sensitized with ovalbumin showed a significant reduction in the bronchoconstriction, in comparison to the control group, accompanied by an increase in the perfusion pressure. Propranolol administered to the perfusate at a dose of 1 µg/ml displayed a slightly higher bronchial resistance than the control group. But the perfusion pressure, compared to that of the control, was significantly higher.

When indomethacin was added to the perfusate in a concentration of 10 µg/ml, a potentiation of the bronchoconstriction effect was observed at all doses of histamine; however, the most remarkable effect was seen in the perfusion pressure.

After the administration of methylene blue at a dose of 8.25 µg/ml to the perfusate, the bronchoreactivity showed an intensification of the resistance also when

compared to the inner control time. In comparison, the perfusion time was observed to be more than twice that of the control group.

When L-arginine (3.5 $\mu\text{g/ml}$) was added to the perfusate, a bronchoconstriction reduction, was verified while the perfusion pressure got equally higher in this group. In the presence of L-arginine and NADPH (1 $\mu\text{g/ml}$), there was a significant reduction of the bronchoconstriction in comparison to the inner control time, as well as to the perfused lungs that contained only L-arginine. The perfusion pressure was significantly higher than that of the control, but it was similar to that of the L-arginine group.

The administration of nitroarginine, an arginine analog, to the perfusate at a concentration of 2.5 $\mu\text{g/ml}$, did not change the bronchoconstriction. However, when the perfusion pressure was compared to that of the control group, an increase of more than three times in these parameters was observed.

Lidocaine and procaine (10 $\mu\text{g/ml}$) added to the Krebs-Henseleit solution led to a difference in the bronchoconstriction, but the dose-response relationship to histamine was maintained. The perfusion pressure was different and much higher than that of the control group.

Our data suggest that there is a close relationship between the bronchopulmonary endothelium and the broncho-vascular reactivity, as well as the modulation of this system by adrenergic blockers, cyclooxygenase inhibition, blockers and activators of EDRF synthesis and local anaesthetics. These observations constitute a contribution for the study of experimental asthma.

FISIOPATOLOGIA DA ASMA BRÔNQUICA

Em 1921, Alexander e Paddock observaram “respiração asmática” consistentemente em asmáticos, mas não em indivíduos normais, após injeção de pilocarpina. Como epinefrina causava pronto alívio nos ataques, esses investigadores inferiram serem os sintomas devido a broncoconstrição, e especularam ser a principal anormalidade na asma um desequilíbrio entre os sistemas nervosos simpático e colinérgico (ALEXANDER e cols., 1921).

No passado, concentrou-se atenção nos mecanismos de broncoconstrição e possíveis anormalidades da musculatura lisa das vias aéreas em asmáticos, com conseqüente ênfase na terapia broncodilatadora (OATES e WOOD, 1989). Recentemente, foi reconhecido que asma crônica envolve uma resposta inflamatória característica nas vias aéreas (BARNES, 1987; BARNES, 1989). Esse fato tem importantes implicações terapêuticas e prover uma introspecção na ação da terapêutica anti-asmática (OATES e WOOD, 1989).

Embora há muito tenha sido reconhecido que a asma fatal é associada com marcadas alterações inflamatórias na submucosa das vias aéreas, (DUNNILL, 1960) está hoje aparentemente aceito que a inflamação está presente até mesmo em pacientes com asma de intensidade leve (LAITINEN e cols., 1985 e BEASLEY e cols., 1989). Biópsias de tecido brônquico de asmáticos têm revelado ser proeminente o infiltrado de células inflamatórias, em particular eosinófilos e linfócitos, bem como células de descamações epiteliais (OATES e WOOD, 1989; CHUNG, 1986; 8-12). Lavagem broncoalveolar tem também revelado uma maior proporção de células inflamatórias, particularmente eosinófilos (GODARD e cols., 1982) e neutrófilos em pacientes com asma, e o número de células aumenta após reação alérgica (DE MONCHY e cols., 1985 e METZGER e cols., 1987).

Hiperresponsividade brônquica, uma exagerada resposta broncoconstrictora a vários estímulos diferentes é característica da asma e relaciona-se a severidade da doença e necessidade de tratamento (HARGREAVE e cols., 1981 e BRITTON e cols., 1988). Existem claras evidências advindas de estudos em animais indicativas de que o grau de hiperresponsividade brônquica relaciona-se à extensão da inflamação

das vias aéreas (CHUNG, 1986; O'BYRNE e cols., 1987 e O'BYRNE e MANNING, 1992).

Apesar dos mastócitos serem de provável importância em respostas broncoconstrictoras agudas a alérgenos e possivelmente a exercícios, seu papel na asma crônica, particularmente em respostas tardias a alérgenos, e hiperresponsividade brônquica é incerta (OATES e WOOD, 1989). Esta incerteza tem importantes consequências terapêuticas, já que drogas que estabilizam mastócitos podem não ser úteis no controle de sintomas crônicos da asma (OATES e WOOD, 1989). Agonistas β -Adrenérgicos, que estabilizam mastócitos em pulmão humano (CHURCH e HIROI, 1987), não apresentam efeito marcante na resposta tardia ou hiperresponsividade brônquica (COCKCROFT e MURDOCK, 1987). Ao contrário, corticosteróides que não apresentam ação direta em mastócitos no pulmão, (SCHLEIMER e cols., 1983) inibem efetivamente a resposta tardia e previnem ou reduzem hiperresponsividade brônquica (COCKCROFT e MURDOCK, 1987).

Macrófagos, eosinófilos, neutrófilos e linfócitos também estão presentes nas vias aéreas de pacientes asmáticos (OATES e WOOD, 1989). Macrófagos podem ser ativados por alérgenos através de receptores IgE de baixa afinidade e podem também estar envolvidos na resposta tardia a alérgenos e hiperresponsividade brônquica (OATES e WOOD, 1989 e JOSEPH e cols., 1983). Ao contrário dos mastócitos, macrófagos recuperados por lavagem broncoalveolar são inibidos por corticóides, (FULLER e cols., 1984) mas não por agonistas β -adrenérgicos (FULLER e cols., 1988).

Eosinófilo é a célula inflamatória mais característica da asma, (CHUNG, 1986) e de fato asma pode ser vista como bronquite eosinofílica crônica, ressaltando dessa forma a natureza inflamatória da doença (OATES e WOOD, 1989). Há uma correlação entre números de eosinófilos no sangue periférico (TAYLOR e LUKSZA, 1987) ou fluido de lavagem broncoalveolar (OATES e WOOD, 1989) e o grau de hiperresponsividade brônquica (CHUNG, 1986). Eosinófilos podem liberar proteínas básicas que são tóxicas para células epiteliais nas vias aéreas (FRIGAS e GLEICH, 1986 e DAHL e cols., 1988). Essas proteínas são encontradas em sítios de dano epitelial (FINNEY e cols., 1982) nas vias aéreas de pacientes asmáticos (MCFADDEN e GILBERT, 1992). Os sinais responsáveis pelo recrutamento dos eosinófilos do sangue periférico para as vias aéreas e subsequente ativação são desconhecidos (OATES e WOOD, 1989). Agonistas β -adrenérgicos e teofilina não apresentam efeito inibitório.

rio em eosinófilos (YUKAWA e cols., 1989 e YUKAWA e cols., 1988), enquanto corticóides inibem sua degranulação (YUKAWA e cols., 1989).

O papel dos neutrófilos na asma ainda é obscuro, já que infiltrado dessas células não é de caráter proeminente na doença (OATES e WOOD, 1989). Linfócitos-T são também comuns em vias aéreas de pacientes asmáticos, mas sua função é incerta. Linfocinas podem ser importantes na amplificação da resposta inflamatória em pacientes asmáticos e Interleucina-5, liberada por linfócitos-T, pode ser importante em reter e priorizar eosinófilos nas vias aéreas. (YAMAGUCHI e cols., 1988)

Muitos mediadores têm sido implicados na asma (BARNES e cols., 1988) e podem contribuir com várias faces da resposta asmática, como a broncoconstricção, extravazamento microvascular e secreção de muco (O'BYRNE e MANNING, 1992). Esses mediadores também contribuem para a hiperresponsividade brônquica (O'BYRNE e MANNING, 1992 e OATES e WOOD, 1989). A Prostaglandina D₂ causa um aumento transitório da hiperresponsividade brônquica (FULLER e cols., 1986), bem como os leucotrienos (ARM e cols., 1988). Um outro mediador lipídico, o PAF (Platelet Activating Factor), recentemente atraiu atenções porque induz muitas características da asma (BARNES e cols., 1988) e causa um aumento na responsividade brônquica em indivíduos normais, que dura cerca de 4 semanas (CUSS e cols., 1986). O Fator de Agregação Plaquetária interage, de forma específica com eosinófilos podendo produzir hiperresponsividade brônquica (OATES e WOOD, 1989). O PAF causa estável recrutamento de eosinófilos em pulmão de macaco árabe ou africano (babuíno) e é quimiotático para eosinófilos humanos *in vitro* (DENJEAN e cols., 1988 e WARDLAW e cols., 1986). Também estimula a adesão de eosinófilos a células endoteliais vasculares (KIMANI e cols., 1988) e é um potente estimulante da liberação das proteínas básicas de eosinófilos *in vitro* (KROEGEL e cols., 1989). Portanto o PAF poderá ser o sinal que recruta e ativa eosinófilos na via respiratória de pacientes asmáticos, levando a dano epitelial característico (DUNNILL, 1960 e LAITNER e cols., 1985). Descamação epitelial pode contribuir para hiperresponsividade brônquica através da perda de um suposto fator relaxante epitelial (FLAVAHAN e cols., 1985 e BARNES e cols., 1985) ou porque enzimas epiteliais são importantes na degradação de mediadores (CUSS e BARNES, 1987). Descamação epitelial pode também expor nervos sensoriais, que são então estimulados com maior eficiência (OATES e WOOD, 1989 e MCFADDEN e GILBERT, 1992).

Mecanismos neurais há muito têm sido implicados na asma. (BARNES, 1986) Broncoconstricção colinérgica reflexa, que apresenta papel de importância na asma em algumas espécies animais, parece ter menos importância em humanos (BOULET e cols., 1984 e OATES e WOOD, 1989). Tem se havido interesse no papel de nervos não-adrenérgicos, não-colinérgicos na asma, em particular no papel de neuropeptídeos que podem ser liberados de nervos sensoriais por reflexo axônico (OATES e WOOD, 1989 e BARNES, 1986). Esses peptídeos incluem Substância P (um potente indutor da permeabilidade microvascular e secreção de muco), Neurocinina A (potente broncoconstrictor), e peptídeo geneticamente relacionado à calcitonina (um efetivo e durador dilatador de vasos brônquicos). A liberação desses peptídeos de terminações nervosas sensoriais expostas, provavelmente desencadeada pela bradicinina, amplificaria e aumentaria a resposta inflamatória. Podem aumentar o efeito de outras substâncias broncoconstrictoras. Inflamação neurogênica pode ser um alvo para terapêutica futura da asma (OATES e WOOD, 1989).

Extravasamento microvascular é um caráter constante de reações inflamatórias, portanto não é de se surpreender que haja evidência de exudação plasmática na asma (PERSSON, 1986). Mediadores inflamatórios levam ao extravasamento microvascular, com conseqüente edema submucoso das vias aéreas (PERSSON e SVENSJO, 1983). Como esse fator pode contribuir para a hiperresponsividade brônquica (FREEDMAN, 1972 e HOGG e cols., 1987), drogas que inibam extravasamento microvascular deverão beneficiar no tratamento da asma (OATES e WOOD, 1989).

Asma representa, então, um tipo especial de inflamação das vias aéreas que leva à contração da musculatura lisa das mesmas, extravasamento microvascular e hiperresponsividade brônquica, resultando em episódios de tosse, dispnéia, sibilo, (provavelmente devido à ativação nervosa, respiração curta isoladamente ou em combinação) (O'BYRNE e MANNING, 1992; MCFADDEN e GILBERT, 1992 e OATES e WOOD, 1989).

Asma é, portanto, muito mais que **Broncoconstricção** e o seu tratamento deverá ser direcionado à redução da inflamação, bem como à promoção da broncodilatação. Estudos sugerem que broncodilatadores podem não influenciar os eventos inflamatórios nas vias aéreas, podendo mascarar a mesma aliviando suavemente os sintomas, permitindo maior exposição a alérgenos, irritantes e outros estimulantes locais. Drogas anti-asmáticas podem ser classificadas como **Broncodilatadoras** ou como **Drogas Antiinflamatórias** (OATES e WOOD, 1989).

Asma é uma condição inflamatória crônica. A prévia ênfase na terapia broncodilatadora, que não trata a condição inflamatória, pode ser substituída. Agentes antiinflamatórios como **Corticosteróides** e **Cromoglicato Dissódico** são recomendados. A supressão efetiva da inflamação das vias aéreas reduz a necessidade da terapia broncodilatadora e pode reduzir a morbidade e, talvez, mortalidade da asma (OATES e WOOD, 1989). A asma é usualmente diagnosticada devido a ataques espontâneos e reversíveis de broncoconstrição. (CHUNG, 1986 e O'BYRNE e MANNING, 1992) A severidade da doença está intimamente relacionada com o grau de hiperreatividade brônquica (JUNIPER e cols., 1981; COCKCROFT e cols., 1977 e RYAN e cols., 1982).

Biópsias da mucosa aérea de asmáticos têm confirmado a presença de dano de células epiteliais, em particular células epiteliais do tipo ciliadas e de infiltrado submucoso de eosinófilos (GLYNN, 1960 e ROCHE e cols., 1989). Uma resposta inflamatória persistente de pequeno grau está presente nas vias aéreas de pacientes com asma estável (CHUNG, 1986).

O efeito de uma larga quantidade de estímulos inflamatórios, como por exemplo, o poluente atmosférico **Ozônio**, **Antígenos Ambientais** e **Químicos** no ambiente de trabalho como o diisocianato de tolueno foram investigados em várias espécies incluindo o homem. (CHUNG, 1986) Exposição ao ozônio resulta em um aumento transitório na reatividade não específica das vias aéreas no cão (LEE e cols., 1977), cobaio (ROUM e MURLAS, 1984) e no homem (GOLDEN e cols., 1978).

De grande relevância na asma é o efeito das respostas mediadas pela imunoglobulina E (IgE) em indivíduos sensibilizados. (CHUNG, 1986) Uma única inalação de antígeno em indivíduos com asma resulta em uma resposta broncoconstrictora de fase imediata e tardia, e em um prolongado aumento na reatividade das vias aéreas que está associada com a exacerbação dos sintomas da asma; (COCKCROFT e cols., 1977) enquanto que a ausência do antígeno por um período de 2 a 3 meses melhora a asma e resulta numa redução na reatividade das vias aéreas (PLATTSMILLS e cols., 1982).

O estímulo inflamatório que chega às vias aéreas ativa células nas mesmas ("**Células Efetoras Primárias**"), estas liberam mediadores que são quimiotáticos a células advindas da circulação ("**Células Efetoras Secundárias**") (CHUNG, 1986).

Mastócitos têm sido propostos como iniciadores de respostas inflamatórias a estímulos alérgicos e não-alérgicos nas vias aéreas (CASALE e KALINER, 1984). Ape-

sar destas células serem abundantes no tecido pulmonar, formam uma pequena proporção das células recuperadas do lúmen das vias aéreas de indivíduos normais e asmáticos (TAMIOKA e cols., 1984 e FLINT e cols., 1985). Tem-se sugerido que a ativação e degranulação desses poucos mastócitos intraluminais levam a um aumento na permeabilidade da mucosa, com subsequente ativação dos mastócitos teciduais (HOGG, 1981). Os mastócitos liberam um grande acervo de mediadores inflamatórios que podem simular alguns dos caracteres da asma, incluindo contração de musculatura lisa e secreção de muco (CASALE e KALINER, 1984). Também geram fatores quimiotáticos para neutrófilos e eosinófilos, como o ácido hidroxieicosatranóico e leucotrieno B₄ (CASALE e KALINER, 1984 e ROBINSON e HOLGATE, 1985). 15-Hete gerado por eosinófilos (TURK e cols., 1982) e por células epiteliais das vias aéreas (HUNTER e cols., 1985), bem como a principal proteína básica liberada por eosinófilos podem ativar a liberação de mediadores de mastócitos (GOETZE e cols., 1983 e O'DONNELL e cols., 1981); isso ilustra os papéis altamente complexos e interdependentes dos diferentes tipos celulares presentes nas vias aéreas inflamadas (CHUNG, 1986).

Os **macrófagos** alveolares estão presentes em **maior abundância** no lúmen das vias aéreas que os **mastócitos**, e também possuem capacidade de gerar fatores quimiotáticos para **Eosinófilos** e **Neutrófilos** (GOSSET e cols., 1984 e HUNNINGHAKE e cols., 1978). Isso é alcançado por meio da ativação de seus receptores IgE de baixa afinidade por antígenos. (JOSEPH e cols., 1983) A capacidade de macrófagos alveolares para liberar PAF (ARNOUX e cols., 1980) providencia um outro mecanismo para quimiotaxia de eosinófilos, para o interior das vias aéreas (CHUNG, 1986).

Na biópsia de espécimens de traquéia de cães expostos a ozônio, a concentração de neutrófilos que migraram é maior na camada epitelial que na subepitelial isso sugere que o epitélio das vias aéreas pode ser uma fonte de fatores quimiotáticos para neutrófilos. (HOLTZMAN e cols., 1983) Células epiteliais da traquéia humana e canina, na presença de Ácido Araquidônico, *in vitro*, geram quantidades substanciais derivadas de 5-lipoxigenase (HOLTZMAN e cols., 1983) e metabólitos da 15-lipoxigenase (HUNTER e cols., 1985), incluindo leucotrieno B₄ e 8,15-di-Hete, que são ambos agentes quimiotáticos para neutrófilos (CHUNG, 1986).

Apesar dos agentes quimiotáticos liberados pelas células efectoras primárias serem ativos tanto para eosinófilos como para neutrófilos, há um recrutamento pre-

ferencial das primeiras em relação às segundas (CHUNG, 1986). A reatividade aumentada das vias aéreas na presença de eosinófilos se dá devido à produção pelos mesmos de mediadores químicos. A Proteína Catiônica Eosinofílica e Proteína Básica Principal, ambas importantes componentes de grânulas eosinofílicas, (ACKERMAN e cols., 1983) são citotóxicas ao epitélio respiratório (GLEICH e cols., 1979) e podem ser responsáveis pela desnudação do epitélio presente na asma. (FILLEY e cols., 1982; DJUKANOVIC e cols., 1990 e KAY, 1991) Eosinófilos têm a capacidade de produzir Leucotrieno C₄, (WELLER e cols., 1983) bem como, o potente mediador inflamatório, PAF (LEE e cols., 1984). Apesar de ambos serem potentes broncoconstrictores, apenas o PAF tem sido reportado como indutor de um aumento transitório na reatividade das vias aéreas em algumas espécies, incluindo cobaio, cão e o homem (MAZZONI e cols., 1985; CHUNG e cols., 1986 e CUSS e cols., 1986).

A produção do PAF provavelmente aumenta por meio da interação entre o Macrófago Alveolar e o Eosinófilo, à medida que mais eosinófilos são recrutados pela liberação do PAF por ambas as células (CHUNG, 1986). Apesar do Neutrófilo ser menos notável que o Eosinófilo na parede das vias aéreas de asmáticos, é uma célula extremamente potente, capaz de gerar prostaglandinas e tromboxano, leucotrieno B₄, e PAF (CHUNG, 1986). Não é surpreendente o fato de ter sido implicado na hiperreatividade induzida por ozônio e por antígeno em cães e coelhos respectivamente. (O'BYRNE e cols., 1985 e MURPHY e cols., 1985) Sobrenadante de neutrófilos fagocitários *in vitro* podem induzir hiperreatividade quando nebulizado nas vias aéreas de coelhos, mas o mediador responsável é ainda desconhecido (IRVIN e cols., 1985).

Tem se sugerido um papel de importância para as plaquetas, porque ausência das mesmas previne hiperreatividade induzida pelo PAF em vias aéreas de cobaias (MAZZONI e cols., 1985), sugerindo que esse efeito do PAF é mediado pelo recrutamento de plaquetas para as vias aéreas (CHUNG, 1986). Após o estímulo antigênico por meio de inalação em asmáticos, tem-se recuperado plaquetas no fluido de lavagem (METZGER e cols., 1985) e são ativadas na circulação (KRAUER e cols., 1981). Ainda não se sabe por qual mecanismo plaquetas podem afetar a função das vias aéreas (CHUNG, 1986). A última aposição dessas células à musculatura lisa das vias aéreas de cobaias induzida pelo PAF (LELLOUCH-TUBIANA e cols., 1985) sugere que devem apresentar um efeito direto, talvez através da liberação de media-

dores (CHUNG, 1986). Plaquetas também podem ser inicialmente ativadas por um mecanismo IgE dependente.

Enquanto alguns mediadores, como o PAF, podem induzir hiperreatividade das vias aéreas por meio da ativação de células intermediárias, outros, com a Prostaglandina $F_{2\alpha}$ (WALTERS e cols., 1981) (um produto da cicloxigenase), podem agir de forma direta (CHUNG, 1986). Metabólitos da cicloxigenase têm sido implicados na hiperreatividade induzida por ozônio em cães, por ser bloqueada pela Indometacina (O'BYRNE e cols., 1984). Entretanto esse efeito é dependente da espécie (CHUNG, 1986). Em cobaias, a Indometacina não apresentou efeito, mas a inibição da via lipoxigenase do metabolismo do Ácido Araquidônico foi efetiva. (LEE e MURLAS, 1985) A resposta broncoconstrictora em sua fase tardia após estímulo antigênico é inibida pela Indometacina (FAIRFAX e cols., 1983). Potenciação direta da contração da musculatura lisa das vias aéreas *in vitro* por mediadores inflamatórios, como o 5-Hete (COPAS e cols., 1982) e leucotrienos C_4 e D_4 (CREESE e BACH, 1983) foi reportada (CHUNG, 1986). Se esses efeitos estão a nível de interação na membrana ou se são devido a mudanças no fluxo de cálcio, ainda não se sabe (CHUNG, 1986). Parece pouco provável que aumentos na afinidade ou no número de receptores explique hiperreatividade, já que essa propriedade característica de vias aéreas de asmáticos ocorre em resposta a muitos agentes broncoconstrictores *in vivo* (CHUNG, 1986).

Muitos fatores sabidamente contribuem para a morbidade da asma, incluindo antígenos ambientais cuidado médico inadequado e educação inadequada do paciente (JOHNSON e cols., 1984; SEARS e cols., 1986 e MESSER e cols., 1960). Esses fatores podem vir se alterando com o tempo e portanto contribuindo com essas tendências (WEISS e WAGENER, 1990). Outros fatores como o aumento da pobreza e falta de cuidado médico adequado podem também estar levando aos recentes aumentos na morbidade relacionada à asma (WEISS e WAGENER, 1990 e MCFADDEN e GILBERT, 1992). Um estudo demonstrou que o aumento nos índices de hospitalização de negros pode estar associado à pobreza (WISSOW e cols., 1988). Mudanças na farmacoterapia de asmáticos pode estar contribuindo para essas tendências. A farmacoterapia da asma tem mudado dramaticamente nesses últimos dez anos. O uso de corticóide e de *inalantes dosificadores* de β -agonistas sofreu aumentos dramáticos. (BOSCO e cols., 1985; SEARS e cols., 1990 e SPITZER e cols., 1992) Apesar de muitas melhoras aparentes na farmacoterapia da asma, a morbidade associada à asma, bem como a mortalidade parecem ter aumentado (WEISS e WAGENER, 1990).

Asma é uma enfermidade crônica que causa um estruturamento da árvore traqueobronquial que se difunde (MCFADDEN e GILBERT, 1992). A doença é caracterizada por exacerbações agudas de vários graus de severidade que resolvem-se espontaneamente ou com terapia. Em circunstâncias pouco comuns, episódios agudos podem ser fatais (MCFADDEN e GILBERT, 1992). Apesar de componentes como a inflamação das vias aéreas e hiperresponsividade brônquica estarem presentes no quadro da doença, eles não são exclusivos a essa enfermidade e são encontrados sozinhos ou juntamente a outros sintomas em outras formas de doença respiratória, como a fibrose cística, bronquite crônica e rinite alérgica (MCFADDEN, 1991 e DEAL e cols., 1980). O que parece ser importante na asma não é a mera presença de inflamação respiratória, mas o tipo da inflamação e o seu potencial de produzir a irritabilidade das vias aéreas (MCFADDEN e GILBERT, 1992).

A doença em estado de atividade, pacientes acordam à noite ou cedo pela manhã com um ou mais desses sintomas, e freqüentemente apresentam exacerbações agudas diante da exposição a estímulo não específico, como exercício físico, ar frio (ou ambos), e irritantes respiratórios (perfumes, detergentes e odores fortes) (MCFADDEN e GILBERT, 1992). Vigília noturna é de caráter tão comum na asma (TURNER-WARWICK, 1988) que sua ausência da história clínica do paciente leva clínicos experientes a questionarem o diagnóstico (MCFADDEN e GILBERT, 1992). Raramente a asma se apresenta com um início explosivo. Normalmente seus sintomas iniciais são de curta duração e intermitentes, entretanto com o tempo se tornam mais freqüentes e severos (MCFADDEN e GILBERT, 1992).

Para estabelecer a presença de asma, a impressão clínica deverá ser confirmada objetivamente demonstrando-se obstrução reversível das vias aéreas (O'BYRNE e MANNING, 1992). Como os sintomas são inespecíficos, é uma boa idéia fazer a avaliação do índice espirométrico e do índice de volume pulmonar do paciente (MCFADDEN e GILBERT, 1992). Usualmente, pacientes asmáticos têm Volume Expiratório Forçado e Velocidade de Fluxo Reduzidos, com Curvas de Fluxo Expiratório Forçado Máximas que são côncavas, e elevações na capacidade residual funcional, volume residual, ou ambos (MCFADDEN, 1988). A ausência desses fatores deverá alertar o médico a outras possibilidades de diagnóstico. Uma obstrução das vias aéreas é considerada reversível se o volume expiratório forçado do paciente aumentar pelo menos 15% em um segundo após 2 jatos de um Agonista- β -adrenérgico (MCFADDEN e GILBERT, 1992).

Estima-se que a asma chegue a afetar 4 a 5% da população nos Estados Unidos, isso significa aproximadamente 10 milhões de pacientes (MCFADDEN e GILBERT, 1992). No que concerne à relação entre hiperreatividade das vias aéreas e níveis de IgE sérica, sugeriu-se que virtualmente todos os pacientes com asma têm um componente atópico (BURROWS e cols., 1989 e SEARS e cols., 1991). Entretanto, esses dados foram obtidos em um grupo seletivo de pacientes, nos quais as definições de asma foram inteiramente subjetivas (MCFADDEN e GILBERT, 1992). Atopia foi definida somente pela presença de níveis elevados de IgE, mesmo diante de outros critérios de costume como teste cutâneo positivo e doença alérgica sintomática ausentes (MCFADDEN e GILBERT, 1992). Outras estimativas indicam que cerca de 1/3 dos pacientes com asma não são atópicos. Questiona-se como uma enfermidade que não seja mediada por mastócitos produza alterações inflamatórias nas vias aéreas (MCFADDEN e GILBERT, 1992).

Asma, ao contrário de outras enfermidades das vias aéreas, como bronquite crônica, fibrose cística e bronquiectasia, não é uma enfermidade progressiva. Mesmo quando não tratada, a doença não tende a progredir impiedosamente de leve a severa; pelo contrário, seu curso clínico caracteriza-se por exacerbações e remissões (MCFADDEN e GILBERT, 1992 e O'BYRNE e MANNING, 1992).

Em autópsias de pacientes que morreram durante estado asmático observaram-se alterações inflamatórias que consistem de exudação de fluido com edema e infiltração da parede das vias aéreas por eosinófilos, neutrófilos, células plasmáticas e linfócitos (MESSER e cols., 1960; DUNNILE, 1960 e DUNILLE e cols., 1969). Em conseqüência o epitélio encontra-se danificado, com descamação espessamento da membrana basal, hiperplasia das células globosas, e hiperplasia e hipertrofia de células da musculatura lisa e capilares (MCFADDEN e GILBERT, 1992). Entretanto, em espécimens de biópsia de pacientes com estado menos severo da doença, nem todos esses achados estão invariavelmente presentes (LAITINEN e cols., 1985 e LUZEWICZ, 1990). Deste modo, não está claro se os caracteres inflamatórios encontrados em autópsia ocorrem uniformemente por toda a diátese asmática ou se meramente representa o extremo final de um espectro.

Os caracteres patológicos singulares da asma são a escassez de neutrófilos e o domínio de eosinófilos na fase exudativa, a carência de infiltrado de células fagocíticas, e a ausência de tecido de granulação e fibrose (MCFADDEN e GILBERT, 1992). Com exceção da deposição de colágeno por miofibroblastos sob a membrana basal

do epitélio (BREWSTER e cols., 1990), as vias aéreas de pacientes asmáticas são notavelmente livres de fibrose. O tipo concêntrico de cicatrização e distorção vistos durante o estado inflamatório em estruturas tubulares não é um caráter dessa doença. Em geral, a avaliação histológica das vias aéreas afetadas pela asma é sugestiva não de um processo crônico, mas sim de um quadro subagudo em todos os estágios de severidade até então examinados. As razões para esse achado são desconhecidas e podem relacionar-se à natureza dos estímulos ou estímulos exercidos.

Um exame das atividades biológicas dos vários tipos celulares encontrados nas vias aéreas de pacientes asmáticos, sugerem que uma complexa interação dessas células levam à elaboração de mediadores químicos, que produzem uma intensa reação bioquímica local, que pode ser normalmente amplificada (DJUKANOVIC e cols., 1990 e DRAZEN e AUSTEN, 1987). Uma célula que parece ter um papel de pivô nesse processo é o mastócito, mas outras células que liberam mediadores que apresentam receptores IgE de baixa afinidade, como os macrófagos, podem também contribuir. Quando apropriadamente estimulados, os mastócitos degranulam e liberam histamina e metabólitos do ácido araquidônico, como os Leucotrienos e Prostaglandinas. Fator de Agregação Plaquetária (PAF) e bradicinina são também gerados. Estudos *in vitro* e *in vivo* têm sugerido que essa cascata de mediadores pode causar contração da musculatura lisa brônquica, aumento da permeabilidade vascular, levar a edema da mucosa e aumentar a produção de muco bem como interferir com a sua remoção (WASSERMAN, 1983; KALINER, 1989 e DRAZEN e AUSTEN, 1987). Simultaneamente, compostos quimiotáticos como fatores quimiotáticos de anafilaxia induzidos por neutrófilos e eosinófilos, leucotrieno B₄, Fator de Agregação Plaquetária (PAF) e ácido hidroxieicosatetraenóico levam à migração de neutrófilos e eosinófilos para o sítio de degranulação e podem ativar plaquetas (WASSERMAN, 1983; KALINER, 1989 e DRAZEN e AUSTEN, 1987). Essa segunda fase leva muitas horas para se desenvolver. Entretanto, uma vez que ocorra, as células envolvidas, bem como os macrófagos residentes, podem prover mais metabólitos do ácido araquidônico e aumentar as fases imediata e retardada por meio do início de um mecanismo de *feedback*. Essas células podem também elaborar uma família de moléculas chamadas fatores de liberação de histamina (KAPLAN e cols., 1985) que podem interagir com células da série mastocítica-basofílica e ampliar a resposta inflamatória.

Verificou-se que pacientes com asma atópica ativam células T auxiliares nas vias aéreas (ROBINSON e cols., 1992). Essas células juntamente com células epite-

liais e endoteliais, fibroblastos e macrófagos sintetizam proteínas mensageiras chamadas citocinas, cujos receptores e funções biológicas regulam as respostas das outras células na cascata inflamatória (KELLEY, 1991). Níveis elevados de interleucina-2, interleucina-5 e fator estimulador de colônia granulocítica-macrofágica têm sido encontrados nos tecidos, células ou fluidos das vias aéreas de pacientes asmáticos (SOLOPERTO, 1991 e HOWELE e cols., 1989). Entretanto, a especificidade dessas observações não foi estabelecida, já que essas anormalidades não estão presentes em todos os pacientes com asma (HAMID e cols., 1991). Além disso, produção aumentada de citocinas foi também encontrada nas vias aéreas de pacientes atópicos não-asmáticos (SEDGWICK e cols., 1991).

Os fatores que governam o recrutamento de células para as vias aéreas são desconhecidos, mas um passo inicial essencial nesse processo é a ativação de moléculas de adesão em células circulantes e sua interação subsequente com moléculas similares na superfície endotelial. Na asma a expressão de moléculas de adesão e a ativação endotelial que acompanha o recrutamento celular após exposição ao antígeno estão alteradas (GEORAS e cols., 1992), mas estes também são achados inespecíficos que ocorrem com lavagem broncoalveolar e são encontrados em pacientes não-asmáticos (GEORAS e cols., 1992).

Dentre as células que participam da reação tardia, o eosinófilo parece ser bem importante (FRIGAS e cols., 1981 e BOUSQUET e cols., 1990). Estes contêm proteínas nos seus grânulos, como a Proteína Catiônica e a Proteína Básica Principal, que são capazes de danificar o epitélio endotelial (DJUKANOVIC e cols., 1990 e KAY, 1991). Esse dano pode potencialmente expor terminações nervosas sensoriais, preparando o estágio para a ativação de passagens inflamatórias neurogênicas, com a liberação retrógrada de neuropeptídeos como a substância P, peptídeo relacionado ao gen da calcitonina, e neurocinina A. (BARNES, 1991) Como esses agentes são potentes espasmogênicos e aumentam a permeabilidade vascular e produção de muco, eles poderiam potencialmente contribuir com a resposta global das vias aéreas (MCFADDEN e GILBERT, 1992). Esse sistema pode ser regulado por enzimas ligadas à membrana como endopeptidases neutras, que clivam e inativam taucicinas como a substância P (NADEL e cols., 1991). Ainda não se sabe se pacientes asmáticos apresentam déficit de neuroendopeptidases nas suas vias aéreas (MCFADDEN e GILBERT, 1992).

Apesar das teorias supracitadas sobre a patogênese da asma serem atraentes, é difícil traduzir os eventos celulares descritos em uma precisa seqüência patofisiológica, e na maioria das áreas este processo está incompleto. Em pacientes atópicos com asma que são expostos a um antígeno ao qual são sensíveis (estímulo antigênico), o surgimento de mediadores no sangue, (NAGY e cols., 1982) urina (WESTCOTT e cols., 1991), ou fluido de lavagem broncoalveolar (STENTON e cols., 1990 e MURRAY e cols., 1986) em conjunto com estreitamento das vias aéreas, oferece evidência razoável, se indireta, de que esses compostos podem estar envolvidos na reação imediata (MCFADDEN e GILBERT, 1992). Como esses indivíduos estavam livres de sintomas respiratórios baixos, os mediadores da asma parecem precisar de um único substrato para exercer seus efeitos (MCFADDEN e GILBERT, 1992). Somente mediadores não explicam todo o quadro, entretanto, esses compostos têm sido encontrados no sangue de pacientes com enfermidade de mastócitos, como resfriado e urticária colinérgica (WASSERMAN e cols., 1977 e SOTER e cols., 1980), e nas vias aéreas de pacientes atópicos não-asmáticos.

Enquanto dispnéia, sibilo, respiração curta e tosse com ou sem catarro são os sintomas usuais na asma, estes também podem ocorrer em outras condições e não são específicos para a asma (BYRNE e MANNING, 1992).

Hoje se reconhece também a importância da inflamação das vias aéreas na asma leve. (O'BYRNE e MANNING, 1992) Estudos têm demonstrado aumento em eosinófilos e mastócitos nas vias aéreas de pacientes com asma leve e estável (KIRBY e cols., 1987).

A liberação do **Ácido Araquidônico** de fosfolipídeos da membrana celular por meio da ação da família das fosfolipases resulta na produção de uma grande variedade de mediadores que podem ser relevantes na patogênese da asma. Esses mediadores lipídicos são tradicionalmente considerados em 2 classes: mediadores que resultam da ação da enzima cicloxigenase sobre o ácido araquidônico, que são as prostaglandinas (PGs) ou tromboxano (Tx); e os mediadores que resultam da ação da enzima 5-lipoxigenase sobre o ácido araquidônico, que são os leucotrienos (LTs). Entretanto, recentemente outros produtos têm sido identificados, que resultam da atividade de diferentes enzimas, como a 12 e a 15-lipoxigenase. Finalmente, o fator de agregação plaquetária (PAF) tem sido reconhecido como um mediador derivado do metabolismo do ácido araquidônico (O'BYRNE e MANNING, 1992).

O metabolismo oxidativo do ácido araquidônico pela cicloxigenase produz endoperoxidasas cíclicas: PGG₂ e PGH₂. A ação subsequente das prostaglandinas isomerases produz PGD₂ ou PGE₂, a clivagem reductiva produz PGF_{2α}, enquanto que uma das duas sintetases terminais sobre a endoperoxidase produz PGI₂ e TxA₂. A cicloxigenase parece estar presente na maioria das células, porém, os seus metabólitos liberados de uma determinada célula são bem específicos (então, TxA₂ de plaquetas, e PGI₂ de células endoteliais). Isso sugere que as sintetases terminais são específicas para cada célula (O'BYRNE e MANNING, 1992).

O efeito da 5-lipoxigenase sobre o ácido araquidônico é para produzir o ácido 5-hidroperoxieicosatetraínico (5-HpETE), que é convertido pela desidrogenase a LTA₄. Esse metabólito intermediário pode ser (ativado) hidrolase epóxica resultando no LTB₄, ou pela glutathione-5-transferase resultando no LTC₄, que depois é metabolizado a LTD₄ e LTE₄ (O'BYRNE e MANNING, 1992). Hoje se reconhece que a atividade biológica da antiga substância de reação lenta da anafilaxia (SRS-A) é exercida pelos leucotrienos sulfidopeptídicos LTC₄, LTD₄ e LTE₄ (LEWIS e AUSTEN, 1984).

O PAF deriva-se da atividade da fosfolipase A₂ sobre os fosfolípidos da membrana, que cliva ácido araquidônico a partir de um glicerol principal para formar um precursor inativo, o liso-PAF. A incorporação subsequente de um grupo acetil pela acetiltransferase resulta no PAF ativo. A meia vida do PAF é muito curta (<1 min), é interessante o fato de que o PAF é inativado pela remoção de um grupo acetil para produzir o precursor inativo liso-PAF (O'BYRNE e MANNING, 1992).

Há evidência de que prostaglandinas e tromboxano, leucotrienos, e PAF são liberados nas vias aéreas de pacientes asmáticos, são responsáveis pelo início da inflamação nas vias aéreas, causam broncoconstrição e resultam em hiperresponsividade das vias aéreas. As prostaglandinas apresentam uma variedade de efeitos na função das vias aéreas na asma. Podem classificar-se em 2 classes: (1) Prostaglandinas estimulatórias (PGD₂ e PGF_{2α}) que são potentes broncoconstritores e (2) Prostaglandinas inibitórias (PGE₂) que podem reduzir respostas broncoconstritoras e atenuar a liberação desses mediadores broncoconstritores, como a Acetilcolina, dos nervos das vias aéreas. Obteve-se evidência tanto em modelo animal de hiperresponsividade das vias aéreas, quanto em humanos, com asma, de que os metabólitos da cicloxigenase estão envolvidos na broncoconstrição, bem como na

hiperresponsividade das vias aéreas após inalações de estímulo inflamatório (O'BYRNE e MANNING, 1992). Mas, há pouca evidência convincente de que os metabólitos da cicloxigenase sejam importantes naquela hiperresponsividade persistente e contínua das vias aéreas, que é característica da asma. Isso porque vários estudos falharam em demonstrar qualquer efeito dos inibidores de cicloxigenase na hiperresponsividade estável das vias aéreas em indivíduos asmáticos (O'BYRNE e MANNING, 1992).

Produtos da cicloxigenase têm sido implicados na patogênese da resposta asmática imediata induzida por alérgeno (FISH e cols., 1981), bem como na resposta asmática tardia (FAIRFAX, 1982) em seres humanos. Isso tem sido feito por meio do pré-tratamento de indivíduos com diversos inibidores da cicloxigenase (O'BYRNE e MANNING, 1992). O pré-tratamento com a Indometacina (100 mg/dia) não influenciou as respostas asmáticas imediata ou tardia (KIRBY e cols., 1989). Esses resultados sugerem que os produtos da cicloxigenase não são importantes mediadores na indução das respostas asmáticas induzidas por alérgeno. (O'BYRNE e MANNING, 1992) Mas há evidência que implica um produto da cicloxigenase na patogênese da hiperresponsividade das vias aéreas em asmáticos (O'BYRNE e MANNING, 1992). A indometacina inibe de forma significativa o desenvolvimento da hiperresponsividade das vias aéreas após a inalação de alérgeno, em pacientes alérgicos. (KIRBY e cols., 1989) Isso sugere que um produto da cicloxigenase está envolvido na patogênese da hiperresponsividade das vias aéreas após inalação do alérgeno (O'BYRNE e MANNING, 1992). Os candidatos mais plausíveis são as prostaglandinas estimulatórias PGD_2 , $PGF_{2\alpha}$ ou TxA_2 .

Sabe-se que a PGD_2 é liberada de células pulmonares humanas disseminadas *in vitro* (YEN e cols., 1976) e das vias aéreas de seres humanos alérgicos que tenham sido estimulados por alérgeno (MURRAY e cols., 1986). A PGD_2 é uma broncoconstrictora das vias aéreas de seres humanos, (HARDY e cols., 1984) e é mais potente, quando inalada por seres humanos, que a $PGF_{2\alpha}$ (O'BYRNE e MANNING, 1992). PGD_2 causa broncoconstricção diretamente por meio da estimulação de receptores contráteis específicos, e indiretamente por meio de ação pré-sináptica com liberação de acetilcolina de nervos colinérgicos das vias aéreas (TAMAOKI e cols., 1987). Foi demonstrado que concentrações de PGD_2 abaixo do limiar de contração aumentam a responsividade das vias aéreas à histamina e metacolina inaladas em indivíduos asmáticos (FULLER e cols., 1986). Por conseguinte, a PGD_2 liberada nas vias aéreas de seres humanos após inalação de alérgeno, tem o potencial de causar

O metabolismo oxidativo do ácido araquidônico pela cicloxigenase produz endoperoxidasas cíclicas: PGG_2 e PGH_2 . A ação subsequente das prostaglandinas isomerases produz PGD_2 ou PGE_2 , a clivagem reductiva produz $PGF_{2\alpha}$, enquanto que uma das duas sintetases terminais sobre a endoperoxidase produz PGI_2 e TxA_2 . A cicloxigenase parece estar presente na maioria das células, porém, os seus metabólitos liberados de uma determinada célula são bem específicos (então, TxA_2 de plaquetas, e PGI_2 de células endoteliais). Isso sugere que as sintetases terminais são específicas para cada célula (O'BYRNE e MANNING, 1992).

O efeito da 5-lipoxigenase sobre o ácido araquidônico é para produzir o ácido 5-hidroperoxieicosatetraenóico (5-HpETE), que é convertido pela desidrogenase a LTA_4 . Esse metabólito intermediário pode ser (ativado) hidrolase epóxica resultando no LTB_4 , ou pela glutation-5-transferase resultando no LTC_4 , que depois é metabolizado a LTD_4 e LTE_4 (O'BYRNE e MANNING, 1992). Hoje se reconhece que a atividade biológica da antiga substância de reação lenta da anafilaxia (SRS-A) é exercida pelos leucotrienos sulfidopeptídicos LTC_4 , LTD_4 e LTE_4 (LEWIS e AUSTEN, 1984).

O PAF deriva-se da atividade da fosfolipase A_2 sobre os fosfolipídeos da membrana, que cliva ácido araquidônico a partir de um glicerol principal para formar um precursor inativo, o liso-PAF. A incorporação subsequente de um grupo acetil pela acetiltransferase resulta no PAF ativo. A meia vida do PAF é muito curta (<1 min), é interessante o fato de que o PAF é inativado pela remoção de um grupo acetil para produzir o precursor inativo liso-PAF (O'BYRNE e MANNING, 1992).

Há evidência de que prostaglandinas e tromboxano, leucotrienos, e PAF são liberados nas vias aéreas de pacientes asmáticos, são responsáveis pelo início da inflamação nas vias aéreas, causam broncoconstrição e resultam em hiperresponsividade das vias aéreas. As prostaglandinas apresentam uma variedade de efeitos na função das vias aéreas na asma. Podem classificar-se em 2 classes: (1) Prostaglandinas estimulatórias (PGD_2 e $PGF_{2\alpha}$) que são potentes broncoconstritores e (2) Prostaglandinas inibitórias (PGE_2) que odem reduzir respostas broncoconstritoras e atenuar a liberação desses mediadores broncoconstritores, como a Acetilcolina, dos nervos das vias aéreas. Obteve-se evidência tanto em modelo animal de hiperresponsividade das vias aéreas, quanto em humanos, com asma, de que os metabólitos da cicloxigenase estão envolvidos na broncoconstrição, bem como na

broncoconstrição aguda e aumentar a hiperresponsividade das vias aéreas a outros mediadores constrictores (O'BYRNE e MANNING, 1992).

Assim como a PGD_2 , a PGF_2 tem o potencial para se tornar importante na indução de broncoconstrição e hiperresponsividade das vias aéreas, após inalação de alérgeno em seres humanos (O'BYRNE e MANNING, 1992). Isso se deve ao fato de ser liberada de pulmões humanos, ser um potente broncoconstrictor nas vias aéreas de asmáticos (O'BYRNE e cols., 1984) e a inalação de concentrações de constrictor abaixo do limiar pode aumentar a responsividade das vias aéreas em cães (O'BYRNE e cols., 1984) e seres humanos (FISH e cols., 1984).

Assim como com a PGD_2 , não há antagonista seletivo para receptor de $PGF_{2\alpha}$, que permitiria a identificação da importância desses metabólitos em causar essas respostas (O'BYRNE e MANNING, 1992). Realmente foi sugerido que todas as prostaglandinas contráteis (de contração) agem via um único receptor TP_1 (GARDINER, 1989). Portanto, a diferenciação da importância relativa dessas prostaglandinas em induzir respostas asmáticas pode ser extremamente difícil.

TxA_2 , um potente constrictor de musculatura lisa, foi originalmente descrito como sendo liberado de plaquetas (HAMBERG e cols., 1975), mas hoje se sabe que é liberado por outras células, incluindo macrófagos e neutrófilos (HIGGS e cols., 1983). A meia vida biológica do TxA_2 é muito curta (~30s); portanto para se relacionar o TxA_2 aos processos de enfermidade irá depender da medição do seu metabólito mais estável: tromboxano B_2 (TxB_2) nos fluidos biológicos; do uso das endoperoxidases estáveis V44069 ou V46619, que simulam a maioria dos efeitos biológicos do TxA_2 e têm sido usadas como análogos do TxA_2 ; e do uso de inibidores da síntese de TxA_2 e antagonistas do receptor de TxA_2 . (O'BYRNE e MANNING, 1992) Utilizando essas técnicas, o TxA_2 tem sido implicado na patogênese da hiperresponsividade das vias aéreas em cães (AIZAWA e cols., 1985 e O'BYRNE e cols., 1985) e primatas (MCFARLANE e cols., 1988); da resposta cutânea tardia a alérgenos intradérmicos (DORSH e cols., 1983) em humanos; da resposta imediata a alérgeno inalado em cães; (KLEEBERGER e cols., 1987) da resposta asmática tardia após inalação de alérgeno em humanos (SHEPHARD e cols., 1985); e da hiperresponsividade das vias aéreas em asmáticos (FUJIMURA e cols., 1986).

O inibidor da Tromboxano sintetase (TxA_2 -sintetase), OKY046, administrado por via oral, reduz a hiperresponsividade das vias aéreas induzida pela acetilcolina em indivíduos com asma estável (apesar desses estudos não terem sido contro-

le), enquanto um inibidor da lipoxigenase não teve efeito nesses indivíduos (FUJIMURA e cols., 1986). Por conseguinte o TxA_2 pode ser um importante mediador na patogênese da hiperresponsividade das vias aéreas em asma estável ou após inalação de alérgenos. Estudos recentes, entretanto, examinaram o efeito do inibidor da tromboxano sintetase, CGS 13080, nas respostas das vias aéreas após estímulo alergênico. CGS 13080 inibiu levemente, mas significativamente a magnitude da resposta inicial, mas não tardia, após inalação de alérgeno (O'BYRNE e MANNING, 1992). Não houve efeito na hiperresponsividade das vias aéreas à histamina inalada medida 24 horas após o alérgeno (MANNING e cols., 1990).

Enquanto a diferenciação das prostaglandinas em classes estimulatória e inibitória é de certa forma inapropriada, a ação principal da PGE_2 e PGI_2 na função das vias aéreas é de relaxar a musculatura lisa das vias aéreas e antagonizar as respostas contráteis de outros agonistas broncoconstrictores. (O'BYRNE e MANNING, 1992)

A evidência de que prostaglandinas inibitórias desempenham papel na modulação da resposta contrátil de agonistas como a histamina e a acetilcolina, advém de estudos que têm demonstrado que a taquifilaxia (uma resposta decrescida à estimulação repetida) ocorre seguidamente a estímulos repetidos com exercícios ou histamina inalada, em asmáticos, quando os estímulos são separados por cerca de 6 horas (O'BYRNE e JONES, 1986 e MANNING e cols., 1987). Adicionalmente, a refratariedade do exercício e a taquifilaxia produzida pela histamina são prevenidas pelo pré-tratamento com a indometacina, que sugere que a taquifilaxia se dá por meio da liberação de prostaglandinas inibitórias nas vias aéreas (O'BYRNE e JONES, 1986; MANNING e cols., 1987 e MARGOLSKEE e cols., 1988). Finalmente o pré-tratamento de asmáticos com PGE_1 oral, em doses que não causam broncodilatação, reduz a responsividade das vias aéreas à histamina e metacolina (MANNING e cols., 1989). Esses resultados são consistentes com estudos da musculatura lisa *in vitro*, onde a taquifilaxia da histamina ocorre através da liberação de prostaglandinas inibitórias, (ANDERSON e cols., 1977) e com estudos em cães *in vivo*, onde a taquifilaxia da histamina é inibida pela indometacina. (SHORE e MARTINS, 1985) A taquifilaxia da histamina em indivíduos asmáticos é bloqueada pelo pré-tratamento com cimetidina, (JACKSON e cols., 1988) sugerindo que a estimulação de receptores H_2 está envolvida com o desenvolvimento da taquifilaxia à histamina. A estimulação de receptores H_2 nos pulmões *in vitro* foi previamente demonstrado estar associada com a li-

beração de PGE₂ em cobaios (YEN e cols., 1976), e a liberação de PGE₂ de traquéia de cães pela histamina é antagonizada pela cimetidina (MANNING e cols., 1992).

Contração das vias aéreas de asmáticos pela histamina também reduz a responsividade das mesmas à acetilcolina (MANNING e cols., 1992) e exercícios (HAMILEC e cols., 1988). Essa falta de especificidade sugere que ou ocorre uma “downregulation” dos receptores ou uma alteração das propriedades contráteis da musculatura lisa das vias aéreas (O’BYRNE e MANNING, 1992). E de fato a PGE causa dessensibilização heteróloga dos receptores em alguns sistemas isolados de células, e a musculatura lisa das vias aéreas apresenta receptores PGE-específicos (GARDINER, 1989) mediando os efeitos inibidores como o relaxamento. Entretanto não há evidência atual de preparações *in vivo* ou *in vitro* que suportem essa especulação (O’BYRNE e MANNING, 1992).

No início dos anos 40 foi identificada a importância da Substância Anafilática de Reação Lenta (SRS-A) nos eventos que ocorrem após estímulo imunológico dos pulmões (KELLAWAY e TRETHERWIL, 1960). Mais tarde Brocklehurst demonstrou que quando expostos a alérgenos, esses segmentos pulmonares de indivíduo asmático liberava SRS-A (BROCKLEHURST, 1960). Foi sugerido que a SRS-A era um importante mediador de sintomas, após exposição a alérgeno, em indivíduos sensibilizados, basicamente por se tratar de um potente constritor da musculatura lisa das vias aéreas com uma duração de ação muito maior que outros constritores semelhantes, como a histamina. Hoje sabe-se que a SRS-A consiste de leucotrienos sulfidopeptídicos (LT) C₄, D₄ e E₄ (LEWIS e AUSTEN, 1984). Por conseguinte há evidência de que os leucotrienos sulfidopeptídicos são liberados por um número de células presentes nas vias aéreas, incluindo mastócitos, que estão envolvidos nas respostas das vias aéreas a alérgeno inalado. (DAHLEN e cols., 1983) Além disso, os leucotrienos têm efeitos potentes na musculatura lisa das vias aéreas em seres humanos (DAHLEN e cols., 1980).

LTC₄ e LTD₄ inalados são potentes broncoconstritores em indivíduos normais e asmáticos (GRIFFIN e cols., 1983; SMITH e cols., 1985 e ADELROTH e cols., 1986), sendo cerca de 10.000 vezes mais potentes que a metacolina em alguns indivíduos normais (ADELROTH e cols., 1986), com um tempo de ação mais longo que a histamina inalada (BARNES e cols., 1984). Mas para estabelecer o papel dos leucotrienos nas respostas das vias aéreas a alérgeno inalado, irá depender da habilidade de antagonistas específicos de leucotrieno para inibir essas respostas. Até a

presente data, nenhum desses estudos foi reportado em seres. A inalação de LTD₄ por indivíduos asmáticos atópicos que desenvolvem resposta tardia após inalação de alérgeno, em concentrações suficientes para causar broncoconstricção de magnitude similar na resposta imediata após inalação de alérgeno, não causa uma resposta tardia (HIGGINS e O'BYRNE, 1987). Conseqüentemente, a liberação de LTD₄ por seres humanos, durante a resposta imediata após inalação de alérgeno, não é por si mesma suficiente para causar uma resposta tardia em asmáticos. O papel preciso do LTC₄ ou D₄, em respostas asmáticas após inalação de alérgeno, não está sendo esclarecido (O'BYRNE e MANNING, 1992).

Outro papel de importância dos leucotrienos na asma é na patogênese da hiperresponsividade das vias aéreas. A hiperresponsividade que se desenvolve seguidamente após o contato com o alérgeno e ozônio, sensibilizadores ocupacionais como o diisocianato de tolueno, ocorre como resultado de uma resposta inflamatória nas vias aéreas após inalação desses estímulos (O'BYRNE, 1986).

Em cães a resposta inflamatória medida pelo número de neutrófilos predomina no epitélio das vias aéreas (HOLTZMAN e cols., 1983). Isso sugere que o estímulo quimiotático de atração para as células para o interior das vias aéreas, origina-se das células epiteliais ou das células presentes no lúmen das vias aéreas, como é o caso dos macrófagos (O'BYRNE e MANNING, 1992). HOLTZMAN e colaboradores, 1983 demonstraram que células epiteliais isoladas da traquéia de cães produz LTB₄, quando estimuladas com araquidonato (O'BYRNE e MANNING, 1992). Macrófagos alveolares humanos, presentes no lúmen das vias aéreas, produzem mais LTB₄ que quase qualquer outra célula. (LEWIS e AUSTEN, 1984) Esses dados levantaram a possibilidade de que o potente quimiotático LTB₄ pode ser responsável pela resposta inflamatória inicial, após estímulos como o ozônio. (O'BYRNE e MANNING, 1992) LTB₄ inalado foi demonstrado causar influxo de neutrófilos para o interior das vias aéreas de cães, e o desenvolvimento da hiperresponsividade (O'BYRNE e cols., 1985). Outrossim, o pré-tratamento com um inibidor de tromboxano sintetase, OKY-046, preveniu o desenvolvimento de hiperresponsividade das vias aéreas após inalação de LTB₄ (O'BYRNE e MANNING, 1992).

Há menos evidência direta de que os leucotrienos sulfidopeptídicos causam hiperresponsividade das vias aéreas em asmáticos (O'BYRNE e MANNING, 1992). Estudos prévios sugeriram que pré-tratamento com LTD₄ (CRUSE e BACH, 1983) e LTE₄ (LEE e cols., 1984) aumentaram responsividade de amostras de traquéia de

cobaias à histamina, apesar dessas observações não terem sido confirmadas por outros investigadores (STEWART e cols., 1983). KERN *et al* (KERN e cols., 1986) demonstraram que a pré-contracção das vias aéreas com LTD₄ em indivíduos normais irá aumentar a responsividade das vias aéreas à metacolina inalada. Pré-contracção com metacolina não apresenta esse efeito (O'BYRNE e MANNING, 1992). BARNES *et al* (BARNES e cols., 1984) reportaram que LTD₄ inalado aumentou responsividade das vias aéreas à prostaglandina F_{2α}, mas não à histamina (O'BYRNE e MANNING, 1992). O tempo de duração desse efeito é desconhecido. LEE *et al* (LEE e cols., 1987) também demonstraram que LTE₄ inalado aumentou transitoriamente a responsividade das vias aéreas à histamina inalada (O'BYRNE e MANNING, 1992).

BEL e cols., 1987 reportaram que o pré-tratamento com LTD₄ aumentou a resposta broncoconstrictora máxima alcançada por inalação de metacolina, e esse efeito durou 3 dias. Por conseguinte, a evidência coletada até a presente data suporta um papel para os leucotrienos sulfidopeptídicos na patogênese da hiperresponsividade após estímulos como alérgenos, entretanto, o seu papel preciso nessas respostas aguarda estudos usando um antagonista receptor-específico (O'BYRNE e MANNING, 1992).

A identificação de um fator liberado por basófilos que causava agregação e ativação plaquetária, foi feita por BENVENISTE e cols., 1972). Hoje sabe-se que o PAF é liberado por uma variedade de células nas vias aéreas, incluindo macrófagos alveolares, neutrófilos e eosinófilos (PAGE e cols., 1983). Uma variedade de efeitos biológicos do PAF podem ser importantes na patogênese da inflamação das vias aéreas, hiperresponsividade das mesmas, e asma, incluindo broncoconstricção, a quimiotaxia e ativação de células inflamatórias, e efeitos na permeabilidade vascular (O'BYRNE e MANNING, 1992).

Demonstrou-se que o PAF inalado causa inflamação e hiperresponsividade nas vias aéreas de uma variedade de modelos animais (CHRISMAN e cols., 1987; LELLOUCH-TUBIANA e cols., 1988 e CHUNG e cols., 1986). Nos cobaias esse efeito parece depender da presença de plaquetas, (LELLOUCH-TUBIANA e cols., 1988) e em cães é prevenido pelo pré-tratamento com um inibidor da tromboxano sintetase, sugerindo que a liberação de TxA₂ é importante na indução dos efeitos do PAF nessas espécies (CHUNG e cols., 1986).

O principal interesse no PAF se deu após as observações de (CUSS e cols., 1986) de que o PAF inalado, mas não o liso-PAF, causou hiperresponsividade pro-

longada nas vias aéreas de indivíduos normais após inalação do alérgeno. Esse efeito foi demonstrado somente em indivíduos normais, mas não em asmáticos, (SMITH e cols., 1988) e estudos subsequentes não confirmaram esses achados (LAI e cols., 1990). Apesar dessa controvérsia, a possibilidade do PAF inalado poder causar hiperresponsividade prolongada nas vias aéreas, talvez pela atração e ativação de células inflamatórias como os eosinófilos, o tornaria um único mediador pró-inflamatório (O'BYRNE e MANNING, 1992).

Como em todos os mediadores lipídicos, a importância do PAF em iniciar essas respostas seguidamente à inalação do alérgeno, e em induzir o progresso (continuidade) da asma aguarda resultados de estudos dos efeitos de um PAF-antagonista seletivo como o WEB 2086 (CASALS-STENZEL e cols., 1987) nas respostas asmáticas induzidas por alérgeno e no controle da asma clínica (O'BYRNE e MANNING, 1992).

Apesar de mais de 30 anos de pesquisa na liberação, metabolismo, e relevância clínica dos eicosanóides em doenças pulmonares, nenhum papel definitivo foi identificado para nenhum desses mediadores (O'BYRNE e MANNING, 1992). Em enfermidades das vias respiratórias, como a asma, é provável que vários eicosanóides como a PGD_2 , TxA_2 e leucotrienos peptídicos LTC_4 e LTD_4 estejam envolvidos na indução da broncoconstrição aguda após estímulos como a inalação de alérgeno ou exercício, em pacientes asmáticos. Também há evidência de que as prostraglandinas inibitórias podem ser liberadas por vias aéreas normais ou asmáticas, reduzindo as respostas broncoconstrictoras. Entretanto esses mediadores que causam influxo e maturação das células efectoras inflamatórias na asma permanecem desconhecidos. O PAF é um mediador potencialmente importante nesse papel, e estudos em andamento com PAF-antagonistas seletivos deverão ajudar a solucionar essa questão (O'BYRNE e MANNING, 1992).

O mecanismo da responsividade inespecífica aumentada das vias aéreas e da obstrução reversível do fluxo de ar é desconhecido. Nos últimos dez anos tem havido uma grande mudança nas bases conceituais da patofisiologia da asma (LITCHFIELD e LEE, 1992). Isso tem resultado do reconhecimento de que a inflamação das vias aéreas é um aspecto de importância da asma e de que a broncoconstrição por meio da contração da musculatura lisa nada mais é que uma seqüela da cascata inflamatória (LITCHFIELD e LEE, 1992). Essa nova visão tem levado a uma mudança significativa no foco das atividades de pesquisa e nas idéias sobre o des-

envolvimento de agentes terapêuticos futuros no tratamento da asma (BARNES, 1989).

O desenvolvimento recente de técnicas como lavagem brônquica e a relativa segurança de biópsias brônquicas em pacientes com asma tem provido informações sobre os processos inflamatórios nas vias aéreas de asmáticos. Lavagem broncoalveolar sugere que há um aumento no número de células ciliadas, eosinófilos, macrófagos e monócitos no fluido de lavagem broncoalveolar obtido de pacientes com asma e comparados com grupo controle (LITCHFIELD e LEE, 1992; KIRBY e cols., 1987; DIAZ e cols., 1986 e BEASLEY e cols., 1989).

Exames histológicos de biópsias das vias aéreas têm demonstrado infiltração por uma variedade de células inflamatórias, em particular eosinófilos. As vias aéreas podem estar edematosas, as células epiteliais ciliadas se apresentam, com frequência, aumentadas de volume, granulócitos estão presentes, tanto intra epiteliais como na submucosa. Macrófagos e linfócitos são comuns na lâmina própria. Muitas vezes, na asma severa, o epitélio desnudo das vias aéreas pode levar terminações nervosas subjacentes a estarem susceptíveis à estimulação por uma multidão de diversos fatores ambientais. Parece haver um número aumentado de mastócitos na mucosa das vias aéreas de pacientes asmáticos, e muitas dessas células apresentam sinais de degranulação (LITCHFIELD e LEE, 1992). Finalmente, há uma membrana basal espessa que consiste, em grande parte, de uma deposição de matriz colágena e não-colágena (ROCHE e cols., 1989).

Há um interesse cada vez maior no possível papel das citocinas na amplificação da inflamação alérgica e não-alérgica. Estas incluem as interleucinas, fatores de crescimento como os fatores estimulantes de colônias (CSF) de granulócito-macrófago (GM-), granulócito (G-) e monócito (M-) e outras citocinas pró-inflamatórias ou regulatórias como o fator de necrose tumoral (TNF), fator de crescimento de nervos (nervoso) (NGF) e fator de crescimento e transformação- β (TGF). A fonte dessas citocinas, bem como as células alvo para suas ações, são pleiomórficas e incluem granulócitos, linfócitos, fibroblastos, células epiteliais e células endoteliais (LITCHFIELD e LEE, 1992).

Os mastócitos constituem 0,25 - 0,5% do total de células nucleadas recuperadas por lavagem broncoalveolar (BAL) de indivíduos normais e 3 - 5% das células de pulmão enzimaticamente disperso (FLINT e cols., 1985). Estão presentes no trato respiratório humano e são encontrados em grande número nas paredes dos

alvéolos e vias respiratórias. A maioria dessas células, nas vias respiratórias, são encontradas entre o epitélio brônquico e a membrana basal, mas números significativos também são encontrados entre as células epiteliais e as adjacências da superfície do lúmen. As células da superfície entrariam em contato imediato com alérgenos inalados e iniciariam a resposta asmática imediata (LITCHFIELD e LEE, 1992).

A proporção de mastócitos está notavelmente aumentada no fluido de BAL de asmáticos, em comparação com o controle (PEARCE e cols., 1987). O conteúdo de histamina da lavagem cresce em paralelo com o número de células mastocíticas (FLINT e cols., 1985). Há uma correlação inversa significativamente alta entre a porcentagem de mastócitos na lavagem e a severidade da doença, indicada por Medidas do Volume Expiratório Forçado (FEV₁) e hiperresponsividade inespecífica (PC₂₀ histamine). Mastócitos de asmáticos parecem ser intrinsecamente instáveis e exibir uma liberação espontânea bem maior de histamina (LITCHFIELD e LEE, 1992). Essas células são hiperresponsivas ao estímulo com Anti-IgE e produzem uma liberação aumentada de histamina em todas as diluições efetivas de Anti-IgE em comparação a células controles não-asmáticas (FLINT e cols., 1985).

Células mastócitas parenquimais não respondem a um número de peptídeos bioativos incluindo substância P, bradicinina e fragmentos de complemento, sugerindo que o principal método de ativação dessa célula se dá por mecanismos IgE-dependentes (PEARCE e cols., 1989; LAWRENCE e cols., 1989 e LAWRENCE e cols., 1987). O incremento nas células da BAL e sua reatividade aumentada em asmáticos são abolidas por tratamento com corticóide. A liberação de histamina de ambas as populações celulares foi semelhantemente inibida pela teofilina e pelo albuterol (LITCHFIELD e LEE, 1992).

O cromoglicato de sódio é significativamente menos ativo na inibição da liberação de histamina que o nedocromil de sódio, e ambas são mais eficazes contra células da BAL que contra células mastocíticas parenquimais (PEARCE e cols., 1987).

Evidência adicional da participação do mastócito decorre de estudos histológicos de pacientes que morreram em estado asmático, nos quais observou-se uma marcada degranulação de mastócitos. Finalmente, a estimulação alérgica de asmáticos relaciona-se com a liberação de mediadores associados a mastócitos para dentro da circulação, como histamina e fator quimiotático neutrofílico (LEE e cols.,

1982). Assim, o mastócito se encontra claramente ativado no curso da resposta asmática.

Trabalho recente tem indicado que mastócitos secretam citocinas. Estimulação Ig-E dependente de linhas de mastócitos murínicos inicia a produção de GM-CSF, IL-3, IL-4 e IL-6 (PANT e cols., 1989 e WODAR-FILIPOWICZ e cols., 1989). Há também evidência para se sugerir que mastócitos podem produzir uma molécula TNF- α -símile. Isso liga claramente a resposta de hipersensibilidade mediada por mastócitos e a inflamação crônica de reações alérgicas (LITCHFIELD e LEE, 1992).

As citocinas hematopoiéticas IL-3 e IL-4 estão envolvidas na diferenciação de mastócitos a partir de precursores da medula óssea (HAMAGUCHI e cols., 1987) e a IL-4 tem sido implicada no aumento localizado dos mastócitos da mucosa. (LITCHFIELD e LEE, 1992) Além de produzir citocinas, os mastócitos são ativados pela IL-1, IL-3 e GM-CSF (KITAMURA, 1989).

Usando-se BAL para estudar os mecanismos da asma, verificou-se que fluidos de lavagem obtidos 6 a 7 horas após estímulo brônquico com um alérgeno mostram números aumentadas de eosinófilos (DE MONCHY e cols., 1985). Fluidos de BAL também demonstram uma elevada razão ECP/albumina (Proteína Catiônica Eosinofílica), sugerindo a degranulação de eosinófilos durante o pique da reação inflamatória de fase tardia na asma (LITCHFIELD e LEE, 1992).

Demonstrou-se que algumas citocina (GM-CSF, IL-3 e IL-5) promovem a diferenciação e maturação de eosinófilos a partir de seus precursores na medula óssea, preparam eosinófilos para uma maior produção de mediadores, conferem hipodensidade e aumentam sua sobrevivência em cultura (SILBERSTEIN e DAVID, 1987 e ROTHENBERG e cols., 1987). Esses mecanismos podem ser importantes na perpetuação da inflamação eosinofílica nas vias aéreas de asmáticos. É interessante o fato de haver uma aparente redundância no sistema, em que mais de uma citocina está envolvida na eosinofiloiose. Fatores diversos operam em diferentes microambientes; diferentes fatores estão envolvidos na produção durante estado de equilíbrio e em condições caracterizadas por eosinofilia seletiva; e resposta máxima necessita de sinergismo entre as diferentes citocinas.

DENBURG e colaboradores demonstraram a presença de progenitores circulantes para células metacromáticas e eosinófilos em asma alérgica (DENBURG e cols., 1989 e GIBSON e cols., 1990). Há uma correlação positiva entre os números de progenitores na população asmática e o grau de basofilia sangüínea e eosinofilia

bem como a hiperresponsividade das vias aéreas. Durante estímulo alergênico em pacientes com asma alérgica, o número de progenitores circulantes aumentou em algumas horas de estímulo e permaneceu elevado durante a fase tardia da reação asmática. Não houve aumento na população celular de progenitores, em pacientes com apenas uma resposta imediata isolada ao estímulo antigênico. Corticóide inalado quando administrado a asmáticos alérgicos em doses insuficientes para causar efeitos sistêmicos, causou uma redução dramática dos progenitores circulantes em 2 semanas, sendo acompanhada por melhora nas variáveis clínicas. Esses estudos provaram evidências para mudanças nos níveis circulantes de progenitores de células metacromáticas e eosinófilos durante a história natural da asma brônquica (LITCHFIELD e LEE, 1992.).

Proveu um mecanismo pelo qual há um recrutamento contínuo e maturação de células efectoras para a mucosa das vias aéreas durante a doença. (LITCHFIELD e LEE, 1992) Estudos sobre os efeitos *in vivo* da administração de IL-3 e GM-CSF em primatas (DONAHUE e cols., 1988 e MAYER e cols., 1989) sugerem que progenitores de basófilos/mastócios e eosinófilos podem ser estimulados por derivados de células-T como IL-3 da medula óssea, e circularem em números aumentados no sangue periférico (LITCHFIELD e LEE, 1992).

Existe evidência circunstancial que implica o envolvimento de monócitos e macrófagos nos mecanismos da asma (LITCHFIELD e LEE, 1992). Há uma maior expressão dos receptores de IgE de baixa afinidade e de receptores de complemento em monócitos sanguíneos periféricos de asmáticos (MELEWICZ e cols., 1981 e KAY e cols., 1981). Há uma expressão aumentada de receptores de complemento em monócitos de pacientes asmáticos após broncoestimulação por alérgeno (CARROL e cols., 1985). Macrófagos obtidos de lavagem broncoalveolar (BAL) de pacientes asmáticos demonstram um aumento na produção de mediadores eicosanóides e ânion superóxido (CLUZEL e cols., 1987). Macrófagos contêm $FC_{\epsilon}R_2$ nas suas superfícies e podem ser estimulados por alérgenos para liberar mediadores (JOSEPH e cols., 1983 e RANKIN e cols., 1982). Esse mecanismo pode ser de importância em vista da presença de macrófagos no epitélio e no lúmen das vias aéreas, aonde serão expostos a estímulos ambientais (LITCHFIELD e LEE, 1992).

Análise do fluido da BAL de pacientes asmáticos após estímulo alergênico revelou um maior recrutamento de monócitos (METZGER e cols., 1987) e uma quantidade aumentada de β -glucuronidase (JOSEPH e cols., 1983), ao passo que o

nível intracelular no macrófago estava reduzido, sugerindo que macrófagos são ativados por alérgeno *in vivo*. Foram obtidas biópsias brônquicas de 16 indivíduos asmáticos e 6 indivíduos normais usando as técnicas específicas de imuniquímica, demonstrou-se que o número de células e de macrófagos infiltrando a mucosa das vias aéreas de pacientes asmáticos estavam aumentadas.

Linfócitos são proeminentes dentre as células infiltradas nas vias aéreas em estudos de autópsias de mortes por asma (DUNNILL, 1978). Um estudo recente de asma severa aguda (CARRIGAN e cols., 1988) usou citometria de fluxo para medir a expressão dos marcadores ativadores de superfície de linfócito-T em pacientes com asma severa aguda e em um grupo de indivíduos controle. Os 3 marcadores estudados foram HLA-DR, receptor para IL-2, e VLA-antígeno de ativação tardia (LITCHFIELD e LEE, 1992). Demonstrou-se que linfócitos-T expressando esses marcadores poderiam ser identificados no sangue periférico de pacientes com asma severa aguda, e que percentagens de células ativadas reduziriam após terapia e melhora clínica. Alguns estudos demonstraram um aumento no número relativo de linfócitos no fluido de BAL obtido de pacientes com asma estável (GRAHAM e cols., 1985).

Linfócitos podem afetar o processo inflamatório através da liberação de linfocinas solúveis. Estas incluem GM-CSF, IL-3 e IL-5, todas com marcados efeitos sobre eosinófilos (SILBERSTEIN e DAVID, 1987). Demonstrou-se que a interleucina-5 é seletivamente quimiotática para eosinófilos (YAMAGUCHI e cols., 1988). O fato de clones de linfócitos-T de indivíduos com síndrome hipereosinofílica elaborarem fatores de diferenciação, suporta a hipótese de que o número e função destas células podem ser reguladas por produtos de linfócitos-T. (RAGHAVACHAR e cols., 1987) Além dos extensivos efeitos sobre os eosinófilos, células-T podem apresentar um papel de importância na regulação da síntese de IgE. Deste modo, IL-4 e IFN- γ exibem efeitos de estímulo à biossíntese de IgE (LITCHFIELD e LEE, 1992).

O epitélio das vias aéreas provê uma barreira física entre os ambientes externo e interno. Há evidência cada vez maior de que o epitélio das vias aéreas não desempenha um simples papel passivo, mas pode estar ativamente envolvido no recrutamento e na manutenção da inflamação crônica (LITCHFIELD e LEE, 1992). Portanto as células epiteliais liberam uma substância quimioatraente para linfócitos, provavelmente IL-8 (ROBBINS e cols., 1987 e MATTOLI e cols., 1990). Demonstrou-se que células epiteliais brônquicas também liberam metabólitos do ácido araquidônico

e outros fatores que poderão induzir a diferenciação celular de monócitos/macrófagos (MATTOLI e cols., 1989 e OHTOSHI e cols., 1989). São secretados fatores que levam à diferenciação de células HL-GO a monócitos e neutrófilos e são capazes de prolongar a sobrevivência de eosinófilos (TSUDA e cols., 1990).

Fluido de BAL obtido de pacientes após inalação do estímulo antigênico demonstrou a presença de neutrófilos, em alguns estudos (METZGER e cols., 1987). Outros estudos demonstraram números semelhantes de neutrófilos em biópsias de vias aéreas de asmáticos e indivíduos normais, sugerindo que essas células não desempenham um papel central no mecanismo da inflamação asmática (LITCHFIELD e LEE, 1992). Isso confirma biópsias pós-morte, em que neutrófilos só estavam proeminentes em pacientes asmáticos que apresentaram infecção (DUNNILL, 1978). Contudo há evidência de função neutrofilica alterada na asma (LITCHFIELD e LEE, 1992). Há um aumento na atividade da 5-lipoxigenase e uma resposta diminuída à estimulação da histamina via receptor H_2 (BUSSE e SOSMAR, 1977). Além disto, atividades quimiotáticas com especificidade para neutrófilos foram identificadas na circulação de asmáticos seguindo a indução de asma por antígeno e por exercício (LEE e cols., 1982).

Evidências recentes indicaram uma deposição significativa de matriz colágena e não-colágena na lâmina própria, que é responsável pelo aumento da espessura da membrana basal vista em biópsias das vias aéreas sob microscopia ótica (ROCHE e cols., 1989). A contribuição dessa membrana basal espessa para os sintomas asmáticos, e para a hiperresponsividade não foi ainda estabelecida (LITCHFIELD e LEE, 1992).

Inflamação neurogênica devido à liberação de neuropeptídeos de nervos sensoriais foi demonstrada nas vias aéreas de diversas espécies em particular de roedores (LUNDBERG e cols., 1987), e podem contribuir com a resposta inflamatória nas vias aéreas de asmáticos (BARNES, 1992). As taquicinininas (substância P e neurocinina A) liberadas de nervos sensoriais das vias aéreas podem causar broncoconstrição, vasodilatação, exudação plasmática (WIDDICOMBE, 1990) e secreção de muco (WEBBER, 1990 e ROGERS e BARNES, 1989), enquanto que um outro neuropeptídeo, peptídeo geneticamente relacionado à calcitonina, pode contribuir com a hiperemia da inflamação (BARNES, 1992).

Dano epitelial das vias aéreas na asma expõe nervos sensoriais que podem se tornar sensibilizados por produtos inflamatórios (incluindo as prostaglandinas e

citocinas), neuropeptídeos são liberados via reflexo local inicial como a bradicinina, resultando em inflamação exagerada. Os efeitos das taquicininas podem ser amplificados pela perda da principal enzima de degradação, endopeptidase neutra, de células epiteliais. Ainda se aguarda evidência direta de inflamação neurogênica na asma. Diversas estratégias são possíveis para reduzir a inflamação neurogênica, em particular a inibição da liberação de neuropeptídeos de nervos sensoriais pela estimulação de receptores pré-funcionais como receptores- μ -opióides (BARNES, 1992). Ou seja, enquanto diversos mediadores inflamatórios e neurotransmissores podem influenciar a neurotransmissão em nervos das vias aéreas via receptores pré-funcionais (BARNES, 1986 e MACLAGAN, 1987), é possível que neurotransmissores liberados desses nervos possam influenciar a resposta inflamatória, amplificando ou suprimindo o grau da inflamação (BARNES, 1992). A asma é uma doença inflamatória crônica das vias aéreas (BARNES, 1989) e isso leva a se questionar a possibilidade de mecanismos neurogênicos contribuírem com essa resposta inflamatória (BARNES, 1986).

Demonstrou-se a existência de mecanismos não-adrenérgicos/não-colinérgicos excitatórios e inibitórios nas vias aéreas de animais e seres humanos (BARNES, 1986 e RICHARDSON, 1979). Imunoreatividade SP-símile é detectável em brônquio humano, mas em concentrações menores que em roedores (BARNES, 1992). Nervos SP-imunoreativos foram demonstrados nas vias aéreas de humanos, em alguns estudos (LUNDBERG e cols., 1984 e POLAK e BLOOM, 1986), mas não em outros (LAITINEN e cols., 1983). Evidências preliminares sugerem que deve haver um aumento nos nervos SP-imunoreativos nas vias aéreas, particularmente na área da submucosa (OLLERENSHAM e cols., 1989). É possível que o processo crônico inflamatório libere fatores neurotróficos (como fator de crescimento nervoso) que resultem na proliferação de nervos sensoriais (BARNES, 1992). De fato, fatores de crescimento dos nervos parecem estimular a transcrição genética do RNA-m para pré-pró-taquicininas em nervos sensoriais de cultura (LINDSAY e HARMAR, 1990), indicando que tais fatores tróficos podem aumentar a síntese de taquicininas (BARNES, 1992).

As taquicininas produzem seus efeitos pela ativação de receptores específicos de superfície, que foram localizados por auto-radiografia da musculatura lisa de toda via aérea, da traquéia a pequenos bronquíolos, e podem então regular o calibre das vias aéreas periféricas e central (CARSTAIRS e BARNES, 1986). Estão sujeitas à degradação por 2 enzimas principais: enzima de conversão da angiotensina (ACE,

EC, 15, 1), e metaloendopeptidase neutra (NEP, EC 24, 11, encefalinase) (SKIDGEL e cols., 1984). ACE localiza-se predominantemente nas células endoteliais e portanto cliva peptídeos intravasculares. NEP é a principal enzima metabolizadora de taquicininas nos tecidos (BARNES, 1992).

As taquicininas causam contração da musculatura lisa das vias aéreas, como a maioria dos espasmógenos, pela estimulação da hidrólise do fosfoinositol, com a formação de inositol-1, 4, 5-trifosfato, que libera íons cálcio de estoques intracelulares (GRANDORDY e cols., 1988).

Estudos recentes sugerem que o epitélio das vias aéreas modulam o efeito broncoconstrictor de muitos espasmógenos, possivelmente pela liberação de um fator relaxante semelhante (mas não o mesmo que) ao fator relaxante derivado do endotélio (CUSS e BARNES, 1987 e VANHOUTTE, 1988). Isso é relevante na asma, já que o epitélio das vias aéreas se encontra descamado ou danificado até mesmo em asma leve (LAITINEN e cols., 1985 e BEASLEY e cols., 1989).

A remoção do epitélio potencia marcadamente os efeitos broncoconstrictores das taquicininas (GRANDORDY e cols., 1988 e ISCHIRHART e LANDRY, 1986). Portanto, se o epitélio estiver descamado na asma, as taquicininas liberadas de nervos sensoriais nas vias aéreas parecem ter efeitos bem mais pronunciados, não apenas na musculatura lisa das vias aéreas, mas provavelmente com ainda maior importância na circulação sangüínea, extravasamento microvascular e secreção de muco (BARNES, 1992).

Endopeptidase neutra (NEP) no epitélio das vias aéreas degradaria normalmente qualquer substância P (SP) ou neurocinina A (NKA) liberada por nervos sensoriais. Na asma o epitélio pode estar descamado, ou a NEP pode ter sido inativada por injúria oxidativa, o que permite SP endógena e NKA a apresentarem efeitos nos vasos das vias aéreas e musculatura lisa (BARNES, 1992).

A substância P estimula secreção de muco de glândulas mucosas em animais e vias aéreas de humanos *in vitro* (COLES e cols., 1984 e GASHI e cols., 1986).

Evidências sugerem que a SP pode ter um papel de importância na secreção de muco em asma severa, já que os componentes do muco estão presentes nos tampões que ocluem as vias aéreas periféricas (BARNES, 1992). Taquicininas também estimulam o transporte de íons através do epitélio das vias aéreas, sendo a SP mais potente que a NKA (RANGACHARI e MCWADE, 1985). Estimulação dos recep-

tores NK-1 nas células epiteliais das vias aéreas pode liberar prostaglandinas broncodilatadoras (BEASLEY e cols., 1989 e DEVILLIER e cols., 1989) e possivelmente um fator relaxante derivado do epitélio (FROISARD e cols., 1989).

A estimulação do nervo vago em cobaias causa extravasamento microvascular, que é prevenido pela depleção das taquicininas com o capsaicin, ou por um antagonista peptídico de taquicininas, isso indica que se deve à liberação das taquicininas de nervos sensoriais nas vias aéreas (LUNDBERG e cols., 1983). Dentre as taquicininas, a SP é mais potente que a NKA e NKB no que diz respeito à indução da exudação plasmática (ROGERS e cols., 1988).

As taquicininas também possuem efeitos potentes sobre a circulação sanguínea nas vias aéreas (BARNES, 1992). Aliás, o efeito das taquicininas sobre a circulação sanguínea, deve ser o seu papel fisiológico e patofisiológico de maior importância em mamíferos superiores (BARNES, 1992). Neuropeptídeos sensoriais também regulam circulação sanguínea brônquica, apesar da CGRP bem como as taquicininas parecem estar envolvidas (MATRAM e cols., 1989).

Se as taquicininas são quimiotáticas para células inflamatórias, ainda não se sabe (BARNES, 1992). Há evidências de que devem atrair neutrófilos para o interior dos tecidos (MCDONALD, 1988). Substância P degranula eosinófilos, mas apenas em altas concentrações e dependente de seqüência N-terminal. (KROEGEL e cols., 1989)

Peptídeo geneticamente relacionado à calcitonina (CGRP) é estocado e liberado juntamente com a SP (LUNDBERG e cols., 1985 e MARTLING e cols., 1988). O CGRP não possui efeitos consistentes nas vias aéreas de cobaias (MARTLING e cols., 1988), mas contrai via aérea humana *in vitro*; (PALMER e cols., 1987) provavelmente um efeito mais importante seria na regulação da circulação sanguínea das vias aéreas, já que o CGRP produz vasodilatação intensa e duradoura *in vitro* (FULER e cols., 1987 e BRAIN e cols., 1985). É também um potente vasodilatador de vasos brônquicos tanto *in vitro*, como *in vivo* (SALONEN e cols., 1988 e MCCORNACK e cols., 1989), e pode mediar a vasodilatação devido à estimulação nervosa brônquica (MATRAM e cols., 1989). Os receptores-CGRP localizam-se predominantemente na camada da musculatura lisa dos vasos brônquicos nas vias aéreas de animais e seres humanos (MAK e BARNES, 1988), sugestivo de que pode ser um importante regulador da circulação sanguínea brônquica, provavelmente contribuindo com a aparência hiperêmica das vias aéreas de asmáticos. (BARNES, 1992)

Não causa extravazamento microvascular nas vias aéreas, (ROGERS e cols., 1988) mas teoricamente pode aumentar o extravazamento produzido por outros agentes. (BARNES, 1992), e potencia o extravazamento produzido pela SP na pele (GAMSE e SARIA, 1985) mas não ocorre nas vias aéreas, talvez porque a circulação sanguínea seja maior que na pele (ROGERS e cols., 1988). Já o seu efeito na secreção de muco nas vias aéreas não é certa, é um estimulante relativamente fraco para descartar células globulares em vias aéreas de cobaias. (BARNES e cols., 1990) O próprio CGRP não é quimiotático para eosinófilos, mas seus fragmentos proteolíticos são, (HAYNES e MARLEY, 1988) isso sugere que o CGRP liberado em um sítio inflamatório ativo pode atrair eosinófilos (BARNES, 1992).

Descamação epitelial não é pré-requisito para a ativação dos nervos sensoriais. Bradicinina, um peptídeo inflamatório formado por clivagem enzimática a partir de um precursor plasmático, parece ser formado nas vias aéreas de asmáticos pela ação de enzimas (cininogenases) liberadas de células inflamatórias em cininogênio de alto peso molecular um exudato plasmático (BARNES, 1992). A bradicinina estimula seletivamente terminações nervosas da fibra-C em via aérea de cães (KAUFMAN e cols., 1980) e libera neuropeptídeos sensoriais de pulmões perfundidos de cobaias (SARIA e cols., 1988). Bradicinina gotejada diretamente nas vias aéreas de cobaias, causa broncoconstricção, que é largamente mediada via nervos sensoriais, mas não via peptídios (ICHINOSE e BARNES, 1990). É também um potente bronconstritor em pacientes asmáticos (FULLER e cols., 1987), e ainda pode apresentar pequenos efeitos constrictores diretos em brônquio humano *in vitro* (BARNES, 1992). A bradicinina pode, conseqüentemente, ativar nervos sensoriais hiperalgésicos, resultando na liberação de neuropeptídeos sensoriais como a SP, NKA e CGRP de ramos colaterais de nervos sensoriais, via reflexo axônico (BARNES, 1992). Isso pode resultar em broncoconstricção (NKA), reflexos colinérgicos exagerados (NKA), hipersecreção de muco (SP), hiperemia (CGRP) e extravazamento microvascular (SP) levando a um maior edema da parede das vias aéreas e extravazamento de plasma para o interior do lúmen (BARNES, 1992). Além disso, a descamação epitelial levaria a uma perda de NEP, ao ponto de taquicininas liberadas terem um maior efeito (FROSSARD e cols., 1989). Nervos-SP-imunoreativos podem proliferar nas vias aéreas de asmáticos, particularmente na submucosa (OLLERESHAM e cols., 1989). Reflexos axônicos então amplificariam a resposta inflamatória e disseminariam as mudanças inflamatórias na mucosa das vias aéreas de áreas de dano epitelial (BARNES, 1992).

Eosinófilos são sensíveis ao PAF-aceter *in vitro* (BRUIJNZEEL e cols., 1987; WARDLAW e cols., 1986 e CAPRON e cols., 1987). LELLOUCH-TUBIANA *et al* (LELLOUCH-TUBIANA e cols., 1985, 1988) demonstraram que a administração intravenosa de PAF-aceter ou de antígeno em cobaias sintetizados passivamente é seguido, em minutos, por marginação de eosinófilos, diapedes e em 1 hora pela invasão da submucosa brônquica. Eosinófilos são também identificados em cobaias (COYLE e cols., 1988) ou coelhos (COYLE e cols., 1987), no BAL após estímulo com PAF-aceter ou antígeno (PRETOLANI e cols., 1989). São largamente ativados e grânulos livres, onde sabe-se que contém proteínas tóxicas para o epitélio (FRIGAS e GLEICH, 1986), são encontrados no parênquima e particularmente nas proximidades do epitélio respiratório abrasionado (PRETOLANI e cols., 1989). Invasão e ativação de eosinófilos, bem como lesões epiteliais, são suprimidas por depleção de plaquetas, pela administração de prostaciclina e pelos antagonistas do PAF-aceter BN 52021 e WEB 2086, sugerindo a participação das plaquetas e PAF-aceter nesse evento (LELLOUCH-TUBIANA e cols., 1985). Evidências sugerem que a responsividade dos eosinófilos é qualitativamente diferente quando originam-se de pacientes atópicos e que o PAF-aceter e fMLP não somente ativam as células envolvidas nas reações alérgicas, mas também aumentam a resposta inflamatória (PRETOLANI e cols., 1989).

A invasão pulmonar por células inflamatórias pode explicar a hiperresponsividade broncopulmonar observada em pulmões perfundidos isolados obtidos de cobaias ativamente sensibilizados sob estimulação com vários mediadores pró-inflamatórios (PRETOLANI e cols., 1989). De fato, a reatividade pulmonar desses cobaios ao PAF-aceter, leucotrieno (LT) D₄, histamina e ácido araquidônico está aumentada, em comparação com os pulmões de animais não-sensibilizados ou passivamente sensibilizados (PRETOLANI e cols., 1988). A sensibilização ativa modifica qualitativamente o comportamento pulmonar, além disso, parece que a habilidade dos antagonistas do PAF-aceter de interferir com o choque anafilático poderá depender no atual estado de hiperresponsividade do pulmão individual (PRETOLANI e cols., 1989).

Os macrófagos alveolares podem ser estimulados pelo PAF-aceter, (MARIDONNEAU-PARINI e cols., 1985) que reduz o aumento do conteúdo de AMP cíclico suscitado pela PGE₂, salbutamol e isoproterenol (BACHELET e cols., 1988). Além disso, o conteúdo de AMP cíclico em macrófagos alveolares de cobaios sensibilizados ativamente está marcadamente menos aumentado pela PGE₂ e salbuta-

mol, em comparação com pulmões de cobaio não sensibilizado (BACHELET *et al*, não publicado).

O PAF-aceter pode desempenhar um papel na hipersensibilidade, por no mínimo 3 mecanismos: (1) pela indução de broncoconstricção aguda, quando liberado de macrófagos alveolares; (2) pelo recrutamento de células inflamatórias, particularmente eosinófilos; (3) pela indução de hiperresponsividade (PRETOLANI e cols., 1989). Aspirina e antagonistas de PAF-aceter efetivos em preparo com animais, perdem sua habilidade de inibir broncoconstricção induzida pelo PAF-aceter e liberação de mediadores (PRETOLANI e cols., 1988), isso sugere que sensibilização modifica o padrão dos mediadores inflamatórios liberados pelo PAF-aceter, possivelmente favorecendo a via lipoxigenase (PRETOLANI e cols., 1989).

EFEITOS DOS BRONCO DILATADORES E DE OUTROS AGENTES FARMACODINÂMICOS

No passado a atenção foi direcionada para os mecanismos broncoconstrictores e possíveis anormalidades na musculatura lisa das vias aéreas na asma, com conseqüente ênfase na terapia broncodilatadora (BARNES, 1989). Hoje reconhece-se que a asma crônica envolve uma resposta inflamatória característica das vias aéreas (BARNES, 1987 e BARNES, 1989). Essa nova visão tem importantes implicações terapêuticas e provê uma nova introspecção na ação da terapia anti-asmática. Sendo a asma muito mais que uma broncoconstricção, o tratamento deverá ser direcionado a uma redução do processo inflamatório, bem como à promoção da broncodilatação. Estudos recentes têm demonstrado que broncodilatadores podem não influenciar os eventos inflamatórios nas vias aéreas, mas sim mascarar a inflamação subjacente por meio de um alívio dos sintomas, permitindo uma maior exposição a alérgenos, irritantes e outros estimulantes ambientais (BARNES, 1989).

O corrente armamento farmacológico das drogas anti-asma inclui alguns agentes efetivos. Há novas drogas em desenvolvimento na atual década com promessas de amplificar as opções terapêuticas. As drogas em uso atual são classificadas em broncodilatadoras e antiinflamatórias (BARNES, 1989).

Broncodilatadores inalados estão dentre as mediações anti-asma mais comumente usadas, por serem bem tolerados pela maioria e oferecerem rápido alívio dos sintomas da doença (GIANARIS e GOLISH, 1993). Dentre as suas maiores limitações estão seu limitado tempo de ação e a dificuldade de administração (GIANARIS

e GOLISH, 1993). São drogas prescritas diante da necessidade de um alívio dos sintomas asmáticos (GIANARIS e GOLISH, 1993). Acredita-se que essas drogas agem primeiramente pela reversão da contração da musculatura lisa das vias aéreas, apesar de poderem apresentar propriedades adicionais capazes de beneficiar o tratamento da asma (BARNES, 1989). Os agonistas β -adrenérgicos são os broncodiladores mais efetivos utilizados na atualidade (BARNES, 1989). Não há indicação para a administração de β -agonistas não seletivos como o isoproterenol, que estão associados com uma alta incidência de efeitos colaterais cardiovasculares (até mesmo quando inalados) devido à estimulação de receptores β_1 -adrenérgicos (BARNES, 1989). Estudos indicam somente a presença de receptores β_2 -adrenérgicos na musculatura lisa das vias aéreas de seres humanos (CARSTAIRS e cols., 1985 e ZAAGSMA e cols., 1983). Os receptores β -adrenérgicos presentes nos mastócitos também são do subtipo β_2 (BUTCHERS e cols., 1980). Os mecanismos moleculares de ação dos agonistas β -adrenérgicos são agora bem compreendidos (STILES e cols., 1984). A ativação de receptores β_2 -adrenérgicos na musculatura lisa das vias aéreas leva à ativação da adenilato ciclase e a um aumento na concentração intracelular de AMP cíclico. Isso ativa a proteína quinase A, que inibe a fosforilação da miosina e diminui a concentração intracelular de cálcio iônico, resultando em relaxamento. Agonistas β -adrenérgicos, então, relaxam a musculatura lisa das vias aéreas, da traquéia até os bronquíolos terminais. Agem como antagonistas funcionais e relaxam as vias aéreas independente do agente espasmogênico envolvido, protegendo contra todos os estímulos broncoconstrictores (BARNES, 1989). Também inibem a liberação de mediadores de mastócitos nas vias aéreas (CHURCH e HIROI, 1987; BUTCHERS e cols., 1980 e HOWARTH e cols., 1985) e a liberação de acetilcolina de nervos colinérgicos pós-ganglionares nas vias aéreas (RHODEN e cols., 1988). Agonistas β -adrenérgicos não inibem a resposta tardia a alérgenos ou a hiperresponsividade brônquica subsequente (COCKCROFT e MURDOCK, 1987). Administração dessas drogas por longos períodos não reduz a hiperresponsividade brônquica (KRAAN e cols., 1985 e KERREBLJR e cols., 1987), e pode até mesmo causar uma pequena repercussão de aumento na hiperresponsividade brônquica após descontinuidade da terapia (VATHENEN e cols., 1988). Esse efeito pode se dever ao fato de que agonistas β -adrenérgicos não apresentam ação inibitória em macrófagos pulmonares (FULLER e cols., 1988) ou eosinófilos (YUKAWARA e cols., 1988), células inflamatórias que têm sido implicadas tanto na resposta tardia como na hiperresponsividade brônquica (CHUNG, 1986 e O'BYRNE e cols., 1987).

Agonistas seletivos β_2 -adrenérgicos (albuterol, terbutalina, fenoterol e bitolferol) apresentam um rápido início de ação (em minutos), e são efetivos por 3 a 6 horas quando a asma não é severa (NELSON, 1986). Agonistas β -adrenérgicos com maior tempo de ação inaláveis, com o formoterol e o salmeterol, estão sob ensaios clínicos (OATES e WOOD, 1989 e GIANARIS e GOLISH, 1993). Salmeterol pode ser efetivo por mais de 12 horas e pode se mostrar útil no tratamento de sintomas noturnos (ULLMAN e SVEDMYR, 1988). Um estudo demonstrou que o salmeterol retém 50% do efeito broncodilatador máximo por 12 horas, após administração (ULLMAN *et al.*, 1988). Apresenta meia-vida semelhante aos β_2 -agonistas disponíveis na atualidade (GIANARIS e GOLISH, 1993). Isso sugere que um estímulo mais persistente no receptor pode ser o mecanismo do seu prolongado tempo de ação. (GIANARIS e GOLISH, 1993) Salmeterol também parece apresentar propriedades antiinflamatórias (JOHNSON, 1991).

Agonistas β -adrenérgicos inalados são indicados por rápido alívio da broncoconstricção e são o tratamento de escolha em exacerbações agudas da asma (OATES e WOOD, 1989 e GIANARIS e GOLISH, 1993). São também úteis na prevenção da broncoconstricção precipitada por exercícios e outros estímulos. Agonistas β -adrenérgicos de administração oral são menos úteis devido à grande incidência de efeitos colaterais, mas formulações de liberação lenta podem ser úteis na prevenção de asma noturna (OATES e WOOD, 1989).

Efeitos colaterais são incomuns quando é feita administração regularmente por inalação. São mais comuns quando a administração é feita por meio de nebulizadores ou por via oral. Os mais comuns são tremor, taquicardia e palpitações (provavelmente, todos devido à estimulação de receptores- β_2), mas tendem a diminuir com o desenvolvimento da tolerância durante administração contínua (OATES e WOOD, 1989).

A teofilina é um broncodilatador menos efetivo que os agonistas β -adrenérgicos. Tem sido utilizada nos Estados Unidos, com frequência, como terapia de primeira escolha na asma brônquica. Há agora uma tendência, com o surgimento de β_2 -agonistas de longa duração, a se introduzir a teofilina mais tardar no plano terapêutico, como broncodilatador adicional (OATES e WOOD, 1989). Não é uma droga efetiva como inalante e deve ter administração oral (ou intravenosa como aminofilia em asma severa aguda) (OATES e WOOD, 1989). Seu mecanismo de ação é desconhecido, apesar de já ser usada por 50 anos (PERSSON, 1986 e BARNES,

1988). Possíveis mecanismos de ação são a inibição da liberação intracelular de cálcio e estimulação da liberação das catecolaminas. Inicialmente se pensou que causasse broncodilatação por meio da inibição da produção de fosfodiesterase, aumentando a concentração de AMP cíclico intracelular, apesar da concentração da droga necessária para inibir produção de fosfodiesterase exceder em muito o limite terapêutico (10 a 20 mg/litro) (OATES e WOOD, 1989). Propôs-se também um outro mecanismo de ação, que seria o antagonismo dos receptores de adenosina, que ocorre dentro do limiar terapêutico, mas uma droga intimamente relacionada, a em-profilina, que apresenta maior ação broncodilatadora, não é uma antagonista de adenosina (COCKCROFT e cols., 1989).

Ao contrário dos agonistas β -adrenérgicos, a teofilina inibe a resposta tardia a alérgenos (PANWELS e cols., 1985 e MAPP e cols., 1987), o que sugere a presença de uma ação antiinflamatória possivelmente envolvendo a inibição do edema submucoso que deve contribuir com a resposta tardia (OATES e WOOD, 1989). Entretanto, a teofilina não previne a hiperresponsividade brônquica que segue a exposição ao alérgeno (COCKCROFT e cols., 1989), e a sua longa administração não reduz hiperresponsividade brônquica em pacientes com asma (DUTOIT e cols., 1987). Além disso, a teofilina não inibe a liberação de mediadores dos eosinófilos (YUKAWA e cols., 1989).

Apesar de ser um broncodilatador menos efetivo que os agonistas β -adrenérgicos, a teofilina pode ter ação sinérgica (OATES e WOOD, 1989). Preparações de liberação lenta administradas à noite têm provado ser úteis na prevenção da asma noturna (BARNES e cols., 1982 e HEINS e cols., 1988), já que mantém concentração plasmática terapêutica durante a noite (OATES e WOOD, 1989).

O principal problema com a terapia com teofilina é a alta incidência de efeitos colaterais indesejados. Os mais comuns são náusea e cefaléia, mas problemas sérios como arritmia cardíaca e parada cardíaca podem ocorrer em alta concentração plasmática da droga (OATES e WOOD, 1989). É preocupante a evidência recente de anormalidades eletroencefalográficas e dificuldades no aprendizado em crianças asmáticas recebendo tratamento de longa duração (RACHELEFSKY e cols., 1986).

Enquanto agonistas β_2 têm permanecido um suporte da terapia, há um conjunto de evidências cada vez maior sugerindo que o uso regular dessas drogas pode aumentar a hiperreatividade brônquica (SEARS *et al*, 1990); (GIANARIS e GOLISH, 1993) e pode até estar associado com o aumento da mortalidade (SPITZER *et al*,

1992); (GIANARIS e GOLISH, 1993). O tratamento do componente inflamatório da asma está cada vez mais sendo visto como terapia de primeira linha (NATIONAL HEART, LUNG AND BLOOD INSTITUTE, 1992); (GIANARIS e GOLISH, 1993). Desta maneira corticóides inalados estão desempenhando um grande papel no manejo da asma (GIANARIS e GOLISH, 1993). Os corticóides inalados são extremamente valorizados pela eficácia e baixo perfil de efeito colateral (GIANARIS e GOLISH, 1993). Essas drogas não possuem efeito broncodilatador rápido e não geram alívio imediato dos sintomas, portanto devem ser administradas como terapia de longa duração (terapia profilática) (OATES e WOOD, 1989).

Apesar de seu mecanismo de ação ser ainda incerto, esteróides provavelmente agem em vários componentes da resposta inflamatória na asma (MORRIS, 1985). Ao contrário dos agonistas β -adrenérgicos, os esteróides não inibem a liberação de mediadores de mastócitos no pulmão humano (SCHLEINER e cols., 1983), apesar de inibirem a liberação de mediadores de macrófagos (FULLER e cols., 1984) e eosinófilos (OATES e WOOD, 1989). Provavelmente essas variações explicam porque esteróides, pelo menos em dose única, não bloqueiam a resposta imediata a alérgenos, mas bloqueiam a resposta tardia e a subsequente hiperresponsividade brônquica (COCKCROFT e MURDOCK, 1987), bem como reduz a hiperresponsividade brônquica quando administrado em bases prolongadas (KRAAR e cols., 1985; KERREBLJN e cols., 1987 e DUTOIT e cols., 1987). Essa redução é gradual e pode levar cerca de 3 meses (WOOLCOCK e cols., 1988). Esteróides inalados são mais eficazes que esteróides orais na redução da hiperresponsividade brônquica, sugerindo a ação nas células próximas ao lúmen das vias aéreas (JENKINS e WOOLCOCK, 1988). Administração em bases prolongadas também reduzem a resposta imediata a alérgenos e previnem asma induzida por exercícios (DAHL e JOHANSON, 1982 e HENRIKSEN, 1985). Esses efeitos benéficos provavelmente devem-se a uma redução no número de mastócitos nas vias aéreas (GOMEZ e cols., 1988). Esteróides também reduzem a produção de citocinas, um efeito de provável relevância na asma (OATES e WOOD, 1989). Reduzem também o extravazamento microvascular causado por mediadores inflamatórios nas vias aéreas de algumas espécies animais (ÉRJEFÄLT e PERSSON, 1986 e BOSCHETTO e cols., 1989), possivelmente por ação direta nas células endoteliais (OATES e WOOD, 1989). Inibem o influxo de células inflamatórias para o pulmão após exposição a alérgeno (BOSCHETTO e cols., 1987) e reduzem eosinofilia no sangue periférico. (BAIGELMAN e cols., 1983) Esteróides induzem síntese de proteína 37-Kd, lipocortina, que inibe a produção de fosfolipase A_2 (FLOWER, 1988)

e leva a uma queda na síntese de prostaglandinas, leucotrienos e PAF (OATES e WOOD, 1989). Não se sabe se esse efeito é relevante. Além destes efeitos, também previnem e reverterem a *down-regulation* dos receptores β -adrenérgicos (MANO e cols., 1979), provavelmente pelo aumento da transcrição da proteína do receptor β -adrenérgico (COLLINS e cols., 1988). Desta forma esteróides podem prevenir o desenvolvimento de tolerância durante terapia de bases prolongadas com uma única grande dose de agonista β -adrenérgico (OATES e WOOD, 1989).

Esteróides como o dipropionato de beclometasona, budesonide, acetonide de triancinolona e flunisolide são ativos topicamente e podem controlar a doença sem efeitos sistêmicos ou supressão adrenal (OATES e WOOD, 1989). Como o caso dos glicocorticóides orais, os inalados deverão ter a dose individual a cada caso, mas também variando de tempo em tempo com um mesmo paciente (REED, 1990). A dose varia basicamente com a severidade da doença, mas outros fatores menos preponderantes também influenciam (REED, 1990).

Glicocorticóides inalados não são eficazes no mau asmático (*status asmaticus*). Esses pacientes deverão ter um período de tratamento oral ou parenteral. Glicocorticóides inalados têm estabelecido grande segurança, apesar dos efeitos colaterais sistêmicos e locais poderem ocorrer. Assim como a eficácia, a frequência e severidade dos efeitos colaterais estão associados à dose (REED, 1990).

Corticóides de alta potência como o budesonide (disponível na Europa) oferecem esperança para o sucesso do tratamento do broncoespasmo, com menores efeitos colaterais que os produzidos por doses terapêuticas equivalentes de esteróides orais (TOOGOOD *et al*, 1989).

Efeitos colaterais de corticóides inalados são geralmente o resultado da deposição do aerosol na faringe, com disfonia e aftas. O principal efeito sistêmico é a redução do cortisol plasmático matinal. Enquanto corticóides inalados de alta potência podem causar supressão adrenal, há evidências que indicam que podem haver menos conseqüências osteoporóticas com essa terapia que com os esteróides orais (TOOGOOD, 1989). As doses necessárias para suprimir a inflamação irão variar com os fatores alérgenos, infecção viral, temperatura ambiente dentre outros fatores (OATES e WOOD, 1989).

Esteróides administrados por via oral como prednisona, prednisonolona e metilprednisonolona são ainda necessários no controle da asma de uma minoria de pacientes, mas seu uso está associado com efeitos colaterais quando as doses diári-

as excedem 10mg. Efeitos colaterais são incomuns durante uso de esteróides inalados em doses baixas (< 400 µg) e se tornam mais freqüentes em doses maiores (OATES e WOOD, 1989).

Esteróides orais produzem efeitos colaterais conhecidos: osteoporose, ganho de peso, hipertensão, diabetes, miopatia, distúrbios psiquiátricos, fragilidade cutânea e catarata. Portanto, a menor dose necessária deverá ser usada (OATES e WOOD, 1989).

Agentes não-esteróides que deprimem o componente inflamatório da asma, parecem desempenhar papel de importância na sua terapia. O agente mais largamente usado na atualidade é o cromoglicato de sódio. Tem provado ser um agente efetivo e seguro que reduz a liberação de mediadores das células inflamatórias e pode prevenir com sucesso o broncoespasmo em muitos indivíduos. O nedocromil, um agente estruturalmente não semelhante ao cromoglicato de sódio, demonstrou ser um agente eficaz no manejo da asma (GREIF *et al*, 1989). Antiinflamatórios não esteroidais podem também desempenhar papel de importância. Estudos europeus usando o nimesulide (ANDRÉ *et al*, 1992; BENTI *et al*, 1990) tem dado evidências de atividade anti-histamínica e anti-anafilática. O desenvolvimento de agentes antiinflamatórios não-esteroidais cada vez mais efetivos é promessa para terapia combinante futura desses agentes com esteróides inalados em baixas doses (OATES e WOOD, 1993).

O cromoglicato de sódio é menos eficaz que os esteróides no controle da asma (OATES e WOOD, 1989). Seu mecanismo de ação é desconhecido (OATES e WOOD, 1989). Primeiramente se achava que inibia a liberação de mediadores de mastócitos, devido à sua habilidade de inibir a resposta imediata a alérgenos e exercício (COCKCROFT e MURDOCK, 1987). Entretanto parece também agir em macrófagos e eosinófilos, pois previne a resposta tardia e a hiperresponsividade brônquica subsequente.

Há uma terceira categoria de drogas anti-asma surgindo, baseada na nova compreensão das ações dos mediadores inflamatórios. Essas drogas são elaboradas por intervir em pontos específicos da etapa inflamatória, ao invés da supressão global da resposta imune. Essas novas medicações incluem antagonistas de leucotrienos, antagonistas de PAF, antagonista da bradicinina e antagonistas de neurocininas dentre outros (GIANARIS e GOLISH, 1993).

Felizmente, a maioria dos pacientes com asma respondem favoravelmente à combinação de glicocorticóides e broncodilatadores (GIANARIS e GOLISH, 1993). Entretanto há um pequeno e preocupante grupo de pacientes cujas respostas clínicas são insatisfatórias (ALVAREZ e cols., 1992). Esse grupo de pessoas deverá se submeter a um molde de terapia alternativa. Certas medicações como a oleandomicina e o metotrexate, usadas para tratar outras enfermidades, agem na asma baseadas nas observações de redução das doses de esteróides ou melhora na função pulmonar (ALVAREZ e cols., 1992). Outras como o ouro, foram avaliadas na asma, baseadas em suas ações antiinflamatórias identificadas no tratamento da artrite reumatóide (VAN ARSDEL, 1981). Gama-globulina intravenosa em altas doses foi também avaliada baseado em uma possível ação imunomodulatória (ALVAREZ e cols., 1992).

Índices de morte por asma aumentaram também em outros países (além de nos EUA) e têm sido bem maiores nestes que nos Estados Unidos (SLY, 1989). As razões para os recentes aumentos na mortalidade da asma são desconhecidas. Baseado em dados de crianças, um modesto aumento na prevalência da asma pode ter contribuído para o aumento da mortalidade (GERGEN e cols., 1988). O envelhecimento da população tem sido responsável em parte por aumentos na mortalidade por asma em indivíduos com mais de 55 anos de idade, mas a mortalidade relativa à idade também aumentou (SLY, 1989).

Nos EUA fatores que devem ter contribuído para maiores índices de mortalidade pela asma entre negros incluem maior prevalência, maiores índices de desemprego, impostos mais baixos, seguro para cuidados médicos de emergência que excluem cuidados preventivos, falta de acessibilidade ou uso de serviços médicos (SLY, 1989; GERGEN e cols., 1988; STRUNCK e cols., 1985 e REA e cols., 1986). Apesar de recentes aumentos na mortalidade pela asma não serem explicados, é possível identificar indivíduos de maior risco para a morte por meio de sua história clínica, insuficiência respiratória e disfunção psicossocial (STRUNCK e cols., 1985; REA e cols., 1986 e NEWCOMB e AKHTER, 1988). O pobre cuidado médico é um dos fatores que aumentam o risco de controle inadequado da asma, aumentando a necessidade de admissão hospitalar e a possibilidade de asma fatal (REA e cols., 1986). Educação médica e pública devem enfatizar a importância do diagnóstico precoce e implementação do manejo apropriado para minimizar morbidade e mortalidade pela asma (HILLS e cols., 1984 e SPEIGHT e cols., 1983). Pacientes de risco de morte devem ser identificados e informados do seu risco (STRUNCK, 1987). Es-

tes necessitam de cuidados especiais com monitoramento e freqüentes visitas ao seu médico para avaliação. Disfunções psicossociais requerem psicoterapia, consulta psiquiátrica ou assistência com problemas financeiros. A maioria das mortes por asma são evitáveis. Deve ser possível reduzir esse índice por meio de uma melhor educação dos profissionais de saúde, do paciente e do público (SLY, 1989).

HISTAMINA E SEUS RECEPTORES

A β -aminoetilimidazole ou histamina foi sintetizada como uma curiosidade química antes de seu significado biológico ser reconhecido. Foi detectada como um estimulante uterino em extratos do ergot, de onde foi subseqüentemente isolada. Provou ser contaminante do ergot resultante de ação bacteriana. Quando DALE e LAIDLAW (1910, 1911) submeteram a histamina a intensivos estudos farmacológicos descobriram que estimulava vários músculos lisos e possuía intensa ação vaso-depressora (DALE e cols., 1910). Em 1927 BEST, DALE, DUDLEY e THORPE isolaram histamina de amostras frescas de fígado e pulmão, estabelecendo que essa amina é um constituinte natural do corpo. A demonstração da sua presença em uma variedade de outros tecidos levou à sua conseqüente denominação após a palavra grega para tecidos, *histos*.

Hoje é evidente que a histamina endógena desempenha papel na resposta alérgica imediata e é um importante regulador da secreção de ácido gástrico. Seu papel como neurotransmissor no SNC também está sendo definido. É clara a existência de, no mínimo, três classes distintas de receptores para a histamina, designadas H₁, H₂ e H₃ (ASH e SCHILD, 1966; BLACK *et al*, 1972 e ARRANG *et al*, 1987).

Quase todos os tecidos de mamíferos contêm histamina em quantidades que variam de menos de 1 a mais de 100 $\mu\text{g/g}$. Todos os tecidos de mamíferos que contêm histamina são capazes de sintetizá-la a partir da histidina, por meio da L-histidina Descarboxilase. O principal estoque de histamina, na maioria dos tecidos, é o mastócito; no sangue, é o basófilo. Essas células sintetizam histamina e estoam em grânulos secretórios juntamente com heparina, fator quimiotático para eosinófilo (ECF-A), fator quimiotático para neutrófilo (NCF-A) e certas enzimas (PLAUT and LICHTENSTEIN, in GANELLIN and PARSONS, 1982). O índice de renovação (*turnover*) da histamina em grânulos secretórios é lento, e quando tecidos ricos em mastócitos se encontram com seus estoques de histamina depletados, pode levar semanas até que a concentração do autacóide retorne ao normal. Sítios de for-

mação e estoque de histamina não-mastocíticos incluem células da epiderme, células da mucosa gástrica, neurônios no SNC e células em tecido de regeneração ou de crescimento rápido.

A histamina tem papel fisiológico de importância, mas limitado. Como a histamina é um dos mediadores pré-formados estocados em mastócitos, sua liberação se dá devido à interação do antígeno com anticorpos IgE na superfície do mastócito, desempenhando importante função na hipersensibilidade imediata e nas respostas alérgicas. Os seus efeitos na musculatura lisa brônquica e nos vasos sanguíneos se devem em parte aos sintomas das respostas alérgicas. Algumas drogas de uso clínico podem ter ação direta em mastócitos liberando histamina, o que explica alguns dos efeitos colaterais.

Uma vez liberada, a histamina pode exibir efeitos locais ou gerais na musculatura lisa e glândulas. Esse autácido contrai músculo liso, como o brônquico e o intestinal, e relaxa com potência outros como nos vasos sanguíneos de pequeno calibre. É também um potente agente estimulante da secreção do ácido gástrico. Efeitos devido a essas ações dominam a resposta global à histamina, entretanto, existem outros efeitos como formação de edema e estimulação de terminações nervosas sensoriais. Muitos desses efeitos como broncoconstrição e contração intestinal, são mediados por receptores H_1 , que são rapidamente bloqueados pela pirilamine e outros anti-histamínicos clássicos (antagonistas H_1) (ASH e SCHILD, 1966) Outros como secreção gástrica, são resultantes da ativação de receptores H_2 , podendo ser inibidos por antagonistas H_2 (BLACK *et alli*, 1972). Efeitos como a hipotensão resultante de dilatação vascular, são mediados por receptores H_1 e H_2 . Os receptores H_3 parecem só existir no SNC.

Baseado em critérios farmacológicos, há no mínimo três tipos de receptores ligados à membrana para a histamina; apesar de informação estrutural ainda não ser disponível, irão quase que certamente mimetizar outros receptores que interagem com proteínas-G transmissoras de sinais na membrana plasmática.

Os receptores H_1 se encontram ligados à fosfolipase-C e sua ativação leva à síntese do trifosfato de inositol (IP_3) e diacilgliceróis a partir de fosfolipídios na membrana celular; o IP_3 causa uma rápida liberação de íons Ca^{++} do retículo endoplasmático. Diacilgliceróis (e Ca^{++}) ativam proteína quinase-C, enquanto o Ca^{++} ativa proteínas quinases dependentes de Ca^{++} /calmodulina e fosfolipase A_2 na célula alvo, gerando a resposta característica. Os receptores H_2 estão ligados à estimu-

lação da adenilato ciclase e portanto à ativação da proteína quinase dependente de AMP_C na célula alvo. O mecanismo sinalizante usado por receptores H₃ é desconhecido, ligação inibitória à adenilato ciclase tem sido proposta (ARRANG *et al*, 1987).

As principais células alvo na hipersensibilidade imediata são os mastócitos e basófilos. A histamina é estocada em grânulos secretórios dessas células juntamente com outras substâncias farmacologicamente ativas. Como parte da resposta alérgica ao antígeno, anticorpos reagênicos (IgE) são gerados e se ligam à superfície dos mastócitos e basófilos. Essa molécula de IgE funciona como receptor e interage com o sistema de transdução de sinal na membrana de células sensibilizadas. Quando há exposição subsequente, o antígeno forma ponte nas moléculas de IgE e causa ativação da fosfolipase-C, levando à formação do 1,4,5-trifosfato de inositol e diacilgliceróis e a uma elevação do Ca⁺⁺ intracelular (CUNHA-MELO *eta al*, 1987). Esses eventos causam a extrusão do conteúdo dos grânulos secretórios por exocitose. O mecanismo pelo qual o aumento no Ca⁺⁺ leva à fusão do grânulo secretório com a membrana plasmática não foi totalmente elucidado, mas parece envolver a ação das proteínas quinases dependentes de Ca⁺⁺/calmodulina e da proteína quinase-C (GILMAN e cols., 1985).

Estudos histológicos provaram evidência de que veias brônquicas são um sítio de extravazamento no edema pulmonar induzido pela histamina. Foi infundido histamina por 2 horas em carneiros anestesiados sem nenhuma circulação sanguínea arterial pulmonar pelo pulmão direito, para determinar se um pulmão perfundido somente pelas artérias brônquicas podia desenvolver edema pulmonar. Biópsias de pulmão direito (ocluído) que demonstraram a presença de edema, comprovaram valores ainda maiores em pulmões que receberam histamina. Não se pode excluir algum extravazamento da circulação pulmonar do pulmão direito, perfundido via anastomose da circulação brônquica, mas deve ser modesto considerando as baixas pressões na circulação pulmonar que se seguem à oclusão da artéria pulmonar direita. Esses dados sugerem que perfusão via artéria pulmonar não é necessária para a produção do edema pulmonar induzido pela histamina (WALKENSTEIN e cols., 1985).

A liberação da histamina durante a anafilaxia foi demonstrada em várias espécies e vários tecidos, mas se sabe que a histamina sozinha não responde satisfatoriamente por todos os efeitos na musculatura lisa, observados durante reação

anafilática (BROCKLEHURST, 1959). Muitos sinais de anafilaxia parecem se dever à liberação de mediadores químicos como a histamina e “substância de reação lenta na anafilaxia” (SRS-A) (PIPER e VANE, 1969; BARTOSCH e cols., 1933 e KELLAWAY e TRETHERVIE, 1940). A histamina é liberada na anafilaxia e freqüentemente encontrada em íleo de cobaias, com ou sem extração do perfusato (PIPER e VANE, 1969).

A histamina é provavelmente liberada de mastócitos, que desaparecem após o choque (BOREUS e CHAKRAVARTY, 1960 e BROCKLEHURST, 1960). Apresentações sucessivas do antígeno podem romper mastócitos previamente não afetados. É possível que, como em cães, pulmões isolados de cobaias não sejam uniformemente perfundidos. A primeira injeção de antígeno pode induzir a liberação de histamina em áreas bem perfundidas, as conseqüentes mudanças circulatórias nessas áreas levariam a uma melhor perfusão de outras partes do pulmão (PIPER e VANE, 1969).

Dentre os fármacos responsáveis pela hiperreatividade brônquica em pacientes predispostos encontra-se a histamina, pilocarpina e outras drogas como a serotonina, leucotrienos, bradicinina, prostragladina $F_{2\alpha}$ e vários agonistas colinérgicos como a acetilcolina, metacolina e carbacol (HERXHEIMER, 1953; PANZANI, 1962 e MCNEILL e cols., 1960).

Em 1929, WEISS e col. descobriram que infusão intravenosa de pequenas quantidades de histamina precipitava ataques de broncoespasmo e um decréscimo na capacidade vital em indivíduos propensos à asma brônquica ou cardíaca. Demonstraram também que em indivíduos normais a infusão de histamina não causava mudança no padrão respiratório ou capacidade vital, até mesmo quando as doses de histamina eram grandes o suficiente para causar severo rubor, náusea, cefaléia e queda de pressão arterial (WEISS e cols., 1932).

REATIVIDADE BRÔNQUICA

Um dos aspectos característicos da asma é a hipersensibilidade das vias aéreas a um largo número de estímulos físicos, químicos e farmacológicos (BOUSKEY e cols., 1980; O'BYRNE e MANNING, 1992 e INGRAM, 1991). O que leva esses indivíduos a um maior grau de reatividade brônquica em resposta a uma grande variedade de agentes, em relação a indivíduos sadios (BOUSKEY e cols., e INGRAM, 1991). Agentes como exercícios, rápidas manobras respiratórias ou inalação de ar

frio e poeira são também apontados como causas de broncoconstricção em indivíduos susceptíveis (CHUNG, 1986; O'BYRNE e MANNING, 1992 e INGRAM, 1991).

Vários componentes da árvore tráqueo-brônquica podem contribuir com a hiperresponsividade das vias aéreas, como a musculatura lisa, o epitélio brônquico, vários mecanismos neurohumorais, e as ligações mecânicas entre o parênquima pulmonar e as vias aéreas. O grau de responsividade pode ser aumentado posteriormente por uma série de estímulos associados com inflamação na periferia pulmonar (INGRAM, 1991).

Tanto o tipo como o grau de responsividade podem variar dependendo do tipo e da magnitude do estímulo e do estado de pré-estimulação das vias aéreas. A última fonte de variabilidade indica que o grau de responsividade das vias aéreas é um atributo mutável que difere dentre pessoas e com o tempo em um dado indivíduo. Apesar do grau de responsividade ser variável, algumas pessoas mantêm um relativo alto grau de responsividade, compreendendo a maioria dos indivíduos asmáticos. De fato a hiperresponsividade das vias aéreas é parte integral da definição da asma (INGRAM, 1991).

Respostas a estímulos provocativos incluem tosse, produção aumentada de secreções tranqueobrônquicas, alterações na atividade ciliar, e inflamação envolvendo o epitélio das vias aéreas e a submucosa, juntamente com constricção da musculatura lisa na parede das vias aéreas (INGRAM, 1991).

O balanço de fatores que influenciam o calibre das vias aéreas deve se inclinar em favor de uma resposta constrictora excessiva a qualquer número de estímulos (INGRAM, 1991). Deficiência de receptores β -adrenérgicos é uma das propostas para esse desequilíbrio. Dados recentes suportam a idéia de que tal deficiência esteja de fato presente em um dado grau, mas não é o principal contribuidor para a hiperresponsividade vista no asmático (LEMANSKE e KALINER, 1990). O sistema inibitório não-colinérgico e não-adrenérgico (NANCI) e seu mediador putativo, peptídeo intestinal vasoativo (VIP) tem recebido bastante atenção em preparos experimentais, como os neuropeptídeos espasmogênicos, incluindo neurocinina A e substância P (INGRAM, 1991). Enquanto muitos modelos experimentais suportam as idéias de que um desequilíbrio entre influências dilatadoras (NANCI) e influências constrictoras de peptídeos espasmogênicos podem produzir um estado de hiperresponsividade, ainda há poucos dados (INGRAM, 1991). Coloração com imunoperoxidase

para o VIP e substância P demonstrou uma deficiência no primeiro e um excesso do segundo em pulmões de asmáticos (OLERENSHAW e cols., 1989).

O epitélio que pode estar danificado até mesmo em vias aéreas de indivíduos asmáticos assintomáticos, parece proteger as vias aéreas pela diminuição da penetração de matéria particulada, pela prevenção do contato e estimulação de receptores irritantes intraepiteliais, e pela produção de fator de relaxamento (BEASLEY e cols., 1989).

A perda dessa proteção epitelial é um contribuidor para o estado de hiperresponsividade e um mecanismo para a continuidade da obstrução (INGRAM, 1991).

A resposta anormal da musculatura lisa respiratória tem sido proposta para definir hiperreatividade brônquica e tem sido o sujeito da maioria das investigações, mas tem se sugerido que a hiperreatividade de outros sistemas, como os que regulam a secreção de muco, tosse, tônus vasomotor também podem ocorrer (BOUSLEY e cols., 1980; COCKCROFT e cols., 1977 e CORRAO e cols., 1979).

A musculatura lisa cerca as vias aéreas menores e conecta placas de cartilagem das vias aéreas maiores. Constricção da mesma leva a um severo estreitamento das vias aéreas podendo chegar à completa oclusão. As vias aéreas maiores podem estreitar significativamente pela constricção da musculatura lisa, mas estão protegidas de completa oclusão por um efeito extensor da cartilagem (INGRAM, 1991).

Tem se concentrado atenção na massa, distribuição, função mecânica e responsividade da musculatura lisa de asmáticos e não-asmáticos.

No paciente asmático há tanto hipertrofia como hiperplasia da musculatura lisa das vias aéreas (HUBER e KOESSLER, 1922 e TAKIZAWA e THURLBECK, 1971). Essas alterações podem ser de importância na hiperreatividade associada com a doença. Um aumento na quantidade de músculo é capaz de desenvolver maior tensão e pode estreitar a via aérea em maior intensidade que quantidades limitadas de músculo. Aumentos na quantidade de músculo liso das vias aéreas e da espessura de suas paredes provavelmente contribuir para o aumento na responsividade de asmáticos severos. Hiperreatividade brônquica pode também refletir uma mudança no comportamento da própria musculatura lisa das vias aéreas (EBINA e cols., 1990 e BOUSLEY e cols., 1980). Está estabelecido que a massa compreendendo elementos tanto da hiperplasia, como da hipertrofia da musculatura lisa está aumentada nas vias aéreas de asmáticos, e a hipertrofia de trabalho pode explicar a presença e a

distribuição dessas alterações da musculatura lisa, o que implica que são secundárias ao invés que causais (EBINA e cols., 1990). A musculatura lisa das vias aéreas em asmáticos, até mesmo quando corrigida pela massa, apresenta maior capacidade de geração de força isométrica e grau de responsividade *in vitro*, em comparação a não-asmáticos (SCHELLENBERG e FOSTER, 1984 e BAI, 1990). Demonstrou-se que a musculatura lisa de animais sensibilizados apresenta maior velocidade de encurtamento, apesar de não se ter demonstrado o fato em humanos (STEPHENS, 1987).

É de interesse o fato de dados clínicos e fisiológicos suportarem a noção de que em resposta a provocações agudas, alguns asmáticos exibem uma pequena resposta das vias aéreas (MCFADDEN e cols., 1980). Adicionalmente, dados morfométricos em espécimes pós-morte de pulmões de asmáticos demonstram que alguns asmáticos têm massa da musculatura lisa aumentada (devido principalmente à hipertrofia) até os bronquíolos terminais, enquanto outros apresentam esse aumento nas vias aéreas mais centrais e maiores (EBINA e cols., 1990). Parece que a hipertrofia e hiperplasia da musculatura lisa das vias aéreas são o resultado de episódios obstrutivos repetidos (INGRAM, 1991).

PULMÃO: INERVAÇÃO, VASCULARIZAÇÃO; ISOLADO COMO PREPARO

Thomas Bartolinus fez uma grosseira descrição dos nervos no pulmão humano há cerca de três séculos. Em suas observações da anatomia pulmonar, notou que o *nervorum stomachicorum* estava sempre localizado na porção posterior dos tubos brônquicos e que pequenos e grandes ramos nervosos insinuavam-se sobre a porção membranosa externa (BARTHOLINUS, 1663). Anos após, Thomas Willis descreveu “os usos e ofícios do par intercostal”, tendo também mencionado subseqüentemente um possível papel desses nervos em estado de doença, em sua descrição de um caso de asma (WILLIS, 1683 e WILLIS, 1679).

Estudos em animais têm provido a maioria das informações sobre inervação pulmonar. Há uma óbvia variabilidade na inervação pulmonar dentre espécies animais, e extrapolações de uma espécie para outra, considerando suas respostas fisiológicas ou distribuição anatômica de seus nervos, deverão ser feitas com cuidado (RICHARDSON, 1979).

Concorda-se de uma maneira geral com o fato de que os pulmões apresentam inervação dupla, uma inervação excitatória para a musculatura lisa das vias aéreas,

distribuição dessas alterações da musculatura lisa, o que implica que são secundárias ao invés que causais (EBINA e cols., 1990). A musculatura lisa das vias aéreas em asmáticos, até mesmo quando corrigida pela massa, apresenta maior capacidade de geração de força isométrica e grau de responsividade *in vitro*, em comparação a não-asmáticos (SCHELLENBERG e FOSTER, 1984 e BAI, 1990). Demonstrou-se que a musculatura lisa de animais sensibilizados apresenta maior velocidade de encurtamento, apesar de não se ter demonstrado o fato em humanos (STEPHENS, 1987).

É de interesse o fato de dados clínicos e fisiológicos suportarem a noção de que em resposta a provocações agudas, alguns asmáticos exibem uma pequena resposta das vias aéreas (MCFADDEN e cols., 1980). Adicionalmente, dados morfométricos em espécimes pós-morte de pulmões de asmáticos demonstram que alguns asmáticos têm massa da musculatura lisa aumentada (devido principalmente à hipertrofia) até os bronquíolos terminais, enquanto outros apresentam esse aumento nas vias aéreas mais centrais e maiores (EBINA e cols., 1990). Parece que a hipertrofia e hiperplasia da musculatura lisa das vias aéreas são o resultado de episódios obstrutivos repetidos (INGRAM, 1991).

PULMÃO: INERVAÇÃO, VASCULARIZAÇÃO; ISOLADO COMO PREPARO

Thomas Bartolinus fez uma grosseira descrição dos nervos no pulmão humano há cerca de três séculos. Em suas observações da anatomia pulmonar, notou que o *nervorum stomachicorum* estava sempre localizado na porção posterior dos tubos brônquicos e que pequenos e grandes ramos nervosos insinuavam-se sobre a porção membranosa externa (BARTHOLINUS, 1663). Anos após, Thomas Willis descreveu “os usos e ofícios do par intercostal”, tendo também mencionado subsequentemente um possível papel desses nervos em estado de doença, em sua descrição de um caso de asma (WILLIS, 1683 e WILLIS, 1679).

Estudos em animais têm provido a maioria das informações sobre inervação pulmonar. Há uma óbvia variabilidade na inervação pulmonar dentre espécies animais, e extrapolações de uma espécie para outra, considerando suas respostas fisiológicas ou distribuição anatômica de seus nervos, deverão ser feitas com cuidado (RICHARDSON, 1979).

Concorda-se de uma maneira geral com o fato de que os pulmões apresentam inervação dupla, uma inervação excitatória para a musculatura lisa das vias aéreas,

vasos sangüíneos e glândulas, e uma inervação inibitória para as mesmas estruturas. Estimulação vagal contrai as vias aéreas, aumenta secreção glandular ou das células globulares, e dilata os vasos pulmonares (NADEL e cols., 1971; HAHN e cols., 1978 e PAULET e LE BARS, 1969). Esses efeitos vagais estimulantes são bloqueados pela atropina, o que indica que a liberação de acetilcolina age nos receptores muscarínicos localizados nessas estruturas (WIDDICOMBE, 1963). Em animais, a estimulação dos nervos adrenérgicos relaxa a musculatura lisa das vias aéreas, contrai os vasos sangüíneos brônquicos e pulmonares, e inibe secreções glandulares (CAPEZAS e cols., 1971; EHINGER e cols., 1970 e KADOWITZ e cols., 1976). Nervos aferentes estimulados por pressão, extensão, ou irritação foram parcialmente caracterizados (RICHARDSON, 1979).

O padrão geral de inervação pulmonar é como se segue: fibras pré-ganglionares do núcleo vagal descendem no vago para o gânglio localizado ao redor das vias aéreas e dos vasos sangüíneos com fibras pós-ganglionares do gânglio inervando a musculatura lisa das vias aéreas, vasos e epitélio glandular ou células globulares. Fibras pós-ganglionares do gânglio simpático entram no pulmão e inervam as mesmas estruturas (NAGARSHI, 1972). Terminações aferentes, com seus neurônios na mucosa, na musculatura lisa, ou no núcleo vagal, localizam-se por todo o pulmão (RICHARDSON, 1979).

Fibras simpáticas e parassimpáticas são encontradas em íntima associação com os vasos pulmonares (WAALER, 1971). A inervação vascular pulmonar é, na maioria das espécies, relativamente esparsa, quando comparada com as artérias brônquicas e outras artérias sistêmicas (DOWNING e LEE, 1980). A distribuição das fibras nervosas é mais intensa nos vasos elásticos maiores, menos intensa nas artérias musculares e ausente em vasos com dimensões menores que 30 μm . Isso sugere um sistema que deve alterar a rigidez da parede vascular, mas apresenta menor capacidade de influenciar resistência à circulação sangüínea ao nível arteriolar (DOWNING e LEE, 1980). Especialmente a inervação densa de uma população de arteríolos originadas no ângulo direito de artérias pulmonares maiores pode ser de importância na regulação da distribuição da circulação sangüínea pulmonar (FILLENZ, 1970 e HEBB, 1969).

É digno de nota o fato de fibras adrenérgicas e colinérgicas inervarem esses ramos colaterais de arteríolas. A maioria dos estudos morfológicos sugerem que

veias intrapulmonares e vênulas estão isentas de apreciável inervação motora autonômica (DOWNING e LEE, 1980).

Em cobaias os brônquios são esparsamente inervados por nervos adrenérgicos e os bronquíolos apresentam ausência total desse tipo de inervação (O'DONNELL e cols., 1978). A artéria pulmonar, veia e arteríolas, bem como as artérias brônquicas apresentam uma extensa inervação adrenérgica, com a maioria das fibras presentes no limite médio adventício da artéria pulmonar (O'DONNELL e cols., 1978). Concluíram que o sistema adrenérgico nesses animais controlam as vias aéreas apenas ao nível da traquéia e que a inibição da musculatura lisa mais periférica das vias aéreas é controlada por fatores não-neurais ou pelo sistema inibitório não-adrenérgico. Foi também sugerido ser o sistema não-adrenérgico uma alternativa para o sistema adrenérgico (O'DONNELL e cols., 1978).

O endotélio pulmonar desempenha papel ativo na inativação da 5-hidroxitriptamine circulante (5-HT), norepinefrina (NE) e prostaglandinas E e F (VANE, 1969). Muito se sabe sobre ação de drogas na dinâmica cardiovascular, mas pouco se sabe sobre ação de drogas no metabolismo pulmonar. Perfusão pulmonar foi utilizada com o propósito de estudar efeitos de anestésicos no metabolismo pulmonar (MARTIN e cols., 1989).

Preparos de perfusão de pulmão de cães foram efetuados com o objetivo de estudar o efeito da circulação pulmonar na pressão arterial pulmonar e volume sanguíneo intravascular em diferentes pressões atriais esquerdas (LAP) (SNIDERMAN e cols., 1984).

Em estudos da ação broncoconstrictora e do antagonismo da substância de reação lenta (SRS-A) na anafilaxia, tratou-se pulmões isolados de cobaias com antígeno e obteve-se substâncias espasmogênicas (KELLAWAY e TRETHERWIE, 1940; CAMPBELL e NICHOL, 1940; BROCKLEHURST, 1953, 1955, 1960; HAWKINS e ROSA, 1959; CHAKRAVARTY, 1960).

PIPER e VANE, 1969, estudaram a liberação de fatores adicionais na anafilaxia e seu antagonismo por drogas antiinflamatórias utilizando métodos de perfusão pulmonar em cobaias, e verificaram a liberação de substâncias ativas durante a anafilaxia nesses pulmões (PIPER e VANE, 1969).

Quando foi feita perfusão pulmonar em cobaias em 1940, KELLAWAY e TRETHERWIE verificaram a coleta de substâncias durante o estado de choque

(BROCKLEHURST, 1959). Na tentativa de verificar o papel da circulação brônquica na patogênese do edema pulmonar WALKENSTEIN *et alli* em 1985 utilizaram sistema de perfusão pulmonar (WALKENSTEIN e cols., 1985).

BAKHLE e SMITH, 1973, estudando pulmões isolados de ratos, cobaio e cães, perfundidos com solução de Krebs, via circulação pulmonar, encontraram liberação de espasmógenos capazes de contrair aorta de coelho em resposta à infusão de 5-HT, Ach e histamina através da circulação pulmonar.

BLOQUEIO DE PROSTAGLANDINAS

A manutenção da atividade metabólica e funcional do endotélio é necessária para a preservação da integridade vascular (ROSS e GLOMSET, 1976). O relaxamento endotélio-dependente da musculatura lisa arterial que pode ser induzido por uma grande variedade de compostos como a Ach, é mediado pela liberação estimulada do fator relaxante derivado do endotélio (EDRF) (BURTON e cols., 1989).

O EDRF é um vasodilatador endógeno instável idêntico ao óxido nítrico e se encontra avidamente ligado pela hemoglobina. (FURCHGOTT e ZAWADSKI, 1980; GRIFFITH *et alli*, 1984; IGNARRO *et alli*, 1987; PALMER *et alli*, 1987; FURCHGOTT, 1988; KELM *et alli*, 1988). (BURTON e cols., 1989)

A natureza do EDRF já foi estabelecida, e concorda-se que o relaxamento dependente do endotélio está associado com um aumento no conteúdo de GMP cíclico de células musculares lisas HOLZMANN, 1982; FURCHGOTT e JOTHIANANDAN, 1983; FURCHGOTT *et alli*, 1984; RAPOPORT e MURAD, 1983; DIAMOND e CHU, 1983; IGNARRO *et alli*, 1984). Óxido nítrico e compostos que provavelmente produzem seus efeitos biológicos através da formação de óxido nítrico, como o trinitrato de gliceril, nitroprussiato de sódio etc., induzem o relaxamento da musculatura lisa a qual, mesmo não sendo mediada via células endoteliais, se encontra associada com níveis aumentados de GMP cíclico (KATSUKI *et alli*, 1977; SCHULTZ *et alli*, ARNOLD *et alli*, 1977). Foi proposto que esse aumento no conteúdo de GMP cíclico da musculatura lisa, induzido pelo EDRF ou pelos nitrovasodilatadores, pode mediar o relaxamento pela indução de uma desfosforilação dependente de GMP da cadeia leve de miosina (RAPOPORT *et alli*, 1983a).

As propriedades não-trombogênicas e de alta permeabilidade para soluto e água do endotélio vascular foram reconhecidas como componentes essenciais da

integridade microvascular normal. Essa camada endotelial é também capaz de modulação intrínseca do tônus vascular pela elaboração de diversas substâncias vasoativas potentes.

Dois vasorrelaxantes marcantes são prostaciclina e o EDRF. Demonstrou-se recentemente que o endotélio vascular sintetiza um novo polipeptídeo chamado endotelina, que exibe propriedades potentes vasoconstrictoras (BRENNER e cols., 1989 e GRYGLEWSKI e cols., 1988).

O fator de relaxamento derivado do endotélio/óxido nítrico (EDRF/NO) descoberto primeiramente no endotélio vascular, é hoje reconhecido como o mecanismo de transdução de sinal para a ativação da guanilato ciclase solúvel. O NO é sintetizado a partir da L-arginina pela NO-sintase, e é um novo mensageiro celular agora implicado em um grande arsenal de ações fisiológicas e patofisiológicas nos sistemas cardiovasculares, imune e nervoso. Em vasos sangüíneos, onde o EDRF/NO é produzido pelo endotélio, é um determinante primário do tônus vascular de repouso por meio de liberação basal, causa vasodilatação quando sintetizado em resposta a um grande número de agentes vasodilatadores (FURCHGOTT e ZAWADZKI, 1980; MONCADA e cols., 1991; FURCHGOTT, 1984 e FURCHGOTT, 1983). Também inibe agregação e adesão plaquetária, pode desempenhar papel de importância em estados de doença, como a arteriosclerose e hipertensão, vasoespasmos cerebral e coronário e injúria isquêmica de reperfusão (MONCADA e cols., 1991 e JOHNS, 1991). No sistema imune é um mecanismo efetor para citotoxicidade induzida por macrófago, e no cérebro EDRF/NO parece estar presente em múltiplas funções (MARLETTA e cols., 1988 e BRETT e SNYDER, 1992).

O ácido araquidônico (AA), um ácido graxo poli-insaturado derivado da dieta, é um precursor para diversos mediadores vasoativos. Dependendo do tecido o AA é rapidamente metabolizado por uma das duas passagens: via ciclooxigenase, produzindo duas prostaglandinas endoperoxidases biologicamente ativas, mas instáveis, PGG₂ e PGH₂; ou via lipoxigenase, produzindo HPETEs, depois reduzidos a HETEs. As endoperoxidases são depois convertidas em prostaglandinas clássicas: D₂, E₂ e F₂, formadas por redução não-enzimática, tromboxano A₂ pela enzima tromboxano sintetase e prostaciclina pela enzima prostaglandina sintetase (HAMBERG e cols., 1974; MITZ, 1981; YOSHIMOTO e cols., 1977 e MONCADA e cols., 1976).

Ácido araquidônico exógeno aumenta resistência vascular pulmonar em pulmão de cão isolado e intacto, pulmão intacto de gato, pulmão isolado perfundido

de cobaio e pulmão isolado de coelho (HYMAN e cols., 1978; KADOWITZ e cols., 1981 e BAKHLE e cols., 1985).

Os efeitos pressores do AA em pulmões de coelho perfundido isolados e efeitos depressores sistêmicos em coelhos intactos anestesiados foram reportados que foram antagonizados pela indometacina, sugerindo que o AA é metabolizado via ciclo-oxigenase para formar produtos vasoativos que causam vasoconstricção pulmonar e vasodilatação sistêmica (LITTNER e cols., 1987 e FINK e cols., 1977).

A indometacina, inibidor de cicloxigenase, preveniu totalmente a resposta pressora pulmonar ao AA administrado intravenosamente e reduziu a resposta depressora sistêmica ao AA administrado intra-arterialmente (EL-KASHEF e CATRAVAS, 1990).

Em trabalhos com pulmões isolados de cobaios, além de histamina e SRS-A, encontrou-se prostaglandina E_1 , E_2 e $F_{2\alpha}$ no perfusato. Prostaglandinas são liberadas de muitos tecidos em condições diversas, nas concentrações de prostaglandinas E_1 , E_2 e $F_{2\alpha}$ em sangue venoso são reduzidos a menos de 5% na passagem pela circulação pulmonar, provavelmente por inativação enzimática. Pulmões isolados de cobaios também inativam prostaglandinas (VANE, 1969; FERREIRA e VANE, 1967 e ANGGARD e SAMUELSON, 1966).

O alto índice de inativação das prostaglandinas nos pulmões significa que a quantidade detectada no efluente venoso deve ser bem menor que a quantidade liberada. Portanto as concentrações das prostaglandinas E_2 e $F_{2\alpha}$ que são apresentadas ao músculo brônquico devem ser 20-50 vezes maiores que as concentrações detectadas no efluente. Prostaglandina E_1 e $F_{2\alpha}$ aumenta resistência das vias aéreas em gatos, bem como $F_{2\alpha}$ em cobaios (BERRY e COLLIER, 1964; MAIN, 1964 e ANGGARD e BERGSTROM, 1963). A prostaglandina E_1 reduz as respostas broncoconstrictoras induzidas pela histamina em cobaios, mas nem a prostaglandina E_1 ou a E_2 , em doses intravenosas de 10 μ g, afetaram a entrada de ar na traquéia em cobaios (PIPER e VANE, 1969).

As prostaglandinas podem ter um papel modulatório na indução da hiperresponsividade da musculatura lisa das vias aéreas (FOLKERTS e cols., 1989). Prostaglandina E_2 em particular, é liberada durante contrações em preparações de traquéia humana e animal, e pode ser sintetizada por células epiteliais de traquéia de coelho (OREHEK *et alli*, 1973; STEEL *et alli*, 1979; BUTLER *et alli*, 1987).

Essa prostaglandina relaxa a musculatura lisa das vias aéreas e inibe respostas contráteis desencadeadas em preparos de traquéia intacta e sem epitélio, enquanto que inibidores da síntese de prostaglandinas aumentam as respostas da traquéia a agentes contráteis (MATHÉ *et alli*, 1977; ANDERSON *et alli*, 1983; BRAUNSTEIN *et alli*, 1988; OREHEK *et alli*, 1975) (FOLKERTS e cols., 1989).

BLOQUEIO DA NO SINTASE E GUANILATO CICLASE-NITROARGININA E ENDOTÉLIO VASCULAR – AZUL DE METILENO

Hemoglobina e azul de metileno parecem inibir seletivamente o vasorrelaxamento induzido por agentes que aumentam os níveis de GMP cíclico intracelular. Hemoglobina e azul de metileno aumentam o tônus em anéis de aorta, particularmente quando células endoteliais estão presentes, sugerindo que o EDRF deve ser liberado espontaneamente em baixas concentrações (MARTIN e cols., 1984). O azul de metileno pode produzir seu efeito oxidando um componente da guanilato ciclase, possivelmente um grupamento hemiferroso ligado à molécula enzimática. (MARTIN e cols., 1984) Outra possibilidade é a da interação direta do azul de metileno com o EDRF (MARTIN e cols., 1984).

Trabalhos recentes implicaram a L-arginina como o precursor fisiológico do NO (PALMER *et alli*, 1988; SCHMIDT *et alli*, 1988a,b). Sais de L-arginina dilatam vasos sangüíneos de resistência de rim perfundido de rato por um mecanismo que pode envolver a liberação do EDRF de células endoteliais vasculares do rim perfundido de rato (MOORE, 1989).

A evidência química que suporta a L-arginina como substrato para formação do EDRF, é que N^G -L-[^{15}N] arginina é convertida em NO por células endoteliais vasculares intactas (PALMER e cols., 1988 e SCHMIDT e cols., 1988). A depleção de níveis endógenos de L-arginina em anéis arteriais isolados causa tolerância ou refratariedade a vasodilatadores dependentes do endotélio (GOLD e cols., 1989). Adicionando L-arginina exógena a esses preparos vasculares restaurou o relaxamento endotélio dependente.

Evidências indicam a existência de pelo menos duas formas de NO-sintase (MONCADA e cols., 1991 e STUEHR e cols., 1989). Uma requer cálcio e calmodulina para sua ativação, é expressa como constituinte de neurônios e vasos e está envolvida na comunicação celular. Essa enzima constitutiva é ativada por um aumento no cálcio livre no citosol. Em tecido nervoso, se encontra em forma solúvel; no endo-

télio se encontra ligado à membrana (JOHNS, 1993). A outra forma do NO-sintase é expressa apenas após indução por citocinas ou por produtos microbianos, como as endotoxinas (lipopolissacárides) e participam na defesa do hospedeiro (JOHNS, 1993). Essa forma induzível de NO-sintase apresenta calmodulina firmemente ligada como uma subunidade, e produz NO continuamente e em grandes quantidades sem requerer cálcio (HEARN e cols., 1992). A isoforma induzida pela citocina apesar de estar presente em macrófagos sob condições basais, normalmente não se encontra na célula endotelial ou na musculatura lisa vascular. Só é encontrada nesses tecidos vasculares após indução por citocinas (BUSSE e MULXH, 1990 e RADOWSKI e cols., 1990). Em contraste às suas diferentes localizações, expressões e funções, as isoformas da NO-sintase parecem ser bioquimicamente similares (JOHNS, 1993).

As NO-sintases são monoxigenases de função mista que utilizam NADPH, que oxidam L-arginina de maneira a formar NO e citrulina como produtos primários (BREDT e cols., 1991 e SESSA e cols., 1992). NADPH é o doador de elétrons e o oxigênio é o receptor de elétrons. Agora reconhece-se que o passo inicial na síntese de NO é uma hidroxilação da arginina dependente de NADPH e oxigênio que forma N-hidroxiarginina. A conversão enzimática do intermediário N-hidroxiarginina a NO e citrulina também utiliza NADPH e O₂ (MONCADA, 1992 e KWON e cols., 1990).

Todas as formas da enzima podem ser inibidas específica e competitivamente por análogos nitrogenados ou metilados da arginina (REES e cols., 1989). Esses incluem a nitroarginina, a N^G-monometil L-arginina (LNMA), N^G-L-arginina-metil-éster (LNAME) e N-imino-L-ornitina (L-NIO) (JOHNS e cols., 1990 e MONCADA e cols., 1991). Esses inibidores têm provido enorme benefício na elucidação dos papéis fisiológicos e patofisiológicos dos caminhos de NO (JOHNS, 1993).

Foi investigado a influência do azul de metileno, um inibidor solúvel da guanilato ciclase, nas respostas à hipoxia ventilatória e pré-capilar em tórax intacto de gatos sob condições de controle da corrente sanguínea e pressão atrial esquerda constante. O azul de metileno aumentou o tônus vascular. Durante a infusão do azul de metileno, a resposta ao isoproterenol não se alterou.

Os efeitos do azul de metileno no tônus vascular e as respostas à hipoxia e à acetilcolina foram reversíveis, retornaram ao controle após infusão terminada. Dados são consistentes com a hipótese de que GMP cíclico pode desempenhar um papel na regulação do tônus nos vasos pulmonares, e que uma redução nos níveis de

GMP cíclico vascular pode ser de importância na mediação da resposta pressora à hipoxia no gato (HYMAN e cols., 1991).

O efeito da N^W-nitro-L-arginina-metil-éster (L-NAME), um inibidor da produção de EDRF, foi estudado na resposta vasodilatadora à estimulação vagal eferente, nos vasos pulmonares de tórax intacto de gato sob condições de circulação sanguínea controlada e pressão atrial esquerda constante. Resultados foram consistentes com a hipótese de que estimulação vagal eferente libera acetilcolina, que dilata a rede vascular pulmonar por estimulação da produção do óxido nítrico ou de um composto nitroso lábil da L-arginina (MCMAHON e cols., 1991).

O éster metilado da N^G-nitro-L-arginina (L-NAME), um análogo da L-arginina, produz uma inibição reversível do efeito vasodilatador da acetilcolina em anéis isolados de aorta de coelho e em mesentério perfundido do rato (MOORE e cols., 1990).

O L-NMMA (N^G-monometil-L-arginina) tem a capacidade de inibir a biossíntese de NO₂⁻ e NO₃⁻ em macrófagos, a partir da L-arginina (HIBBS e cols., 1987) e da síntese de NO por células endoteliais vasculares e plaquetas (RADOMSKI e cols., em 1990).

Em 1980, FURCHGOTT e ZAWADZKI demonstraram pela primeira vez o papel obrigatório do endotélio na resposta vasodilatadora induzida pela Ach. Na sua experiência original realizada com anéis ou segmentos de aorta torácica descendente de coelhos, précontraídas por noradrenalina, as preparações não responderam a ação vasodilatadora da Ach devido à remoção acidental da camada endotelial da artéria (FURCHGOTT e ZAWADZKI, 1980b). Verificou-se que a ativação do endotélio vascular por receptores muscarínicos destas células, liberaria uma substância farmacologicamente ativa, que se difundiria até a túnica média, onde se encontram os elementos contráteis, promovendo assim a vasodilatação (FURCHGOTT e ZAWADZKI, 1980b). Essa substância foi denominada de EDRF (*Endothelium Derived Relaxing Factor*) (CHERRY e cols., 1982 e FURCHGOTT, 1984) ou EDNO (*Endothelium Derived Nitric Oxide*) (IGNARRO, 1990) ou EDRF/NO.

A descoberta de que vasodilatadores como a Ach, bradicinina, histamina e outros, produzem seus efeitos no músculo liso vascular, através de receptores endoteliais foi uma revolução na fisiologia vascular da década passada (FURCHGOTT e ZAWADZKI, 1980 e FURCHGOTT, 1984).

Sabia-se que o óxido nítrico era um potente relaxante do músculo liso vascular (GRUETTER e cols., 1979) atuando através da estimulação da guanilato ciclase citosólica com incremento do GMP cíclico (MURAD e cols., 1978).

PALMER e colaboradores, em 1987, identificaram o NO em cultura de células endoteliais de aorta de porco, por quimioluminescência, atribuindo a este composto a natureza química do EDRF. Contudo, os ensaios químicos e farmacológicos não permitiam até então discriminar entre NO e um possível precursor que contivesse este grupamento.

Dentre as propriedades comuns entre o EDRF e o óxido nítrico podemos citar: estabilidade química, meia vida, lipofilia, permeabilidade a membranas, ativação da guanilato ciclase solúvel, inibição da agregação plaquetária, inibição pelo azul de metileno e hemoglobina e, inativação pelo oxigênio e íon superóxido (HOLZMAN, 1982; PALMER e cols., 1987; RADOMISKI e cols., 1987; IGNARRO e cols., 1987 e FURCHGOTT e VANHOUTTE, 1989). Atualmente se acredita que o EDRF é realmente NO (LANCASTER, JR., 1992).

O desenvolvimento dos análogos da L-arginina permitiu estudos das rotas metabólicas e bloqueios na síntese de EDRF em várias preparações fisiológicas e farmacológicas.

BLOQUEIO ADRENÉRGICO E PULMÃO

Antagonistas não seletivos β -adrenérgicos como o propranolol bloqueiam receptores β_2 -adrenérgicos na musculatura lisa brônquica. Normalmente há pouco efeito na função pulmonar em indivíduos normais. Entretanto, em pacientes asmáticos ou com doença pulmonar obstrutiva crônica, esse bloqueio pode levar à broncoconstrição com risco de vida. Apesar de antagonistas β_1 -seletivos ou antagonistas com intrínseca atividade simpaticomimética aumentar, com menor possibilidade que o propranolol, a resistência em pacientes com asma, essas drogas só deverão ser usadas com grande cuidado (ou não serem usadas) em pacientes com doença broncoespásticas.

O propranolol interage, com igual afinidade, em receptores β_1 e β_2 , não bloqueando receptores adrenérgicos α . É um puro antagonista, sem nenhuma capacidade de ativar receptores β -adrenérgicos. Vários β -bloqueadores (ex.: pindolol e acebutolol) ativam β -receptores parcialmente na ausência de catecolaminas, entre-

tanto, as atividades intrínsecas dessas drogas são bem menores que as de um total agonista, como o isoproterenol.

Um efeito principal dos antagonistas β -adrenérgicos é causado pelo bloqueio dos receptores β_2 na musculatura lisa brônquica. Esses receptores são de particular importância na promoção da broncodilatação em pacientes com doença broncoespástica, e β -bloqueadores podem causar um aumento na resistência das vias aéreas com risco de vida para esses pacientes. Drogas com seletividade para β_1 ou com atividade simpatomimética intrínseca em receptores β_2 induzirão broncoespasmo com menor probabilidade. Entretanto a seletividade de β -bloqueadores para receptores β_1 adrenérgicos é modesta; conseqüentemente, essas drogas devem ser evitadas em asmáticos.

Devido à predominância de receptores β_1 no coração e β_2 no pulmão humano, alguns dos principais efeitos colaterais de agonistas β -adrenérgicos no tratamento da asma são causados por estimulação dos receptores β_1 adrenérgicos no coração. Drogas com preferencial afinidade por receptores β_2 , em comparação a receptores β_1 foram então desenvolvidas. Entretanto essa seletividade não é absoluta, e perde-se em doses suficientemente altas.

A epinefrina foi primeiramente usada como broncodilatadora no início do século, e a efedrina foi introduzida na medicina ocidental em 1924, apesar de já ser usada na China por milhares de anos. (CHIN e SCHMIDT, 1930; NELSON, 1982; SEALE, 1988) O próximo avanço foi o desenvolvimento do isoproterenol na década de 40, um puro β -agonista; isso providenciou para a asma uma droga sem atividade α -adrenérgica. O desenvolvimento mais recente de agonistas seletivos β_2 nos deu drogas com características ainda mais valorosas: biodisponibilidade oral adequada, ausência de atividade α -adrenérgica e efeitos colaterais cardiovasculares reduzidos (GILMAR e cols., 1985).

Os efeitos farmacológicos da dobutamina são devido a interações diretas com receptores α e β -adrenérgicos; suas ações não parecem ser o resultado da liberação de norepinefrina de terminações nervosas simpáticas, nem surgem via receptores dopaminérgicos (LEIER, 1983). Originalmente achou-se que a dobutamina era um relativo β_1 -agonista adrenérgico.

Metaproterenol é juntamente com a terbutalina e o fenoterol pertencentes à mesma classe de broncodilatadores. Metaproterenol é considerado β_2 -seletivo, apesar de ser provavelmente menos seletivo que o albuterol e a terbutalina.

A terbutalina, um broncodilatador β_2 -seletivo, é efetivo somente, subcutaneamente ou por inalação (DULFANO e GLASS, 1976). Albuterol é também um β_2 -agonista com propriedades farmacológicas e indicações terapêuticas similares aos da terbutalina. Mas seus efeitos cardiovasculares são menores que os do isoproterenol em doses comparáveis para broncodilatação administradas por inalação (AHRENS e SMITH, 1984).

BRONCOCONSTRICÇÃO X PRESSÃO DE PERFUSÃO NO PULMÃO ISOLADO – RESISTÊNCIA DA PRESSÃO ARTERIAL PULMONAR

A quantidade de sangue fluindo através dos pulmões é essencialmente igual a que circula através da circulação sistêmica. Como o ventrículo esquerdo contrai com muita força, em comparação ao ventrículo direito, o ventrículo esquerdo assume um formato globular, e o septo protraí para o interior do lado direito do coração.

A artéria pulmonar se estende apenas 4 centímetros sob o ápice do ventrículo direito e depois divide-se nos ramos principais direito e esquerdo, que virão suprir sangue para os dois pulmões respectivamente. A artéria pulmonar é também uma fina estrutura com uma espessura de parede de aproximadamente duas vezes a da veia cava e um terço de espessura da aorta. Os seus ramos arteriais pulmonares são todos bem curtos. Entretanto, todas as artérias pulmonares, até mesmo as pequenas e as arteríolas apresentam diâmetros bem maiores que suas artérias sistêmicas contrapartes. Esse fato associado ao de que os vasos são bem finos e distensíveis, dá à árvore arterial pulmonar uma complacência talvez comparável a da árvore arterial sistêmica, o que permite às artérias pulmonares acomodarem o débito de contração sistólica do ventrículo direito.

Existe um suprimento sangüíneo arterial acessório para os pulmões diretamente da aorta, usualmente através de uma artéria brônquica para o pulmão direito e duas artérias brônquicas para o pulmão esquerdo. O sangue que flui nas artérias brônquicas é oxigenado, em contraste ao sangue parcialmente desoxigenado nas artérias pulmonares. Supre os tecidos de suporte dos pulmões, incluindo tecido conectivo, o septo e os brônquios maior e menor. Após a passagem desse sangue arterial brônquico pelos tecidos de suporte, esvazia-se dentro das veias pulmonares e entra no átrio esquerdo ao invés de passar de volta pelo átrio direito. Uma média de 1 a 2% do débito cardíaco total toma essa rota, fazendo o débito ventricular esquerdo levemente maior que o débito ventricular direito.

As curvas de pressão de pulso do ventrículo direito e da artéria pulmonar são contrastadas com a pressão aórtica maior. Aproximadamente 0,16 segundos antes da sístole ventricular, o átrio contrai, bombeando uma pequena quantidade de sangue para dentro do ventrículo direito, causando cerca de 4 mm.Hg iniciais de aumento na pressão diastólica ventricular direita, antes de contrair o ventrículo. Seguindo-se imediatamente a esse início do átrio direito, o ventrículo direito contrai, a pressão ventricular direita aumenta rapidamente até se igualar com a pressão na artéria pulmonar. A válvula pulmonar abre-se e por aproximadamente 0,3 segundos, flui sangue do ventrículo direito para a artéria pulmonar. Quando o ventrículo direito relaxa, a válvula pulmonar fecha e a pressão do ventrículo direito cai para níveis diastólicos de cerca de zero. A pressão sistólica no ventrículo direito de um humano normal é em média 22 mm.Hg e a pressão diastólica é em média entre 0 e 1 mm.Hg.

Durante a sístole, a pressão na artéria pulmonar é essencialmente igual à pressão no ventrículo direito. Entretanto, após o fechamento da válvula pulmonar no final da sístole, a pressão ventricular cai, enquanto a pressão arterial pulmonar permanece alta e depois cai gradualmente enquanto o sangue flui pelos capilares pulmonares. A pressão sistólica arterial pulmonar é em média cerca de 22 mm.Hg no indivíduo normal; a pressão arterial pulmonar diastólica é aproximadamente 8 mm.Hg e a pressão arterial pulmonar média é 13 mm.Hg. (GUYTON, 1971)

A pressão capilar pulmonar é o determinante mais importante do balanço do fluido pulmonar e é o principal parâmetro fisiológico que deve ser medido quando várias formas de expansão do volume plasmático e vasodilatadores pulmonares são usados em pacientes criticamente enfermos (COPE e cols., 1992).

Células endoteliais pulmonares normalmente sintetizam prostaciclina (PGI_2) e óxido nítrico (NO), que são ambos potentes vasodilatadores. Apesar da PGI_2 ser largamente usada para tratar pacientes com hipertensão pulmonar severa, seu papel na fisiologia e patofisiologia da circulação pulmonar é ainda debatida. O NO, hoje considerado como nitrovasodilatador endógeno, é provavelmente mais envolvido que a PGI_2 nos mecanismos que modulam o tônus vascular pulmonar na saúde e na doença. Há evidência que sugere que a prévia liberação de NO contribui para o tônus vascular pulmonar normalmente baixo na normoxia. Embora hajam teorias que hipotetizam que a hipóxia reduz a síntese de NO, ausência do mesmo não parece se dever a vasoconstrição pulmonar hipóxica aguda. Muito pelo contrário, há evidên-

cia que sugere que a atividade do NO está aumentada para modular a resposta vasopressora pulmonar à hipóxia alveolar aguda. Entretanto há dados mais consistentes sobre o papel do NO, coletados de estudos feitos em condições hipóxicas crônicas. Tanto dados experimentais como estudos feitos no homem demonstram dano na síntese de NO e/ou na sua liberação em hipertensão pulmonar hipóxica crônica. A produção reduzida de NO, enquanto reduz a habilidade de relaxamento dos vasos pulmonares, também favorece a ocorrência de vasoconstricção pulmonar excessiva. Falta ou ausência de NO-síntese também pode permitir mitogênese e proliferação de vários tipos celulares na parede vascular (DINH-XUAN, 1992).

ANESTÉSICOS LOCAIS

A membrana excitável dos axônios nervosos, como a membrana do músculo cardíaco e os corpos celulares neuronais mantêm um potencial transmembrana de -90 a -60 mV. Durante a excitação, os canais de sódio se abrem e uma rápida corrente de sódio para dentro despolariza rapidamente a membrana no sentido do potencial de equilíbrio do sódio ($+40$ mV). Como resultado da despolarização, os canais de sódio se fecham (inativados) e os canais de potássio se abrem. O fluxo para fora de potássio repolariza a membrana no sentido do potencial de equilíbrio do potássio (cerca de -95 mV); a repolarização leva os canais de sódio para o estado de repouso. Os gradientes iônicos transmembrana são mantidos pela bomba de sódio. Estas características são semelhantes àquelas do músculo cardíaco, e os anestésicos locais apresentam efeitos semelhantes em ambos os tecidos.

A função dos canais de sódio pode ser alterada de várias formas. As toxinas marinhas tetrodotoxina e saxitoxina bloqueiam estes canais através da ligação aos canais receptores próximos à superfície extracelular. Seus efeitos clínicos se assemelham superficialmente àqueles dos anestésicos locais, embora seu sítio receptor seja bem diferente. As toxinas biológicas tais como a batracotoxina, a aconitina, e alguns venenos de escorpião, se ligam a receptores dentro do canal e previnem a recuperação da inativação. Isto resulta em ativação prolongada do canal em vez de bloqueio da condução. Os anestésicos locais ligam-se aos receptores próximos à terminação intracelular do canal, e bloqueiam o canal de uma forma dependente do tempo e da voltagem.

Quando concentrações progressivamente aumentadas de anestésicos locais são aplicadas a uma fibra nervosa, o limiar para excitação se eleva, a condução do

impulso lentifica, a taxa de aumento do potencial de ação declina, a amplitude do potencial de ação diminui e, finalmente, a capacidade para gerar um potencial de ação é abolida. Todos estes efeitos resultam da ligação do anestésico local aos canais de sódio; a ligação resulta em bloqueio da corrente de sódio. Se a corrente de sódio for bloqueada em um comprimento crítico do nervo, a propagação através da área bloqueada não é mais possível. Na dose mínima necessária para bloquear a propagação, o potencial de repouso não é afetado de forma significativa (KATZUNG, 1992).

O bloqueio dos canais de sódio pela maioria dos anestésicos locais é dependente da voltagem e do tempo. Os canais no estado de repouso (que predominam em potenciais de membrana mais negativos) apresentam uma afinidade muito menor para os anestésicos locais do que os canais ativados (estado aberto) e não-ativados (que predominam em potenciais de membrana mais positivos). Assim, o efeito de certa concentração da droga é mais pronunciado em axônios de deflagração rápida do que em fibras de repouso (KATZUNG, 1992).

Entre as depolarizações do axônio, uma porção dos canais de sódio se recobram do bloqueio anestésico local. A recuperação do bloqueio induzido por droga é 10 a 1.000 vezes mais lenta do que a recuperação dos canais da inativação normal. Como resultado, o período refratário é ampliado e o nervo pode conduzir menos impulsos.

O cálcio extracelular elevado antagoniza parcialmente a ação dos anestésicos locais. Esta reversão é causada pelo aumento induzido pelo cálcio de potencial de superfície na membrana, que favorece o estado de repouso de baixa afinidade. De forma contrária, a elevação do potássio extracelular despolariza o potencial de membrana e favorece o estado inativado. Isto aumenta o efeito dos anestésicos locais.

Embora os anestésicos locais possam bloquear diversos outros canais, incluindo os canais simpáticos cujo mecanismo de portão é controlado quimicamente, não existe nenhuma evidência convincente de que tais ações desempenham papel importante nos efeitos clínicos destas drogas (KATZUNG, 1992).

OBJETIVOS

O presente trabalho, tendo em vista um modelo de asma experimental utilizou o sistema de pulmão perfundido do cobaio de animais imunizados e controles sob diversas condições experimentais. A preparação já é bastante conhecida e representa hoje o ressurgimento de esquemas clínicos desenvolvidos por farmacologistas na década de 30 (BERRY e DALY, 1931 e DAILY and VON EULER, 1931). Em 1990 FONTELES adaptou esta sistemática a novas concepções de registro e de fluxo bem como da avaliação funcional do órgão, medindo inclusive seu desempenho metabólico em sistema não circulado. Assim, foram objetivos desta pesquisa uma reavaliação farmacológica do método de perfusão em face das novas conquistas farmacológicas no campo vascular e brônquico.

Foram portanto objetivos:

- Avaliar as repercussões sobre a reatividade à histamina em pulmões oriundos de animais imunizados pela ovoalbumina, na resistência brônquica e na pressão de perfusão, comparando a controles;
- Identificar alterações na pressão de perfusão e na resistência brônquica na presença e na ausência de propranolol, um agente bloqueador β -adrenérgico não seletivo;
- Pesquisar os efeitos sobre esses parâmetros em face do bloqueio pelo azul de metileno de guanilato ciclase e assim, eliminar a modulação endotelial na fluidodinâmica do órgão, em face das doses respondidas à histamina;
- Avaliar como o bloqueio da NO-sintase pela nitroarginina interfere na bronco-constricção e pressão de perfusão da referida preparação, em função da resposta à histamina;
- Medir a interferência da L-arginina, substrato na formação de NO pelo endotélio pulmonar nas respostas à histamina, na presença e na ausência de NADPH, co-fator importante nesta reação;
- Estudar as variações de resposta à histamina na ausência de prostaglandinas pulmonares, pelo uso de indometacina no perfusato;
- Identificar as variações de fluxo e em todos os tratamentos aqui praticados.

ANIMAIS EXPERIMENTAIS

Cobaios adultos pesando entre 300 e 800 g de ambos os sexos provenientes de colônia mantida no Biotério da Unidade de Pesquisas Clínicas (Hemoce), UFC. Os animais foram submetidos a jejum de 24 horas com acesso à água, antes dos experimentos.

SISTEMA DE PERFUSÃO DO PULMÃO ISOLADO

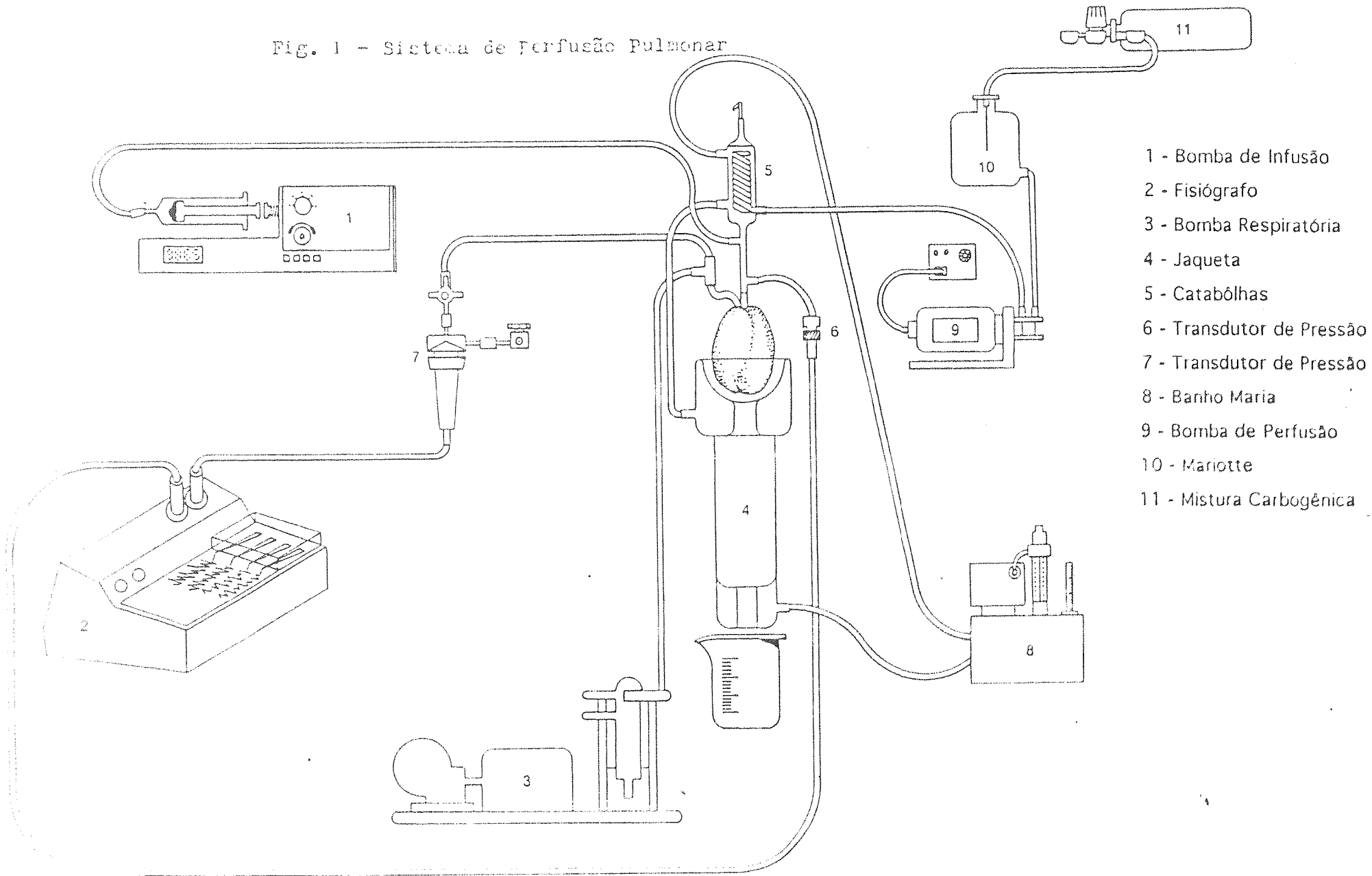
O sistema de perfusão utilizado baseou-se nas experiências de BERRY e DALY, 1931; DALY e VON EULER, 1932; PIPER e VANE, 1969, modificado por FONTELES, 1990.

O sistema de perfusão era composto por um frasco Mariotte que continha solução de Krebs Henseleit oxigenada com mistura carbogênica (95% de O₂ e 5% de CO₂), uma bomba de perfusão (Cole Parmer Instrument Co., Chicago, Il) com fluxo previamente calibrado, uma jaqueta com temperatura controlada por banho-maria (MGW Lauda) por onde se infundia a solução na artéria pulmonar associada a um catabolhas. As drogas em estudo foram administradas no reservatório que continha o perfusato e misturadas adequadamente. Para registro dos parâmetros utilizou-se um Fisiógrafo DMP-4B Narco Bio-Systems que era ligado a dois transdutores que eram conectados, respectivamente, à artéria pulmonar e traquéia. O perfusato era coletado em Becker e medido em proveta de 100 ml.

CURVA DE CALIBRAÇÃO DO FLUXO E PRESSÃO NO SISTEMA DE PERFUSÃO

Após limpeza do sistema com água bidestilada e ácido clorídrico, logo após colocava-se solução de Krebs-Henseleit e era feita uma curva de calibração relacionando fluxo x pressão de perfusão para as seguintes velocidades da bomba (2,5; 3,5 e 4,5). A velocidade de calibração da bomba escolhida foi aquela capaz de proporcionar um fluxo de perfusão em torno de 0,7 ml/g/min - 2 ml/g/min.

Fig. 1 - Sistema de Perfusão Pulmonar



- 1 - Bomba de Infusão
- 2 - Fisiógrafo
- 3 - Bomba Respiratória
- 4 - Jaqueta
- 5 - Catabólhas
- 6 - Transdutor de Pressão
- 7 - Transdutor de Pressão
- 8 - Banho Maria
- 9 - Bomba de Perfusão
- 10 - Mariotte
- 11 - Mistura Carbogênica

SOLUÇÕES PERFUSORAS

Utilizou-se a solução de Krebs-Henseleit concentrada 20 x contendo os seguintes sais: NAC – 138 g, KCl – 7 g, KH_2PO_4 – 3,2 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 5,8 g e Uréia – 10 g.

Antes do experimento, retirava-se 100 ml da solução concentrada, completava-se para 2.000 ml de água bidestilada e acrescentava-se: NaHCO_3 – 4,2 g, Glicose – 2 g, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ – 0,74 g. Ajustava-se o pH para 7,3. Em um dos grupos experimentais acrescentou-se Albumina bovina na concentração de 0,25%. Outros aditivos foram acrescentados ao Krebs, conforme delineado no Protocolo Experimental.

TÉCNICA CIRÚRGICA

Os cobaios eram anestesiados com pentobarbital intraperitoneal na dose de 40 mg/Kg peso. A seguir praticava-se uma incisão na região mediana cervical e por divulsão dos tecidos subjacentes isolava-se a traquéia e procedia-se de imediato à canulação com um dispositivo traqueal de aço inoxidável acoplado a uma bomba respiratória (C.F. Palmer England) com uma frequência de 29 incursões pulmonares por minuto e com um volume de ejeção de ar de 50 ml.

Para expor os pulmões, a parte anterior do tórax era seccionada ao longo da junção das costelas com o esterno com a ajuda de um osteótomo. A artéria pulmonar era exposta e canulada com tubo de polietileno rígido e perfundida com seringa contendo solução de perfusão previamente oxigenada. Retirava-se o pulmão, seccionava-se o coração, o pulmão era pesado e transportado para o sistema de perfusão *in vitro* sem interrupção de fluxo.

PROTOCOLO EXPERIMENTAL

Após o transporte dos pulmões para o sistema de perfusão, e após lavagem da preparação para retirada do sangue residual, o experimento dividia-se nos seguintes períodos:

- Período controle (10 min).
- Período de infusão de histamina. Histamina foi injetada em bôlus, nas concentrações de 50, 100, 200 e 400 $\mu\text{g/ml}$ a intervalos de 10 minutos para cada dose, cumulativamente.

- Período controle final, correspondente à lavagem de 10 minutos na ausência do agonista.

Os seguintes grupos experimentais foram conduzidos nesta pesquisa:

- a) Grupo controle, em que a solução perfusora continha somente glicose como substrato. Uma variante deste grupo foi realizada mediante administração de 0,25% de albumina bovina ao líquido perfusor.
- b) Grupo em que os cobaios foram imunizados previamente com ovoalbumina de acordo com o seguinte protocolo:
 - No dia zero os cobaios foram injetados por via intraperitoneal com 1 ml de uma solução diluída em 1/500. A solução matriz, objeto da diluição, era composta de 5 mg de ovoalbumina misturada com 8 ml de uma solução de hidróxido de alumínio de concentração correspondente a 0,63 mg/ml.
 - A dose do agente imunizante foi repetida no dia 14 e 8 dias após os animais foram preparados para perfusão pulmonar.
- c) A seguir um novo grupo foi avaliado, que continha propranolol na concentração de 1 µg/ml.
- d) Um grupo de pulmões perfundidos com solução de Krebs Henseleit contendo 10 µg/ml de indometacina. Para dissolução da indometacina no Krebs, adicionou-se bicarbonato a uma pequena alíquota até pH 8,0; a seguir essa mistura concentrada era adicionada ao tampão de Krebs mantendo-se assim pH final em torno de 7,3 - 7,4.
- e) Outro grupo foi constituído por pulmões perfundidos com solução de Krebs contendo azul de metileno na concentração 8,25 µg/ml.
- f) Pulmões foram perfundidos com solução de Krebs contendo o aminoácido L-arginina na concentração de 3,5 µg/ml.
- g) Grupo constituído por pulmões contendo arginina acrescida de NADPH na concentração de 1 µg/ml.
- h) Pulmões foram perfundidos com solução de Krebs contendo nitroarginina na concentração de 2,5 µg/ml.

- i) Finalmente dois grupos de perfusões continham na solução de Krebs lidocaína (10 µg/ml) ou procaína (10 µg/ml). No primeiro subgrupo perfundiuse 6 pulmões, enquanto no segundo apenas dois.

No primeiro grupo ou grupo controle foram perfundidos 10 pulmões íntegros; nos demais grupos perfundiuse um mínimo de 6 pulmões, salvo quando houve morte dos animais durante o tratamento, como foi o caso do subgrupo imunizado pela ovalbumina que apresentou 4 a 5 pulmões, respectivamente.

O mesmo protocolo para injeções de histamina foi observado para os diversos grupos experimentais.

SUBSTÂNCIAS UTILIZADAS

Os seguintes sais foram empregados nos preparos das soluções estoques: NaCl, KCl, KH_2PO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, NaHCO_3 , $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Merck).

Outras substâncias:

1. Glicose (Merck).
2. Ovoalbumina (Sigma).
3. Histamina (Sigma).
4. Propranolol (Emperial Chemistry).
5. Indometacina (Merck, Sharp and Dohme).
6. Azul de metileno (Sigma).
7. L-arginina (Sigma).
8. Nitroarginina (Sigma).
9. NADPH (Sigma).
10. $\text{Al}(\text{OH})_3$ (CEME).

DETERMINAÇÃO DE RESISTÊNCIA BRÔNQUICA

Um transdutor de pressão, previamente calibrado através de um manômetro aneróide, era ligado ao tubo endotraqueal por meio de uma derivação em T, conforme o diagrama de perfusão da figura 1, e a resistência à pressão positiva induzida

por uma bomba respiratória (Palmer) calibrada em 20 ciclos/minuto, registrava as variações da resistência brônquica em polígrafo NarcoBiosystems (DPM4). Os registros foram feitos em mm.Hg e transformados em cmH₂O, dado que 1 mm.Hg = 1,36 cm.H₂O.

DETERMINAÇÃO DA PRESSÃO DE PERFUSÃO

Acoplado a um T que se ligava ao sistema que perfundia a artéria pulmonar encontrava-se um transdutor de pressão modelo P23 (Statham). Os registros eram feitos em polígrafo Narco Biosystems (DPM4). A pressão de perfusão foi dada em mm.Hg e correspondia a ciclos de sístole e diástole respectivamente, que eram transformados em pressão de perfusão média segundo a fórmula

$$PMA = PD + \frac{PS - PD}{3};$$

PAM – Pressão Arterial Média

PD – Pressão Arterial Mínima

PS – P.A. Máxima (GUYTON, 1971).

DETERMINAÇÃO DO FLUXO

A cada dez minutos o líquido efluente dos pulmões era medido e dividido pelo tempo e pelo peso pulmonar antes da perfusão. O resultado sendo expresso em ml/g/minuto.

DETERMINAÇÃO DO ESCAPE VASCULAR PULMONAR

A medida do quociente de escape foi avaliada pela fórmula de FARA-ROSS, 1972, conforme adaptação feita por FONTELES *et alli*, 1974.

$$\text{Índice de Escape} = \frac{PM - PF}{PM - PI}$$

Onde:

PM = pressão de perfusão máxima

PF = pressão de perfusão imediatamente anterior à lavagem do agente vaso constrictor.

PI = pressão de perfusão controle anterior à infusão do agente vasoconstrictor.

AValiação Estatística

O desenho experimental foi realizado mediante o uso de um controle interno de duração de 10 minutos, ao qual seguia-se iguais períodos de 10 minutos constituídos de concentrações crescentes e cumulativas de histamina, seguido de um período de lavagem final de mais 10 minutos.

A avaliação fenomenológica da broncoconstricção e da pressão de perfusão foi realizada praticando-se uma medida no início, aos 5 minutos e aos 10 minutos. O conjunto dessas medidas foi submetido a tratamento aritmético para determinação das médias e dos erros padrões médios.

Cada grupo experimental foi comparado, a igual período do grupo controle através do uso do teste t de Student, utilizando-se o Stratview e o Kaleidograph para computadores MacIntosh. Quando se avaliou o controle interno utilizou-se um teste t pareado.

REATIVIDADE VASCULAR E BRONQUIOLAR À HISTAMINA EM PULMÕES CONTROLES

Quando pulmões de cobaio são perfundidos com solução de Krebs Henseleit, em sistema aberto a 37°C a pressão de perfusão é baixa, mesmo quando o fluxo de perfusato chega a 2 ml/g/min. Resultados destas observações estão expressas na Figura 2. Durante o período de controle interno com duração de 10 min a pressão de perfusão média permaneceu em torno de 24 mm.Hg. A injeção de doses crescentes de histamina (50, 100, 200 e 400 µg/ml) em bôlus promovem aumento significativo da referida pressão até a dose de 200 µg ($p < 0.001$); daí por diante houve uma tendência ao equilíbrio da pressão a despeito da dose bem maior de histamina (400 µg). O estudo da broncoconstrição revelou valores médios em torno de 60 cm/H₂O. Histamina aumentou significativamente com as doses de 50 e 100 µg ($p < 0.01$) (Figura 3).

Sendo de uso corrente por muitos autores o emprego de albumina bovina nas perfusões isoladas, resolveu-se adicionar esta proteína na concentração de 0.25% ao perfusato. Quando se comparou esses resultados com os do grupo controle (Figura 4), o estudo da resistência brônquica demonstrou que na maioria das doses como no período controle não houve diferença estatística; em apenas uma em cada três medidas das doses de 200 e 400 µg houve diferença estatística ($p < 0.01$). No tocante à pressão de perfusão observou-se que a albumina aumenta significativamente este parâmetro em todos períodos medidos e mesmo no controle interno ($p < 0.001$) (Figura 5). A comparação entre os parâmetros de pressão média destes dois grupos está expresso na Figura 6 e evidencia a magnitude dessas diferenças já que se fazem observar mesmo durante os períodos controles.

PULMÕES DE ANIMAIS IMUNIZADOS PELA OVOALBUMINA

A imunização dos animais pela ovoalbumina em meio contendo hidróxido de alumínio, revelou uma significativa diminuição da broncoconstrição em relação aos controles, acompanhado de um claro aumento da pressão de perfusão (Figuras 7A, 7B e 8). Vale salientar que neste grupo experimental tivemos dois subgrupos correspondentes a períodos diferentes de imunização, com lotes diferentes de cobaios mas que apresentam resultados absolutamente semelhantes (Figuras 9A e 9B), o

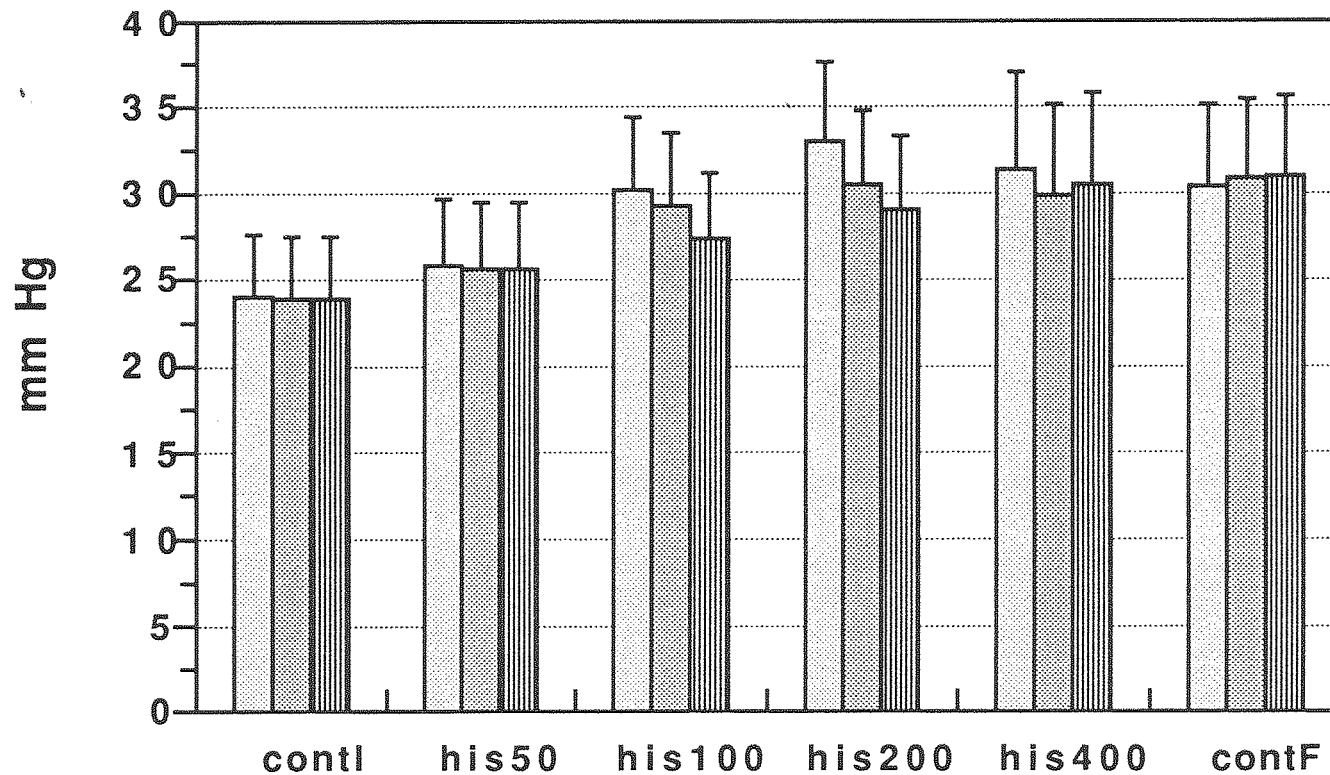


Fig 02 - Pulmões isolados de cobaio perfundidos com solução de Krebs-Henseleit.

- a) Resultados expressos em média \pm epm (n=10)
- b) ContI = controle inicial, ContF = controle final
- c) His = Histamina expresso em μ g
- d) Observações em períodos de 10 min.

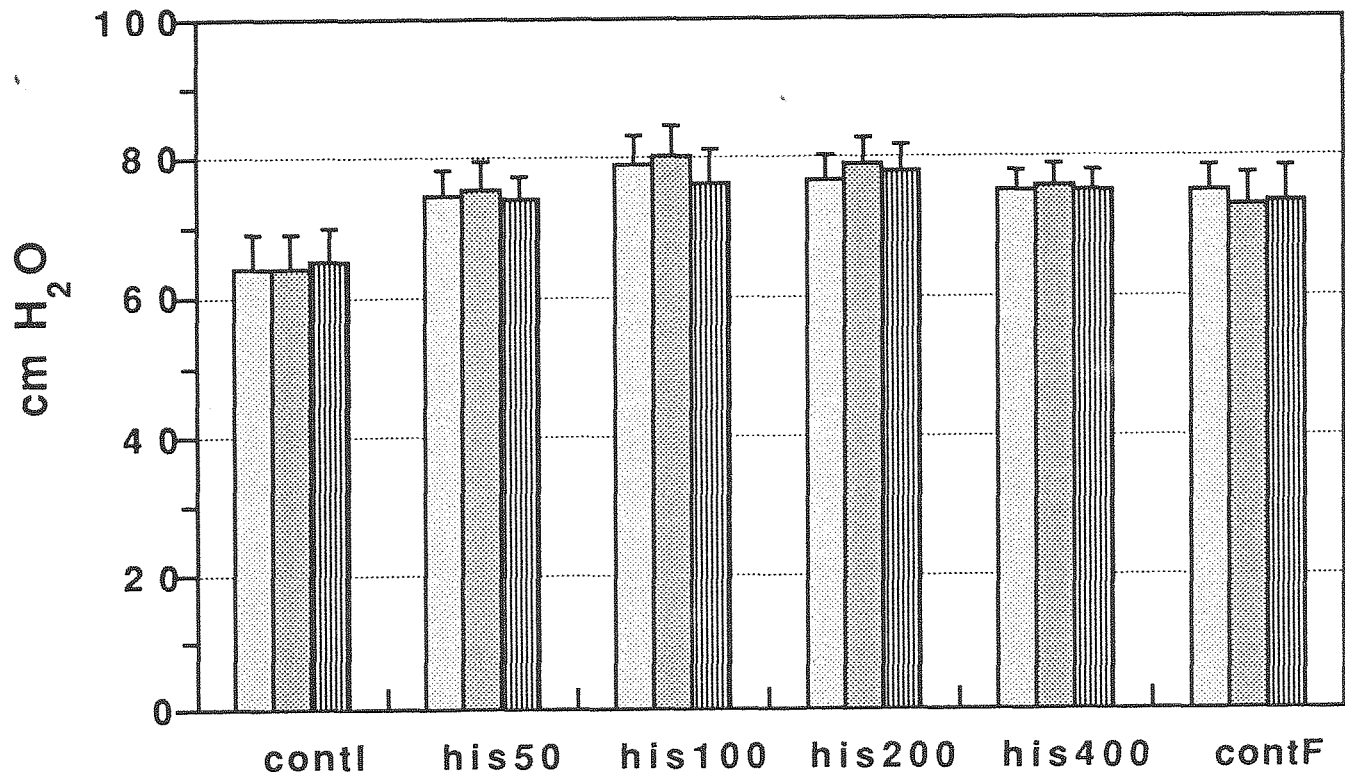


Fig 03- Pulmões isolados de cobaio perfundidos com solução de Krebs-Henseleit.

- a) Resultados expressos em média \pm epm (n=10)
- b) ContI = controle inicial, ContF = controle final
- c) His = Histamina expresso em μ g
- d) Observações em períodos de 10 min.

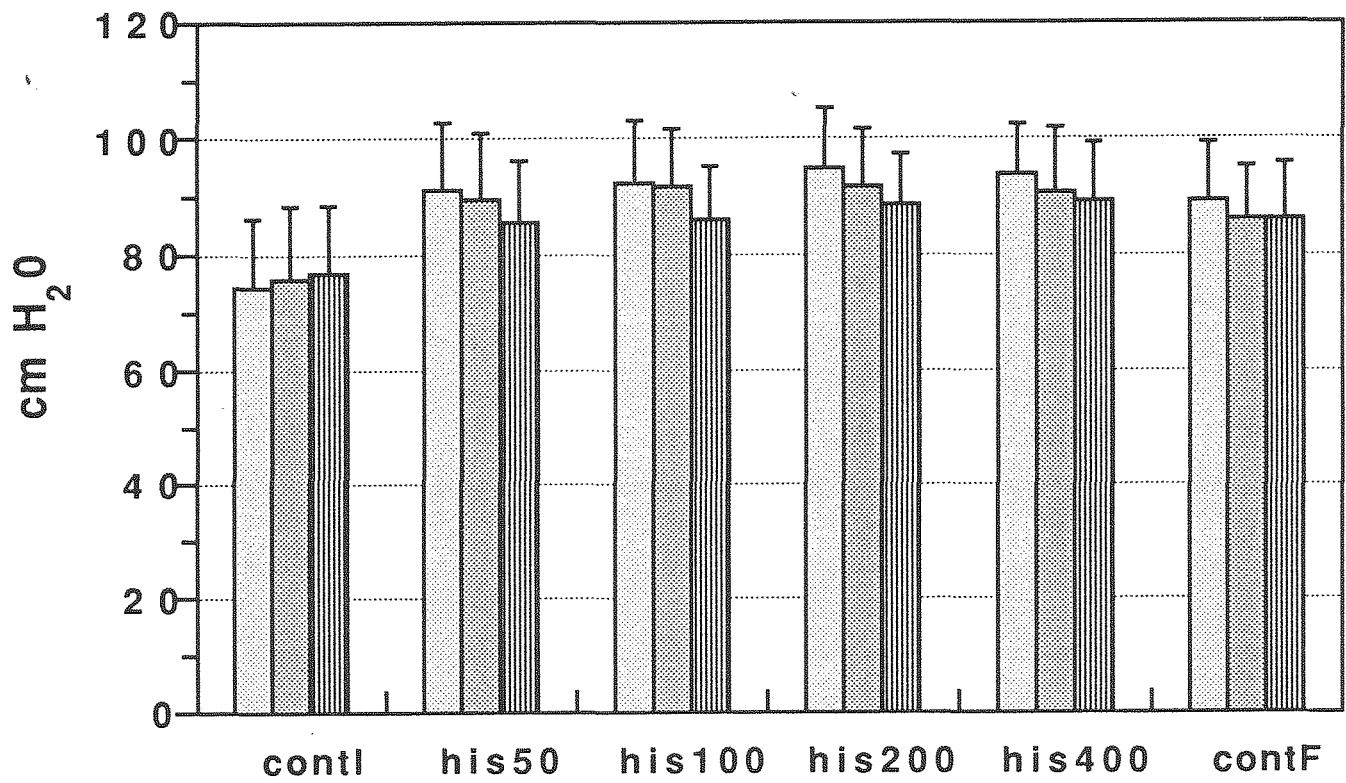


Fig 04- Pulmões isolados de cobaio perfundidos com solução de Krebs-Henseleit contendo 0.25% de albumina.

- a) Resultados expressos em média \pm epm (n=6)
- b) ContI = controle inicial, ContF = controle final
- c) His = Histamina expresso em μ g
- d) Observações em períodos de 10 min.

Albumina - Pressão de Perfusão

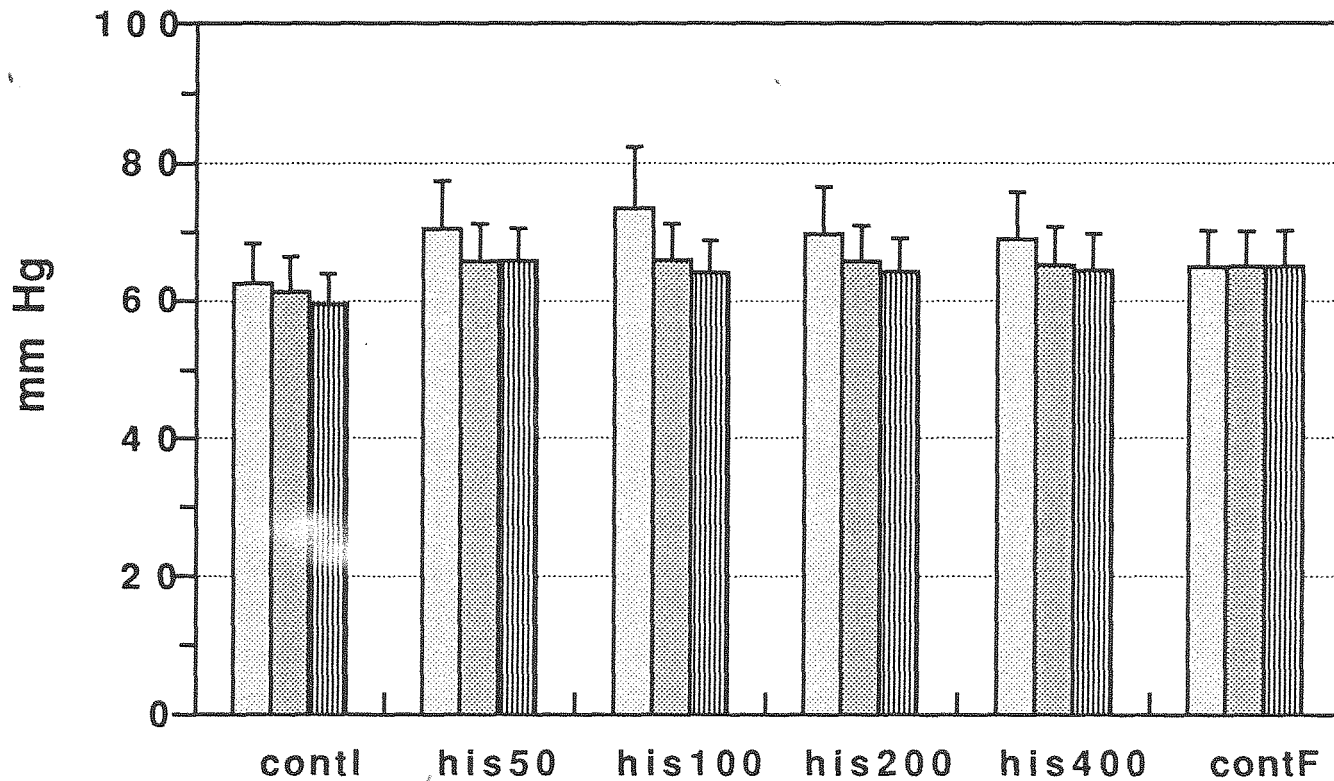


Fig 05- Pulmões isolados de cobaio perfundidos com solução de Krebs-Henseleit contendo 0.25% de albumina.

- a) Resultados expressos em média \pm epm (n=6)
- b) ContI = controle inicial, ContF = controle final
- c) His = Histamina expresso em μ g
- d) Observações em períodos de 10 min.

CONTROLE - ALBUMINA (Pressão de Pertusao)

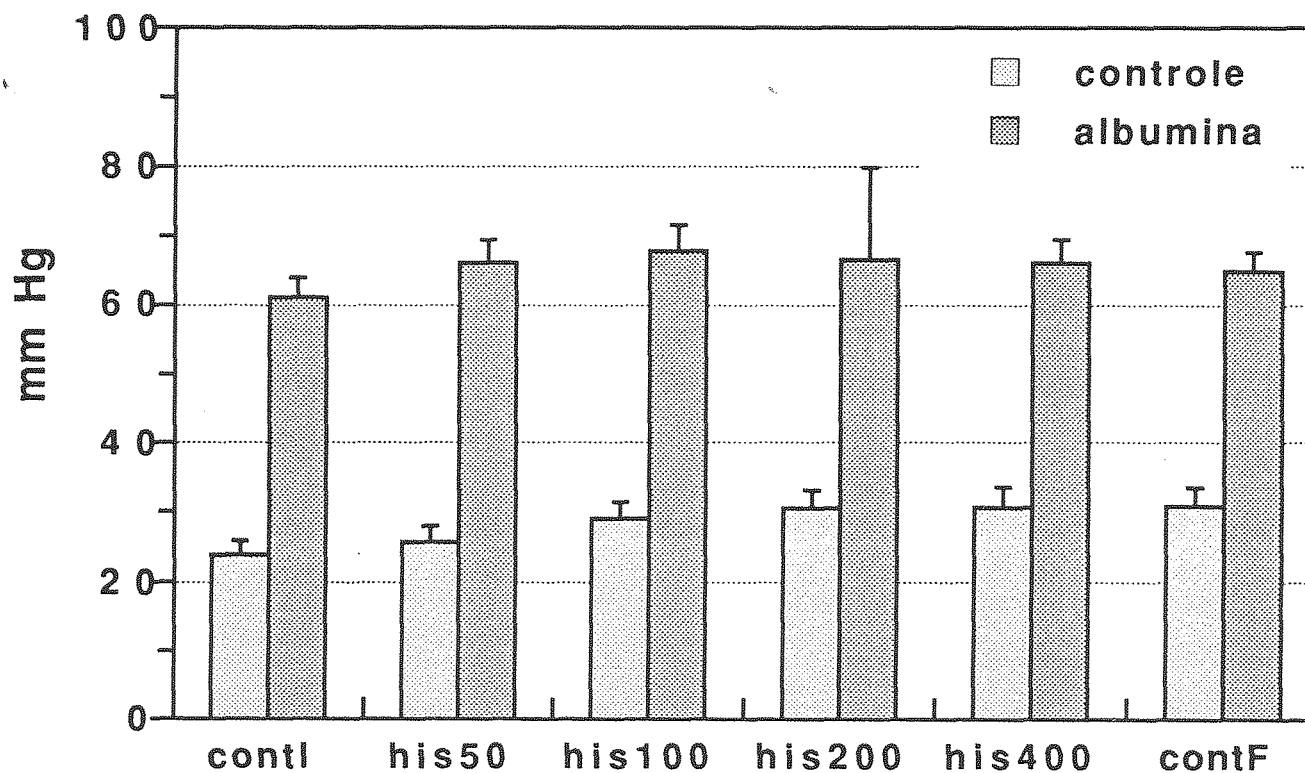


Fig 06- Pulmões isolados de cobaio perfundidos com solução de Krebs-Henseleit contendo 0.25% de albumina.

- a) Resultados expressos em média \pm epm
- b) ContI = controle inicial, ContF = controle final
- c) His = Histamina expresso em μ g
- d) Observações em períodos de 10 min.
- e) Barras = 3 medidas

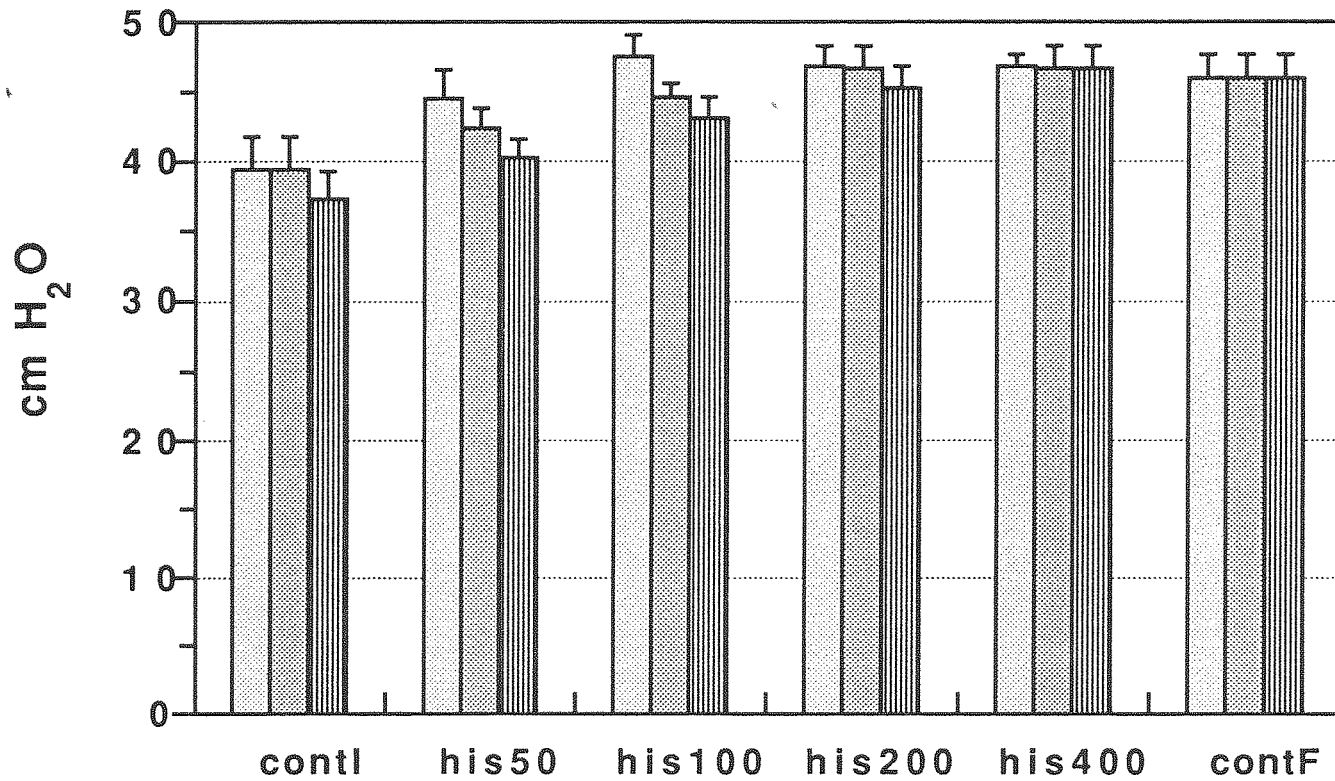


Fig 07A- Pulmões isolados de cobaio perfundidos com solução de Krebs-Henseleit.

- a) Resultados expressos em média \pm epm (n=6)
- b) ContI = controle inicial, ContF = controle final
- c) His = Histamina expresso em μ g
- d) Observações em períodos de 10 min.

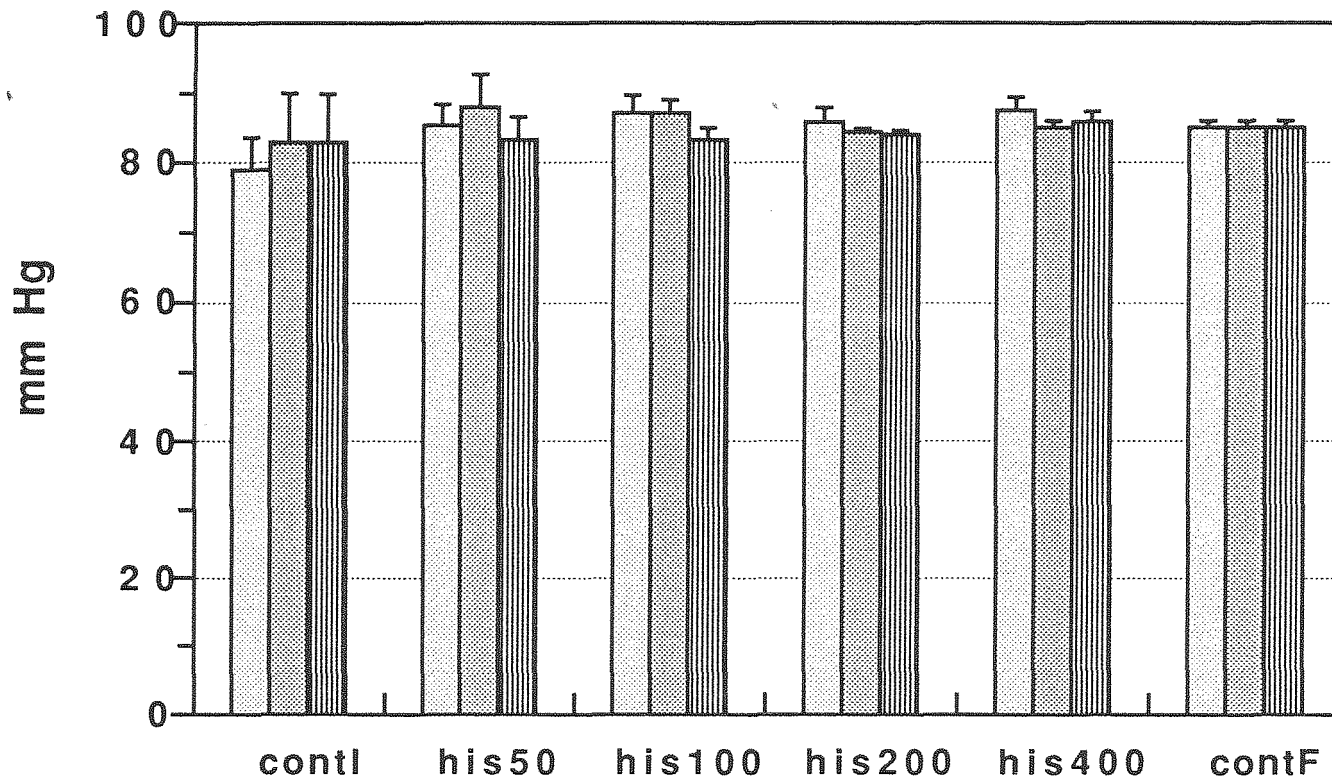


Fig 07B- Pulmões isolados de cobaio perfundidos com solução de Krebs-Henseleit.

- a) Resultados expressos em média \pm epm (n=6)
- b) ContI = controle inicial, ContF = controle final
- c) His = Histamina expresso em μ g
- d) Observações em períodos de 10 min.

Controle - Imun.G1 (Pressão de Perfusão)

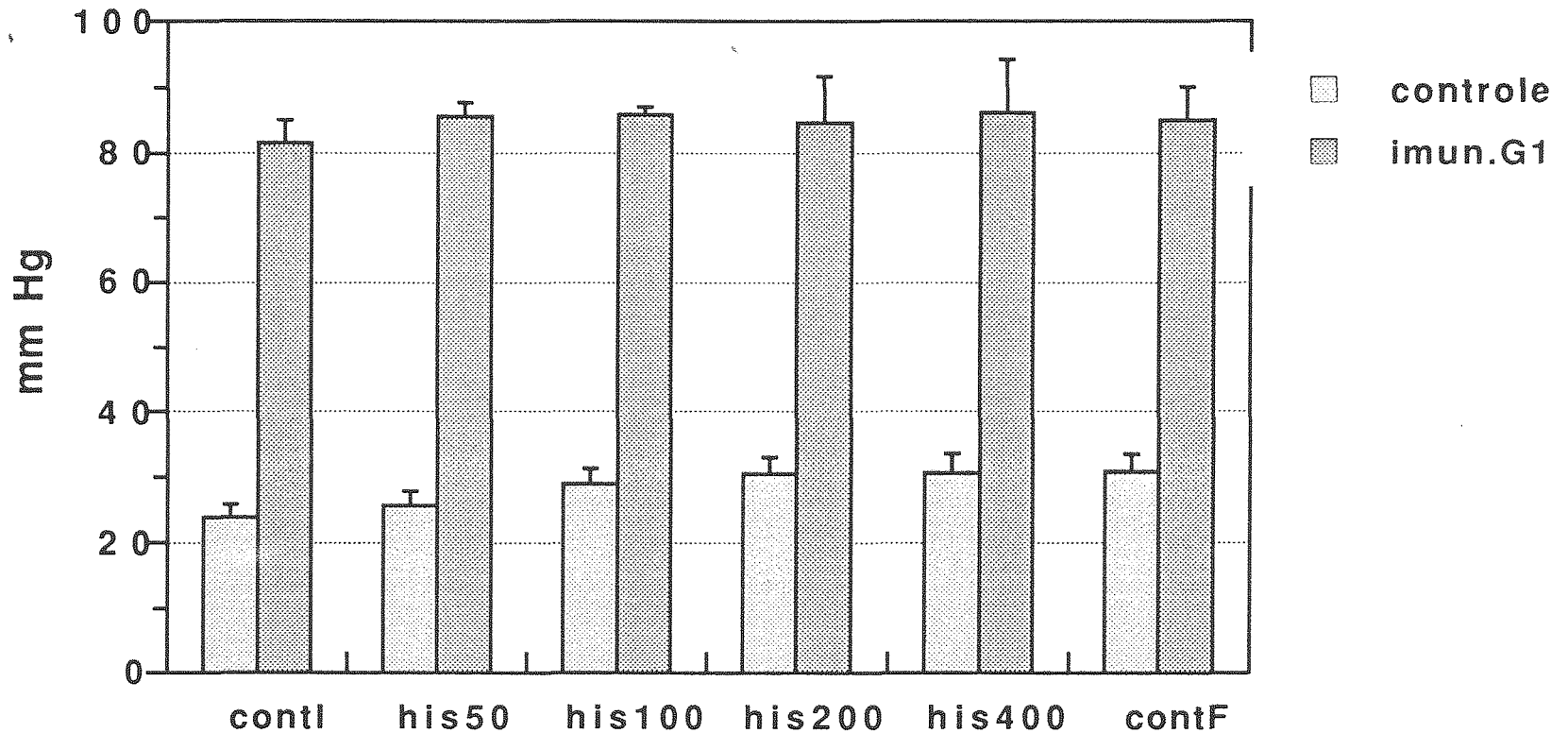


Fig 08- Pulmões isolados de cobaia perfundidos com solução de Krebs-Henseleit.

- a) Resultados expressos em média \pm epm
- b) ContI = controle inicial, ContF = controle final
- c) His = Histamina expresso em μg
- d) Observações em períodos de 10 min.
- e) Barras = 3 medidas

Controle - Imun.G2 (Pressão de Perfusão)

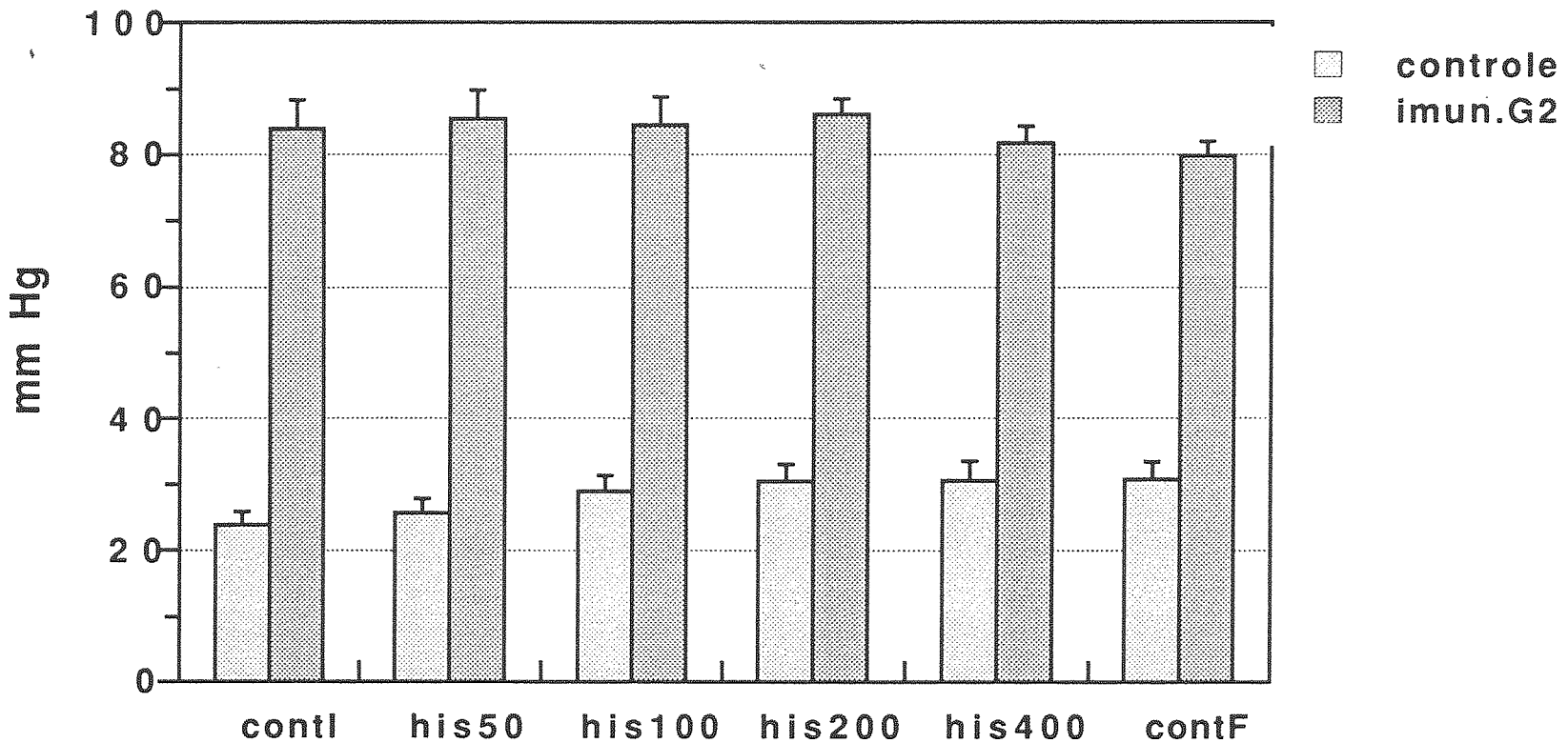


Fig 09A- Pulmões isolados de cobaio perfundidos com solução de Krebs-Henseleit.

- a) Resultados expressos em média \pm epm
- b) ContI = controle inicial, ContF = controle final
- c) His = Histamina expresso em μ g
- d) Observações em períodos de 10 min.
- e) Barras = 3 medidas

Controle - Imun.G2 (Broncoconstricção)

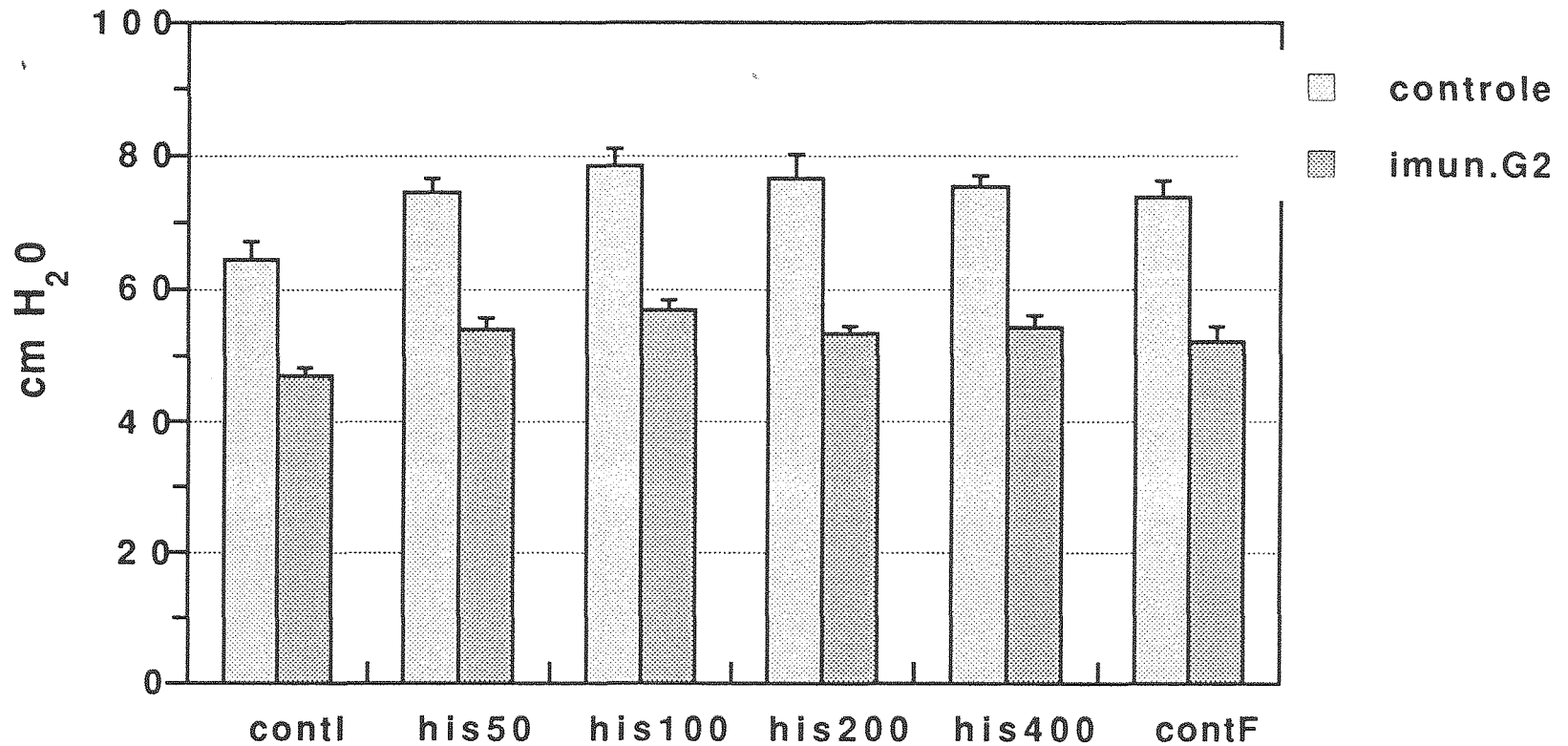


Fig 09B- Pulmões isolados de cobaio perfundidos com solução de Krebs-Henseleit.

- a) Resultados expressos em média \pm epm
- b) ContI = controle inicial, ContF = controle final
- c) His = Histamina expresso em μ g
- d) Observações em períodos de 10 min.
- e) Barras = 3 medidas

que reforça a idéia de se tratar de um fenômeno real e não fortuito. Aqui, mais uma vez o ponto máximo foi o grande aumento da resistência vascular (Figuras 9).

PULMÕES DE COBAIOS TRATADOS PELO PROPRANOLOL

Quando propranolol foi administrado na dose de 1 µg/ml ao banho perfusor a bronco-resistência foi ligeiramente maior que a do grupo controle. Entretanto, a pressão de perfusão comparada a dos controles foi significativamente maior ($p < 0.001$), conforme demonstrado na Figura 10. Verifica-se também que este aumento foi constante em todos os tempos medidos. A broncoconstrição induzida pela histamina foi estatisticamente diferente do controle interno já a partir da dose de 50 µg, daí por diante nivelando-se às demais doses (Figura 10). Para maior esclarecimento uma comparação foi feita com o grupo controle na Figura 11.

PULMÕES DE COBAIOS TRATADOS PELA INDOMETACINA

Quando indometacina foi adicionada ao perfusato na concentração de 10 µg/ml observou-se uma potenciação do efeito broncoconstrictor para todas as doses de histamina usadas em relação ao grupo controle ($p < 0.001$), efeito que permaneceu mesmo após a retirada da droga (Hist.) durante o período de lavagem no chamado controle final (Figuras 12). Entretanto o maior efeito da indometacina se fez observar na pressão de perfusão, conforme demonstrado na Figura 13 ($p < 0.01 - p < 0.0001$), aonde são comparadas às pressões médias do grupo controle.

PULMÕES DE COBAIOS TRATADOS PELO AZUL DE METILENO

Neste grupo de experiências, azul de metileno foi administrado ao perfusato na dose de 8.25 µg/ml, com o propósito de avaliar a importância do guanilato ciclase sobre os parâmetros estudados. A bronco-reatividade nestes pulmões demonstrou uma intensificação da resistência já no período controle e dando continuidade subsequente com as doses cumulativas de histamina ($p < 0.0001$), especialmente quando se compara ao grupo controle (Figura 14). A avaliação do controle interno em relação às doses de 50, 100 e 200 µg de histamina neste bloco experimental revelou alta significância estatística ($p < 0.0001$). Já a comparação com a pressão de perfusão, revelou uma surpreendente diferença em relação ao grupo controle. A pressão nestes pulmões mais que duplicou, ganhando alta resistência ($p < 0.0001$) (Figuras 15 e 16).

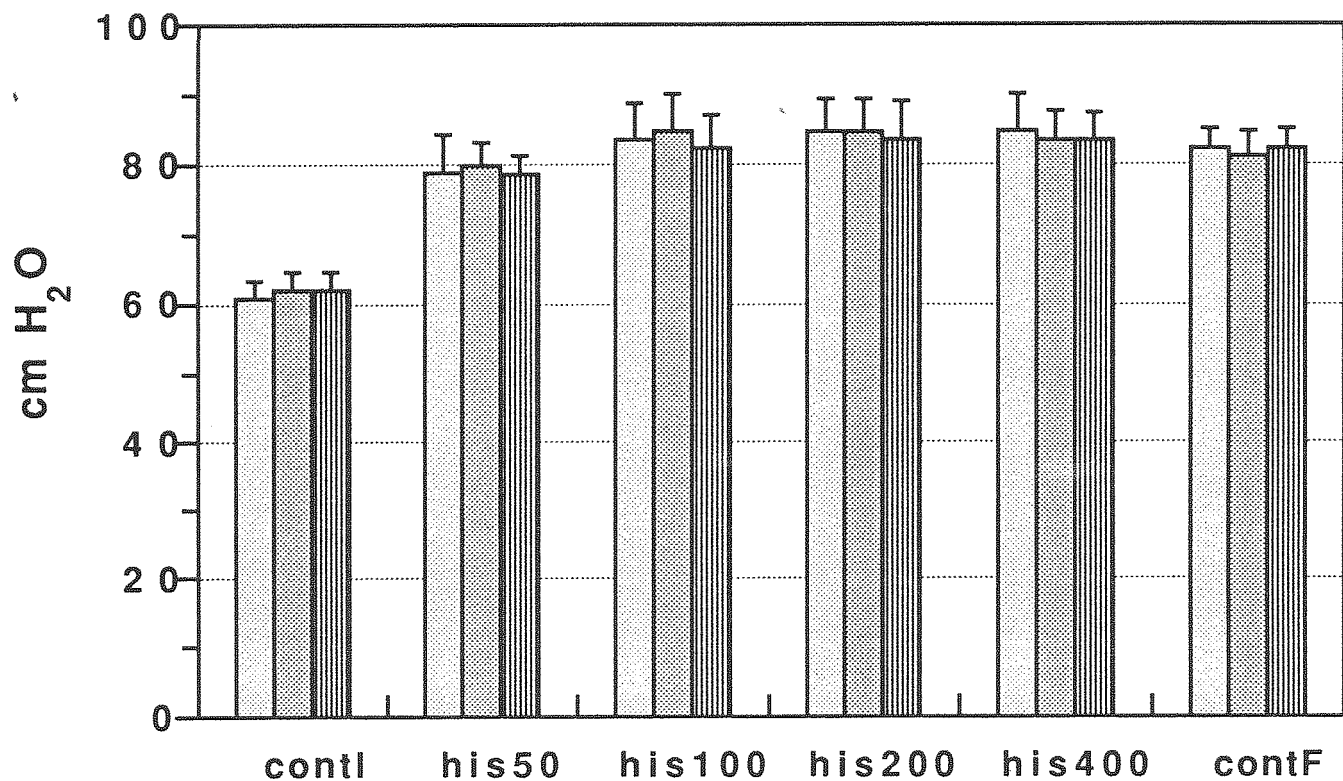


Fig 10- Pulmões isolados de cobaio perfundidos com solução de Krebs-Henseleit contendo propranolol (1µg/ml).

- a) Resultados expressos em média \pm epm (n=6)
- b) ContI = controle inicial, ContF = controle final
- c) His = Histamina expresso em μ g
- d) Observações em períodos de 10 min.

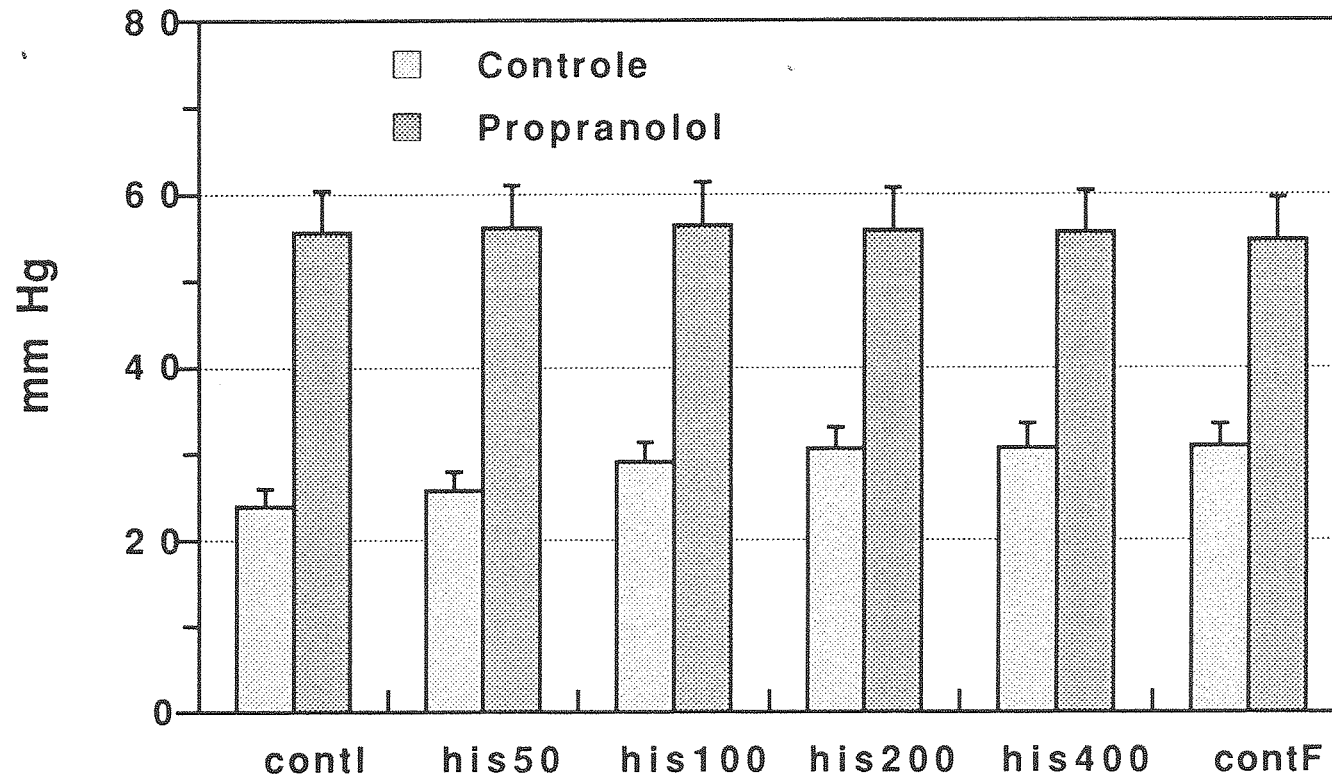


Fig 11- Pulmões isolados de cobaio perfundidos com solução de Krebs-Henseleit.

- a) Resultados expressos em média \pm epm
- b) ContI = controle inicial, ContF = controle final
- c) His = Histamina expresso em μ g
- d) Observações em períodos de 10 min.
- e) Barras = 3 medidas

Controle - indometacina (Broncoconstricção)

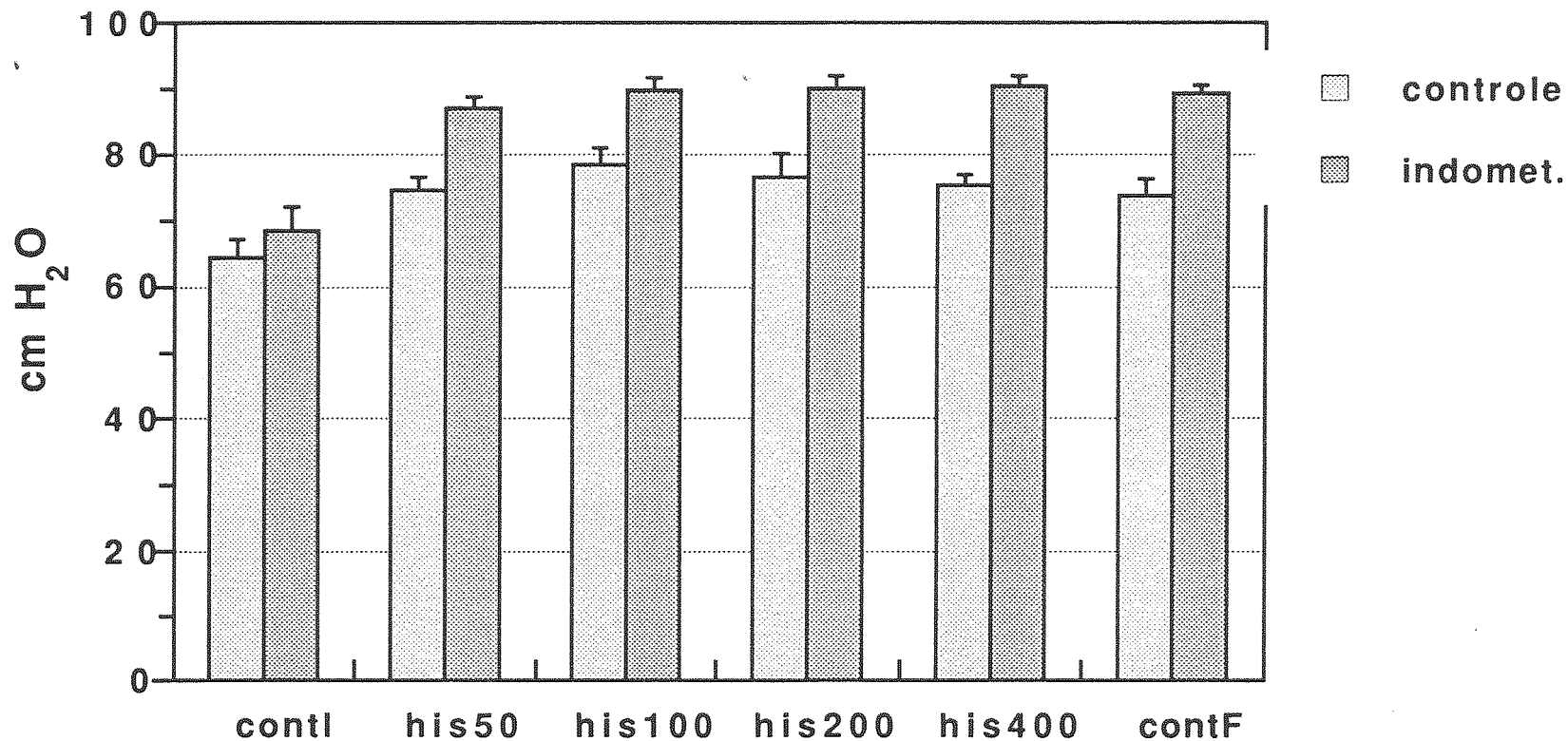


Fig 12- Pulmões isolados de cobaio perfundidos com solução de Krebs-Henseleit.

- a) Resultados expressos em média \pm epm
- b) ContI = controle inicial, ContF = controle final
- c) His = Histamina expresso em μ g
- d) Observações em períodos de 10 min.
- e) Barras = 3 medidas

Controle - Indometacina (Pressão de Perfusão)

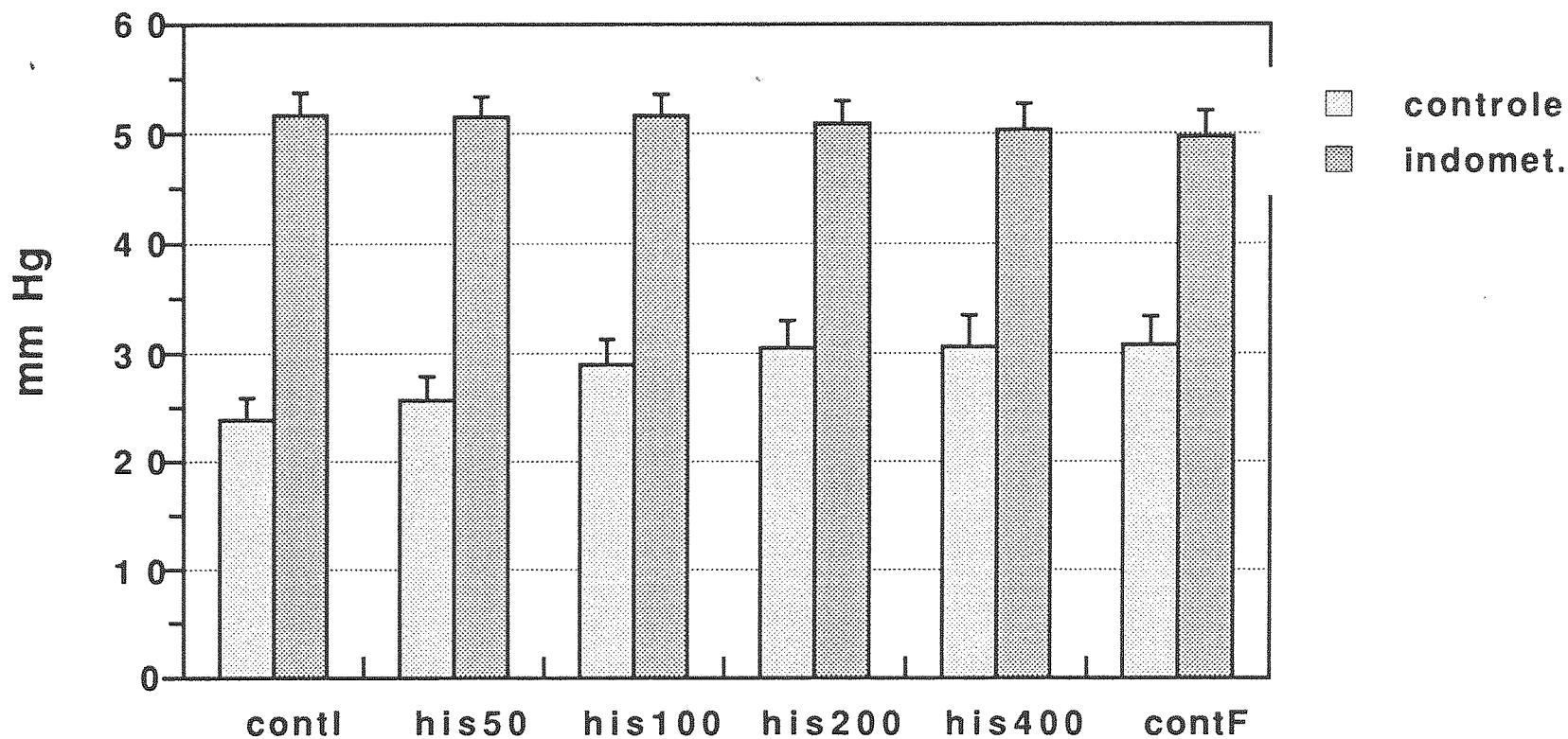


Fig 13- Pulmões isolados de cobaio perfundidos com solução de Krebs-Henseleit.

- a) Resultados expressos em média \pm epm
- b) ContI = controle inicial, ContF = controle final
- c) His = Histamina expresso em μg
- d) Observações em períodos de 10 min.
- e) Barras = 3 medidas

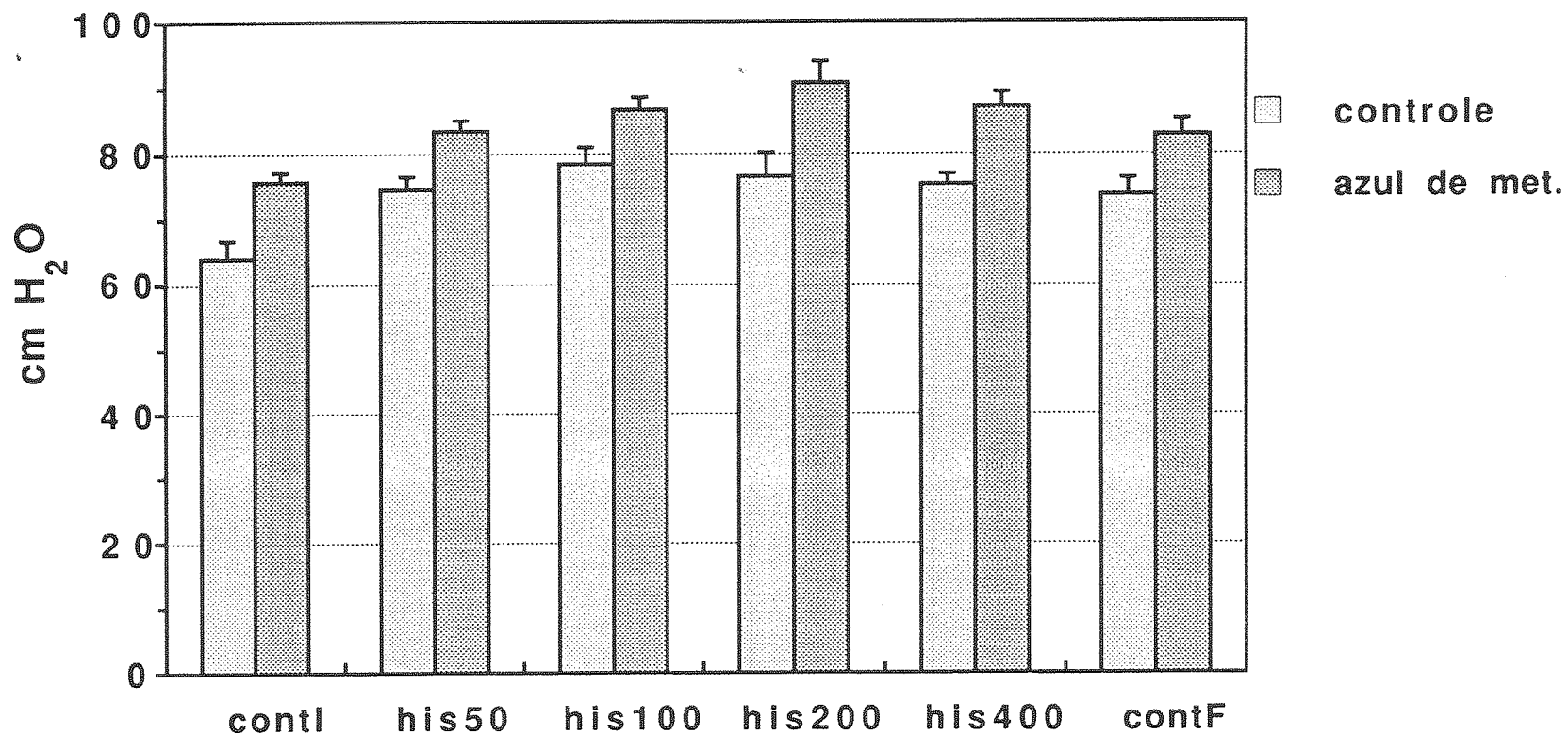


Fig 14- Pulmões isolados de cobaia perfundidos com solução de Krebs-Henseleit.

- a) Resultados expressos em média \pm epm
- b) ContI = controle inicial, ContF = controle final
- c) His = Histamina expresso em μ g
- d) Observações em períodos de 10 min.
- e) Barras = 3 medidas

Controle - Azul de metileno (Pressão de Perfusão)

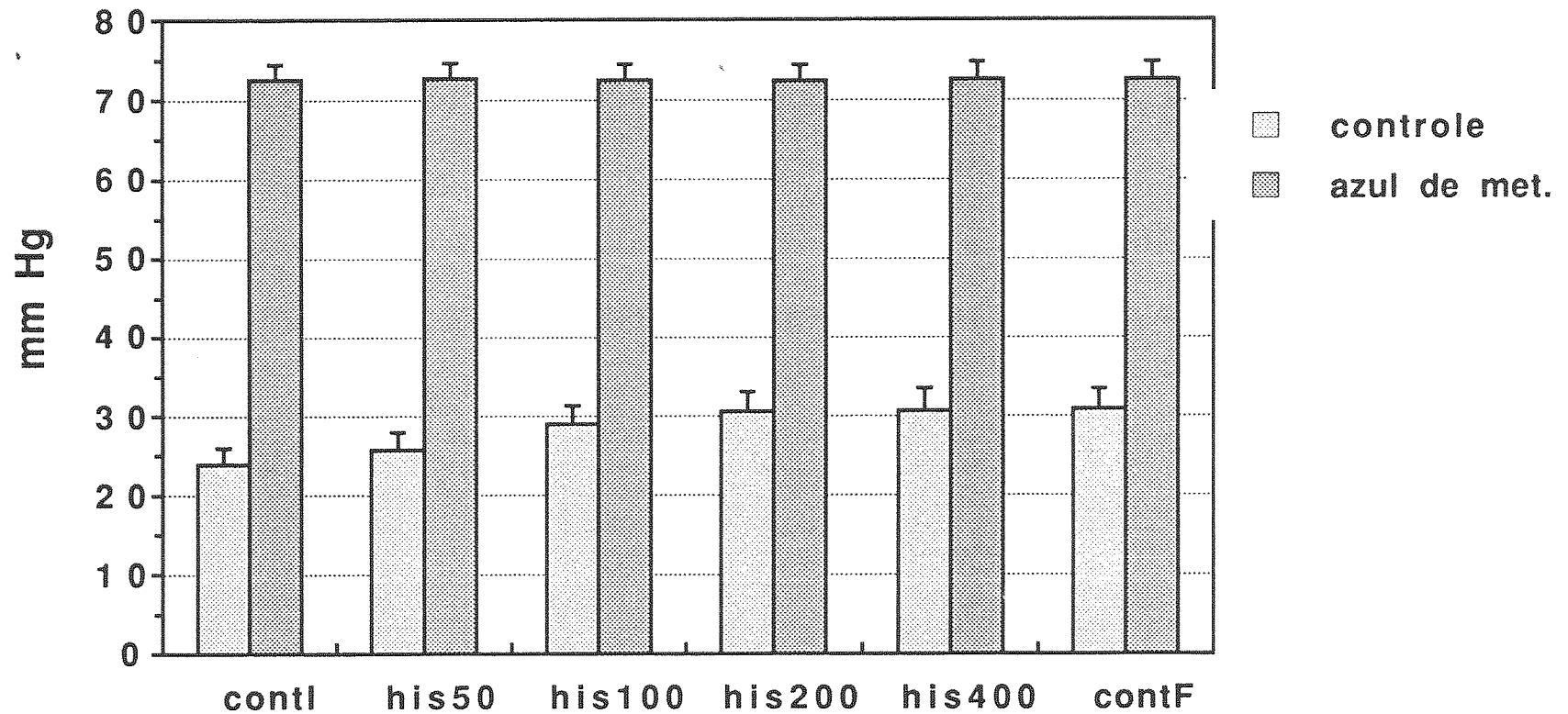


Fig 15- Pulmões isolados de cobaio perfundidos com solução de Krebs-Henseleit.

- a) Resultados expressos em média \pm epm
- b) ContI = controle inicial, ContF = controle final
- c) His = Histamina expresso em μ g
- d) Observações em períodos de 10 min.
- e) Barras = 3 medidas

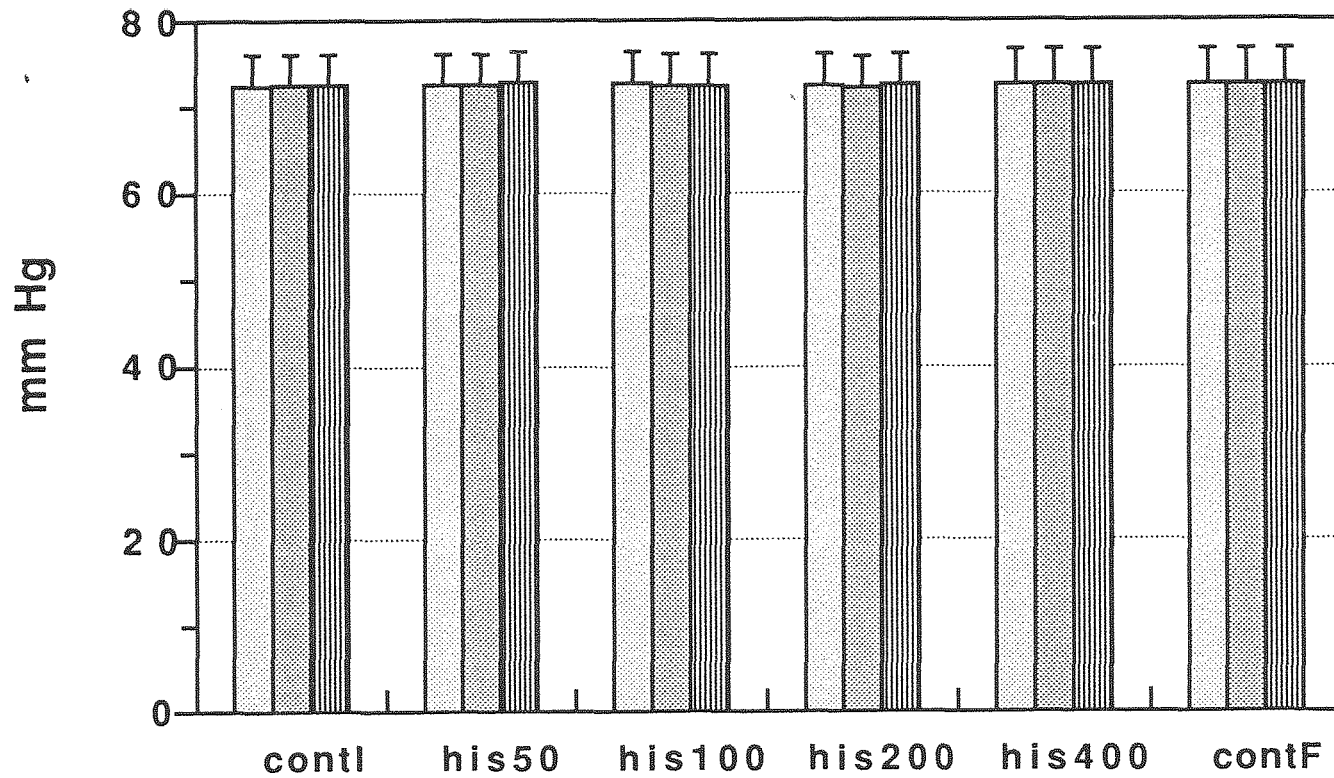


Fig 16- Pulmões isolados de cobaio perfundidos com solução de Krebs-Henseleit contendo azul de metileno ($8.25\mu\text{g/ml}$).

- a) Resultados expressos em média \pm epm (n=6)
- b) ContI = controle inicial, ContF = controle final
- c) His = Histamina expresso em μg
- d) Observações em períodos de 10 min.

PULMÕES DE COBAIOS PERFUNDIDOS NA PRESENÇA DE ARGININA

L-arginina foi adicionada neste grupo reator na dose de 3.5 µg/ml, com o propósito de se fornecer substrato para a maior formação de NO. A broncoconstrição deste grupo foi estatisticamente diferente do controle ($p < 0.0001$), promovendo o aminoácido uma diminuição deste parâmetro (Figura 17). Por semelhante modo, o controle interno, determinado na ausência de histamina é diferente daqueles parâmetros em presença deste autacóide ($p < 0.001$) (Figura 17).

A pressão de perfusão foi elevada igualmente neste grupo, mantendo-se assim desde os primeiros minutos de perfusão até ao final do experimento, sem sofrer variações significantes na média. Quando se comparou esses dados aos do grupo controle eles foram significativamente maiores ($p < 0.0001$).

PULMÕES DE COBAIOS PERFUNDIDOS NA PRESENÇA DE ARGININA + NADPH

NADPH é um cofator importante para a síntese de NO e foi aqui utilizado para efeito comparativo com a arginina sozinha. A presença de NADPH (1 µg/ml) diminuiu de maneira significativa a broncoconstrição, tanto em relação ao controle interno como quando comparado aos pulmões que continham somente arginina ($p < 0.0001$). Bastante interessantes foram as observações de que a broncoconstrição induzida pela histamina foi literalmente inibida pela associação da arginina com o cofator (Figura 17). Contudo, a pressão de perfusão se mostrou significativamente maior que os controles ($p < 0.0001$), mas em tudo semelhantes ao grupo arginina, com médias ligeiramente abaixo destes (Figura 18).

PULMÕES DE COBAIOS PERFUNDIDOS NA PRESENÇA DE NITROARGININA

A adição de nitroarginina ao perfusato, na concentração de 2.5 µg/ml, um análogo da arginina e bloqueador da NO-sintase, manteve a broncoconstrição no nível do grupo controle, isto é, não modificou este parâmetro, agindo assim opostamente em relação ao sistema arginina NADPH (Figuras 19 e 20). Todavia as ações sobre a resistência arterial pulmonar foram exageradamente grandes conforme está demonstrado na Figura 21. Quando a pressão de perfusão é comparada aos controles verifica-se um aumento de mais de três vezes neste parâme-

Arginina/NADPH - Arginina (BRONCOCONSTRIÇÃO)

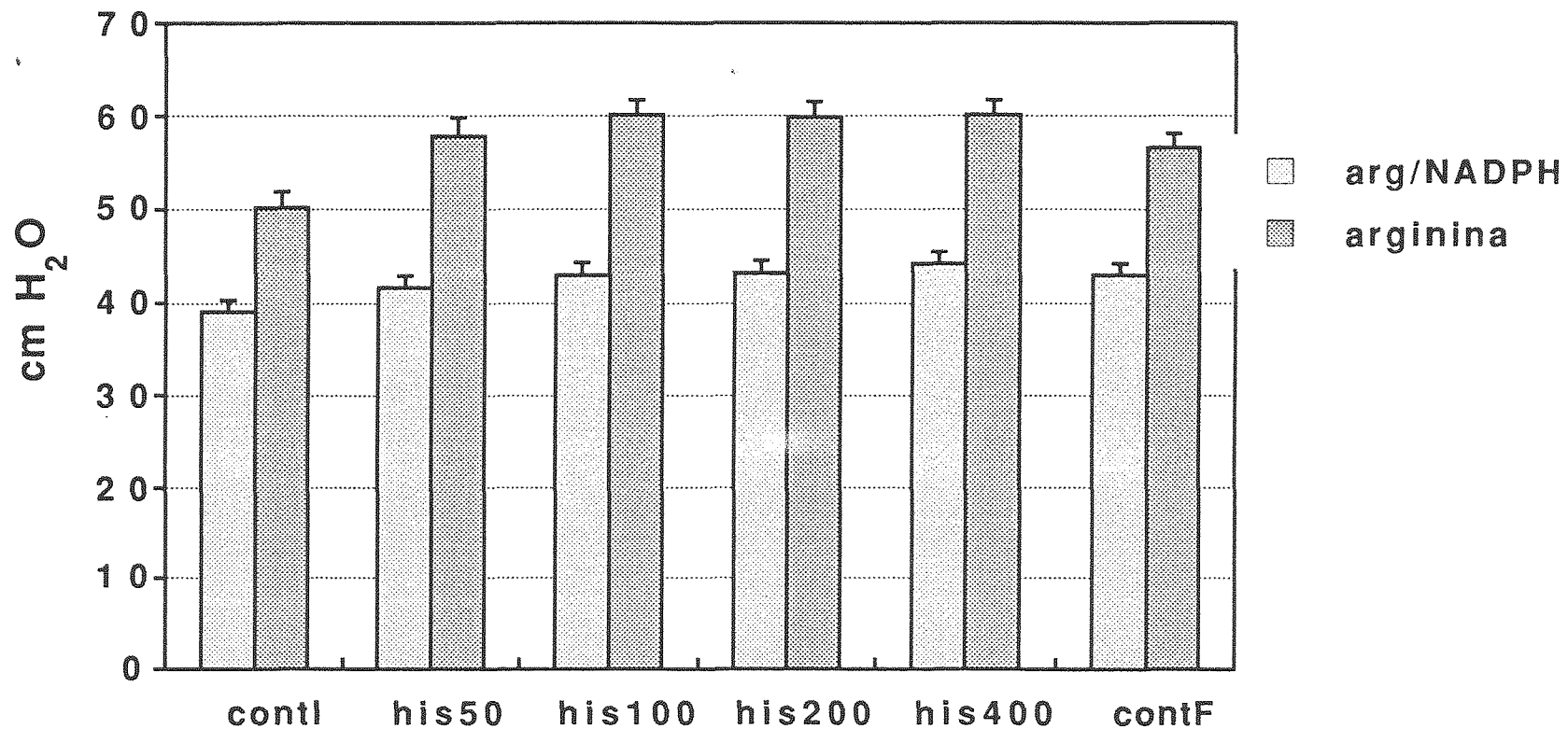


Fig 17- Pulmões isolados de cobaio perfundidos com solução de Krebs-Henseleit.

- a) Resultados expressos em média \pm epm
- b) ContI = controle inicial, ContF = controle final
- c) His = Histamina expresso em μ g
- d) Observações em períodos de 10 min.
- e) Barras = 3 medidas

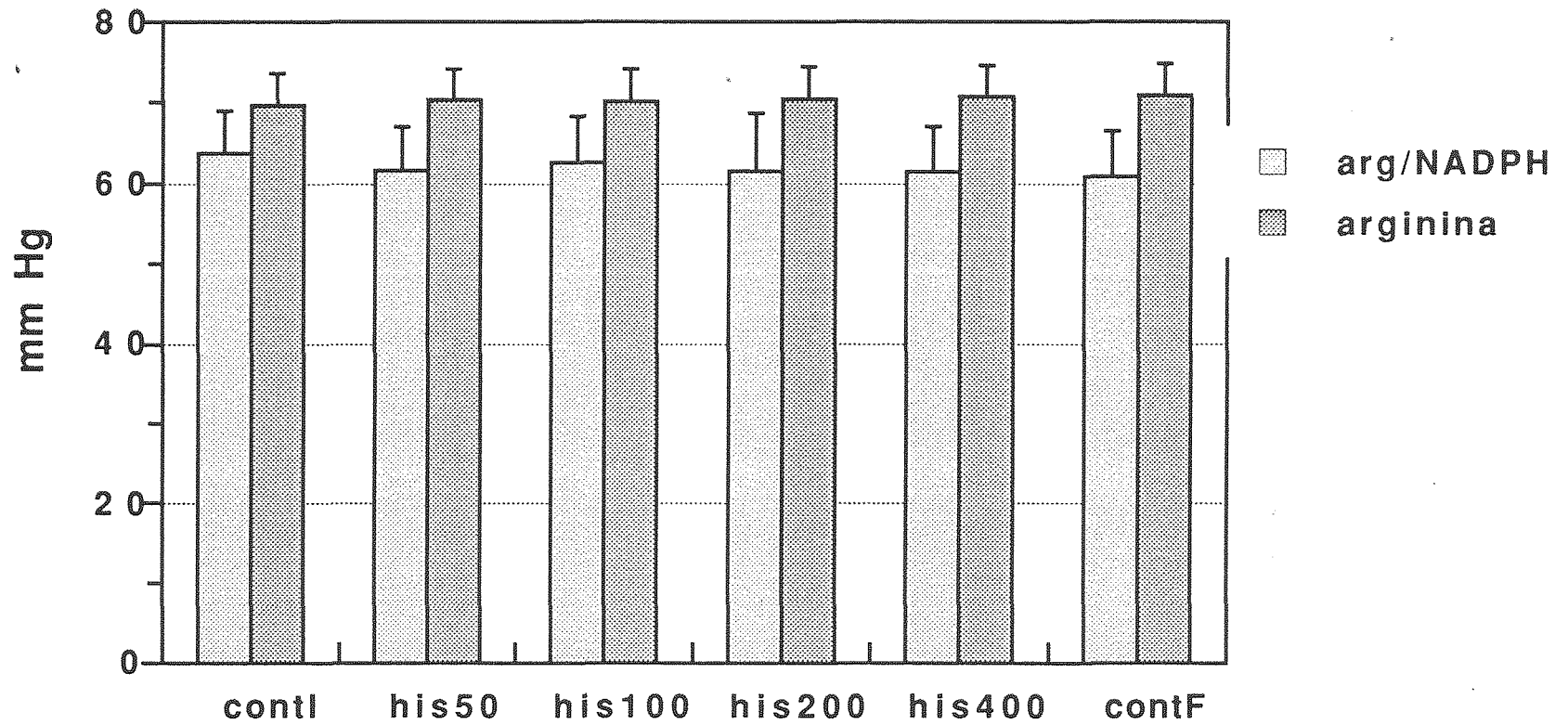


Fig 18- Pulmões isolados de cobaio perfundidos com solução de Krebs-Henseleit.

- a) Resultados expressos em média \pm epm
- b) ContI = controle inicial, ContF = controle final
- c) His = Histamina expresso em μ g
- d) Observações em períodos de 10 min.
- e) Barras = 3 medidas

Arginina/NADPH - Nitroarginina (Broncoconstricção)

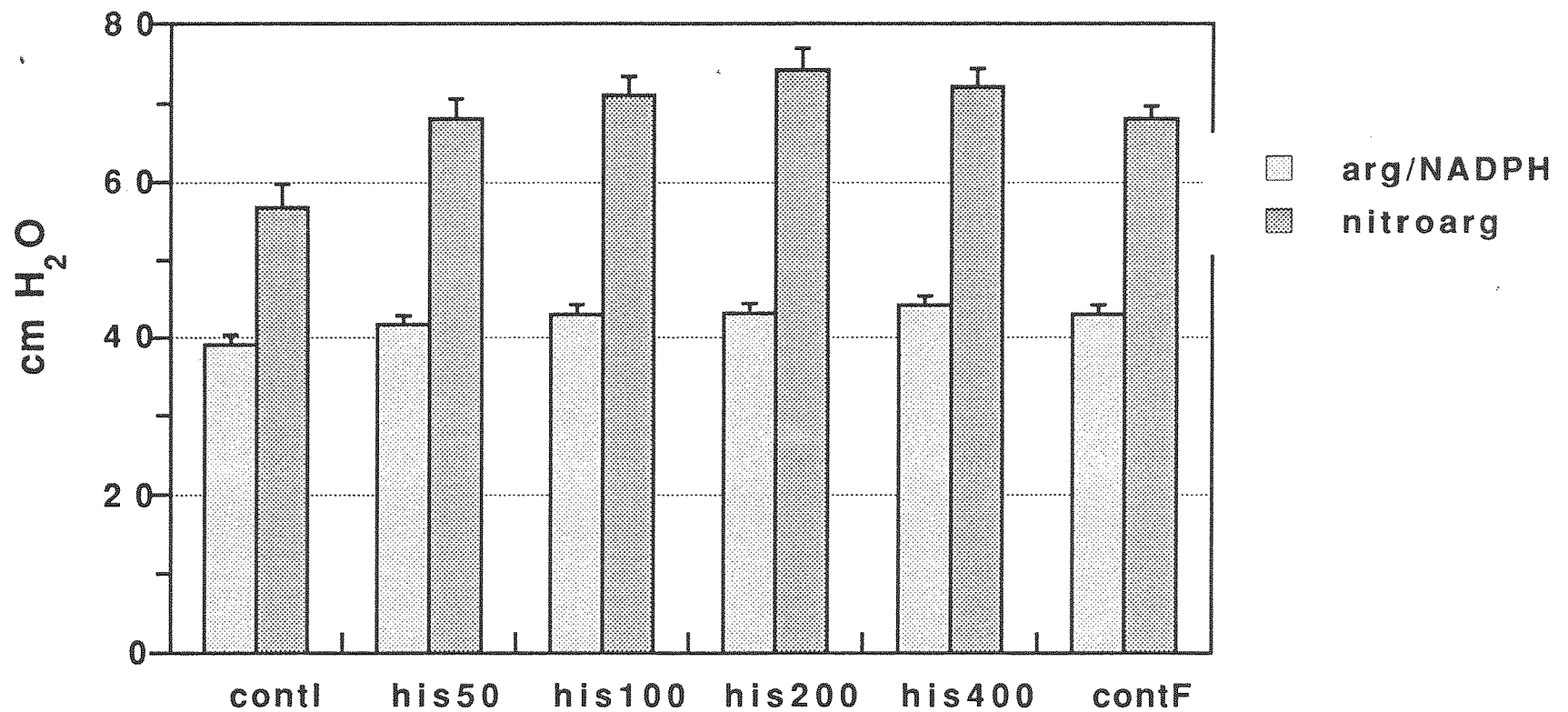


Fig 19- Pulmões isolados de cobaio perfundidos com solução de Krebs-Henseleit.

- Resultados expressos em média \pm epm
- ContI = controle inicial, ContF = controle final
- His = Histamina expresso em μ g
- Observações em períodos de 10 min.
- Barras = 3 medidas

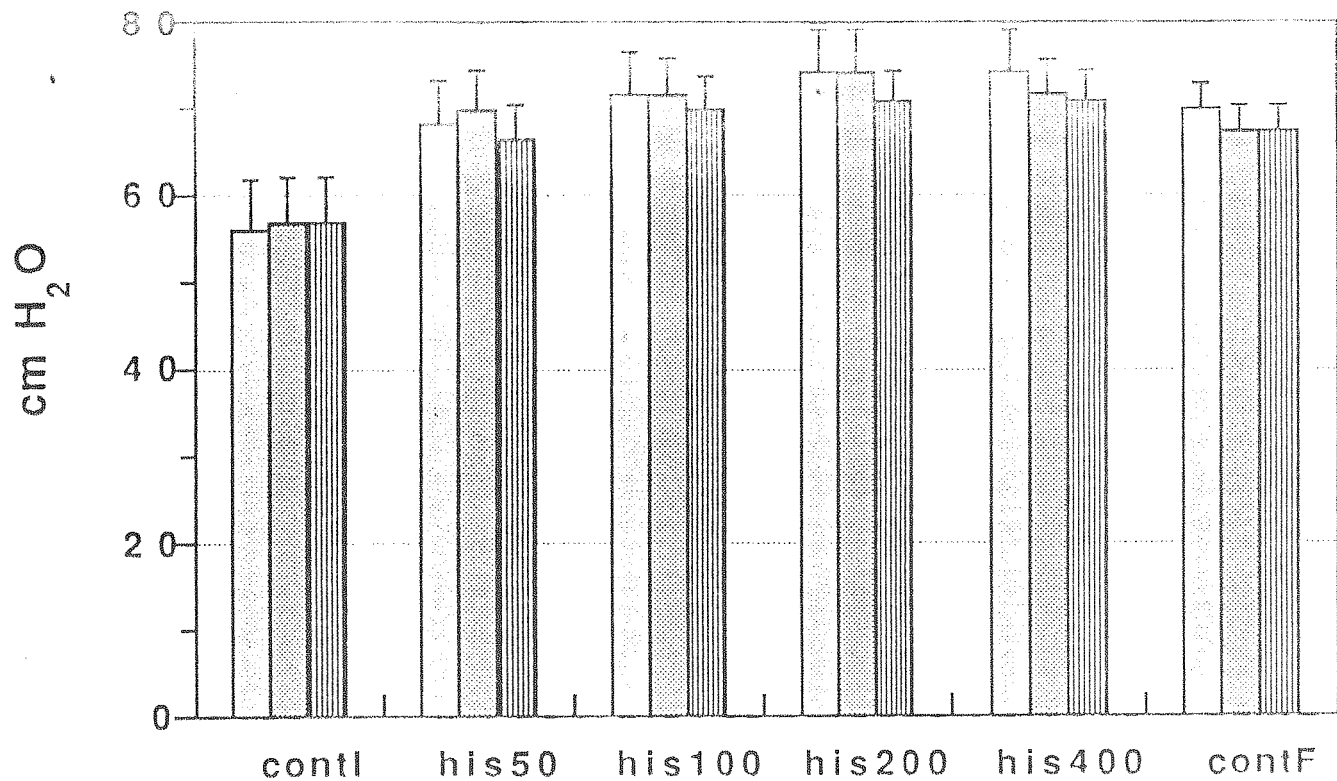


Fig 20 - Pulmões isolados de cobaio perfundidos com solução de Krebs-Henseleit.

a) Resultados expressos em média \pm epm

b) Cont = controle

c) His = Histamina expresso em μ g

d) Grupo Nitroarginina

Arginina/NADPH - Nitroarginina (Pressão de Perfusão)

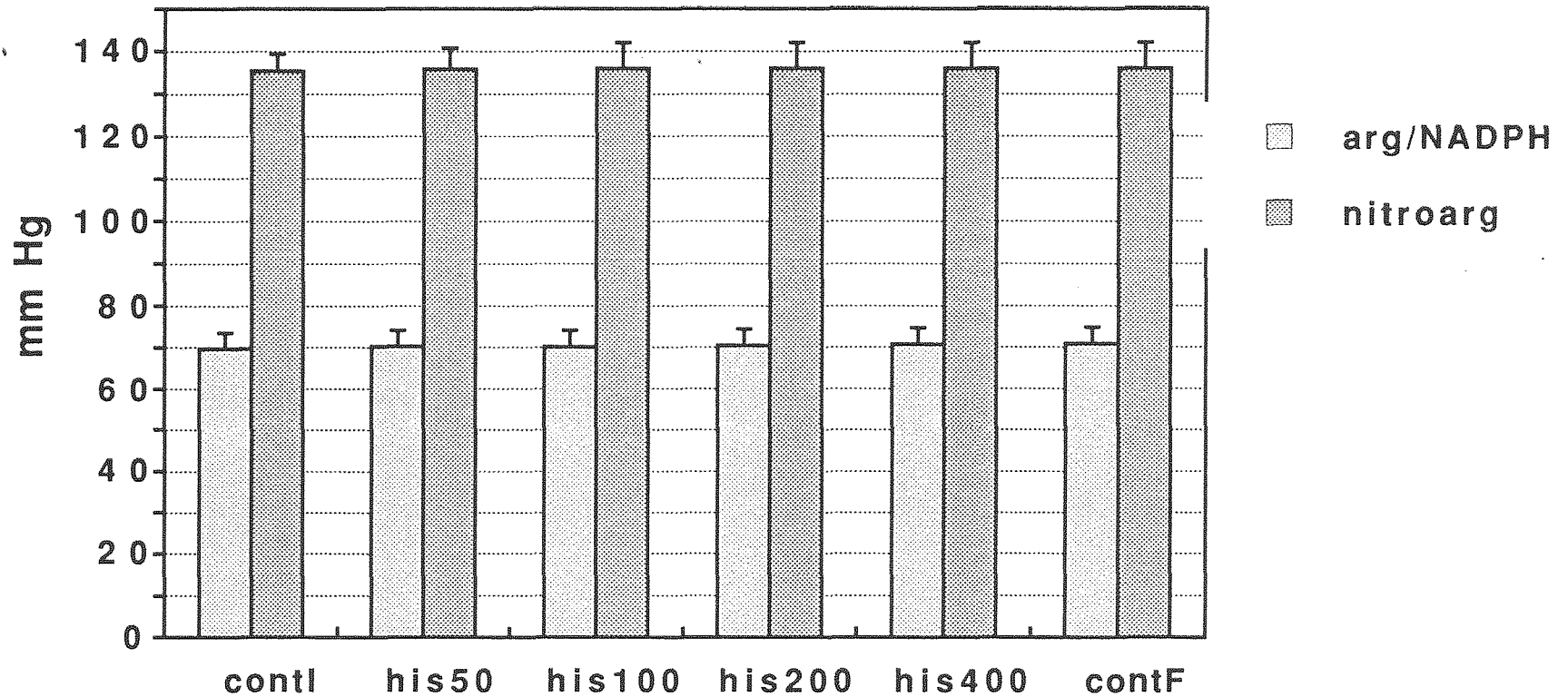


Fig 21- Pulmões isolados de cobaio perfundidos com solução de Krebs-Henseleit.

- a) Resultados expressos em média \pm epm
- b) ContI = controle inicial, ContF = controle final
- c) His = Histamina expresso em μ g
- d) Observações em períodos de 10 min.
- e) Barras = 3 medidas

tro ($p < 0.0001$), que aqui cresceu maximalmente quando comparado a qualquer outro agente farmacológico. Por conseguinte, todo e qualquer efeito vasodilatador foi completamente bloqueado pela nitroarginina.

PULMÕES DE COBAIO PERFUNDIDOS NA PRESENÇA DE LIDOCAÍNA E PROCAÍNA

A pressão de perfusão foi diferente do grupo controle e manifestou-se muito mais elevada do que nos animais controles. Este fato é interessante porque revela uma tendência do anestésico local de aumentar a resistência arterial no leito vascular pulmonar (Figura 22). Lidocaína, um anestésico local de amplo uso foi adicionado à solução de Krebs na dose de $10 \mu\text{g/ml}$. A broncoconstrição induzida pelo anestésico local foi diferente da encontrada no grupo controle ($p < 0.01$), mas a relação dose resposta da histamina foi mantida (Figura 23).

A procaína, embora num número menor de casos, foi adicionada na mesma concentração e essencialmente produziu os mesmos efeitos, conforme as Figuras 24 e 25, tanto na broncoconstrição quanto na pressão de perfusão.

FLUXOS DE PERFUSATO PULMONAR

Os fluxos de perfusão pulmonar, para os diversos grupos, estão expressos nas Tabelas I, II e III e demonstram para uma mesma situação experimental, valores muito aproximados, geralmente em torno de $1 \text{ a } 2 \text{ ml.g}^{-1}.\text{min}^{-1}$. Apenas o subgrupo procaína, apresentou valores maiores, porque o número de pulmões usados foi muito pequeno, apenas 2 e os animais eram bem mais pesados.

ESCAPE PULMOVASCULAR

Em muitas experiências, a administração de histamina produziu aumento pressórico que depois escapava do seu pico máximo. Avaliou-se as variações deste parâmetro e os resultados estão expressos na Tabela IV. Pela análise da mesma depreende-se que alguns tratamentos aboliram completamente este fenômeno como foi o caso da indometacina, azul de metileno, arginina, propranolol e nitroarginina.

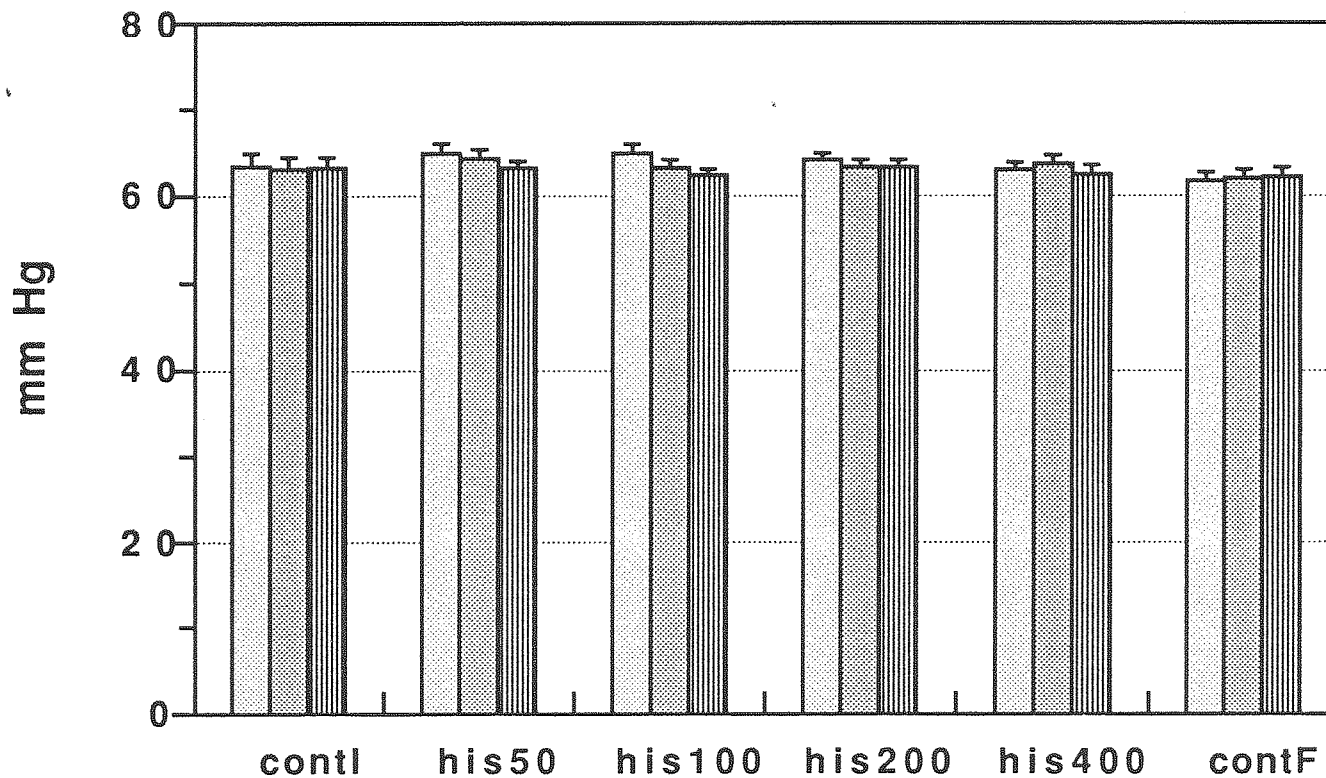


Fig 22- Pulmões isolados de cobaio perfundidos com solução de Krebs-Henseleit contendo lidocaína (10 μ g/ml).

- a) Resultados expressos em média \pm epm (n=6)
- b) ContI = controle inicial, ContF = controle final
- c) His = Histamina expresso em μ g
- d) Observações em períodos de 10 min.

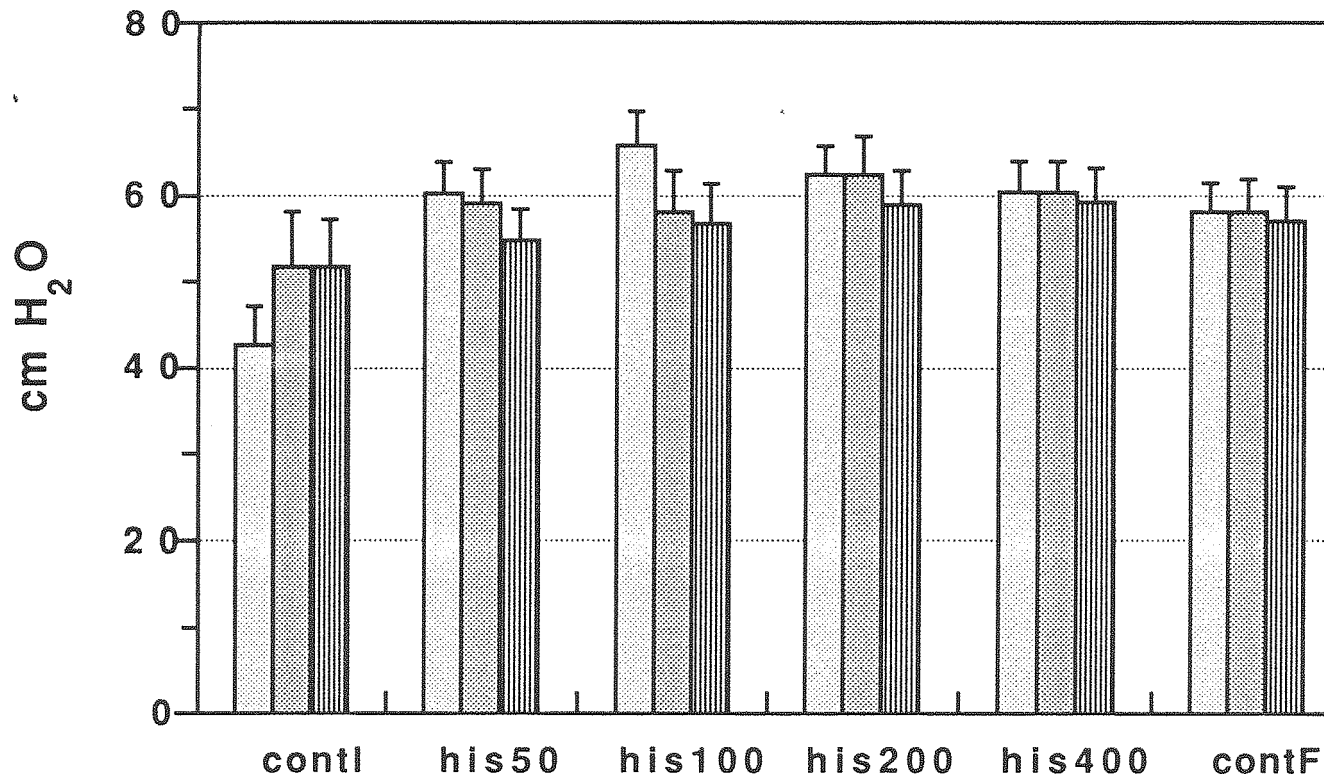


Fig 23- Pulmões isolados de cobaio perfundidos com solução de Krebs-Henseleit contendo lidocaína (10µg/ml).

- a) Resultados expressos em média \pm epm (n=6)
- b) ContI = controle inicial, ContF = controle final
- c) His = Histamina expresso em μ g
- d) Observações em períodos de 10 min.

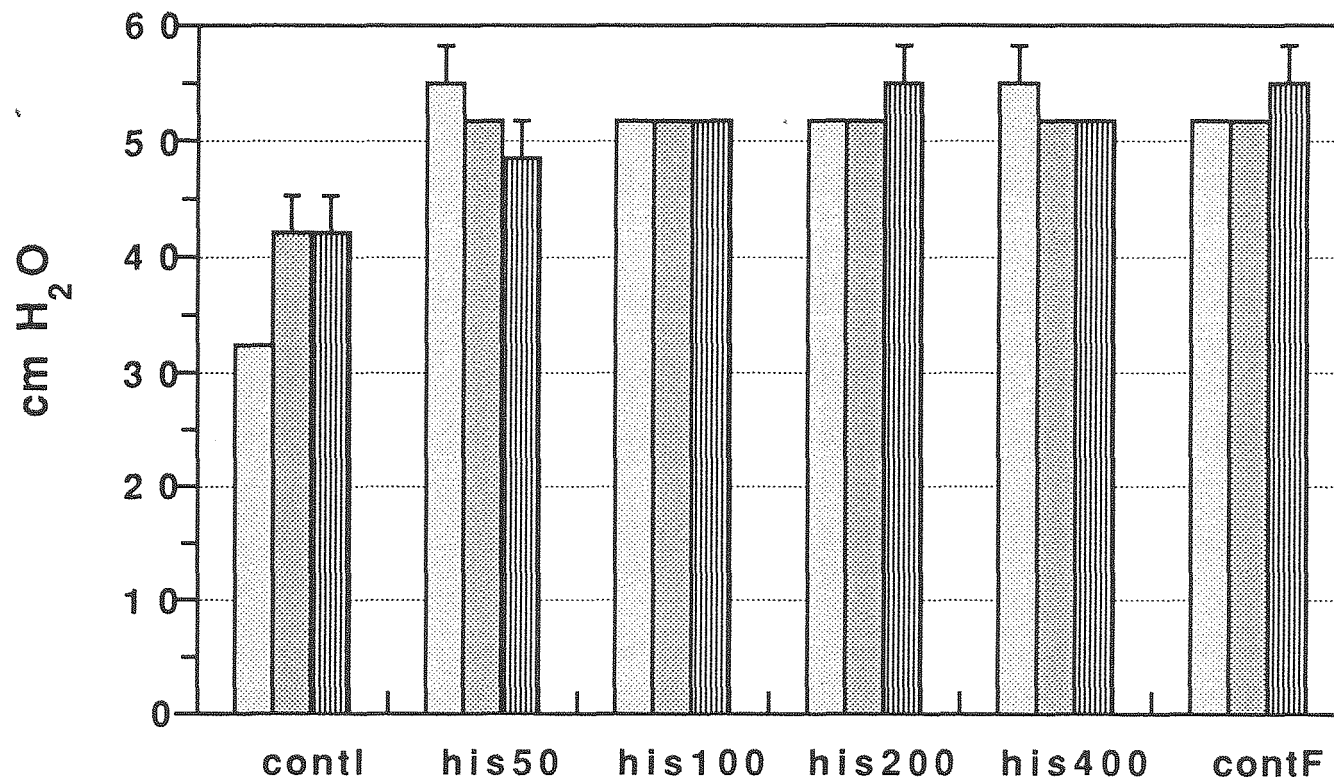


Fig 24- Pulmões isolados de cobaia perfundidos com solução de Krebs-Henseleit contendo procaína (10 μ g/ml).

- a) Resultados expressos em média \pm epm (n=2)
- b) ContI = controle inicial, ContF = controle final
- c) His = Histamina expresso em μ g
- d) Observações em períodos de 10 min.

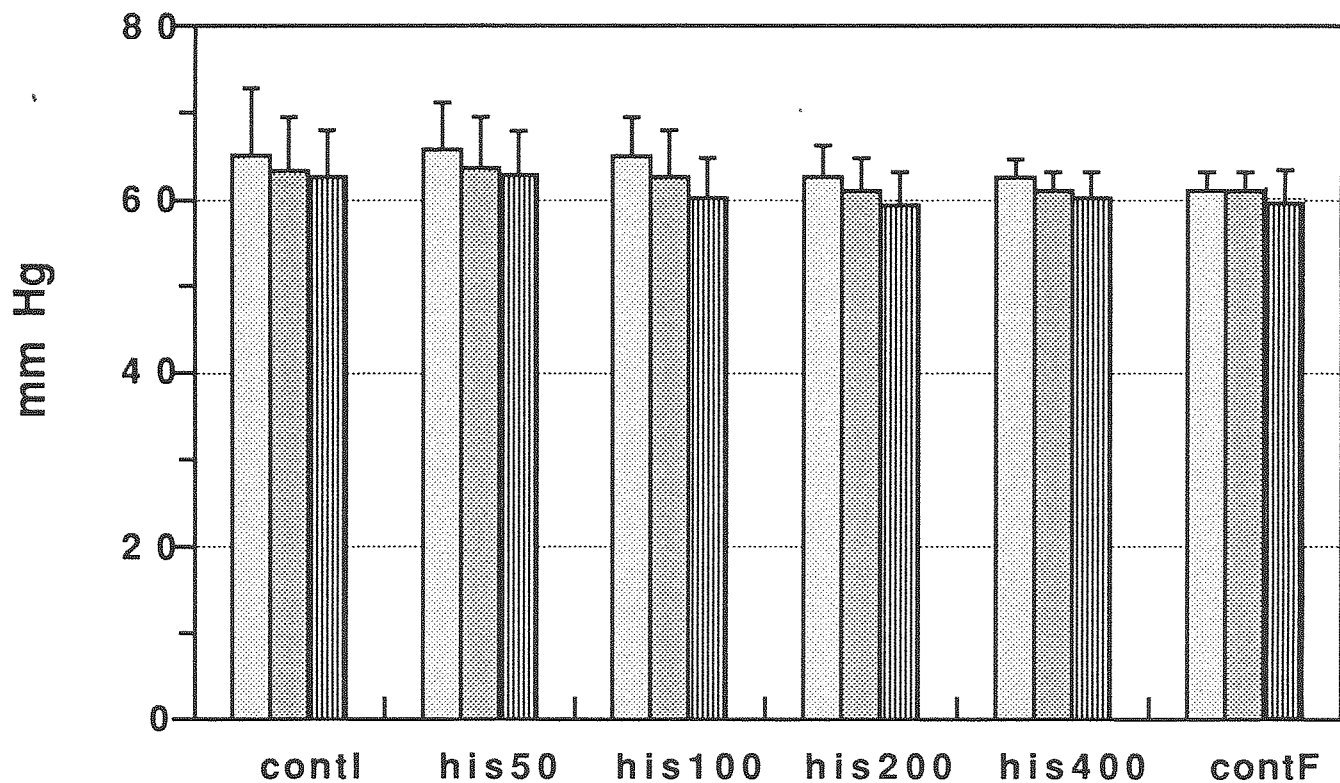


Fig 25- Pulmões isolados de cobaio perfundidos com solução de Krebs-Henseleit contendo procaína (10µg/ml).

- a) Resultados expressos em média \pm epm (n=2)
- b) ContI = controle inicial, ContF = controle final
- c) His = Histamina expresso em μ g
- d) Observações em períodos de 10 min.

TABELA I – FLUXOS DE PERFUSÃO PULMONAR

Períodos	Grupos				
	Controle	Albumina	Ovoalb.G ₁	Ovoalb.G ₂	Propranolol
Lav I	1.41 ± 0.20	2.0 ± 0.20	1.70 ± 0.20	1.71 ± 0.05	1.71 ± 0.4
His 50	1.51 ± 0.20	1.91 ± 0.12	1.80 ± 0.20	1.71 ± 0.10	1.41 ± 0.3
His 100	1.41 ± 0.20	1.91 ± 0.07	1.81 ± 0.20	1.81 ± 0.10	1.23 ± 0.3
His 200	1.31 ± 0.20	1.91 ± 0.09	1.81 ± 0.20	1.91 ± 0.20	1.10 ± 0.3
His 400	1.31 ± 0.14	1.91 ± 0.10	1.91 ± 0.20	1.91 ± 0.20	1.11 ± 0.3
Lav II	1.21 ± 0.4	1.71 ± 0.10	1.91 ± 0.20	1.51 ± 0.20	1.12 ± 0.3

- a) Os fluxos de perfusato estão expressos em $\text{ml.g}^{-1}.\text{min}^{-1}$.
- b) Os resultados estão apresentados em média ± erro padrão da média.
- c) Lav significa perfusão na ausência de His (Histamina).

TABELA II - FLUXOS DE PERFUSÃO PULMONAR

Períodos	Grupos			
	Indometacina	Azul de metileno	Arginina	Arg + NADPH
Lav I	1.71 ± 0.30	1.81 ± 0.20	1.70 ± 0.20	2.30 ± 0.50
His 50	1.61 ± 0.30	2.00 ± 0.20	1.70 ± 0.20	1.70 ± 0.22
His 100	1.33 ± 0.30	2.00 ± 0.20	1.70 ± 0.20	1.71 ± 0.21
His 200	1.21 ± 0.30	2.00 ± 0.30	1.80 ± 0.30	1.80 ± 0.24
His 400	0.91 ± 0.14	2.00 ± 0.30	1.50 ± 0.20	1.61 ± 0.24
Lav II	1.31 ± 0.40	2.08 ± 0.30	1.70 ± 0.20	1.71 ± 0.20

- a) Os fluxos de perfusato estão expressos em $\text{ml.g}^{-1}.\text{min}^{-1}$.
- b) Os resultados estão apresentados em média ± erro padrão da média.
- c) Lav significa perfusão na ausência de His (Histamina).

TABELA III - FLUXOS DE PERFUSÃO PULMONAR

Períodos	Grupos		
	Nitroarginina	Lidocaina	Procaina
Lav I	1.70 ± 0.30	2.30 ± 0.40	4.00 ± 0.70
His 50	1.60 ± 0.30	2.00 ± 0.30	4.00 ± 0.50
His 100	1.33 ± 0.30	2.10 ± 0.22	3.50 ± 0.30
His 200	1.20 ± 0.30	1.90 ± 0.13	3.40 ± 0.30
His 400	0.90 ± 0.14	1.80 ± 0.13	3.60 ± 0.20
Lav F	1.30 ± 0.4	1.60 ± 0.20	3.30 ± 0.07

a) Os fluxos de perfusato estão expressos em $\text{ml.g}^{-1}.\text{min}^{-1}$.

b) Os resultados estão apresentados em média ± erro padrão da média.

c) Lav significa perfusão na ausência de His (Histamina).

TABELA IV – ÍNDICES DE ESCAPE PARA OS DIVERSOS GRUPOS

Doses	Grupos				
	Controle	Propranolol	Indometacina	Azul de metileno	Arginina
His 100	0,55	0	0	0	0
His 200	0,66	0	0	0	0

TABELA V – ÍNDICES DE ESCAPE PAA OS DIVERSOS GRUPOS

Doses	Grupos			
	Nitroarginina	Arginina+NADPH	Lidocaína	Procaína
His 50	0	3,8	1	0,90
His 100	0	1	1,25	2,25
His 200	0	0	0	1,40

Os índices de escape estão apresentados nas Tabelas IV e V e demonstram que as diferentes doses de histamina variam de acordo com o tratamento farmacológico. Por exemplo, propranolol, indometacina, azul de metileno, arginina e nitroarginina, são casos de ausência completa de escape. Os grupos arginina/NADPH, lidocaína e pcaína apresentam escapes com diferentes doses de histamina.

O presente trabalho visou sobretudo uma análise crítica do pulmão perfundido do cobaio como modelo para estudo da asma experimental, enfatizando o estudo da reatividade bronco-alveolar e vascular da preparação sob diversas condições experimentais.

Do ponto de vista farmacológico procurou-se dar ênfase na interação entre beta-receptores, analgêgicos anti-inflamatórios inibidores da síntese de prostaglandinas, bloqueadores do sistema EDRF/NO e de substratos específicos para a produção do referido sistema. Utilizou-se também o teste de conhecidas manobras experimentais e a adição de albumina ao fluido perfusor. Assim cada etapa do projeto correspondeu a questões definidas que visavam a resposta de pontos específicos do método em questão.

A presente pesquisa procurou adaptar a moderna metodologia de perfusão, ao pulmão isolado do cobaio. Adquiriu-se no nosso laboratório uma grande experiência com a perfusão do pulmão do coelho nos últimos anos, e isso se constituiu numa das teses recentes sobre o assunto (MENDONÇA, 1992). Entretanto, logo se verificou que o modelo era pouco sensível para o estudo da asma experimental e por isso se resolveu reavaliar o método no cobaio, focalizando sobretudo na reatividade brônquica e vascular da histamina sob diversas condições experimentais.

Embora as respostas pulmonares à histamina já sejam conhecidas há muito tempo, o seu estudo sistematizado envolvendo o componente vascular em paralelo com o bronquiolar é assunto escasso na literatura fisiofarmacológica. Assim, em todos os processos considerados clássicos da preparação procurou-se ver as relações com a moderna farmacologia do endotélio e dos seus componentes de estudo.

Iniciou-se a presente investigação avaliando-se o papel da albumina (0,25%) quando adicionada à solução de Krebs. Porém, não se obteve com a presente experiência, nenhuma evidência de que a adição de albumina beneficiasse em nada a preparação. Pelo contrário a pressão de perfusão, ou seja, a resistência vascular foi significativamente elevada pela adição deste composto.

O fato de que a albumina adicionada com fluido perfusor aumentou a resistência pressórica sugere que alguma substância ligada à proteína pode ter interagido com o músculo liso vascular e ter sido responsável por este processo. Outra possibilidade seria a de interação da albumina com o endotélio vascular, que poderia

ter liberado desta camada celular, a própria endotelina, hoje conhecida como o mais potente agente vasoconstrictor (YANAGISAWA *et al.*, 1988), que é produzido pelas próprias células endoteliais. De qualquer modo é bom se saliente que a adição de albumina como colóide não produziu qualquer efeito na broncoconstrição quando comparada aos controles. Isso permite concluir que esse composto hipertensor, que parece muito potente, dado as diferenças obtidas em relação ao grupo controle não parece ter qualquer efeito bronquiolar.

Quanto aos grupos de animais imunizados pela ovoalbumina, em nenhum dos subgrupos foi verificada potenciação dos efeitos da histamina como é normalmente descrito na literatura (PRETOLANI e cols., 1988 e 1989). Nossas observações deixam claro que até houve uma diminuição na reatividade bronquiolar dos cobaios imunizados. Saliente-se que a única diferença entre a nossa técnica de imunização e a destes autores está no fato de que a dose de hidróxido de alumínio foi menor no nosso grupo, fato esse que deve ser de pouca relevância neste processo. Já quanto à pressão de perfusão, os dois subgrupos imunizados foram hiperreativos, atingindo valores surpreendentemente maiores quando comparados com os pulmões do grupo controle em que a pressão de perfusão foi significativamente inferior. De acordo com PRETOLANI e cols. (1988) a estimulação com diversos mediadores farmacológicos promove a liberação de 10-20 vezes as quantidades de tromboxano e 6-ceto-PGF_{1 α} , quando comparada aos controles; há também recreação de grandes quantidades de histamina nestes pulmões sensibilizados. A substância de maior importância no nosso caso é justamente PGF_{1 α} , devido ao seu efeito vasoconstrictor. Assim é possível que esse efeito seja tão somente o resultado da liberação deste mediador ao lado de tromboxano. Estes dados foram extensivamente analisados por BAKHLE em 1981 através de ampla revisão sobre a matéria.

A seguir comentamos sobre o uso de propranolol no pulmão perfundido. A idéia fundamental foi a de avaliar a extensão do bloqueio dos receptores β_2 presentes no tecido pulmonar (GOODMAN e GILMAN, 1990) sobre as respostas da histamina. Contribuiriam esses receptores para a modulação das respostas histaminérgicas? Os nossos dados experimentais permitem a conclusão de que a reatividade broncoalveolar foi ligeiramente maior, na presença do β -bloqueador. Assim as respostas à histamina foram essencialmente as mesmas nas duas hipóteses.

-É sabido clinicamente que o bloqueio β nos pulmões, produz broncoconstrição que é extremamente exacerbada em pacientes asmáticos, o que geralmente

contraindica o uso destes compostos nesta patologia. (HOFFMAN e LEFKOWITZ, 1990) Todavia, propranolol promoveu intenso aumento da resistência vascular, que foi expresso em novas experiências, através do aumento da pressão de perfusão.

A indometacina é um bloqueador da ciclooxigenase e por conseguinte da síntese de prostaglandinas. (VANE e BOTTING, 1987) Objetivou-se com o uso desta substância no pulmão isolado verificar as conseqüências do bloqueio de síntese deste autacóide nas respostas da histamina no pulmão isolado. Observou-se aqui que a broncoconstrição foi bastante potenciada pelo uso de indometacina, não durante o controle interno, mas sob os efeitos da histamina. Isso certamente favorece a hipótese de que a produção de prostaglandinas pelo tecido pulmonar tem um efeito oposto aos mecanismos broncoconstritores. Aliás, trabalho de DE NUCCI e cols., em 1986, demonstra que indometacina aumenta também a liberação de leucotrienos no pulmão isolado do cobaio. O bloqueio de síntese de eicosanoides potenciou intensamente a pressão de perfusão do sistema durante todo o período experimental. Isso demonstra que as prostaglandinas pulmonares devem desempenhar um importante papel na manutenção da baixa resistência vascular pulmonar, ao lado de outros fatores discutidos mais adiante, como o óxido nítrico. Não se pode descartar igualmente o fato de que ALTIERE e cols. (1985) verificaram que indometacina não inibiu respostas contráteis promovidos por eicosanoides, quando a artéria pulmonar foi destituída do seu endotélio, demonstrando que essas substâncias podiam derivar também da musculatura lisa vascular.

Azul de metileno é um bloqueador do guanilato ciclase, enzima cuja ativação é responsável pela vasodilatação produzida por inúmeras substâncias, inclusive EDRF. (SIRAGY e cols., 1992) Portanto, o bloqueio da enzima correspondera a indução de vasoconstrição. Tentou-se esta hipótese no nosso modelo experimental que normalmente possui baixo tônus vascular. Quando se comparou a resposta pressórica no pulmão do cobaio, verificou-se um grande aumento da pressão de perfusão durante todos os intervalos medidos. Isso já era de certo modo teorizado, uma vez que esta droga é sabidamente vasoconstrictora (WALIN *et al*, 1990). Uma grande surpresa, entretanto, foi observada no tocante aos achados de broncoconstrição induzida pelo azul de metileno. Esta substância aumentou significativamente ($p < 0.0001$) este parâmetro. Em geral, os efeitos vasculares do azul de metileno, como vasoconstrictor são decorrência de interrupção dos efeitos do EDRF/NO sobre o guanilato ciclase pulmonar (IGNARRO e cols., 1986) e já são bastante conhecidos (MURAD, 1986), todavia pouco se sabe a respeito dos mecanismos aqui questi-

onados, sobre os bronquiolos, e isso se constitui numa linha de pesquisa bastante interessante.

É atualmente sabido que arginina é o substrato mais específico para a NO sintase produzir o EDRF (PALMER e MONCADA, 1989) e que arginina extracelular é essencial para a formação de NO (HAROLD e cols., 1990 e REES e cols., 1989). Foi com esse propósito que se adicionou o aminoácido ao líquido perfusor. Mais uma vez, a hipótese de que o EDRF esteja envolvido na dinâmica bronquiolar ficou mais evidente, porquanto a presença de arginina na solução de Krebs modificou de maneira significativa a reatividade brônquica, com diminuição em relação aos controles e ausência de resposta à histamina. Mais surpreendente ainda foram os resultados do aminoácido na pressão arterial (perfusão). Teoricamente, seria de antecipar-se que arginina como substrato mais disponível para NO sintase, garantisse uma maior disponibilidade de EDRF e isso permitisse, uma maior vasodilatação pulmonar. O contrário ocorreu. A literatura reforça este conceito, porquanto GIRERD e cols., em 1990, demonstraram que L-arginina aumentou a vasodilatação a Ach na pata isolada de coelhos alimentados com dieta rica em colesterol. Saliente-se que esta mesma resposta vasodilatatória estava antes bloqueada neste grupo de animais alimentados com esta ração especial, mas não nos animais controles.

Deve-se enfatizar que esse não é o único leito vascular a apresentar este paradoxo. COSTA e FORTE, em 1992, quando perfundindo rins de coelhos também observou uma diminuição da vasodilatação endotélio dependente e BHARDWAJ e MOORE, em 1989, também detectaram diminuição à vasodilatação à Ach em presença do aminoácido no rim perfundido do rato.

Cabe aqui uma questão: será que a arginina teria também a capacidade de promover a liberação de endotelina ou de um prostanóide hipertensor do tipo de $\text{PGF}_{2\alpha}$? Infelizmente não temos condições de responder a esta questão neste momento. Mas, certamente que o aumento da resistência vascular pulmonar e as alterações brônquicas são aspectos curiosos para investigações futuras.

A nossa próxima etapa constituiu-se em adicionar NADPH à arginina com o intuito de modular esse curioso fenômeno observado. Esta associação diminuiu ainda mais os efeitos sob a broncoconstrição tornando-a totalmente refratária à estimulação da histamina. Na Figura 18, esses resultados estão apresentados sob forma comparativa da arginina e desta substância mais NADPH. Saliente-se que este é um efeito predominantemente sobre a broncoconstrição já que o efeito sobre a

pressão de perfusão que difere significativamente dos controles, apresenta praticamente os mesmos valores quando comparados à arginina. Houve também em ambos os casos uma dessensibilização para os receptores da histamina, já que as respostas ao autacóide foram diminutas. Parece portanto que esses achados nada têm a ver com a biogênese de NO porque a pressão subiu ao invés de baixar.

Com a descoberta da NO-sintase e do seu papel na síntese de EDRF, vários compostos foram imediatamente sintetizados visando ao seu bloqueio. Um destes compostos foi N-nitro-L-arginina usada nos nossos experimentos e denominado neste trabalho simplesmente de nitro-arginina (DUBBIN e cols., 1990). A idéia do uso deste potente inibidor deveu-se ao fato de a pressão pulmonar sabidamente apresentar-se com valores muito baixos, quando comparada à pressão de perfusão renal, por exemplo, bem como de outros órgãos. A própria fisiologia da hematose exige que grandes volumes de sangue adentre aos pulmões com a menor resistência possível. Seguindo essa linha de raciocínio, determinamos que a pressão de perfusão aumentou quase 5 vezes em relação ao grupo controle e quase duas vezes em relação aos outros tratamentos como arginina, arginina NADPH, ou mesmo azul de metileno. Por conseguinte os maiores valores de resistência pulmonar vascular foram obtidos pelo uso de nitroarginina, conforme pode ser verificado na Figura 21. Entretanto, a despeito deste enorme aumento na resistência pulmonar não se observou qualquer variação na resistência broncoalveolar que se manteve essencialmente ao nível do controle. Estes dados confirmaram a sugestão de BRASHERS e cols., em 1988, de que a vasoconstrição promovida pela hipoxia no pulmão isolado do rato, era endotélio dependente. Embora esses autores naqueles tempos não dispusessem de antagonistas efetivos para NO-sintase e nós tivéssemos usado preparações normóxicas, os nossos dados demonstram de maneira insofismável a dependência do sistema NO do endotélio pulmonar para efeitos de baixa pressão de perfusão do órgão.

A descoberta deste novo sistema vasodilatador, tem sido objeto de estudo em vários leitos vasculares como o cérebro (WEI e cols., 1992) e os rins (LALAZAR e cols., 1992). Em todos esses casos, a elucidação da endotélio dependência no tocante ao fluxo tem sido sempre feita mediante o uso de inibidores da NO-sintase como ferramenta deste tipo de investigação.

Uma outra área de estudo onde essas drogas têm sido úteis é na investigação da hiperemia reativa (MARUTANI e cols., 1992).

Finalmente avaliamos o efeito dos anestésicos locais lidocaina e procaina no nosso modelo. Conduzimos essas experiências sobretudo para despistar o efeito anestésico local presente no propranolol, do seu efeito intrínseco como β -bloqueador. Aqui percebe-se que a lidocaina como a procaina, ambos elevam a resistência pulmonar. Essa é também a resposta do propranolol. Todavia, propranolol difere de lidocaina e procaina no tocante à broncoconstrição, já que no primeiro caso há uma intensificação da resistência bronquiolar, enquanto os anestésicos locais a diminuem. Essas observações confirmam, nos vasos pulmonares os achados de YUKIOKA e seus colabores que, em 1984, demonstraram que lidocaina no cão aumentava a pressão arterial média pulmonar e a resistência vascular pulmonar, na dose de 10 mg/Kg. É interessante que observamos no pulmão do cobaio o mesmo fenômeno com doses infinitamente menores do agente anestésico. No homem tem sido demonstrado que o pulmão tem uma alta capacidade de remover lidocaina da circulação (JORFELDT e cols., 1983). Este fato demonstra alta afinidade de lidocaina pelo tecido pulmonar.

CONCLUSÕES

A reatividade brônquica e pressórica da histamina foi testada no pulmão isolado e perfundido do cobaio sob diversos tratamentos farmacológicos. Destas observações, pode-se concluir:

- a) Pulmões perfundidos em sistema aberto com solução de Krebs-Henseleit apresentaram resposta broncoconstritora, dose dependente à histamina através de injeções intra-arteriais em bôlus de 50, 100, 200 e 400 $\mu\text{g/ml}$. A pressão de perfusão nestes casos é geralmente baixa e responde levemente a doses de histamina, mas de maneira significativa ($p < 0,01$), em relação ao controle interno. A adição de albumina (0,25%) apenas aumentou a pressão de perfusão.
- b) Quando o grupo controle foi comparado a pulmões provenientes de cobaios imunizados pela ovoalbumina, não se verificou sensibilização histamínica, mas a pressão de perfusão aumentou significativamente neste grupo ($p < 0,001$).
- c) A adição de propanolol (1 $\mu\text{g/ml}$) à solução de Krebs-Henseleit aumentou ligeiramente a broncoconstrição e significativamente a resistência vascular pulmonar ($p < 0,001$).
- d) O uso de indometacina (10 $\mu\text{g/ml}$) no meio perfusor potenciou significativamente a reatividade brônquica ($p < 0,01$) e a pressão de perfusão foi grandemente aumentada.
- e) Azul de metileno (8,25 $\mu\text{g/ml}$) quando adicionado ao perfusato a resposta broncoconstritora da histamina foi aumentada e o maior efeito foi observado no grande incremento da pressão de perfusão ($p < 0,0001$).
- f) Adição de L-arginina (3,5 $\mu\text{g/ml}$) à solução de Krebs teve um efeito inibitório sobre a broncoconstrição ($p < 0,001$). Novamente se verificou aumento da pressão de perfusão, em relação ao grupo controle ($p < 0,0001$).
- g) Quando NADPH (1 $\mu\text{g/ml}$) foi adicionado ao Krebs, juntamente com arginina a broncoconstrição foi menor neste grupo ($p < 0,001$).
- h) O uso de nitroarginina (2,5 $\mu\text{g/ml}$) no perfusato intensificou a resposta broncoconstritora em relação à arginina/NADPH ($p < 0,001$) e produziu um aumento de mais de três vezes na pressão de perfusão pulmonar, em relação ao grupo controle.

I) Finalmente, a adição de lidocaína e/ou procaína (10 µg/ml) ao líquido de Krebs-Henseleit diminuiu também a broncoconstrição ($p < 0,001$) promovendo aumento da pressão de perfusão ($p < 0,0001$).

Em conclusão, define-se aqui uma relação muito estreita entre o endotélio bronco-pulmonar e a reatividade bronco-vascular, bem como a modulação deste sistema por bloqueadores adrenérgicos, inibidores de ciclooxigenase, bloqueadores e ativadores de síntese de EDRF e anestésicos locais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AARSETH, P.; NICOLAYSEN, G.; WAALER, B.A. - The effect of sympathetic nerve stimulation on pulmonary blood volume in isolated perfused lungs. *Acta Physiol. Scand.*, 81, 448, 1971.
- ABU-GHAZALEH, R.I.; FUJISAWA, T.; MESTECKY, J. e cols. - **IgA-induced eosinophil degranulation**. *J. Immunol.*, 142: 2393-2400, 1989.
- ACKERMAN, S.J.; LOEGERING, D.A.; VENGE, P. *et alli* - **Distinctive cationic proteins of the eosinophilic granule: major basic protein, eosinophilic cationic protein and eosinophil-derived neurotoxin**. *J. Immunol.*, 131:2977-2982, 1983.
- ADAMS, F. - **The extant works of aretaens the Cappadocian**, London: Sydenham Society, 1856.
- ADELROTH, E.; MORRIS, M.M.; HARGREAVE, F.E.; O'BYRNE, P.M. - **Airway responsiveness to leukotrienes C₄ and D₄ and to methacholine in patients with asthma and normal controls**. *N. Engl. J. Med.*, 315: 480-484, 1986.
- ADELROTH, E.; MORRIS, M.M.; HARGREAVE, F.E.; O'BYRNE, P.M. - **Airway responsiveness to leukotrienes C₄ and D₄ and to methacholine in patients with asthma and normal controls**. *N. Engl. J. Med.*, 315:480-484, 1986.
- AHRENS, R.C. & SMITH, G.D. - **Albuterol: an adrenergic agent for use in the treatment of asthma**. *Pharmacology, pharmacokinetics and clinical use. Pharmacotherapy*, 4:105-120, 1984.
- AIZAWA, H.; CHUNG, K.F.; LEIKAUF, G.D.; UEKI, I.; BETHEL, R.A.; O'BYRNE, P.M.; HIROSE, T.; NADEL, J.A. - **Significance of thromboxane generation in ozone-induced airway hyperresponsiveness in dogs**. *J. Appl. Physiol.*, 59:1918-1923, 1985.
- AIZAWA, H.; CHUNG, K.F.; LEIKAUF, G.D.; VEKI, I.; BETHEL, F.A.; O'BYRNE, P.M.; HIROSE, T.; NADEL, J.A. - **Significance of thrombaxane generation in ozone-induced airway hyperresponsiveness in dogs**. *J. Appl. Physiol.*, 59:1918-1923, 1985.

- ALEXANDER, H.L. – **The autonomic control of the heart, lungs and bronchi.** Ann. Intern. Med., 6, 1033, 1933.
- ALEXANDER, H.L. & PADDOCK, R. – **Bronchial asthma: response to pilocarpine and upinephrine.** Arch. Intern. Med., 27:184-191, 1921.
- ALTIERE, R.J.; KIRITSY-ROY, J.A.; CATRAVAS, J.D. – **Acetylcholine-induced contractions in isolated rabbit pulmonary arteries: role of tromboxane A₂.** J. Pharmacol. Exp. Ther., 236(2):535-541, 1986.
- ALVAREZ, J. & SZEFLER, S.J. – **Alternative Therapy in Severe Asthma.** J. Asthma, 29(1), 3-11, 1992.
- AMERICAN THORACIC SOCIETY COMMITTEE ON DIAGNOSTIC STANDARDS FOR NON-TUBERCULOUS DISEASE. – **Definitions and clarification of chronic bronchitis, asthma, and pulmonary emphysema.** Am. Rev. Respir. Dis., 85:762-769, 1962.
- ANDERSON, P.; BRATTSAND, R. – **Protective effects of the glucocorticoid, budesonide, on lung anaphylaxis in actively sensitized guinea-pigs: inhibition of IgE-but not of IgG-mediated anaphylaxis.** Br. J. Pharmacol., 76:139-147, 1982.
- ANDERSON, W.H.; KRZANOSWKI, J.J.; POLSON, J.B.; SZENTIVANYI, A. – **Characteristics of histamine tachyphylaxis in canine tracheal smooth muscle.** Naunyn-Schiedeberg Arch. Pharmacol., 308:117-125, 1977.
- ANDERSON, W.H.; KRZANOWSKI, J.J.; POLSON, J.B.; SZENTIVANYI, A. – **The effect of prostaglandin E₂ on histamine-stimulated calcium mobilization as a possible explanation for histamine tachyphylaxis in the canine tracheal smooth muscle.** Naunyn. Schmiedebergs Arch. Pharmacol., 322:72-77, 1983.
- ANDRI, L.; SENNA, G.E.; BETTELI, C.; GIVANNI, S.; ANDRI, G., *et alli.* – **Combined treatment of allergic rhinitis with terfenadine and nimesulide, a non-steroidal antiinflammatory drug.** Allergie et Immunologie, 24:313-319, 1992.
- ANGGARD, E. & SAMUELSSON, B. – **In Prostaglandins.** Proc. Second Nobel Symp., Stockholm, June 1966 (Interscience, New York).
- ANGGARD, E. & BERGSTROM, S. – **Acta Physiol. Scand., 58, 1, 1963.**

- ANWAR, A.R.E.; KAY, A.B. – Membrane receptors for IgG and complement (C₄, C_{3b} and C_{3d}) on human eosinophils and neutrophils and their relation to eosinophilia. *J. Immunol.*, 119:976-982, 1977.
- ARM, J.P.; SPUR, W.B.; LEE, T.H. – The effects of inhaled leukotriene E₄ on the airway responsiveness to histamine in subjects with asthma and normal subjects. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 82:654-60, 1988.
- ARNOUX, B.; DUVAL, D.; BENVENISTE, J. – Release of platelet-activating factor (PAF-acether) from alveolar macrophages by the calcium ionophore A 23187 and phagocytosis. *Er. J. Clin. Invest.*, 10:437-441, 1980.
- ARRANG, J.-M.; GARBARG, M.; LANCELOT, J.-C.; LECOMTE, J.-M.; POLLARD, H.; ROBBA, M.; SCHUNACK, W.; SCHWARTZ, J.-C. – Highly potent and selective ligands for histamine H₃-receptors. *Nature*, 327:117-123, 1987.
- ASH, A.S.F. & SCHILD, H.O. – Receptors mediating some actions of histamine. *Br. J. Pharmacol.*, 27:427-439, 1966.
- ASSEM, E.S.K.; SCHILD, H.O. – Inhibition by sympathomimetic amines of histamine release induced by antigen in passively sensitized human lung. *Nature*, 224:1028-1029, 1969.
- AZZAWI, M.; BRADLEY, B.; JEFFREY, P.K. e cols. – Identification of activated T lymphocytes and eosinophils in bronchial biopsy in stable atopic asthma. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 142:1407-13, 1990.
- BACHELET, M.; ADOLFS, M.J.P.; MASLIAH, J. *et alli* – Interaction between PAF-acether and drugs that stimulate cyclic AMP in guinea-pig alveolar macrophages. *Eur. J. Pharmacol.*, 149:75-78, 1988.
- BAI, T.R. – Abnormalities in airway smooth muscle in fatal asthma. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 141:552-557, 1990.
- BAIGELMAN, W.; CHODOSH, S.; PIZZUTO, D.; CUPPLES, L.A. – Sputum and blood eosinophils during corticosteroid treatment of acute exacerbations of asthma. *Am. J. Med.*, 75:929-936, 1983.
- BAKHLE, J.S. – Biosynthesis of prostaglandins and tromboxanes in lung. *Bull. Eur. Physiopath. Resp.*, 17:491-508, 1981.

- BAKHLE, Y.S. – **Biosynthesis of prostaglandins and thromboxanes in lung.** Clin. Respir. Physiol., 17:491-508, 1981.
- BAKHLE, Y.U.S.; MONCADA, S.; NUCCI, G. DE; SALMON, J.A. – **Differential release of eicosanoids by bradykinin, arachidonic acid and calcium ionophore A23187 in guinea-pig isolated perfused lung.** Br. J. Pharmacol., 86:55-62, 1985.
- BARNES, P.J. – **The changing face of asthma.** Q. J. Med., 63: 359-65, 1987.
- BARNES, P.J. – **New concepts in the pathogenesis of bronchial hyperresponsiveness and asthma.** J. Allergy Clin. Immunol., 83:1013-26, 1989.
- BARNES, P.J. – **Mode of action of theophylline: a multiplicity of actions.** International Congress Symposia Series 126. London: Royal Society of Medicine Services, 39-45, 1988.
- BARNES, P.J. – **Neurogenic inflammation and asthma.** J. Asthma, 29(3):165-180, 1992.
- BARNES, P.J. – **State of art. Neural control of human airways in health and disease.** Am. Rev. Respir. Dis., 134:1289-1314, 1986.
- BARNES, P.J. – **New concepts in the pathogenesis of bronchial hyperresponsiveness and asthma.** J. Allergy Clin. Immunol, 83:1013-1026, 1989.
- BARNES, P.J. – **The changing face of asthma.** Q. J. Med., 63:359-365, 1987.
- BARNES, P.J. – **Asthma as an axon reflex.** Lancet, i:242-245, 1986.
- BARNES, P.J. – **Neuropeptides and asthma.** Am. Rev. Respir. Dis., 143:528-532, 1991.
- BARNES, P.J. – **Neurogenic inflammation and asthma.** J. Asthma, 29(3):165-180, 1992.
- BARNES, N.C.; PIPER, P.J.; COSTELLO, J.F. – **Comparative effects of inhaled leukotriene C₄, leukotriene D₄ and histamine in normal human subjects.** Thorax, 39:500-504, 1984.

- BARNES, N.C.; WATSON, A.; KOULOURIS, N.; PIPER, P.J.; COSTELLO, J. – **Effect of preinhalation of leukotriene D₄ on sensitivity to prostaglandin F_{2a}.** *Thorax*, 39:697, 1984.
- BARNES, P.J.; CHUNG, K.F.; PAGE, C.P. – **Inflammatory mediators and asthma.** *Pharmacol. Rev.*, 40:49-84, 1988.
- BARNES, P.J.; CHUNG, K.F.; PAGE, C.P. – **Platelet-activating factor as a mediator of allergic disease.** *J. Allergy Clin. Immunol.*, 81:919-934, 1988.
- BARNES, P.J.; GREENING, A.P.; NEVILLE, L.; TIMMERS, J.; POOLE, G.W. – **Single-dose slow-release aminophylline at night prevents nocturnal asthma.** *Lancet*, 1:299-301, 1982.
- BARNES, P.J.; CUSS, F.M.C.; PALMER, J.B.D. – **The effect of airway epithelium on smooth muscle contractility in bovine trachea.** *Br. J. Pharmacol.*, 86:685-691, 1985.
- BARNES, P.J.; KUO, H.P.; ROGERS, D.F.; ROHDE, J.A.L.; TOKUYAMA, K. – **Effect of sensory neuropeptides on goblet cell secretion in guinea-pig trachea in vivo.** *J. Physiol.* 422:99P, 1990.
- BARTHOLINUS, T. – **De plumonum substantia et motu diatribe. Accedunt marcelli malpighii de pulmonibus observatione anatomicae.** Hafniae (Copenhagen), H. Gødiani, p. 38, 1663.
- BEASLEY, R.; ROCHE, W.R.; ROBERTS, J.A.; HOLGATE, S.T. – **Cellular events in the bronchi in mild asthma and after bronchial provocation.** *Am. Rev. Respir. Dis.*, 139:806-817, 1989.
- BEL, E.H.; VAN DER VEEN, H.; KYAMPS, J.A.; DIJKMAN, J.H.; STEIK, P.J. – **Maximal airway narrowing to inhaled leukotriene D₄ in normal subjects: comparisson and interaction with methacholine.** *Am. Rev. Respir. Dis.*, 136:979-984, 1987.
- BENSON, M.K. – **Bronchial hyperreactivity.** *Br. J. Dis. Chest*, 69: 227-239, 1975.
- BEREND, N.; ARMOUR, C.L.; BLACK, J.L. – **Indomethacin inhibits C5a des arg-induced airway hyperresponsiveness in the rabbit.** *Am. Rev. Respir. Dis.*, 131:54A, 1985.

- BERRY, J.L.; DALY, I.; DE BURGH. Apud VON EULER, V.S. – A vaso-constrictor action of acetylcholine on the rabbits pulmonary circulation. *J. Physiol.*, 74:272-278, 1932.
- BESTI, F.; ROSSONI, G.; BUSCHI, A.; ROBUSCHI, M.; VILLA, L.M. – Antianaphylactic and antihistaminic activity of the non-steroidal antiinflammatory compound nimesulide in guinea-pig. *Arzneimittel-Forschung*, 40:1011-1016, 1990.
- BHARDWAJ, R. & MOORE, P.K. – The effect of arginine and nitric oxide on resistance blood vessels of the perfused rat kidney. *Pharmacology*, 97:739-744, 1989.
- BLACK, J.W.; DUNCAN, W.A.M.; DURANT, C.J.; GANELLIN, C.R.; PARSONS, E.M. – Definition and antagonism of histamine H₂-receptors. *Nature*, 236:385-390, 1972.
- BLOCKLEHURST, W.E. – The release of histamine and formation of a slow-reacting substance (SRS-A) during anaphylactic shock. *J. Physiol.*, 151:416-435, 1960.
- BOSCHETTO, P.; ROGERS, D.F.; BARNES, P.J. – Inhibition of airway microvascular leakage by corticosteroids. *Thorax*, 44:320P-321P, abstract, 1989.
- BOSCHETTO, P.; FABBRI, I.M.; ZOCCA, E., *et alli* – Prednisone inhibits late asthmatic reactions and airway inflammation induced by toluene diisocyanate in sensitized subjects. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 80:261-267, 1987.
- BOSCO, L.A.; KNAPP, D.E.; GERSTMAN, B.; GRAHAM, C.F. – Asthma drug therapy trends in the United States, 1972 to 1985. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 80, part 2: 398-402, 1987.
- BOULET, L.P.; LATIMER, K.M.; ROBERTS, R.S. *et alli* – The effect of atropine on allergen-induced increases in bronchial responsiveness to histamine. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 130:368-372, 1984.
- BOUSHEY, A.H.; HOLTZMAN, J.M.; SHELLER, J.R.; NADEL, J.A. – Bronchial Hyperreactivity. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 121:389-412, 1980.

- BOUSQUET, J.; CHANEZ, P.; LACOSTE, L.Y. *et alli* – Eosinophilic inflammation in asthma. *N. Engl. J. Med.*, 323:1033-1039, 1990.
- BRAIN, S.D.; WILLIAMS, T.J.; TIPPINS, J.R.; MORRIS, H.R.; MACINTYRE, I. – Calcitonin gene-related peptide is a potent vasodilator. *Nature*, 313:54-56, 1985.
- BRASHERS, V.L.; PEACH, M.J.; ROSE, E.JR. – Augmentation of hypoxic pulmonary vasoconstriction in the isolated perfused rat lung by in vitro antagonists of endothelium-dependent relaxation. *J. Clin. Invest.*, 82:1495-1502, 1988.
- BRAUNSTEIN, G.; LABAT, C.; BRUNELLESCHI, S.; BENVENISTE, J.; MARSAC, J.; BRINK, C. – Evidence that the histamine sensitivity and responsiveness of guinea-pig isolated trachea are modulated by epithelial prostaglandin E₂ production. *Br. J. Pharmacol.*, 95:300-308, 1988.
- BREDT, D.S.; SNYDER, S.H. – Nitric oxide, a novel neuronal messenger. *Neuron.*, 8:3-11, 1992.
- BREDT, D.S.; HWANG, P.M.; GLATT, C.E.; LOWENSTEIN, C.; REED, R.R.; SNYDER, S.H. – Cloned and expressed nitric oxide synthase structurally resembles cytochrome P-450 reductase. *Nature*, 351:714-718, 1991.
- BRENNER, B.M.; TROY, J.L.; BALLERMAM, B.J. – Endothelium-dependent vascular responses. *The American Society for Clinical Investigation, Inc. Vol. 84*, 1373-1378, 1989.
- BREUSTER, C.E.P.; HOWARTH, P.H.; DJUKANOVIC, R.; WILSON, J.; HOLGATE, S.T.; ROCHE, W.R. – Myofibroblasts and subepithelial fibrosis in bronchial asthma. *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.*, 3:507-511, 1990.
- BRITTON, J.R.; BURNEY, P.G.; CHINN, S.; PAPACOSTA, A.O.; TATTERSFIELD, A.E. – The relation between change in airway reactivity and change in respiratory symptoms and medication in a community survey. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 138: 530-534, 1988.
- BROCKLEHURST, R.E. – Response of the carotid artery to "SRS-A" from lung of man and of cat. *J. Physiol. (Lond.)*, 128:1P, 1955.

- BROCKLEHURST, W.E. - The release of histamine and formation of a slow-reacting substance (SRS-A) during anaphylactic shock. *J. Physiol. (Lond.)*, 151:416-435, 1960.
- BROCKLEHURST, W.E. - Occurrence of an unidentified substance during anaphylactic shock in cavy lung. *J. Physiol. (Lond.)*, 120:16-17P, 1953.
- BRODY, J.S.; KLEMPFNER, G.; STAUM, M.M.; VIDYASAGAR, D.; KUHL, D.E.; WALDHAUSEN, J.A. - Mucociliary clearance after lung denervation and bronchial transection. *J. Appl. Physiol.*, 32:160, 1972.
- BRUIJNZUL, P.L.B.; KOK, P.M.T.; HAMELINK, M.L. *et alli* - Platelet-activating factor induces leukotriene C₄ synthesis by purified human eosinophils. *Prostaglandins*, 34:205-214, 1987.
- BURROWS, B.; MARTINEZ, F.D.; HALONEN, M.; BARBEE, R.A.; CLINE, M.G. - Association of asthma with serum IgE levels and skin-test reactivity to allergens. *N. Engl. J. Med.*, 320:271-277, 1989.
- BURTON, G.A.; GRIFFITH, T.M.; EDWARDS, D.H. - EDRF-mediated dilatation in the rat isolated perfused kidney: a microangiographic study. *Br. J. Pharmacol.*, 98:1207-1212, 1989.
- BUSSE, R.; MULSCH, A. - Induction of nitric oxide synthase by cytokines in vascular smooth muscle cells. *FEBS, Lett.*, 275:87-90, 1990.
- BUSSE, W.W. & SOSMAN, J. - Decreased H₂-histamine response of granulocytes of asthmatic patients. *J. Clin. Invest.*, 59:1080-1087, 1977.
- BUTCHERS, P.R.; SKIDMORE, I.F.; VARDEY, C.J.; WHEELDON, A. - Characterization of the receptor mediating the anti-anaphylactic effects of beta-adrenoreceptor agonist in human lung tissue in vitro. *Br. J. Pharmacol.*, 71: 663-7, 1980.
- BUTLER, G.B.; ADLER, K.B.; EVANS, J.N.; MORGAN, D.W.; SZAREK, J.L. - Modulation of rabbit airway smooth muscle responsiveness by respiratory epithelium: involvement of an inhibitory metabolite of arachidonic acid. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 135:1099-1104, 1987.
- CABEZAS, G.A.; GRAF, P.D.; NADEL, J.A. - Sympathetic versus parasympathetic nervous regulation of airways in dogs. *J. Appl. Physiol.*, 31:651, 1971.

- CADE, J.F.; PAIN, M.C.F. – **Role of bronchial reactivity in aetiology of asthma.** Lancet, 2:186-188, 1971.
- CAMPBELL, D.H. & NICOLL, P.A. – **Studies on in vitro anaphylaxis and release of an active non-histamine material from sensitized guinea-pig lung.** J. Immunol., 39:103-112, 1940.
- CAPAZ, F.R.; RUFFIE, C.; LEFORT, J.; MANZINI, S.; VARGAFITIG, B.B.; PRETOLAM, M. – **Effect of active sensitization on the broncopulmonary responses to tachykinins in the guinea-pig. Modulation by peptides inhibitors** J. Pharmac. Exp. Ther., 266(2):812-819, 1993.
- CAPAZ, F.R.; RUFFIÉ, C.; LEFORT, J.; MANZINI, S.; VARGAFTIG, B.B.; PRETOLANI, M. – **Effect of the active sensitization on the bronchopulmonary responses to tachykinins in the guinea pig. Modulation by peptidase inhibitors.** J. Pharmacol. Exp. Ther., 266(2):812-819.
- CAPRON, M.; CAPRON, A.; DESSAINT, J.-P. *et alli* – **FC-receptors for IgE on human and rat eosinophils.** J. Immunol., 126:2087-2092, 1981.
- CAPRON, M.; BENVENISTE, J.; BRAQUET, P. *et alli* – **Role of PAF-acether in IgE-dependent activation of eosinophils.** Prostaglandins, 34:167, 1987.
- CARROL, M.P.; DURHAM, S.R.; WALSH, G. *et alli* – **Activation of neutrophils and monocytes after allergen-and histamine-induced bronchoconstriction.** J. Allergy Clin. Immunol., 75:290-296, 1985.
- CARSTAIRS, J.R.; NIMMO, A.J.; BARNES, P.J. – **Autoradiographic visualization of beta-adrenoreceptor subtypes in human lung.** Am. Rev. Respir. Dis., 132:541-7, 1985.
- CARSTAIRS, J.R.; BARNES, P.J. – **Autoradiographic mapping of substance P receptors in lung.** Eur. J. Pharmacol., 127:295-296, 1986.
- CASALE, T.B.; KALINER, M.A. – **Allergic reactions in the respiratory tract.** In: Bienenstock J. ed., Immunology of the lung and upper respiratory tract. New York, McGraw-Hill, 236-344, 1984.
- CASALS-STENZEL, J.; MUACEVIC, G.; WEBER, K.-H. – **Pharmacological actions of WEB2086, a new specific antagonist of platelet activating factor.** J. Pharmacol. Exp. Ther., 241:974-981, 1987.

- CHAKRAVARTY, N. - **The occurrence of a lipid-soluble smooth-muscle stimulating principle ("SRS") in anaphylactic reaction.** *Acta physiol. scand.*, 48:167-177, 1960.
- CHEN, K.K. & SCHMIDT, C.F. - **Ephedrine and related substances.** *Medicine (Baltimore)*, 9:1-117, 1930.
- CHERRY, P.D.; FURCHGOTT, R.F.; ZAWADZKI, J.V.; JOTHANANDAN, D. - **The role of endothelial cells in the relaxation of isolated arteries by bradykinin.** *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 79:2106-2110, 1982.
- CHRISMAN, B.W.; LEFFERTS, P.L.; SNAPPER, J.P. - **Effect of platelet activating factor on aerosol histamine responsiveness in awake sheep.** *Am. Rev. Respir. Dis.*, 135:1267-1270, 1987.
- CHUNG, K.F. - **Role of inflammation in the hyperreactivity of the airways in asthma.** *Thorax*, 41:557-662, 1986 (Editorial).
- CHUNG, K.F.; AIZAWA, H.; LEIKANF, G.D.; VEKI, I.F.; EVANS, T.W.; NADEL, J.A. - **Airway hyperresponsiveness induced by platelet-activating factor: role of thromboxane generation.** *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 236:580-584, 1986.
- CHURCH, M.K.; HIROI, J. - **Inhibition of IgE-dependent histamine release from human dispersed lung mast cells by anti-allergic drugs and salbutamol.** *Br. J. Pharmacol.*, 90:421-429, 1987.
- CLEUZEL, M.; DAMON, M.; CHANEZ, P. *et alli* - **Enhanced alveolar cell luminol-dependent chemiluminescence in asthma.** *J. Allergy Clin. Immunol.*, 80:195-201, 1987.
- COCKCROFT, D.W.; KILLIAN, D.N.; MELLON, J.J.A.; HARGREAVE, F.E. - **Bronchial reactivity to inhaled histamine: a clinical survey.** *Clin. Allergy*, 7:235-243, 1977.
- COCKCROFT, D.W.; MURDOCK, K.Y.; GORE, B.P.; O'BYRNE, P.M.; MANNING, P. - **Theophylline does not inhibit allergen-induced increase in airway responsiveness to methacholine.** *J. Allergy Clin. Immunol.*, 83:913-920, 1989.

- COCKCROFT, D.W.; RUFFIN, R.E.; DOLOVICH, J.; HARGREAVE, F.E. - Allergen-induced increase in non-allergic bronchial reactivity. *Clin. Allergy*, 7:503-513, 1977.
- COLES, S.J.; NEIL, K.H.; REID, L.M. - Potent stimulation of glycoprotein secretion in canine trachea by substance P. *J. Appl. Physiol.*, 57:1323-1327, 1984.
- COLLINS, S.; CARON, M.G.; LEFKOWITZ, R.J. - Beta-adrenergic receptors in hamster smooth muscle cells are transcriptionally regulated by glucocorticoids. *J. Biol. Chem.*, 263:9067-9070, 1988.
- COPAS, J.L.; BORGEAT, P.; GARDINER, P.J. - The actions of 5-, 12- and 15-HETE on tracheobronchial smooth muscle. *Prostagland. Leuk. Med.*, 8:105-114, 1982.
- COPE, D.K.; GRIMBERT, F.; DOWNEY, J.M.; TAYLOR, A.E. - Pulmonary capillary pressure: a review. *Crit. Care. Med.*, 20(7):1043-1044, 1992.
- CORRAS, W.M.; BRAMAN, S.S.; IRWIN, R.S. - Chronic cough as the sole presenting manifestation of bronchial asthma. *N. Engl. J. Med.*, 300:633-637, 1979.
- CORRIGARI, C.J.; HARTNELL, A.; KAY, A.B. - T-lymphocyte activation in acute severe asthma. *Lancet*, 1:129-1132, 1988.
- COYLE, A.G.; URWIN, S.C.; PAGE, C.P. *et alli* - The effect of the selective PAF antagonist BN 52021 on PAF-and antigen-induced tracheal hyperreactivity and eosinophil accumulation. *Eur. J. Pharmacol.*, 148:51-58, 1988.
- COYLE, A.G.; SJOERDSMA, K.; TOUVAY, C. *et alli* - Modification of the late asthmatic response and bronchial hyperreactivity by BN 52021, a platelet-activating factor antagonist. *Clin. Res.*, 35:1254, 1987.
- CREESE, B.R. & BACH, M.J. - Hyperreactivity of airway smooth muscle produced in vitro by leukotrienes. *Prostaglandins Leukotrienes Med.*, 11:161-169, 1983.
- CROCKCROFT, D.W.; MURDOCK, K.Y. - Comparative effects of inhaled salbutamol, sodium cromoglycate, and beclomethasone dipropionate on allergen-induced early asthmatic responses, late asthmatic responses, and

- increased bronchial responsiveness to histamine.** *J. Allergy Clin. Immunol.*, 79:734-40, 1987.
- CUNHA-MELO, J.R.; DEAN, N.M.; MOYER, J.D.; MAEYAMA, K.; BEAVEN, M.A. – **The kinetics of phosphoinositide hydrolysis in rat basophilic leukemia (RBL-2H3) cells varies with the type of IgE receptor cross-linking agent used.** *J. Biol. Chem.*, 262:11455-11463, 1987.
- CUPPLES, L. – **Sputum and blood eosinophils during corticosteroid treatment of acute exacerbation of asthma.** *Am. J. Med.*, 75:929-963, 1983.
- CURRY, J.J. – **The action of histamine on the respiratory tract in normal and asthmatic subjects.** *J. Clin. Invest.*, 25:785-791, 1946.
- CURRY, J.J. – **Comparative action of acetyl-beta-methyl choline and histamine on the respiratory tract in normals, patients with hay fever, and subjects with bronchial asthma.** *J. Clin. Invest.*, 26:430-438, 1965.
- CUSS, F.M.; DIXON, C.M.S.; BARNES, P.J. – **Effects of inhaled platelet activating factor on pulmonary function and bronchial responsiveness in man.** *Lancet*, 2:189-92, 1986.
- CUSS, F.M.; BARNES, P.J. – **Airway smooth muscle and disease workshop: epithelial mediators.** *Am. Rev. Respir. Dis.*, 136: 532-535, 1987.
- CUSS, F.M.; BARNES, P.J. – **Epithelial mediators.** *Am. Rev. Respir. Dis.*, 136:S32-35, 1987.
- D'DONNELL, M.C.; ACKERMAN, S.J.; GLICH, C.J.; THOMAS, L.L. – **Activation of basophil and mast cell histamine release by eosinophil granule major basic protein.** *J. Exp. Med.*, 157:1981-1991, 1981.
- DAHL, R.; VENGE, P.; FREDENS, K. – **Eosinophils.** In: BARNES, P.J.; RODGER, I.W.; TOMSON, N.C. eds. *Astma: basic mechanisms and clinical management.* London: Academic Press, 115-29, 1988.
- DAHL, R.; JOHANSSON, S.-A. – **Importance of duration of treatment with inhaled budesonide on the immediate and late bronchial reaction.** *Eur. J. Respir. Dis. Suppl.*, 122:167-175, 1982.
- DAHLEN, S.E.; HANSSON, G.; HEDQVIST, P.; BYOREK, T.; GRAMSTRON, E.; DAHLEN, B. – **Allergen challenge of lung tissue from asthmatics elicits bronchial**

- contraction that correlates with the release of leukotrienes C₄, D₄, and E₄. Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.), 80:1712-1716, 1983.
- DAHLEN, S.E.; HEDQVIST, P.; HAMMARSTROM, S.; SAMUELSSON, B. – **Leukotrienes are potent constrictors of human bronchi.** Nature, 288:484-486, 1980.
- DALE, H.H. & LAIDLAW, P.P. – **The physiological action of b-imidazolylethylamine.** J.Physiol. (Lond.), 41:318-344, 1910.
- DALE, H.H.; LAIDLAW, P.P. – **The physiological action of beta-iminoazolyethylamine.** J. Physiol. (Lond), 41:318-344, 1910.
- DALY, I.B.; EULER, V.S. VON. Apud VON EULER, V.S. – **A vaso-constrictor action of acetylcholine on the rabbits pulmonary circulation.** J. Physiol., 74:272-278, 1932.
- DAUTREBANDE, L.; PHILIPPOT, E. – **Crise d'asthme expérimental par aérosols de carbaminoylcholine chez l'homme trauteé par dispersat de phénylaminopropane.** Presse Med., 49:942-946, 1941.
- DE MONCHY, J.G.R.; KAUFFMAN, H.F.; VENGE, P. *et alli* – **Bronchoalveolar eosinophilia during allergen-induced late asthmatic reactions.** Am. Rev. Respir. Dis., 131:373-376, 1985.
- DE NUCCI, G.; SALMON, J.A.; MONCADA, S. – **The synthesis of eicosanoids induced by anaphylaxis in guinea-pig isolated lungs perfused via the trachea.** Eur. J. Pharmacol., 130:249-256, 1986.
- DE SIMONE, C.; DONELI, G.; MELIA, D. *et alli* – **Human eosinophils and parasitic disease. II. Characterization of two cell fractions isolated at different densities.** Clin. Exp. Immunol., 48:249-255, 1982.
- DEAL, E.C.JR.; MCFADDEN, E.R.JR.; INGRAM, R.H.JR.; BRESLIN, F.J.; JAEPEL, J.J. – **Airway responsiveness to cold air and hyperpnea in normal subjects and those with hay fever and asthma.** Am. Rev. Respir. Dis., 121:621-628, 1980.
- DENBURG, J.A.; DOLOVICH, J.; HARNISH, D. – **Basophil mast cell and eosinophil growth and differentiation factors in human allergic disease.** Clin. Exp. Allergy, 19:225-249, 1989.

- DENJEAN, A.; ARNOUX, B.; BENVENISTE, J. – **Long-lasting effect of intratracheal administration of PAF-acether in baboons.** *Am. Rev. Respir. Dis.*, 137 (Suppl.):238, 1988.
- DEVILLIER, P.; ADVENIER, C.; DRAPEAU, G.; MARSAC, J.; REGOLI, D. – **Comparison of the effects of epithelium removal and of an enkephalinase inhibitor on the neurokinin-induced contractions of guinea-pig isolated trachea.** *Br. J. Pharmacol.*, 94:675-684, 1988.
- DEVILLIER, P.; ACKER, M.; ADVENIER, C.; REGOLI, D.; FROSSARD, N. – **Respiratory epithelium releases relaxant prostaglandin E₂ through activation of substance P NK₁ receptors.** *Am. Rev. Respir. Dis.*, 139:A351, 1989.
- DIAZ, P.; GONZALEZ, C.; GALLEGUILOS, F. *et alli* – **Eosinophils and macrophages in bronchial mucus and bronchoalveolar lavageduring allergen-induced late phase asthmatic reactions.** *Allergy Clin. Immunol.*, 77(Suppl.): 244, 1986.
- DINH-XUAN, A.T. – **Endothelial modulation of pulmonary vascular tone.** *Eur. Respir. J.*, 5:757-762, 1992.
- DIXON, M.; JACKSON, D.M.; RICHARDS, I.M. – **The effect of sodium cromoglycate on lung irritant receptors and left ventricular receptors in anaesthetized dog.** *Br. J. Pharmacol.*, 67:569-574, 1979.
- DJUKANOVIC, R.; ROCHE, W.R.; WILSON, J.W. *et alli* – **Mucosal inflammation in asthma.** *Am. Rev. Respir. Dis.*, 142:434-457, 1990.
- DONAHUE, R.E.; SEEHRA, J.; METZGER, M. *et alli* – **Human IL-3 and GM-CSF act synergistically in stimulating hematopoiesis in primates.** *Science*, 241:1820-1822, 1988.
- DOR, P.J.; ACKERMAN, S.J.; GLEICH, C.G. – **Charcot-Leyden crystal protein and eosinophil granule major basic protein in the sputum of patients with respiratory diseases.** *Am. Rev. Respir. Dis.*, 130:1072-1077, 1984.
- DOUGLAS, J.S.; DENNIS, M.W.; RIDGWAY, P.; BOUNHUYS, A. – **Airway constriction in guinea pigs: interaction of histamine and autonomic drugs.** *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 184:169-179, 1973.

- DOWNING, S.E.; LEE, J.C. – **Nervous control of the pulmonary circulation.** *Am. Rev. Physiol.*, 42:199-210, 1980.
- DRAZEN, J.M.; AUSTEN, K.F. – **Leukotrienes and airway responses.** *Am. Rev. Respir. Dis.*, 136:985-998, 1987.
- DUBBIN, P.N.; LAMBETIS, M.; DUSTING, G.J. – **Inhibition of endothelial nitric oxide biosynthesis by N-nitro-L-arginine.** *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, 17:281-286, 1990.
- DUBOIS, A.B.; DAUTREBANDE, L. – **Acute effects of breathing inert dust particles and of carbachol aerosol on the mechanical characteristics of the lungs in man: changes in response after inhaling sympathomimetic aerosols.** *J. Clin. Invest.*, 37:1746-1755, 1958.
- DULFANO, M.J. & GLASS, P. – **The bronchodilator effects of terbutaline: route of administration and patterns of response.** *Ann. Allergy*, 37:357-366, 1976.
- DUNNILL, M.S. – **The pathology of asthma, with special reference to changes in the bronchial mucosa.** *J. Clin. Pathol.*, 13:27-33, 1960.
- DUNNILL, M.S. – **The pathology of asthma.** In: MIDDLETON, E.; REED, C.L.; ELLIS, E.F. eds.). *Allergy Principles and Practice*, St. Louis, C.V. Mosby, p. 678, 1984.
- DUTOIT, J.I.; SALOME, C.M.; WOOLCOCK, A.J. – **Inhaled cortico-steroids reduce the severity of bronchial hiperresponsiveness in asthma but oral theophylline does not.** *Am. Rev. Respir. Dis.*, 136:1174-1178, 1987.
- EBINA, M.; JAEGASHI, H.; CHIBA, R.; TAKAHASHI, T.; MOTOMIYA, M. *et al.* – **Hyperreactive site in the airway tree of asthmatic patients revealed by thickening of bronchial muscles.** *Am. Rev. Respir. Dis.*, 141:1327-1332, 1990.
- EHINGER, B.; FALCK, B.; SPORRONG, B. – **Possible axo-axonal synapses between peripheral adrenergic and cholinergic nerve terminals,** *z. Zellforsch. Mikrosk. Arrat.* 107:508, 1970.
- EL-KASHEF, H.; CATRAVAS, J.D. – **Effects of arachidonic acid in the rabbit pulmonary and systemic vascular beds in vivo.** *Pharmacology*, 40:60-80, 1990.

- ERJEFÄLT, I.; PERSSON, C.G. - Anti-asthma drugs attenuate inflammatory leakage of plasma into airway lumen. *Acta Physiol. Scand.*, 128:653-654, 1986.
- FAIRFAX, A.J.; HANSON, J.M.; MORLEY, J. - The late reaction following bronchial provocation with house dust mite allergen: dependence on arachidonic acid metabolism. *Clin. Exp. Immunol.*, 52:393-398, 1983.
- FILLENZ, M.B. - Innervation of pulmonary and bronchial blood vessels of the dog. *J. Anat.*, 106:449-61, 1970.
- FILLEY, W.V.; HOLLEY, K.E.; KEPHART, G.M. *et alli* - Identification by immunofluorescence of eosinophil granule major basic protein in lung tissues of patients with bronchial asthma. *Lancet*, 2:11-16, 1982.
- FINE, J.M.; GORDON, T.; SHEPPARD, D. - Epithelium removal alters responsiveness of guinea-pig trachea to substance P. *J. Appl. Physiol.*, 66:232-237, 1989.
- FINK, G.D.; CHAPNICK, B.M.; GOLDBERG, M.R.; PAUSTIAN, P.W.; KADOWITZ, P.J. - Influence of prostaglandin E₂, indomethacin and reserpine on renal vascular responses to nerve stimulation pressor and depressor hormones. *Circ. Res.*, 41:172-178, 1977.
- FISH, J.E.; ROSENTHAL, R.R.; BATRA, G., *et alli* - Airway responses to methacholine in allergic and non-allergic subjects. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 113:579-586, 1976.
- FISH, J.E.; ANKIN, M.G.; ADKINSON, N.J.; PETERMAN, V.I. - Indomethacin modification of immediate-type immunologic airway responses in allergic asthmatic and non-asthmatic subjects. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 123:609-614, 1981.
- FLAVAHAN, N.A.; AARHUS, L.L.; RIMELE, T.J.; VANHOUTTE, P.M. - Respiratory epithelium inhibits bronchial smooth muscle tone. *J. Appl. Physiol.*, 58:834-838, 1985.
- FLINT, K.C.; LEUNG, K.B.P.; HUDSPITH, B.N.; BROSTOFF, J.; PEARCE, F.L.; JOHNSON, N.M. - Bronchoalveolar mast cells in extrinsic asthma: a mechanism for the initiation of antigen specific bronchoconstriction. *Br. Med. J.*, 291:923-926, 1985.

- FLINT, K.C.; LEUNG, K.B.P.; PEARCE, F.L. *et alli* – Human mast cells recovered by bronchoalveolar lavage: their morphology, histamine release and the effects of sodium cromoglycate. *Clin. Sci.*, 68:427-432, 1985.
- FLINT, K.C.; LEUNG, K.B.P.; HUDSPITH, B.N. *et alli* – Bronchoalveolar mast cells in extrinsic asthma: a mechanism for the initiation of antigen-specific bronchoconstriction. *Br. Med. J.*, 291:923-926, 1985.
- FLUVER, R.J. – Lipocortin and the mechanism of action of the glucocorticoids. *Br. J. Pharmacol.*, 94:987-1015, 1988.
- FOLKERTS, G.; ENGELS, F. & NIJKAMP, F.P. – Endotoxin-induced hyperreactivity of the guinea-pig isolated trachea coincides with decreased prostaglandin E₂ production by the epithelial layer. *Br. J. Pharmacol.*, 96:388-394, 1989.
- FONTELES, M.C.; JESKE, A.H.; KAROW, JR. A.M. – Vascular escape in the isolated perfused rabbit kidney. *Res. Comm. Chem. Pathol. Pharmacol.* v 7, n. 1, p. 153 – 162, 1974.
- FONTELES, M.C. – Comunicação pessoal, 1990.
- FORTI, A.C. –
- FORTI, A.C. – Estudo do endotélio vascular renal no diabetes aloxânico. Papel do EDRF/NO e da endotelina. Tese de Doutorado. São Paulo, 1993.
- FREEDMAN, B.J. – The functional geometry of the bronchi. The relationship between changes in external diameter and calibre, and a consideration of the passive role played by the mucosa in bronchoconstriction. *Bull. Physiopathol. Respi.*, 8:545-557, 1972.
- FRIGAS, E. & GLEICH, G.J. – The eosinophil and the pathophysiology of asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 77:527-537, 1986.
- FRIGAS, E.; LOEGERING, D.A.; SOLLEY, G.O.; FARROW, G.M.; GLEICH, G.J. – Elevated levels of eosinophil granule major basic protein in the sputum of patients with bronchial asthma. *Mayo Clin. Proc.*, 56:345-353, 1981.
- FRIGAS, E.; LOEGERING, D.A.; GLEICH, C.J. – Cytotoxic effects of the guinea-pig eosinophil major basic protein on tracheal epithelium. *Lab. Invest.*, 42:35-42, 1980.

- FROSSARD, N.; RHODEN, J.K.; BARNES, P.J. – Influence of epithelium on guinea-pig airway responses to tachykinins: role of endopeptidase and cyclooxygenase. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 248:292-299, 1989.
- FULLER, R.W.; KELSEY, C.R.; COLE, P.J.; DOLLERY, C.T.; MACDERMONT, J. – Dexamethasone inhibits the production of thromboxane B₂ and leukotriene B₄ by human alveolar and peritoneal macrophages in culture. *Clin. Sci.* 67:653-6, 1984.
- FULLER, R.W.; O'MALLEY, G.; BAKER, A.J.; MACDERMONT, J. – Human alveolar macrophage activation: inhibition: inhibition by forskolin but not b-adrenoceptor stimulation or phosphodiesterase inhibition. *Pulm. Pharmacol.*, 1:101-6, 1988.
- FULLER, R.W.; DIXON, C.M.; DOLLERY, C.T.; BARNES, P.J. – Prostaglandin D₂ potentiates airway responsiveness to histamine and methacholine. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 133:252-4, 1986.
- FULLER, R.W.; DIXON, C.M.; CUSS, F.M.; BARNES, P.J. – Bradykinin-induced bronchoconstriction in humans: mode of action. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 135:176-180, 1987.
- FULLER, R.W.; CONRADSON, T.-B.; DIXON, C.M.S.; CROSSMAN, D.C.; BARNES, P.J. – Sensory neuropeptide effects in human skin. *Br. J. Pharmacol.*, 92:791-788, 1987.
- FURCHGOTT, R.F. – Role of endothelium in responses of vascular smooth muscle. *Circ. Res.*, 53:557-573, 1983.
- FURCHGOTT, R.F. – The role of endothelium in the responses of vascular smooth muscle to drugs. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 24:175-197, 1984.
- FURCHGOTT, R.F. – Studies on relaxation of rabbit aorta by sodium nitrate: the basis for the proposal that the acid-activatable inhibitory factor from bovine retractor penis is inorganic nitrate and the endothelium-derived relaxing factor is nitric oxide. In: Mechanisms of vasodilatation, Vanhoutte, P.M. (ed), Vol. IV, pp. 401-414, Raven Press, New York, 1988.
- FURCHGOTT, R.F. & ZAWADZKI, J.V. – Acetylcholine relaxes arterial smooth muscle by releasing a relaxing substance from endothelial cells. *Fed. Proc.*, 39(3):581, 1980a.

- FURCHGOTT, R.F. & VANHOUTTE, P.M. – Endothelium-derived relaxing and contracting factors. *FASEB, J.*, 3:2007-2018, 1989.
- FURCHGOTT, R.F.; ZAWADZKI, J.V. – The obligatory role endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*, 288:373-376, 1980.
- GAMSE, R.; SARIA, A. – Potentiation of tachykinin-induced plasma protein extravasation by calcitonin gene-related peptide. *Eur. J. Pharmacol.*, 114:61-66, 1985.
- GANELLIN, C.R. & PARSONS, M.E. (eds.) – *Pharmacology of histamine receptors*. Wright/PSG, Bristol, Mass., 1982.
- GARDINER, P.J. – Eicosanoids and airway smooth muscle. *Pharm. Ther.*, 44:1-62, 1989.
- GARRISON, J.C. – Histamine, Bradykinin, 5-hydroxytryptamine, and their antagonists. In: GILMAN, A.G.; RALL, T.W.; NIES, A.S.; TAYLOR, P. (eds.) GOODMAN and GILMAN'S. *The Pharm. B. of Ther.*, pp. 575-599, Pergamon Press, New York, U.S.A., 1990.
- GASHI, A.A.; BORSON, D.B.; FINKBEINER, W.E.; NADEL, J.A.; BASBAUM, C.B. – Neuropeptides degranulate serous cells of ferret tracheal glands. *Am. J. Physiol.*, 251:C223-229, 1986.
- GEORAS, S.N.; LIU, M.C.; NEWMAN, W. *et alli* – Altered adhesion molecule expression and endothelial cell activation accompany the recruitment of human granulocytes to the lung after segmental antigen challenge. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 7:261-269, 1992.
- GERGEN, P.J. & WEISS, K.B. – Changing patterns of asthma hospitalization among V.S. children 0-17 years of age: 1979-1987. *JAMA*, 264:1688-1692, 1990.
- GERGEN, P.J.; MULLALLY, D.I.; EVANS, R.E. III. – National survey of prevalence of asthma among children in the United States. 1976 to 1980. 81:1-7, 1988.
- GIANARIS, P.G. & GOLISH, J.A. – Treatment of bronchospastic disorders in the 1990s: What does the future hold? *Drugs*, 46(1):1-6, 1993.

- GIBSON, P.G.; DOLOVICH, J.; GIRGIS-GABARDO, A. *et alli* - **The inflammatory response in asthma exacerbation: changes in circulation eosinophils, basophils and their progenitors.** Am. Rev. Respir. Dis. In: JOHANSSON, S.G.O. (ed.). Cellular Communications in Allergic Asthma. Pharmacia Allergy Research Foundation Award Book. A.W. Grafiska, Uppsala, Sweden, pp. 15-22, 41, 1990.
- GIRED, X.J.; HIRSCH, A.T.; COOKE, J.P.; DZAN, V.J.; CREAGER, M.A. - **L-arginine augments endothelium-dependent vasodilation in cholesterol-fed rabbits.** Circ. Res. 67:1301-1308, 1990.
- GLEICH, G.J. - **Elevated levels of the eosinophil granule major basic protein in the sputum of patients with bronchial asthma.** Mayo Clin. Proc., 56:345-353, 1981.
- GLEICH, G.J.; FRIGAS, E.; LEOGERING, D.A.; WASSON, D.L.; STEINMULLER, D. - **Cytotoxic properties of the eosinophil major basic protein.** J. Immunol., 123:2925-2927, 1979.
- GLYNN, A.A.; MICHAELS, L. - **Bronchial biopsy in chronic bronchitis and asthma.** Thorax, 15:142-153, 1960.
- GODARD, P.; CHAINTREUIL, J.; DAMON, M., *et alli* - **Functional assessment of alveolar macrophages: comparison of cells from asthmatics and normal subjects.** J. Allergy Clin. Immunol., 70:88-93, 1982.
- GOETZL, E.J.; PHILLIPS, M.J., GOLD, W.M. - **Stimulus specificity of the generation of leukotrienes by dog mastocytoma cells.** J. Exp. Med., 158:731-737, 1983.
- GOLD, M.E.; WOOD, K.S.; BYRNS, R.E.; BUGA, G.M.; IGNARRO, L.J. - **L-arginine-dependent vascular smooth muscle relaxation and cGMP formation.** Am. J. Physiol., 259 (Circ. Physiol.28):H1813-H1821, 1990.
- GOLD, W.M.; KESSLER, G.F.; YU, D.Y.D. - **Role of vagus nerves in experimental asthma in allergic dogs.** J. Appl. Physiol., 33:719, 1972.
- GOLDEN, J.A.; NADEL, J.A.; BOUSHEY, H.A. - **Brochial hyper irritability in healthy subjects after exposure to ozone.** Am. Rev. Respir. Dis., 118:287-294, 1978.

- GOMEZ, E.; CLAGUE, J.E.; GATLAND, D.; DAVIES, R.J. – Effect of topical corticosteroids on seasonally induced increasing in nasal mast cells. *Br. Med. J.*, 296:1572-1573, 1988.
- GOSSET, P.; TONNEL, A.B.; JOSEPH, M. *et alli* – Secretion of a chemotactic factor for neutrophils and eosinophils by alveolar macrophages from asthmatic patients. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 74:827-834, 1984.
- GRAHAM, D.R.; LUKOZA, A.R.; EVANS, C.C. – Bronchoalveolar lavage in asthma (abstr.). *Thorax*, 40:1717, 1985.
- GRANDORDY, B.M.; FROSSARD, N.; RHODEN, K.J.; BARNES, P.J. – Tachykinin-induced phosphoinositide breakdown in airway smooth muscle and epithelium: relationship to contraction. *Mol. Pharmacol.*, 33:515-519, 1988.
- GRAVES, E.J. – National hospital discharge survey: annual summary, 1987. Vital and health statistics, series 13, n° 99. (DHHS publication no PHS 89-1760). Washington, DC: National Center for Health Statistics, 1989.
- GREIF, J.; FINK, G.; SMORZIK, Y.; TOPILSKY, M.; BRUDERMAN, I. – Nedocromil sodium and placebo in the treatment of bronchial asthma. *Chest.*, 96:583-588, 1989.
- GRIFFIN, M.; WEISS, J.W.; LEITCH, A.G.; MCFADDEN, E.R.; COREG, E.J.; AUSTEN, K.F.; DRAZEN, J.M. – Effects of leukotriene D₄ on the airways in asthma. *N. Engl. J. Med.*, 308:436-439, 1983.
- GRIFFITH, T.M.; EDWARDS, D.H.; LEWIS, M.J.; NEWBY, A.C.; HENDERSON, A.H. – The nature of endothelium derived vascular relaxant factor. *Nature*, 308:645-647, 1984.
- GRUETTER, C.A.; BARRY, B.K.; MCNAMARA, D.B.; GRUETTER, D.Y.; KADOWITZ, P.J.; IGNARRO, L.J. – Relaxation of bovine coronary artery and activation of coronary arterial guanylate cyclase by nitric oxide, nitroprusside and a carcinogenic nitrosoamine. *J. Cyclic. Nucleotide. Res.*, 5:211-224, 1979.
- GRYGLEWSKI, R.J.; BOTTING, R.M.; VANE, J.R. – Hypertension, 12:530-548, 1988.
- GUYTON, A.C. (ed.). Textbook of Medical Physiology. W.B. Saunders Company, Philadelphia, U.S.A., pp. 261-269, 1971.

- HAHN, H.L.; WILSON, A.G.; GRAFT, P.D.; FISCHER, S.P.; NADEL, J.A. – Interaction between serotonin and efferent vagus nerves in dog lungs. *J. Appl. Physiol.*, 44:144, 1978.
- HAJOS, M.K. – Clinical studies on the role of serotonin in bronchial asthma. *Acta Allergy*, 17:358-370, 1962.
- HAMAGUCHI, Y.; KAMAKURA, Y.; FUJITA, J. *et alli* – Interleukin 4 as an essential factor for in vitro clonal growth of murine connective tissue type mast cells. *J. Exp. Med.*, 165:268-273, 1987.
- HAMBERG, M.; SVENSSON, J.; WAKABAYSKI, T.; SAMUELSSON, B. – Isolation and structure of two prostaglandin endoperoxides that causes platelet aggregation. *Proc. Natn. Acad. Sci. U.S.A.*, 71:345-349, 1974.
- HARDY, C.C.; ROBINSON, C.; TATTERSFIELD, A.E.; HOLGATE, S.T. – The bronchoconstrictor effect inhaled prostaglandin D₂ in normal and asthmatic men. *N. Engl. J. Med.*, 311:209-213, 1984.
- HARGREAVE, F.E.; RYAN, G.; THOMSON, N.C. *et alli* – Bronchial responsiveness to histamine and methacholine in asthma: measurement and clinical significance. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 68:347-355, 1981.
- HAWKINS, D.F. & ROSA, L. – Some observations on the release of a substance active on the rat's uterus from guinea-pig lung during anaphylactic shock. *Int. Arch. Allergy*, 14:312-324, 1959.
- HAYNES, L.W.; MANLEY, C. – Chemotactic response of guinea-pig polymorphonucleocytes in vitro to rat calcitonin gene-related peptide and proteolytic fragments. *J. Physiol.*, 43:79, 1988.
- HEARN, J.C.; XIE, QIAO-WEN; CALAYCAY, J.; MUMFORD, R.A.; SWIDEREK, K.M.; LEE, T.D.; NATHAN, C. – Calmodulin is a subunit of nitric oxide synthase from macrophages. *J. Exp. Med.*, 176:599-604, 1992.
- HEBB, C. – Motor innervation of the pulmonary blood vessels of mammals. In the pulmonary circulation and interstitial space. Ed. A.P. Fishman, H.H. Hecht, p. 195. Chicago: Univ. Chicago Press, 1969.

- HEGART, B.; PAUWELS, R.; VAN DER STRAETEN, M. – Inhibitory effect of KWD2131, terbutaline, and D5CG on the immediate and late allergen-induced bronchoconstriction. *Allergy* 36:115-22, 1981.
- HEINS, M.; KURTIN, L.; OELLERICH, J.; MAES, R.; SYBRECHT, G.W. – Nocturnal asthma: slow-release terbutaline versus slow-release theophylline therapy. *Eur. Respir. J.*, 1:306-310, 1988.
- HENRIKSEN, J.M. – Effect of inhalation of corticosteroids on exercise induced asthma: randomised double blind crossovers study of budesonide in asthmatic children. *Br. Med. J.*, 291:248-249, 1985.
- HERXHEIMER, H. – Further observations on the influence of 5-hydroxytryptamine on bronchial function. *J. Physiol. (Lond)* 122:49-50, 1953.
- HERXHEIMER, H. – The late bronchial reaction in induced asthma. *Int. Arch. Allergy*, 3:323-328, 1952.
- HERXHEIMER, H.; STRESEMANN, E. – The effect of bradykinin aerosol in guinea pigs and in man. *J. Physiol. (Lond.)*, 158:38, 1961.
- HIBBS, J.B.JR.; TAINTOR, R.R.; VAIVRIN, Z. – Macrophage cytotoxicity: role for L-arginine deiminase and imino nitrogen oxidation to nitrite. *Science*, 235:473-476, 1987.
- HILLS, E.A.; SOMNER, A.R.; STEWART, C.J., *et al.* – A case-control study of death from asthma. *Thorax*, 49:833-839, 1986.
- HOFFMAN, B.B. & LEFKOWITZ, R.J. – Adrenergic receptor antagonists in: GOODMAN and GILMAN'S: The pharmacological basis of therapeutics, pp. 221-243, Pergamon Press, New York, 1990.
- HOGG, J.C. – Bronchial mucosal permeability and its relationship to airway hyperreactivity. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 67:421-426, 1981.
- HOGG, J.C.; PARE, P.D.; MORENO, R. – The effect of submucosal edema in airways resistance. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 135:554-556, 1987.
- HOLTZMAN, M.J.; FABBRI, L.M.; O'BYRNE, P.M. *et alli* – Importance of airway inflammation for hyperresponsiveness induced by ozone. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 127:686-690, 1983.

- HOLTZMAN, M.J.; AIZAWA, H.; NADEL, J.A.; GOETZL, E.J. – **Selective generation of leukotriene B₄ by tracheal epithelial cells from dogs.** *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 114:1071-1076, 1983.
- HOLTZMAN, M.J.; FABBRI, L.M.; O'BYRNE, P.M.; GOLD, B.D.; AIZAWA, H.; WALTERS, E.H.; ALPERT, S.E.; NADEL, J.A. – **Importance of airway inflammation of hyperresponsiveness induced by ozone.** *Am. Rev. Respir. Dis.*, 127:686-690, 1983.
- HOLZMANN, S. – **Endothelium-induced relaxation by acetylcholine associated with larger rises in GMP in coronary arterial strips.** *J. Cyclic. Nucleotide Res.*, 8:409-419, 1982.
- HONDGHEM, L.M. & MILLER, R.D. – **Anestésicos locais.** In: KATZUNG, B.G. (ed.). *Farmacologia Básica & Clínica.* Guanabara Koogan S.A., Rio de Janeiro, Brasil, pp. 271-276, 1994.
- HOWARTH, P.H.; DURHAM, S.R.; LEE, T.H.; KAY, A.B.; CHURCH, M.K.; HOLGATE, S.T. – **Influence of albuterol, cromolyn sodium and ipratropium bromide on the airway and circulating mediator responses to allergen bronchial provocation in asthma.** *Am. Rev. Respir. Dis.*, 132:986-992, 1985.
- HOWELL, C.J.; PUJOL, J.L.; CREA, A.E.G. *et alli* – **Identification of an alveolar macrophage derived activity in bronchial asthma which enhances leukotriene C₄ generation by human eosinophils stimulated by ionophore (A23187) as granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF).** *Am. Rev. Respir. Dis.*, 140:1340-1347, 1989.
- HUBER, H.L.; KOESSLER, K.K. – **Pathology of asthma.** *Arch. Intern. Med.*, 30:689-760, 1922.
- HUNNINGHAKE, G.W.; GALLIN, I.I.; FAUCI, A.S. – **Immunologic reactivity of the lung. The in vivo and in vitro generation of a neutrophil chemotactic factor by alveolar macrophages.** *Am. Rev. Respir. Dis.*, 117:15-23, 1978.
- HUNTER, J.A.; FINKBEINER, W.E.; NADEL, J.A.; GOETZL, E.J.; HOLTZMAN, M.J. – **Predominant generation of 15-lipoxygenase metabolites of arachidonic acid by epithelial cells from human trachea.** *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 82:4633-4637, 1985.

- HYMAN, A.L.; LIPPTON, H.L.; KADOWITZ, P.J. – Methylene blue prevents hypoxic pulmonary vasoconstriction in cats. *Am. J. Physiol.*, 260:H586-H592, 1991.
- HYMAN, A.L.; MATHE, A.A.; LESLIE, C.A.; MATTHEWS, C.C.; BENNETT, J.T.; SPANNHAKE, E.W.; KADOWITZ, P.J. – Modification of pulmonary vascular responses to arachidonic acid by alternations in physiologic state. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 207:388-401, 1978.
- ICHINOSE, M.; BARNES, P.J. – A potassium channel activator modulates both non-cholinergic and cholinergic neurotransmission in guinea-pig airways. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 252:1207-1212, 1990.
- IGNARRO, L.J. – Biosynthesis and metabolism of endothelium-derived nitric oxide. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 30:353-360, 1990.
- IGNARRO, L.J. & KADOWITZ, P.J. – The pharmacological and physiological role of cyclic GMP in vascular smooth muscle relaxation. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 25:171-191, 1985.
- IGNARRO, L.J.; HARBISON, R.G.; WOOD, K.S.; KADOWITZ, P.J. – Activation of purified soluble guanylate cyclase by endothelium-derived relaxing factor from intrapulmonary artery and vein: stimulation by acetylcholine, bradykinin and arachidonic acid. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 237(3):893-900, 1986.
- IGNARRO, L.J.; BYRNS, R.E.; BUGA, G.M.; WOOD, K.S. – Endothelium-derived relaxing factor from pulmonary artery and vein possesses pharmacological and chemical properties that are identical to those for nitric oxide radical. *Circ. Res.*, 61:866-879, 1987.
- INGRAM, R.H.JR. – Asthma and airway hyperresponsiveness. *Annu. Rev. Med.*, 42:139-150, 1991.
- IRVIN, C.G.; BALTOPOULOS, G.; HENSON, P. – Airway hyperreactivity produced by products from phagocytosing neutrophils (abstract). *Am. Rev. Respir. Dis.*, 131:A278, 1985.
- JACKSON, P.A.; MANNING, P.J.; O'BYRNE, P.M. – A new role for histamine H₂-receptors in asthmatic airways. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 138:784-788, 1988.

- JENKINS, C.R.; WOOLCOCK, A.J. – Effect of prednisone and beclomethasone dipropionate on airway responsiveness in asthma: a comparative study. *Thorax*, 43:378-384, 1988.
- JOHNS, R.A. – Endothelium, anesthetics, and vascular control. *Anesthesiology*, 79:1381-1391, 1993.
- JOHNS, R.A. – Endothelium-derived relaxing factor: Basic review and clinical implications. *J. Cardiothorac. Vasc. Anesth.*, 5:69-79, 1991.
- JOHNS, R.A.; PEACH, M.J.; LINDEN, J.M.; TICHOTSKY, A. – N^G-monomethyl-L-arginine causes specific, close-dependent inhibition of cyclic GMP accumulation in cocultures of bovine pulmonary endothelium and rat VSM through an action specific to the endothelium. *Circ. Res.*, 67:979-985, 1990.
- JOHNSON, A.J.; NUNN, A.J.; SOMNER, A.R.; STABLEFORTH, D.E.; STEWART, C.J. – Circumstances of death from asthma. *B.M.J.*, 288:1870-1872, 1984.
- JORFELDT, L.; LEWIS, D.H.; LÖFSTRÖM, J.B.; POST, C. – Lng uptake of lidocaine in man as influenced by anaesthesia, mepivacaine infusion or lung insufficiency. *Acta Anaesthesiol. Scand.*, 27:5-9, 1983.
- JOSEPH, M.; TONNEL, A.B.; TAPIER, G.; CAPRON, A. – Involvement of immunoglobulin E in the secretory process of alveolar macrophages from asthmatic patients. *J. Clin. Invest.*, 71:221-230, 1983.
- JOSEPH, M.; TONNEL, A.B.; TORPIER, G. *et alli* – Involvement of immunoglobulin E in the secretory processes of alveolar macrophages from asthmatic patients. *J. Clin. Invest.*, 71:221-230, 1983.
- JUNIPER, E.F.; FRITH, P.A.; HARGREAVE, F.E. – Airway responsiveness to histamine and methacholine: relationship to minimum treatment to control symptoms of asthma. *Thorax*, 36:575-579, 1981.
- KADOWITZ, P.J.; KNIGHT, D.S.; HIBBS, R.G.; ELLISON, J.P.; JOINER, P.D.; BRODY, M.J.; HYMAN, A.L. – Influence of 5- and 6-hydroxydopamine on adrenergic transmission and nerve terminal morphology in the canine pulmonary vascular bed. *Circ. Res.*, 39:191, 1976.

- KADOWITZ, P.J.; MCNAMARA, D.B.; SHE, J.S.; SPANNHAKE, E.W.; HYMAN, A.L. – **Arachidonic acid responses in the lung.** Bull. Eur. Physiopath. Resp., 17:659-673, 1981.
- KALINER, M. – **Asthma and mast cell activation.** J. Allergy Clin. Immunol., 83:510-520, 1989.
- KAUFMAN, M.P.; COLERIDGE, H.M.; COLERIDGE, J.C.G.; BAKER, D.G. – **Bradykinin stimulates afferent vagal C-fibers in intrapulmonary airways of dogs.** J. Appl. Physiol. 48:511-517, 1980.
- KAY, A.B. – **Asthma and inflammation.** J. Allergy Clin. Immunol., 87:893-910, 1991.
- KAY, A.B.; DIAZ, P.; CARMICHAEL, J. *et alli* – **Corticosteroid resistant chronic asthma and monocyte complement receptors.** Clin. Exp. Immunol., 44:576-580, 1981.
- KELLAWAY, C.H.; TRETHERWIE, E.R. – **The liberation of a slow-reacting smooth muscle-stimulating substance in anaphylaxis.** Q. J. Exp. Physiol., 30:121-145, 1940.
- KELLEY, J. – **Cytokines of the lung.** Am. Rev. Respir. Dis., 141:765-788, 1990.
- KELM, M.; FEELISH, M.; SPAHR, R.; PIPER, H.-M.; NOACK, E.; SCHRADER, J. – **Quantitative and kinetic characterisation of nitric oxide and EDRF released from cultured endothelial cells.** Biochem. Biophys. Res. Commun., 154:236-244, 1988.
- KERN, R.; SMITH, L.J.; PATTERSON, R.; KRELL, R.D.; BERNSTEIN, P.R. – **Characterization of the airway responses to inhaled leukotriene D₄ in normal subjects.** Am. Rev. Respir. Dis., 133:1124-1126, 1986.
- KERREBLIJN, K.F.; VAN ESSEN-ZANDVLIET, E.E.; NEIJENS, H.J. – **Effect of long-term treatment with inhaled cortico-steroids and beta-agonists on bronchial responsiveness in children with asthma.** J. Allergy Clin. Immunol., 79:653-659, 1987.
- KIMANI, G.; TONNESEN, M.G.; HENSON, P.G. – **Stimulation of eosinophil adherence to human vascular endothelial cells in vitro by platelet activating factor.** J. Immunol., 140:3161-6, 1988.

- KIRBY, J.G.; HARGREAVE, F.E.; GLEICH, G.S.; O'BYRNE, P.M. – **Bronchoalveolar cell profiles of asthmatic and nonasthmatic subjects.** *Am. Rev. Respir. Dis.*, 136:379-383, 1987.
- KITAMURA, Y. – **Heterogeneity of mast cell populations and phenotypic change between subpopulations.** *Ann. Rev. Immunol.*, 7:59-76, 1989.
- KLEIN, R.C.; SALVAGGIO, J.E. – **Nonspecificity of the bronchoconstricting effect of histamine and acetyl-beta-methylcholine in patients with obstructive airway disease.** *J. Allergy*, 37: 158-168, 1966.
- KNAUER, K.A.; LICHTENSTEIN, L.M.; FRANKLIN ADKINSON, JR.N.; FISH, J.E. – **Platelet activation during antigen-induced airway reactions in asthmatic subjects.** *N. Engl. J. Med.*, 304:1404-1407, 1981.
- KRAAN, J.; KOETER, G.H.; VAN DER MARK, T.W.; SLUITER, H.J.; DE VRIES, K. – **Changes in bronchial hyperreactivity induced by 4 weeks of treatment with antiasthmatic drugs in patients with allergic asthma: a comparison between budesonide and terbutaline.** *J. Allergy Clin. Immunol.*, 76:628-636, 1985.
- KROEGEL, C.; YUKAWA, T.; DENT, G.; VENGE, P.; CHUNG, K.F.; BARNES, P.J. – **Stimulation of degranulation from human eosinophils by platelet-activating factor.** *J. Immunol.*, 142:3518-26, 1989.
- KROEGEL, C.; YUKAWA, T.; BARNES, P.J. – **Substance P induces degranulation of eosinophils.** *Am. Rev. Respir. Dis.*, 139:238, 1989.
- KWON, N.S.; NATHAN, C.F.; GILKER, C.; GRIFFITH, O.W.; MATTHEWS, D.E.; STUEHR, D.J. – **L-citrulline production from L-arginine by macrophage nitric oxide synthase.** *J. Biol. Chem.*, 265:13442-13445, 1990.
- LAI, C.K.; JENKINS, J.R.; POLOSA, R.; HOLGATE, S.T. – **Inhaled PAF fails to induce airway hyperresponsiveness to methacholine in normal human subjects.** *J. Appl. Physiol.*, 68:919-926, 1990.
- LAITINEN, L.A. – **Histamine and methacholine challenge in the testing of bronchial reactivity.** *Scand. J. Respir. Dis.*, 86:(Suppl.) 1-47, 1974.

- LAITINER, L.A.; HEINO, M.; LAITINER, A.; KAVA, T.; HAAHTELA, T. DUNNILL, M.S. - **Damage of the airway epithelium and bronchial reactivity in patients with asthma.** *Am. Rev. Respir. Dis.*, 131:599-606, 1985.
- LAITINER, L.A.; HEINO, M.; LAITINER, A.; KAVA, T.; HAAHTELA, T. - **Damage of the airway epithelium and bronchial reactivity in patients with asthma.** *Am. Rev. Respir. Dis.*, 131:599-606, 1985.
- LAITINER, L.A.; LAITINER, A.; PANULA, P.A.; PARTANEN, M.; TERVO, K.; TERVO, T. - **Immunohistochemical demonstration of substance P in the lower respiratory tract of the rabbit and not of man.** *Thorax*, 38:531-536, 1983.
- LANCASTER, JR., J.R. - **Nitric oxide in cells.** *Am. Scientist.*, 80(3):248-259, 1992.
- LAURENCE, I.D.; WARNER, J.A.; COHAN, L. *et alli* - **Induction of histamine release from human skin mast cells by bradykinin analogs.** *Biochem. Pharmacol.*, 38:227-233, 1989.
- LAURENCE, I.D.; WARNER, J.A.; COHAN, L. *et alli* - **Purification and characterisation of human skin mast cells. Evidence for human mast cell hiterogeneity.** *J. Immunol.*, 139:3062-3067, 1987.
- LEE, H.K.; MURLAS, C. - **Ozone-induced bronchial hyperreactivity in guinea-pigs in abolished by BW 755C or FPL 55712 but not by indomethacin.** *Am. Rev. Respir. Dis.*, 132:1005-1009, 1985.
- LEE, L.Y.; BLEECKER, E.R.; NADEL, J.A. - **Effect of ozone on broncomotor response to inhaled histamine aerosol in dogs.** *J. Appl. Physiol.*, 43:626-631, 1977.
- LEE, T.H.; AUSTEN, K.F.; COREY, E.J.; DRAZEN, J.M. - **Leukotriene E₄-induced airway hyperresponsiveness of guinea-pig trachea smooth muscle to histamine and evidence for three separate sulfidopeptide leukotriene receptors.** *Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.)*, 81:4922-4925, 1984.
- LEE, T.H.; ARM, J.P.; SPUR, B.W. - **Lekotriene E₄ (LTE₄) enhances airways histamine responsiveness in asthmatic subjects.** *J. Allergy Clin. Immunol.*, 79:256A, 1987.

- LEE, T.H.; BROWN, M.J.; NAGY, L. *et alli* – Exercise induced release of histamine and neutrophil chemotactic factor in atopic asthmatics. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 7:73-81, 1982.
- LEE, T.H.; NAGY, L.; NGAKURA, T.KI *et alli* – The identification and partial characterisation of an exercise induced neutrophil chemotactic factor in bronchial asthma. *J. Clin. Invest.*, 69:880-899, 1982.
- LEE, T.C.; LENIHAN, D.J.; MALONE, B.; RODDY, L.L.; WASSERMAN, S.I. – Increased biosynthesis of platelet activating factor in activated human eosinophils. *J. Biol. Chem.*, 259:5526-5530, 1984.
- LEIER, C.V. – Dobutamine. *Ann. Intern. Med.*, 99:490-496, 1983.
- LELLOUCH-TUBIANA, A.; LEFORT, J.; PIROTZKY, E.; VARGAFTIG, B.B.; PFISTER, A. – Ultrastructural evidence for extravascular platelet recruitment in the lung upon intravenous injection of platelet activating factor (Paf-acether) to guinea-pigs. *Br. J. Exp. Pathol.*, 66:345-355, 1985.
- LELLOUCH-TUBIANA, A.; LEFORD, J.; SIMON, M.T.; PFISTER, A.; VARGAFTIG, B.B. – Eosinophil recruitment into guinea pig lungs after PAF-acether and allergen administration. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 137:948-954, 1988.
- LELLOUCH-TUBIANA, A.; LEFORT, J.; PIROTZKY, E. *et alli* – Ultra-structural evidence for extra-vascular platelet recruitment in the lung upon intravenous injection of PAF-acether to the guinea-pig. *Br. J. Exp. Pathol.*, 66:345-355, 1985.
- LELLOUCH-TUBIANA, A.; LEFORT, J.; SIMON, M.T. *et alli* – Eosinophil recruitment into guinea-pig lungs after PAF-acether and allergen administration: modulation by prostacyclin, platelet depletion and selective antagonists. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 137:948-954, 1988.
- LELLOUCH-TUBIANA, A.; LEFORT, J.; PFISTER, A. *et alli* – Interactions between granulocytes and platelets with the guinea-pig lung in passive anaphylactic shock. Correlations with PAF-acether-induced lesions. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.*, 83:198-205, 1987.
- LEMANSKE, R.F.; KALINER, M.A. – Autonomic nervous system abnormalities and asthma. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 141:S157-161, 1990.

- LEWIS, R.A.; AUSTEN, K.F. – The biologically active leukotrienes. *Biosynthesis, Metabolism, receptors, functions and pharmacology*. J. Clin. Invest., 73:889-897, 1984.
- LINDSAY, R.M.; HARMAR, A.J. – Nerve growth factor regulates expression of neuropeptide genes in adult sensory neurons. *Nature*, 337:362-364, 1990.
- LITCHFIELD, T.M. & LEE, T.H. – Asthma: cells and cytokines. *J. Asthma*, 29(3):181-191, 1992.
- LITTNER, M.R.; KAZMI, G.M.; LOTT, F.D. – Effects of A23187, exogenous phospholipase A² and exogenous arachidonic acid on pulmonary vascular resistance in isolated rabbit lung. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 242(3):974-980, 1987.
- LOZEWICZ, S.; WELLS, C.; GOMEZ, E.; FERGUSON, H.; RICHMAN, P.; DEVALIA, J.; DAVIES, R.J. – Morphological integrity of the bronchial epithelium in mild asthma. *Thorax*, 45:12-15, 1990.
- LOZEWICZ, S.; WELLS, C.; GOMEZ, E. *et alli* – Morphological integrity of the bronchial epithelium in mild asthma. *Thorax*, 45:12-15, 1990.
- LUNDBERG, J.M.; ANDERS, F.-C.; HUA, X.; HOKFELT, T.; FISCHER, J.A. – Coexistence of substance P and calcitonin gene-related peptide-like immunoreactivities in sensory nerves in relation to cardiovascular and bronchoconstrictor effects of capsaicin. *Eur. J. Pharmacol.*, 108:315-319, 1985.
- LUNDBERG, J.M.; HOKFELT, T.; MARTLING, C.-R.; SARIA, A.; CUELLO, C. – Substance P-immunoreactive sensory nerves in the lower respiratory tract of various mammals including man. *Cell Tissue Res.*, 235:251-261, 1984.
- LUNDBERG, J.M.; SARIA, A.; BRODIN, E.; RUSSELLS, S.; FOLKERS, R.-A. – Substance P antagonist inhibits vagally induce increase in vascular permeability and bronchial smooth muscle contraction in the guinea-pig. *Proc. Nat. Acad. Sci. (U.S.A.)*, 80:1120-1124, 1983.
- MACLAGAN, J. – Presynaptic control of airway smooth muscle. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 136:S54-S27, 1987.

- MAIMONIDES, M. – **Treatise on asthma**. In: Muntner, S. Ed. *Treatise on asthma*. Philadelphia: JB. Lippincott, 1968.
- MAK, H.; JONHSTON, P.; ABBEY, H.; TALAMO, R.C. – **Prevalence of asthma and health service utilization of asthmatic children in a inner city**. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 70:367-372, 1982.
- MAK, J.C.M.; BARNES, P.J. – **Autoradiographic localization of calcitonin gene-related peptide binding sites in human and guinea-pig lung**. *Peptides*, 9:957-964, 1988.
- MANNING, P.J.; JONES, G.L.; O'BYRNE, P.M. – **Tachyphylaxis to inhaled histamine in asthmatic subjects**. *J. Appl. Physiol.*, 63:1572-1577, 1987.
- MANNING, P.J.; LANE, C.G.; O'BYRNE, P.M. – **The effect of oral prostaglandin E₁ on airway responsiveness in asthmatic subjects**. *Pulmon. Pharmacol.*, 178:85-89, 1989.
- MANNING, P.M.; JONES, G.L.; LANE, C.G.; O'BYRNE, P.M. – **Histamine-induced prostaglandin E₂ release from canine tracheal smooth muscle is inhibited by H₂-receptor blockade**. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 137:373A, 1988.
- MANO, K.; AKBARZADEH, A.; TOWNLEY, R.G. – **Effect of hydrocortisone on beta-adrenergic receptors in lung membranes**. *Life Sci.*, 25:1925-1930, 1979.
- MAPP, C.; BOSCHETTO, P.; DAL VECCHIO, L. *et alli* – **Protective effect of antiasthma drugs on late asthmatic reactions and increased airway responsiveness induced by toluene diisocyanate in sensitized subjects**. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 136:1403-1407, 1987.
- MARGOLSKEE, D.J.; BIGLEY, B.G.; BONSHAY, H.A. – **Indomethacin blocks airway tolerance to repetitive exercise but not to eucapnic hyperpnea in asthmatic subjects**. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 137:842-846, 1988.
- MARIDONNEAU-PARINI, I.; LAGENTE, V.; LEFORT, J. *et alli* – **Desensitization to PAF-induced bronchoconstriction and to activation of alveolar macrophages by repeated inhalations of PAF in the guinea-pig**. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 131:42-49, 1985.

- MARLETTA, M.A.; YOON, P.S.; YENGAR, R.; LEAF, C.D.; WISHNOK, J.S. - **Macrophage oxidation of L-arginine to nitrite and nitrate: Nitric oxide is an intermediate.** *Biochem. J.*, 27:8706-8711, 1988.
- MARTIN, D.C.; CARR, A.M.; LIVINGSTON, R.R.; WATKINS, C.A. - **Effects of ketamine and fentanyl on lung metabolism in perfused rat lungs.** *Am. Physiol. Soc. p. E.379-E.384*, 1989.
- MARTIN, W.; VILLANI, G.M.; JOTHIANANDAN, D.; FURCHGOTT, R.F. - **Selective blockade of endothelium-dependent and glyceryl trinitrate-induced relaxation by hemoglobin and by methylene blue in the rabbit aorta.** *J. Pharmacol. Exp. Therap.*, 232(3):708-716, 1985.
- MARTLING, C.-R.; SARIA, A.; FISCHER, J.A.; HOKFELT, T.; LUNDBERG, J.M. - **Calcitonin gene-related peptide and the lung: neuronal coexistence with substance P release by capsaicin and vasodilatory effect.** *Regul. Pept.*, 20:125-139, 1988.
- MARUTANI, M.; KUSACHI, S.; KAJIKAWA, Y.; YAMASAKI, S.; TSUJI, T. - **NG-nitro-L-arginine attenuates flow debt repayment in the reactive hyperemic response of the open-chest dog coronary artery: contribution of endothelium-derived relaxing factor.** *Acta Med. Okayama.* 46(5):337-343, 1992.
- MASUDA, T.; NAITO, A.; KINOSHITA, M., *et alli* - **Acetylcholine inhalation test in atopic dermatitis.** *J. Allergy*, 40:193-201, 1967.
- MATHE, A.A.; HEDGVIST, P.; HOLMGREN, A.; SVANBORG, N. - **Bronchial hyperreactivity to prostaglandin F_{2a} and histamine in patients with asthma.** *Br. Med. J.*, 1:193-196, 1973.
- MATHÉ, A.A.; HEDQVIST, P.; STRANDBERG, K.; LESLIE, C.A. - **Aspects of prostaglandin function in the lung.** *N. Engl. J. Med.*, 269:850-910, 1977.
- MATRAN, R.; ALVING, K.; MARLING, C.-R.; LACROIX, J.S.; LUNDBERG, J.M. - **Vagally mediated vasodilation by motor and sensory nerves in the tracheal and bronchial circulation of the pig.** *Acta Physiol. Scand.*, 135:29-37, 1989.
- MATRAN, R.; ALVIN, K.; MARTLING, C.-R.; LACROIX, J.S.; LUNDBERG, J.M. - **Effects of neuropeptides and capsaicin on tracheo bronchial blood flow in the pig.** *Acta Physiol. Scand.*, 135:112-119, 1989.

- MATTOLI, S.; MIANTE, S.; CALABRO, F. *et alli* – **Human bronchial epithelial cells exposed to isocyanates potentiate the activation and proliferation of T-cells induced by antigen receptor triggering through the release of IL-1 and IL-6.** In: JOHANSSON, S.G.O. (ed.) Cellular communications in Allergic Asthma. Pharmacia Allergy Research Foundation Award Book, A. W. Grafiska, Uppsala, Sweden, pp. 25-35, 1990.
- MATTOLI, S.; DI STEFANO, A.; FABBRI, M. *et alli* – **Cultured human bronchial epithelial cells release arachidonic acid metabolites on exposure to toluene diisocyanate in vitro.** Am. Rev. Respir. Dis., 139 (Suppl.):A227, 1989.
- MAYER, P.; VALENT, P.; SCHMIDT, G. *et alli* – **The in vivo effects of recombinant human interleukin-3: demonstration of basophil differentiation factor, histamine producing activity, and priming of GM-CSF-responsive progenitors in nonhuman primates.** Blood, 74:270-282, 1989.
- MAZZONI, L.; MORLEY, J. PAGE, C.P.; SANJAR, S. – **Induction of airway hyper-reactivity by platelet activating factor in the guinea-pig.** J. Physiol., 365:107, 1985.
- MCCORNACK, D.G.; SALONEN, R.O.; BARNES, P.J. – **Effect of sensory neuropeptides on canine bronchial and pulmonary vessels in vitro.** Life Sci., 45:2405-2412, 1989.
- MCDONALD, D.M. – **Respiratory tract infections increase susceptibility to neurogenic inflammation in the rat trachea.** Am. Rev. Respir. Dis., 137:1432-1440, 1988.
- MCFADDEN, E.R.JR. – **Airway responsivity and chronic obstructive lung disease.** In: CHERNIACK N. ed. Chronic obstructive pulmonary disease. Philadelphia: W.B. Saunders, 90-6, 1991.
- MCFADDEN, E.R.JR. – **Asthma: airway dynamics, cardiac function, and clinical correlates.** In: MIDDLETON, E.JR.; RUD, C.E.; ELLIS, E.F.; ADKINSON, N.F.JR.; YUNGINGER, J.W. eds. Allergy: principles and practice. 3rd ed. Vol. 2. St. Louis: C.V. Mosby, 1018-1036, 1988.
- MCFADDEN, E.R.JR. & GILBERT, I.A. – **Asthma.** The New England J. of Med., 327(27):1928-1937, 1992.

- MCFADDEN, E.R.JR.; SOTER, N.A.; INGRAM, R.H.JR. – **Magnitude and site of airway response to exercise in asthmatics in relation to arterial histamine levels.** *J. Allergy Clin. Immunol.*, 66(6):472-477, 1980.
- MCPMAHON, R.J.; HOOD, J.S.; KADOWITZ, P.J. – **Pulmonary vasodilator response to vagal stimulation is blocked by N^W -nitro-L-arginine methyl ester in the cat.** *Circ. Res.*, 70(2):364-369, 1992.
- MCNEILL, R.S.; NAIRN, J.R.; MILLAR, J.S.; INGRAM, C.G. – **Exercise-induced asthma.** *Am. J. Med.*, 35:55-67, 1966.
- MELEWICZ, F.M.; ZEIGER, R.S.; MELLON, M.H. *et alli* – **Increased peripheral blood monocytes with F_C receptors for IgE in patients with severe allergic disorders.** *J. Immunol.*, 126:1592-1595, 1981.
- Mendonça, M.E.F. – **Reatividade bronco-alveolar e pressórica de autacóides no pulmão perfundido do coelho.** Fortaleza, 1992. Tese (Mestrado). Universidade Federal do Ceará. Curso de Pós-Graduação em Farmacologia.
- MESSER, J.W.; PETERS, G.A.; BENNETT, W.A. – **Causes of death and pathologic findings in 304 cases of bronchial asthma.** *Dis. Chest.*, 38:616-324, 1960.
- METZ, S.A. – **Anti-inflammatory agents as inhibitors of prostaglandin synthesis in man.** *Med. Clins. N. Am.*, 65:713-757, 1981.
- METZGER, W.J.; ZAVALA, D.; RICHARDSON, H.B., *et alli* – **Local allergen challenge and bronchoalveolar lavage of allergic asthmatic lungs: description of the model and local airway inflammation.** *Am. Rev. Respir. Dis.*, 135:433-440, 1987.
- METZGER, W.J.; HUNNINGHAKE, G.W.; RICHERSON, H.B. – **Late asthmatic responses: inquiry into mechanisms and significance.** *Clin. Rev. Allergy*, 3:145-165, 1985.
- METZGER, W.J.; ZAVALA, D.; RICHERSON, H.B., *et alli* – **Local allergen challenge and bronchoalveolar lavage of allergic asthmatic lungs.** *Am. Rev. Respir. Dis.*, 135:433-440, 1987.
- MONCADA, S. – **The L-arginine: nitric oxide pathway.** *Acta Physiol. Scand.*, 145:201-227, 1992.

- MONCADA, S.; PALMER, R.M.J.; HIGGS, E.A. - Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol. Rev.*, 43:109-142, 1991.
- MONCADA, S.; GRYGLEWSKI, R.; BUNTING, S.; VANE, J.R. - An enzyme isolated from arteries transforms prostaglandin endoperoxides to an unstable substance that inhibits platelet aggregation. *Nature*, 263:663-665, 1976.
- MOORE, P.K.; AL-SWAYCH, O.A.; CHONG, N.W.S.; EVANS, R.A.; GIBSON, A. - L-NG-nitro arginine (L-NOARG), a novel, L-arginine-reversible inhibitor of endothelium-dependent vasodilatation in vitro. *Br. J. Pharmacol.*, 99:408-412, 1990.
- MORRIS, H.G. - Mechanisms of action and therapeutic role of corticosteroids in asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 75:1-13, 1985.
- MURAD, F. - Cyclic guanosine monophosphate as a mediator of vasodilation. *J. Clin. Invest.*, 78:1-5, 1986.
- MURAD, F.; MITTAL, C.K.; ARNOLD, W.P.; KATASUKI, S.; KIMURA, H. - Guanylate cyclase: activation by azide, nitro compounds, nitric oxide, and hydroxyl radical and inhibition by hemoglobin and myoglobin. *Adv. Cyclic Nucleotide Res.*, 9:145-158, 1978.
- MURPHY, K.R.; IRVIN, C.G.; GLEZEN, L.S.; MARSH, W.R.; LARSEN, G.L. - The effect of polymorphonuclear leukocyte depletion on the late asthmatic response and changes in airways reactivity (abstract). *Am. Rev. Respir. Dis.*, 131:A6, 1985.
- NADEL, J.A. - Autonomic control of airway smooth muscle and airway secretions. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 115 (Suppl. 2):117-126, 1977.
- NADEL, J.A. - Autonomic control of airway smooth muscle and airway secretions. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 115 (Suppl.2):117-126, 1977.
- NADEL, J.A. & BORSON, D.B. - Modulation of neurogenic inflammation by neutral endopeptidase. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 143:533-536, 1991.
- NADEL, J.A.; CABEZAS, G.A.; AUSTIN, J.H. - In vivo roentgenographic examination of parasympathetic innervation of small airways. Use of powdered tantalum and a fine focal spot x-ray tube. *Invest. Radiol.* 6:9, 1971.

- NAGAISHI, C. – **Functional anatomy and histology of the lung**. University Park Press. Baltimore, 1972, p. 180.
- NAGY, L.; LEE, T.H.; KAY, A.B. – **Neutrophil chemotactic activity in antigen-induced late asthmatic reactions**. N. Engl. J. Med., 306:497-501, 1982.
- NATIONAL CENTER FOR HEALTH STATISTICS – **Vital statistics of the United States, 1987**. Vol. II, part B (DHHS publication n° PHS 89-1102). Washington, DC: VS Government Printing Office, 1989.
- NELSON, H.S. – **Adrenergic therapy of bronchial asthma**. J. Allergy Clin. Immunol., 77:771-785, 1986.
- NELSON, H.S. – **Beta adrenergic agonists**. Chest, 82 (Suppl.): 335-385.
- NEWCOMB, R.W.; AKHTER, J. – **Respiratory failure from asthma: a marker for children with high morbidity and mortality**. Am. J. Dis. Child., 142:1041-1044, 1988.
- O'BYRNE, P.M. & JONES, G.L. – **The effect of indomethacin on exercise-induced bronchoconstriction and refractoriness after exercise**. Am. Rev. Respir. Dis., 134:69-72, 1986.
- O'BYRNE, P.M.; HARGREAVE, F.E.; KIRBY, J.G. – **Airway inflammation and hyperresponsiveness**. Am. Rev. Respir. Dis., 136:535-537, 1987.
- O'BYRNE, P.M.; WALTERS, E.H.; AIZAWA, H.; FABBRI, L.M.; HOLTZMAN, M.J.; NADEL, J.A. – **Indomethacin inhibits the airway hyperresponsiveness but not the neutrophil influx induced by ozone in dogs**. Am. Rev. Respir. Dis., 130:220-224, 1984.
- O'BYRNE, P.M.; WALTERS, E.H.; GOLD, B.D. *et alli* – **Neutrophil depletion inhibits airway hyperresponsiveness induced by ozone exposure in dogs**. Am. Rev. Respir. Dis., 130:214-219, 1985.
- O'BYRNE, P.M.; MANNING, P.J. – **Clinical Relevance of lipid mediators in asthma**. J. Astham, 29(3):153-163, 1992.
- O'BYRNE, P.M.; LEIKAUF, G.D.; AIZAWA, H.; BETHEL, R.A.; UEKI, I.F.; HOLTZMAN, M.J., NADEL J.A. – **Leukotriene B₄ induced airway hyperresponsiveness in dogs**. J. Appl. Physiol., 59:1941-1946, 1985.

- O'DONNELL, S.R.; SAAR, N.; WOOD, L.J. – **The density of adrenergic nerves at various levels in the guinea pig lung.** *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, 5:325, 1978.
- OATES, J.A. & WOOD, A.J.J. – **Drug therapy: a new approach to the treatment of asthma.** *The New England J. Med.*, 321 (22):1517-1527, 1989.
- OHENSEN, E.A.; STANLEY, A.M.; GELFAND, J.A. *et alli* – **Immunoglobulin and complement receptors on human eosinophils and their role in cellular adherence to shistosomules.** *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 26:134-141, 1977.
- OHTOSHI, T.; VANCHERI, C.; COX, G. *et alli* – **Monocyte-macrophage differentiation induced by human upper airway epithelial cells.** *J. Allergy Clin. Immunol.*, 83:229 (abstr.), 1989.
- OLLERENSHAW, S.; JARVIS, D.; WOOLCOCK, A.; SULLIVAN, C.; SCHERBNER, T. – **Absence of immunoreactive vasoactive intestinal peptide from the lungs of patients asthma.** *N. Engl. J. Med.*, 320:1244-1248, 1989.
- OLLERENSHAW, S.L.; JARVIS, D.L.; WOOLCOCK, A.J.; SCHEIBNER, T.; SULLIVAN, C.E. – **Substance P immunoreactive nerve fibers in airways from patients with and without asthma.** *Am. Res. Respir. Dis.*, 139:A237, 1989.
- OREHEK, J.; GAYRARD, P.; SMITH, A.P.; GRIMAUD, C.; CHARPIN, J. – **Airway response to carbachol in normal and asthmatic subjects.** *Am. Rev. Respir. Dis.*, 115:937-943, 1977.
- OREHEK, J.; DOUGLAS, J.S.; BOUHUYS, A. – **Contractile responses of the guinea-pig trachea in vitro: modification by prostaglandin synthesis-inhibiting drugs.** *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 194:544-564, 1975.
- OREHEK, J.; DOUGLAS, J.S.; LEWIS, A.J.; BOUHUYS, A. – **Prostaglandin regulation of airway smooth muscle tone.** *Nature, New Biol.*, 245:84-85, 1973.
- OWEN, W.F.; ROTHENBERG, M.E.; SILBERSTEIN, D.S. *et alli* – **Regulation of human eosinophil viability, density, and function by granulocyte/macrophage colony stimulating factor in the presence of 3T3 fibroblasts.** *J. Exp. Med.*, 166:129-141, 1987.

- PAGE, C.B.; PAUL, W.; ARCHER, C.B.; McDONALD, D.M.; MORLEY, J. - In: BENVENISTE, J.; ARNOUX, B. (eds.) Platelet activating factor, insem symposium 23. Elsevier Science, Amsterdam, pp. 357-366, 1983.
- PALMER, J.B.D.; CUSS, F.M.C.; MULDERY, P.K.; GHATEI, M.A.; SPRINGALL, D.R.; CADIEUX, A.; BLOOM, S.R.; POLAK, J.M.; BARNES, P.J. - **Calcitonin gene-related peptide is localised to human airway nerves and potently constricts human airway smooth muscle.** Br. J. Pharmacol., 91:95-101, 1987.
- PALMER, R.M.J.; FERRIGE, A.G.; MONCADA, S. - **Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor.** Nature, 327:524-526, 1987.
- PANZANI, R. - **5-Hydroxytryptamine (serotonin) in human bronchial asthma.** Ann. Allergy, 20:721-732, 1962.
- PAULET, G.; LE BARS, R. - **Effect of vasomotor innervation on the pulmonary blood mass in dogs.** J. Physiol. (Paris), 1:160, 1969.
- PAUT, M.; PIERCE, J.H.; WATSON, C.J. *et alli* - **Mast cell lines produce lymphokines in response to cross-linkage of F_C-epsilon R₁ or to calcium ionophores.** Nature, 339:64-67, 1989.
- PAWVELS, R.; VAN RENTERGHEM, D.; VAN DER STRAETEN, M.; JOHANNESSEN, N.; PERSSON, C.G. - **The effect of theophylline and enprofylline on allergen-induced bronchoconstriction.** J. Allergy Clin. Immunol., 76:583-590, 1985.
- PEARCE, F.L.; FLINT, K.C.; LEUNG, K.B.P. *et alli* - **Some studies on human pulmonary mast cells obtained by bronchoalveolar lavage and enzymic dissociation of whole lung.** Int. Arch. Allergy Appl. Immunol., 82:507-512, 1987.
- PEARCE, F.L.; KASSESSINOFF, T.A.; LIN, W.L. - **Characteristics of histamine secretion induced by neuropeptides: implications of the relevance of peptide-mast cell interactions in allergy and inflammation.** Int. Arch. Allergy Appl. Immunol., 88:129-131, 1989.
- PEARSON, C.G.A. - **Role of plasma exudation in asthmatic airways.** Lancet, 2:1126-9, 1986.

- PERRIN, J.M.; HOMER, C.J.; BERWICK, D.M. *et alli* - Variations in rates of hospitalization of children in three urban communities. *N. Engl. J. Med.*, 320:1183-1211, 1989.
- PERSSON, C.G. - Overview of effects of theophylline. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 78:780-787, 1986.
- PERSSON, C.G.A.; SVENSJO, E. - Airway hyperreactivity and microvascular permeability to large molecules. *Eur. J. Respir. Dis.*, 131:183-214, 1983.
- PHIPPS, R.J. AND RICHARDSON, P.S. - The nervous and pharmacological control of tracheal mucus secretion in the goose. *J. Physiol. (Lond.)*, 258: 116, 1976.
- PIPER, P.J. & VANE, J.R. - Release of additional factors in anaphylaxis and its antagonism by anti-inflammatory drugs. *Nature*, 223:29-35, 1969.
- PLATTS-MILES, T.A.E.; MITCHELL, E.B.; NOCK, P.; TOVERY, E.R.; MOSZORO, H.; WILKINS, S.R. - Reduction of bronchial hyperreactivity during prolonged allergen avoidance. *Lancet*, ii:675-677, 1982.
- POLAK, J.M.; BLOOM, S.R. - Regulatory peptides of the gastrointestinal respiratory tracts. *Arch. Int. Pharmacodyn*, 280:16-49, 1986.
- PRETOLANI, M.; LEFORT, J.; VARGAFTIG, B.B. - Active immunization induces lung hyperresponsiveness in the guinea-pig: pharmacological modulation and triggering role of the booster injection. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 138:1572-1578, 1988.
- PRETOLANI, M.; LEFORT, J.; DUMAREY, C.; VARGAFTIG, B.B. - Role of lipoxigenase metabolites for the hyper-responsiveness to platelet-activating factor of lungs from actively sensitized guinea pigs. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 248:353-359, 1989.
- PRETOLANI, M.; LELLOUCH-TUBIANA, A.; LEFORT, J.; BACHELET, M.; VARGAFTIG, B.B. - PAF-acether and experimental anaphylaxis as a model for asthma. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.*, 88:149-153, 1989.
- PRETOLANI, M.; LEFORT, J.; VARGAFTIG, B.B. - Immunization induces bronchopulmonary hyperresponsiveness and increased mediator release from guinea-pig lungs. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 524:405-407, 1988.

- PRETOLANI, M.; LEFORT, J.; VARGAFTIG, B.B. – Interference of PAF-acether antagonists with the hyperresponsiveness to PAF-acether of lungs from actively sensitized guinea-pigs. *Prostaglandins*, 35:800, 1988.
- RACHELEFOKY, G.S.; WO, J.; ADELSON, J. *et alli* – Behaviour abnormalities and poor school performance due to oral theophylline use. *Pediatrics*, 78:1133-1138, 1986.
- RADOMSKI, M.W.; PALMER, R.M.J.; MONCADA, S. – Glucocorticoides inhibit the expression of an inducible, but not the constitutive, nitric oxide synthase in vascular E.Cs. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 87:10043-10047, 1990.
- RADOMSKI, M.W.; PALMER, R.M.J.; MONCADA, S. – Characterization of the L-arginine: nitric oxide pathway in human platelets. *Br. J. Pharmacol.*, 101:325-328, 1990.
- RADOMSKI, M.W.; PALMER, R.M.J.; MONCADA, S. – Comparative pharmacology of endothelium-derived relaxing factor, nitric oxide and prostacyclin in platelets. *Br. J. Pharmacol.*, 92:181-187, 1987.
- RAGHAVACHAN, A.; FLEISHER, S.; FRICKHOFEN, N. *et alli* – T-lymphocyte control of human eosinophil granulopoiesis. Clonal analysis in an idiopathic hyper-eosinophilic syndrome. *J. Immunol.*, 139:3753-3758, 1987.
- RANGACHARI, P.K.; MCWADE, D. – Effects of tachykinins on the electrical activity of isolated canine tracheal epithelium: an exploratory study. *Regul. Pept.*, 12: 90-191, 1985.
- RANKIN, J.A.; HITCHCOCK, M.; MERRIL, W., *et alli* – IgE-dependent release of leukotriene C₄ from alveolar macrophages. *Nature*, 297:329-331, 1982.
- RAPOPORT, R.M.; DRAZNIN, M.B.; MURAD, F. – Endothelium-dependent relaxation in rat aorta may be mediated through cyclic GMP-dependent protein, phosphorylation. *Nature*, 306:174-176, 1983.
- REED, C.E. – Aerosol glucocorticoid treatment of asthma. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 141:582-588, 1990.
- REES, D.; PALMER, R.M.J.; HODSON, H.F.; MONCADA, S. – A specific inhibitor of nitric oxide formation from L-arginine attenuates endothelium-dependent relaxation. *Br. J. Pharmacol.*, 96:418-425, 1989.

- RICHARDSON, J.B. – Nerve supply to the lungs. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 119:785-801, 1979.
- ROBBINS, R.A.; SHOJI, S.; GOSSMAN, G.L. *et alli* – Bronchial epithelial cells release a chemoattractive activity for lymphocytes. *Am. Fed. Clin. Res.*, 35:537A, 1987.
- ROBINSON, C.; HOLGATE, S.T. – Mast cell-dependent inflammatory mediators and their pritative role in bronchial asthma. *Clin. Sci.*, 68:103-112, 1985.
- ROBINSON, D.S.; HAMID, Q.; YING, S. *et alli* – Predominant T_{H2}-like broncholaveolar T-lymphocyte population in atopic asthma. *N. Engl. J. Med.*, 326:298-304, 1992.
- ROCHE, W.R.; BEASLEY, R.; WILLIAMS, J.A.; HOLGATE, S.T. – Subepithelial fibrosis in the bronchi of asthmatics. *Lancet*, 1:520-523, 1989.
- ROGERS, D.F.; BELVISI, M.G.; AURSUDKIJ, B.; EVANS, T.W.; BARNES, P.J. – Effects and interactions of sensory neuropeptides on airway microvascular leakage in guinea-pigs. *Br. J. Pharmacol.*, 95:1109-1116, 1988.
- ROGERS, D.R.; BARNES, P.J. – Opioid inhibition of neurally mediated mucus secretion in human bronchi. *Lancet*, 1:930-932, 1989.
- ROSS, R.; GLOMSET, J.A. – The pathogenesis of atherosclerosis, Part 1. *N. Engl. J. Med.*, 295:369-373, 1976.
- ROSS, R.; GLOMSET, J.A. – The pathogenesis of atherosclerosis, Part 2. *N. Engl. J. Med.*, 295:420-425, 1976.
- ROTHENBERG, M.E.; OWEN, W.F.; SILBERSTEIN, D.S. *et alli* – Eosinophils cocultured with endothelial cells have increased survival and functional properties. *Science*, 237:645-647, 1987.
- RUBINFELD, A.R.; PAIN, M.C.F. – Relationship between bronchial reactivity airway caliber, and severity of asthma. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 115:381-387, 1977.
- SALAZAR, F.J.; PINILLA, J.M.; LÓPEZ, F.; ROMERO, J.C.; QUESADA, T. – Renal effects of prolonged synthesis inhibition of endothelium-derived nitric oxide. *Hypertension*, 20:113-117, 1992.

- SALONEN, R.O.; WEBBER, S.E.; WIDDICOMBE, J.G. – **Effects of neuropeptide and capsaicin on the canine tracheal vasculature in vivo.** *Br. J. Pharmacol.*, 95:1262-1270, 1988.
- SARIA, A.; MARTLING, C.-R.; YAN, Z.; THEODOSON-NORHEIM, E.; GAMSE, R.; LUNDBERG, J.M. – **Release of multiple tachykinins from capsaicin-sensitive sensory nerves in the lung by bradykinin, histamine, dimethylphenyl piperazinium and vagal nerve stimulation.** *Am. Rev. Respir. Dis.*, 137:1330-1335, 1988.
- SCHELLENBERG, R.E.; FOSTER, A. – **In vitro responses of human asthmatic airway and pulmonary vascular smooth muscle.** *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.*, 75:237-241, 1984.
- SCHLEIMER, R.P.; SCHULMAN, E.S.; MACGLASHAN, D.W.JR. *et al.* – **Effects of dexamethasone on mediator release from human lung fragments and purified human lung mast cells.** *J. Clin. Invest.*, 71:1830-5, 1983.
- SCHMIDT, H.H.H.W.; BAEBLICH, S.E.; ZERNIKOV, B.C.; KLEIN, M.M.; BÖHME, E. – **L-arginine and arginine analogues: effects on isolated blood vessels and cultured endothelial cells.** *Br. J. Pharmacol.*, 101:145-151, 1990.
- SEALE, J.P. – **Whither beta-adrenoceptor agonists in the treatment of asthma** *Prog. Clin. Biol. Res.*, 263:367-377, 1988.
- SEARS, M.; TAYLOR, D.; PRINT, C.; LAKE, D.; LI, Q., *et alli.* – **Regular inhaled beta agonist treatment in bronchial asthma.** *Lancet*, 336:1391-1396, 1990.
- SEARS, M.R.; BURROUS, B.; FLANNERY, E.M.; HERBISON, G.P.; HEWITT, C.J.; HOLDWAY, M.D. – **Relationship between airway responsiveness and serum IgE in children with asthma and in apparently normal children.** *N. Engl. J. Med.*, 325:1067-1071, 1991.
- SEARS, M.R.; REA, H.H.; ROTHWELL, R.P.G. *et alli* – **Asthma mortality: comparison between New Zealand and England.** *B.M.J.*, 293:1342-1345, 1986.
- SESSA, W.C.; HARRISON, J.K.; BARBER, C.M.; ZENG, D.; DURIEUX, M.E.; D'ANGELO, D.D.; LYNCH, R.K.; PEACH, M.J. – **Molecular cloning and expressoin of a cDNA encoding endothelial cell nitric oxide synthase.** *J. Biol. Chem.*, 267:1-3, 1992.

- SHEPARD, E.G.; MALAN, L.; MACFARLANE, C.M.; MOUTON, W.; JOUBERT, J.R. – **Lung function and plasma levels of thromboxane B₂, 6-ketoprostaglandins F_{1a} and b-thromboglobulin in antigen-induced asthma before and after indomethacin pretreatment.** *Br. J. Clin. Pharm.*, 29:459-470, 1985.
- SHEPPARD, D.; NADEL, J.A.; BOUSHEY, H.A. – **Inhibition of sulfur dioxide-induced bronchoconstriction by disodium cromoglycate in asthmatic subjects.** *Am. Rev. Respir. Dis.*, 124:257-259, 1981.
- SHOYE, S.; MARTIN, J.G. – **Tachyphylaxis to inhaled aerosolized histamine in anesthetized dogs.** *J. Appl. Physiol.*, 59:1355-1363, 1985.
- SILBERSTEIN, D.S. & DAVID, JR. – **The regulation of human eosinophil function by cytokines.** *Immunol. Today*, 8:380-385, 1987.
- SIMONSSON, B.G. – **Clinical and physiological studies on chronic bronchitis. III Bronchial reactivity to inhaled acetylcholine.** *Acta Allergol. (Kbh)* 20:325-348, 1965.
- SIMONSSON, B.G.; JACOBS, F.M.; NADEL, J.A. – **Role of the autonomic nervous system and the cough reflex in the increased responsiveness of airways in patients with obstructive airway disease.** *J. Clin. Invest.*, 46:1812-1818, 1967.
- SIRAGY, H.M.; JOHNS, R.A.; PEACH, M.J.; CAREY, R.M. – **Nitric oxide alters renal function and guanosine 3', 5'-cyclic monophosphate.** *Hypertension*, 19:775-779, 1992.
- SKIDGEL, R.A.; ENGELBRECHT, A.; JOHNSON, A.R.; ERDOS, E.G. – **Hydrolysis of substance P and neurokinins by converting enzyme and neutral endoprotease.** *Peptides*, 5:769-776, 1984.
- SLY, R.R. – **Mortality from asthma.** *J. Allergy Clin. Immunol.*, 84(4):421-432, 1989.
- SLY, R.M. – **Regional distribution of deaths from asthma.** *Ann. Allergy*, 62:347-354, 1989.
- SMITH, L.J.; GREENBERGER, P.A.; PATTERSON, R.; KRELL, R.D.; BERNSTEIN, P.R. – **The effect of inhaled leukotriene D₄ in humans.** *Am. Rev. Respir. Dis.*, 131:368-372, 1985.

- SMITH, L.J.; RUBIN, A.E.; PATTERSON, R. – **Mechanism of platelet activating factor-induced bronchoconstriction in humans.** *Am. Rev. Respir. Dis.*, 137:1015-1019, 1988.
- SNIDERMAN, A.; BURDON, T.; HOMAN, J.; SARLENO, T.A. – **Pulmonary blood flow.** *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 87:130-135, 1984.
- SOLOPERTO, M.; MATTOSO, V.L.; FASOLI, A.; MATTOLI, S. – **A bronchial epithelial cell-derived factor in asthma that promotes eosinophil activation and survival as GM-CSF.** *Am. J. Physiol.*, 260:L530-L538, 1991.
- SOTER, N.A.; WASSERMAN, S.I.; AUSTEN, K.F.; MCFADDEN, E.R.JR. – **Release of mast cell mediators and alterations in lung function in patients with cholinergic urticaria.** *N. Engl. J. Med.*, 302:604-608, 1980.
- SPEIGHT, A.N.P.; LEE, D.A.; HEY, E.N. – **Underdiagnosis and undertreatment of asthma in childhood.** *Br. Med. J.*, 286:1253-1256, 1983.
- SPITZER, W.; SUISSA, S.; ERNST, P.; HOROWITZ, R.; HOBICK, B., *et alli.* – **The use of beta agonists and risk of death and near death from asthma.** *N. Engl. J. Med.*, 326:501-506, 1992.
- SPITZER, W.O.; SUISSA, S.; ERNST, P. *et alli* – **The use of b-agonists and the risk of death and near deathe from asthma.** *N. Engl. J. Med.*, 326:501-506, 1992.
- STARR, I. JR. – **Acetyl-beta-methacholine. III. Its action on paroxysmal tachycardia and peripheral vascular disease with a discussion of its action in other conditions.** *Am. J. Med. Sci.*, 186:330-345, 1933.
- STEEL, L.; PLATSHON, L.; KALINER, M. – **Prostaglandin generation by human and guinea-pig lung tissue: comparison of parenchymal and airway responses.** *J. Allergy Clin. Immunol.*, 64:287-293, 1979.
- STENTON, S.C.; COURT, E.N.; KINGSTON, W.P. *et alli* – **Platelet-activating factor in bronchoalveolar lavage fluid from asthmatic subjects.** *Eur. Respir. J.*, 3:408-413, 1990.
- STEPHENS, V.L. – **Structure and mechanical properties.** *Am. Rev. Respir. Dis.*, 136:S1-20, 1987.

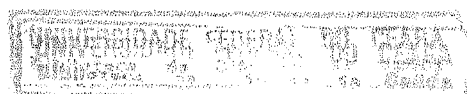
- STEWART, A.G.; THOMPSON, D.C.; FENNESSY, M.R. - **Interaction of leukotriene D₄ and histamine on bronchomotor tone in the guinea-pig.** J. Pharm. Pharmacol., 35:755-756, 1983.
- STILES, G.L.; CARON, M.G.; LEFKOWITZ, R.J. - **b-Adrenergic receptors: biochemical mechanisms of physiological regulation.** Physiol. Rev., 64:661-743, 1984.
- STRUNK, R.C. - **Workshop on the identification of the fatality-prone patient with asthma.** Summary of workshop discussion (workshop). J. Allergy Clin. Immunol., 80:455-457, 1987.
- STRUNK, R.C.; MRAZEK, D.A.; FUHRMANN, G.S.W.; LABRECQUE, J.F. - **Physiologic and psychological characteristics associated with deaths due to asthma in childhood.** Jama, 254:1193-1198, 1985.
- STUEHR, D.J.; KWON, N.S.; GROSS, S.S.; THIEL, B.A.; LEVI, R.; NATHAN, C.F. - **Synthesis of nitrogen oxides from L-arginine by macrophage cytosol: Requirement for inducible and constitutive components.** Biochem. Biophys. Res. Commun., 161:420-426, 1989.
- SZENTIVANYI, A. - **The beta-adrenergic theory of the atopic abnormality in bronchial asthma.** J. Allergy, 42:203-232, 1968.
- TAKIZAWA, T.; THURLBECK, W.M. - **Muscle and mucous gland size in the major bronchi of patients with chronic bronchitis, asthma and asthmatic bronchitis.** Am. Rev. Respir. Dis., 104:331-336, 1971.
- TAMAOKI, J.; SEKIZAWA, K.; GRAF, P.D.; NADEL, J.A. - **Cholinergic neuromodulation by prostaglandin D₂ in a canine airway smooth muscle.** J. Appl. Physiol., 63:1396-1400, 1987.
- TAMIOKA, M.; SHIROH, I.; SHINDON, Y.; ISHIHARA, T.; TAKISHIMA, T. - **Mast cells in the bronchoalveolar lumen of patients with bronchial asthma.** Am. Rev.
- TAYLOR, G. & WALKER, J. - **Charles Harrison Blackley 1820-1900.** Clin. Allergy, 3:103-108, 1973.
- TAYLOR, K.J.; LUKOZA, A.R. - **Peripheral blood eosinophil counts and bronchial responsiveness.** Thorax, 42:452-6, 1987.

- TEFFENEAU, R.; BENVALLLET, M. - Epreuve de bronchoconstriction et de bronchodilatation par aérosols. Emploi pour le dépistage, la mesure et le contrôle des insuffisances respiratoires chroniques. Bull. Acad. Natl. Med. (Paris), 129:165-168, 1945.
- TOOGOOD, J. - High dose inhaled steroid therapy for asthma. J. Allergy Clin. Immunol., 93:528-536, 1989.
- TOOGOOD, J.H.; CRILLY, R.G.; JONES, G.; NADEAU, J.; WELLS, G.A. - Effect of high-dose inhaled budesonide on calcium and phosphate metabolism and the risk of osteoporosis. Am. Rev. Respir. Dis., 138:57-61, 1988.
- TOWNLEY, R.G.; DENNIS, M.; ITKIN, J.M. - Comparative action of acetyl-beta-methacholine, histamine and pollen antigens in subjects with hay fever and patients with bronchial asthma. J. Allergy, 36:121-137, 1965.
- TSCHIRHART, E.; LANDRY, Y. - Epithelium releases a relaxant factor: demonstration with substance P. Eur. J. Pharmacol., 132:103-104, 1986.
- TSUDA, T.; WITZER, J.; BIENENSTOCK; DENBURG, J.A. - Interactions of haematopoietic cytokines on differentiation of HL-60 cells: nerve growth factor is a basophilic lineage-specific co-factor. Int. Arch. Allergy Appl. Immunol., 91:15-21, 1990.
- TURNER-WARWICK, M. - Epidemiology of nocturnal asthma. Am. J. Med., 85:Suppl.1B:6-8, 1988.
- ULLMAN, A.; SVEDMYR, N. - Salmeterol, a new long acting inhaled β_2 -adrenoceptor agonist: comparison with salbutamol in adult asthmatic patients. Thorax, 43:674-678, 1988.
- VAN ARSDEL, P.P. - Asthma treatment: a neglected option? - J. Allergy Clin. Immunol., 67:348-349, 1981.
- VANE, J.R. - The release and fate of vaso-active hormones in the circulation. Br. J. Pharmacol., 35: 209-242, 1969.
- VANE, J.R. BONTING, R. - Inflammation and the mechanism of action of antiinflammatory drugs. FASEB, J., 1:89-96, 1987.
- VANHOUTTE, P.M. - Epithelium-derived relaxing factor: myth of reality. Thorax, 43:665-668, 1988.

- VANHOUTTE, P.M. – **Epithelium-derived relaxing factor(s) and bronchial reactivity.** *Am. Rev. Respir. Dis.*, 138:S24-30, 1988.
- VARONIER, H.S.; PANZANI, R. – **The effect of inhalations of bradykinin on healthy and atopic (asthmatic) children.** *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.*, 34:293-296, 1968.
- VATHENEN, A.S.; KNOX, A.J.; HIGGINS, B.G.; BRITTON, J.R.; TATTERSFIELD, A.E. – **Rebound increase in bronchial responsiveness after treatment with inhaled terbutaline.** *Lancet*, 1:554-558, 1988.
- WAALER, B.A. – **Physiology of the pulmonary circulation.** *Angiologica*, 8:266-84, 1971.
- WALKENSTEIN, M.D.; PETERSON, B.T.; GERBER, J.E.; HYDE, R.W. – **Histamine-induced pulmonary edema distal to pulmonary arterial occlusion.** *J. Appl. Physiol.*, 58(4):1092-1098, 1985.
- WALTERS, E.H.; PARRISH, R.W.; BEVAN, C.; SMITH, A.P. – **Induction of bronchial hypersensitivity: evidence for a role of prostaglandins.** *Thorax*, 36:571-574, 1981.
- WARDLAW, A.J.; MOQBEL, R.; CROMWELL, O. *et alli* – **Platelet-activating factor, a potent chemotactic and chemokinetic factor for human eosinophils.** *J. Clin. Invest.*, 78:1701-1706, 1986.
- WARREN, J.S.; WARD, P.A. – **Oxidative injury to the vascular endothelium.** *The American Journal of the Medical Sciences*. Vol. 29, N° 8, p. 97-103, 1986.
- WASSERMAN, S.I. – **Mediators of immediate hypersensitivity.** *J. Allergy Clin. Immunol.*, 72:101-119, 1983.
- WASSERMAN, S.I.; SOTER, N.A.; CENTER, D.M.; AUSTEN, K.F. – **Cold urticaria: recognition and characterization of a neutrophil chemotactic factor which appears in serum during experimental cold challenge.** *J. Clin. Invest.*, 60:189-196, 1977.
- WEBBER, S.E. – **Nonadrenergic noncholinergic control of mucus secretion in airways.** *Arch. Int. Pharmacodyn*, 303:100-112, 1990.

- WEI, E.P.; KUKREJA, R.; KONTOS, H.A. – Effects in cat of inhibition of nitric oxide synthesis on cerebral vasodilation and endothelium-derived relaxing factor from acetylcholine. *Stroke*, 23:1623-1629, 1992.
- WEISS, K.B. & WAGENER, D.K. – Asthma surveillance in the United States. A review of current trends and knowledge gaps. *Chest*, 98(5):1795-1835, 1990.
- WEISS, K.B. & WAGENER, D.K. – Changing patterns of asthma mortality: identifying target populations at high risk. *J. AMA*, 264(13):1683-1687, 1990.
- WEISS, S.; ROBB, G.P.; BLUMGART, H. – The velocity of blood flow in health and disease as measured by the effect of histamine on the minute vessels. *Am. Heart J.*, 4:664-691, 1929.
- WEISS, S.; ROBB, G.P.; ELLIS, L.B. – The systemic effects of histamine in man. *Arch. Intern. Med.*, 49:360-396, 1932.
- WEISS, S.; ROBB, G.P.; ELLIS, L.B. – The systemic effects of histamine in man. *Arch. Intern. Med.*, 49:360-396, 1932.
- WELLER, P.F.; LEE, C.W.; FOSTER, D.W.; COREY, E.J.; AUSTEN, K.F.; LEWIS, R.A. – Generation and metabolism of 5-lipoxygenase pathway leukotrienes by human eosinophils: predominant production of leukotriene C₄. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 80:7626-7630, 1983.
- WELLS, R.E.; WALKER, J.E.C.; HICKLER, R.B. – Effects of cold air on respiratory airflow resistance in patients with respiratory tract disease. *N. Engl. J. Med.*, 263:268-273, 1960.
- WESTCOTT, J.Y.; SMITH, H.R.; WENZEL, S.E. *et alli* – Urinary leukotriene E₄ in patients with asthma: effect of airways reactivity and sodium cromoglycate. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 143:1322-1328, 1991.
- WHITE, K.A.; MARLETTA, M. – Nitric oxide synthase is a cytochrome P450 type hemoprotein. *Biochemistry*, 31:6627-6631, 1992.
- WHITE, R.E. & CARRIER, G.O. – Supersensitivity and endothelium-dependency of histamine-induced relaxation in mesenteric arteries isolated from diabetic rats. *Pharmacology*, 33:34-38, 1986.

- WIDDICOMBE, J.G. - Regulation of tracheobronchial smooth muscle. *Physiol. Rev.*, 43:1, 1963.
- WIDDICOMBE, J.G. - The NANC system and airway vasculature. *Arch. Int. Pharmacodyn*, 303:83-90, 1990.
- WILKINSON, J.R.W.; CREA, A.E.G.; CLARCK, T.J.H. *et alli* - Identification and characterization of a monocyte-derived neutrophil activating peptide in corticosteroid resistant bronchial asthma. *J. Clin. Invest.*, 84:1930-1941, 1989.
- WILLIS, T. - Facsimile of the anatomy of the brain and the description and uses of the nerves in the remaining medical works of that famous and renowned physician. Englished in 1683 by Samuel Pordage, Esq., W. Feindel, ed. McGill University Press, Montreal, Vol. 2, 163, 1965.
- WILLIS, T. - Of an asthma, in *Pharmaceutice rationalis*, part 2. Dring, Harper and Leigh, London, p. 82, 1679.
- WISSOW, L.S.; TITLESOHN, A.M.; SZKLO, M. *et alli* - Poverty, race and hospitalization for childhood asthma. *Am. J. Public. Health*, 78:777-782, 1988.
- WODNAR-FILIPOWICZ, A.; HEUSSER, C.H.; MORONI, C. - Production of the haematopoietic growth factors M-CSSF and interleukin-3 by mast cells in response to IgE receptor mediated activation. *Nature*, 339:150-152, 1989.
- WOLIN, M.S.; CHERRY, P.D.; RODENBURG, J.M.; MESSINA, E.J.; KALEY, G. - Methylene blue inhibits vasodilation of skeletal muscle arterioles to acetylcholine and nitric oxide via the extracellular generation of superoxide anion. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 254(3):872-876, 1990.
- WOOLCOCK, A.J.; YAN, K.; SALOME, C.M. - Effect of therapy on bronchial hiperresponsiveness in the long-term maragement of asthma. *Clin. Allergy*, 18:165-176, 1988.
- YAMAGUCHI, Y.; HAYASHI, Y.; SUGAMA, Y. - Higly purified murine interleukin-5 (IL-5) stimulates eosinophil function and prolongs in vitro survival. *J. Exp. Med.*, 167:1737-1742, 1988.



- YANAGISAWA, M.; KURIHARA, H.; KIMURA, S.; TOMOBE, Y.; KABAYASHI, M.; MITSUI, Y.; YASAKI, Y.; GOTO, K.; MASAKI, T. - **A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells.** *Nature*, 332:411-415, 1988.
- YANAGISAWA, M.; KURIHARA, H.; KIMURA, S.; TOMOBE, Y.; KOBAYASHI, M.; MITSUI, Y.; YAZAKI, Y.; GOTO, K.; MASAKI, T. - **A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells.** *Nature*, 332:411-415, 1988.
- YEN, S.S.; MATHE, A.A.; DUGAN, J.J. - **Release of prostaglandins from healthy and sensitized guinea-pig lung and trachea by histamine.** *Prostaglandins*, 21:227-239, 1976.
- YOSHIMOTO, T.; YAMAMOTO, S.; OKUMA, M.; HAYAISHI, O. - **Solubilization and resolution of thromboxane synthesizing system from microsomes of bovine blood platelets.** *J. Biol. Chem.*, 252:5871-5874, 1977.
- YUKAWA, T.; CHANEZ, P.; DENT, G. *et al* - **Bronchodilator agents do not inhibit oxygen-free radical release from guinea-pig eosinophils.** *Am. Rev. Respir. Dis.*, 137 (Suppl.):27, 1988.
- YUKAWA, T.; KROEGEL, C.; CHANEZ, P. *et al* - **Effect of theophylline and adenosine on eosinophil function.** *Am. Rev. Respir. Dis.*, 140:327-33, 1989.
- YUKIOKA, H.; TATEKAWA, S.; NISHIMURA, K.; FUJIMORI, M. - **Influence of alpha- and beta-adrenergic blockade on systemic and pulmonary hemodynamics during intravenous administration of local anesthetics.** *Acta Anaesthesiol. Scand.*, 28:339-347, 1984.
- ZAAGSNA, J.; VAN DER HEIDEN, P.C.; VAN DER SCHAAR, M.W.; BANK, C.M. - **Comparison of functional b-adrenoreceptor heterogeneity in central and peripheral airway smooth muscle of guinea-pig and man.** *J. Recept. Res.*, 3:89-106, 1989.