

# KRONİK OBSTRÜKTİF AKCİĞER HASTALIĞINDA STEROİD DİRENCİ (HİSTON ASETİLASYONU VE HİSTON DEASETİLASYONU)

Şenay DEMİRTAŞ, Türkan TATLICIOĞLU

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, ANKARA

## ÖZET

Kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH), başlıca sigara olmak üzere zararlı partiküllere ve gazlara karşı akciğerlerde gelişen inflammatuar yanıtla ilişkili hava akımı sınırlanması ile karakterize önemli bir sağlık sorunudur. Son zamanlarda inflamasyonun moleküler temelini anlaşılmaması konusundaki ilerlemeler, steroidlerin inflammatuar hastalıklarda etkinliğinin ve KOAH da mevcut inflamasyonun steroidlere olası direnç nedenlerinin daha iyi anlaşılmasını sağlamıştır. Buna göre inflamasyon, kor histonlarının asetilasyonu ile düzenlenen inflammatuar genlerin artmış ekspresyonu ile gerçekleşmekte, histonların deasetilasyonu ile de baskılanmaktadır. Bu derlemede, KOAH'da steroid direncinde rolü olduğu ileri sürülen histon asetilasyonu / deasetilasyonu mekanizmasındaki bozukluk ve buna yönelik tedavi yaklaşımları sunulmuştur.

**Anahtar kelimeler:** histon asetilasyonu-deasetilasyonu, KOAH, steroid direnci

## SUMMARY

### **Steroid Resistance in Chronic Obstructive Pulmonary Disease (Histone Acetylation and Histone Deacetylation)**

Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) is an increasing global health problem that is characterized by airflow limitation associated with an abnormal inflammatory response of the lungs to noxious particles or gases, primarily caused by cigarette smoking. Recently new sights into molecular basis of inflammation have shed light on the effectiveness of steroids on inflammatory disease and probable steroid resistance of inflammation. This inflammation is mediated by the increased expression of multiple inflammatory genes which is regulated by acetylation of core histones and this expression is suppressed by deacetylation of these histones. In this review, the role of histone acetylation/deacetylation mechanisms projected in steroid resistance in COPD and therapeutic implications were reported

**Key words:** COPD, histone acetylation-deacetylation, steroid resistance

## GİRİŞ

Steroidler (glukokortikosteroidler ya da glukokortikoidler ya da kortikosteroidler) pek çok inflammatuar ve immün hastalıkta etkili olup, antiinflammatuar bir ajan olarak tüm dünyada oldukça yaygın kullanılan ilaçlardır. Astımın hava yolu inflamasyonu ile seyreden kronik inflammatuar bir hastalık olduğunun anlaşılmasından sonra yan etkileri yok denecek kadar az olan inhale steroidler, uzun süreli astım tedavisinin temelini oluşturmuştur. Son yıllarda KOAH'ın da kronik inflammatuar bir hastalık olduğunun ortaya konulması ile bu hastalığın tedavisinde de inhale steroidlerin etkili olup olmadığı araştırılmaya

başlanmış; ne var ki pek çok çalışmaya rağmen bu konu yıllardan beri açıklık kazanamamıştır. KOAH'da inhale steroid kullanımı halen tartışılmaktadır.

Son yıllarda yapılan çalışmalar, kronik inflamasyonun moleküler temelini daha iyi anlamamızı sağlamış, yeni bakış açıları kazandırmıştır. İnflamasyonda hücre sinyalizasyonu ve gen transkripsiyonuna ait temel mekanizmalar konusunda son gelişmeler, steroidlerin inflammatuar hastalıklarda etkinlikleri ile ilgili moleküler mekanizmaların daha iyi anlaşılmasını sağlamıştır. Yakın zamanlarda öne sürülen bir hipoteze göre, KOAH'da artmış inflamasyon ve steroide yanısızlığına ya da direncin nedeni, histon deasetilazın inaktivasyonu sonucu gelişen histon asetilasyonu/ deasetilasyonu

mekanizmasındaki bozukluktur<sup>(1)</sup>. Bu derlemede, KOAH da en yeni kavramlardan biri olan steroid direncinin gelişmesinde histon deasetilasyonunun kritik rolü ve buna yönelik tedavi olasılıkları gözden geçirilecektir.

## KOAH'DA İNFLAMASYON

Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı (KOAH), tam olarak reversibl olmayan hava akımı sınırlanması ile karakterize bir hastalıktır. Hava akımı sınırlanması genellikle ilerleyicidir ve zararlı partiküllere ve gazlara karşı akciğerlerde gelişen anormal inflamatuvar yanıt ile ilişkilidir<sup>(2)</sup>. Bu nedenle KOAH gelişiminde temel patogenetik mekanizma inflamasyondur. Şöyle ki, inflamasyon parankim hasarı ile amfizeme yol açarken, küçük havayollarında hasar-onarım süreci, başlıca fibrozis ile yeniden yapılanmaya yol açarak küçük havayolu lümeninin daralmasına ve küçük havayolu obstrüksiyonuna neden olmaktadır. KOAH'ın karakteristiği olan kronik hava akımı sınırlanmasının nedeni işte bu inflamasyonun neden olduğu parankim harabiyeti (amfizem) ve küçük havayolu obstrüksiyonudur. KOAH da aynı zamanda sistemik bir inflamasyon da söz konusudur. Günümüzde hastalığın tanımı ile ilgili en önemli kavram değişikliği, KOAH'ın aynı zamanda sistemik bir hastalık olduğu<sup>(3)</sup>; akciğer dışı tutulumların nasıl geliştiği tam olarak bilinmemekle beraber, bu etkilerin de büyük olasılıkla sistemik inflamasyon ile ilişkili olduğudur<sup>(4-8)</sup>.

KOAH'da akciğer inflamasyonu, havayollarından itibaren akciğer parankimi ve pulmoner damarları içine alır. Hastalığın başlıca risk faktörü olan sigara, havayolu epitel yüzeyinde oksidan hasara yol açarak inflamasyonu başlatır. İnflamasyonda rolü olan başlıca hücreler makrofajlar, T lenfositler (özellikle CD8+) ve nötrofillerdir. Ayrıca epitel hücreleri yanında eozinofiller, mast hücreleri, dentritik hücreler, B lenfositler, naturel killer hücrelerin de bu inflamasyonda yer aldığı bilinmektedir<sup>(9)</sup>. Başlıca nötrofil elastaz, matriks metalloproteinazları gibi proteazlar ; TNF-alfa, IFN-gama, IL-1beta ve IL-6 gibi sitokinler; IL-8 gibi kemokinlerin rol oynadığı bu yoğun inflamatuvar cevap doku hasarı ile sonuçlanmaktadır<sup>(10)</sup>. KOAH'da inflamasyona ilaveten proteinaz-antiproteinaz dengesi bozukluğu ve başlıca inflamatuvar hücrelerden açığa çıkan serbest oksijen radikallerinin neden olduğu

oksidan/antioksidan dengesizliği de hastalığın patogeneziye katkıda bulunmaktadır.

Akciğer fonksiyonu normal olan sigara içicilerinin havayolları da KOAH da görülen inflamasyon paternine sahiptir. Ancak KOAH'da artmış sayıda inflamasyon hücresi ve medyatör sayısı ile daha yoğun bir inflamasyon söz konusudur. Çalışmalar, KOAH ilerledikçe inflamasyonun ve küçük havayollarındaki hasarın daha da şiddetlendiğini göstermektedir<sup>(11)</sup>. Önemli bir husus da, sigara dumanının başlattığı inflamatuvar sürecin sebat etmesi ve sigara bırakılmasından sonra da devam etmesidir<sup>(12-15)</sup>.

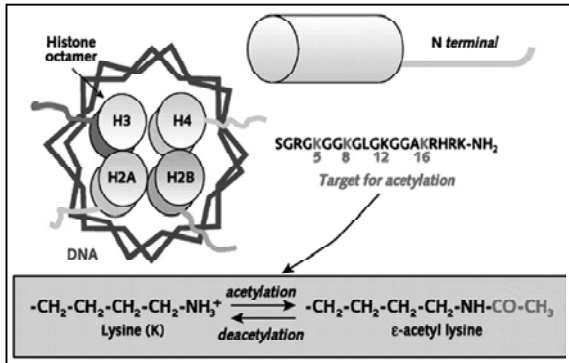
Tüm kronik inflamatuvar hastalıklarda olduğu gibi, KOAH'a ait kronik inflamatuvar cevap sitokinler, kemokinler, inflamatuvar medyatörler, inflamatuvar medyatör reseptörleri ve adezyon molekülleri içeren pek çok inflamatuvar genin artmış ekspresyonu ile karakterizedir. Kronik inflamatuvar hastalıklarda, inflamatuvar genlerin artmış ekspresyonu, nükleer faktör NF-κB ve AP-1 gibi proinflamatuvar transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonu ile regüle olmaktadır. Transkripsiyon faktörleri, kronik inflamasyonun moleküler temelini oluşturur. İnflamatuvar hastalıklarda aktive olmuş proinflamatuvar transkripsiyon faktörleri, inflamasyonun yoğunlaşmasında ve sebat etmesinde kritik rol oynamaktadır. KOAH'da inflamatuvar cevaba katılan pek çok inflamatuvar genin ekspresyonunu regüle eden başlıca proinflamatuvar transkripsiyon faktörü nükleer faktör(NF)-κB dir<sup>(16)</sup>. KOAH'da özellikle alveolar makrofajlarda olmak üzere pek çok inflamasyon hücresinde aktive olmuş NF-κB gösterilmiştir<sup>(17)</sup>.

## HİSTON ASETİLASYONU VE HİSTON DEASETİLASYONU

Kronik inflamatuvar hastalıklarda rol alan inflamatuvar proteinlerin ekspresyonundaki artıştan proinflamatuvar transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonu ve transkripsiyon genlerindeki artış sorumludur. Bu genlerin transkripsiyonel kontrolünde kromatin remodelingi (kromatinin yeniden yapılanması) rol oynar. İnflamatuvar genler kromatinin yapısını bozar ve kortikosteroidler de bu etkiyi tersine dönüştürür<sup>(18)</sup>.

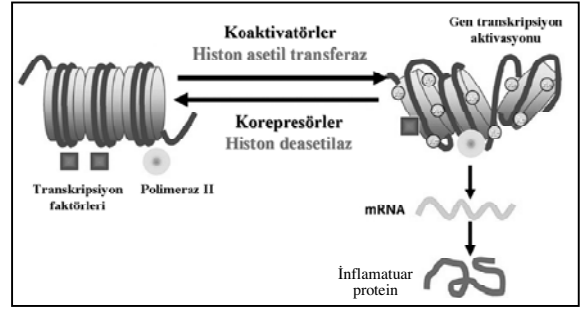
Kromatin, DNA ve histondan oluşan kromozomun temel proteindir. Kromatinler 146 baz çifti içeren DNA sarmalı etrafında, her bir kor histon proteininden (H2A, H2B, H3, H4) iki molekül içeren nükleozomları

yaparlar. Kromatin yapının remodelingi, bu histon kor proteinlerinin enzimatik modifikasyonu ile ilişkili iken genlerin ekspresyonu da bu kromatin yapısı ile ilişkilidir<sup>(18)</sup>. Histon korunun her biri lizin rezidüleri içeren N-terminal kuyruğu içerir (Şekil 1). Bu bölgenin asetilasyonu ile kor histonundaki elektriksel yük değişir. Böylece histon asetilasyonu transkripsiyonu başlatarak gen ekspresyonuna neden olur. RNA polimeraz II enzimi de bu transkripsiyonda ve mRNA sentezinde rol alır. Gen transkripsiyonu sadece kromatin yapı açılınca oluşur ve RNA polimeraz II'nin DNA'ya bağlanmasıyla transkripsiyon başlar. İnflamatuar genler, proinflamatuar transkripsiyon faktörleriyle etkileşen koaktivatör molekülüne gereksinim duyarlar. CREB (cyclic adenosine monophosphate response element binding) bağlayıcı protein(CBP), aktive protein-1 (AP-1), NF-κB transkripsiyon genlerini kontrol eden ve intrinsek histon asetiltransferaz aktivitesine sahip en önemli koaktivatörlerdir. Bu koaktivatörlerle beraber histon asetilasyonu gerçekleşir ve kromatin yapı açılır. Açılan bu aktif kromatine RNA polimerazın bağlanmasıyla beraber transkripsiyon başlar<sup>(18)</sup>. Böylece inflammatuar gen ekspresyonu sağlanmış olur. O halde histon asetilasyonunun regülasyonu inflammatuar cevabın kontrolünde anahtar bir basamaktır.



**Şekil 1:** Kromatin yapısı. DNA, Histon 2A, 2B, 3 ve 4 olmak üzere her birinden 2 adet içeren 8-histon molekülü etrafında sarılmıştır. Her bir histon molekülü, molekül yükünü değiştiren ve DNA sarmalını açan asetilasyon gibi enzimatik modifikasyonun gerçekleştiği lizin rezidülerinden zengin uzun bir kuyruk içerir.

İnflamatuar genlerin ekspresyonu ile ilişkili histon asetilasyonu histon deasetilaz (HD) enzimi sayesinde tersine döner<sup>(18)</sup>(Şekil 2). Histon deasetilaz 11 adet izoenzim içerir ve inflammatuar gen ekspresyonuna neden olan transkripsiyonu engeller. Sigara içenlerde de alveoler makrofajlarda histon deasetilaz aktivitesi ve salınımının azaldığı gösterilmiştir<sup>(19)</sup>.



**Şekil 2:** Kor histon asetilasyonu ile düzenlenen gen aktivasyonu ve represyonu. Histon asetilasyonu intrinsek histon asetiltransferaz aktivitesine sahip koaktivatörler aracılığı ile gerçekleşirken, represyon ise asetilasyonu tersine çeviren histon deasetilaz tarafından gerçekleşir.

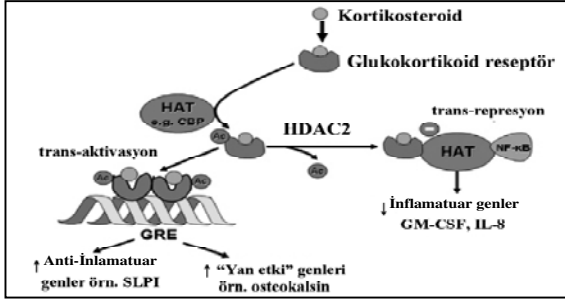
## KOAH'DA STEROİD DİRENCİ

İnhale kortikosteroidler astımda yüksek etkinlik sağlarken KOAH'da yararları sınırlıdır. Histolojik analizlerde KOAH'da aktif steroid direnci kanıtlanmıştır<sup>(11-18)</sup>. Kortikosteroidler KOAH'da IL-8, TNF-alfa gibi sitokinleri inhibe etmekte yetersiz kalmaktadır<sup>(18)</sup>.

Steroidler ilk olarak sitoplazmik glukokortikoid reseptörlerine bağlanarak çekirdeğe transloke olurlar. Çekirdekte steroid duyarlı genlerin promoter bölgesine bağlanarak antiinflamatuar genlerin transkripsiyonunu başlatırlar. Diğer bir etkileri de, inflammatuar gen kompleksinin aktiflediği glukokortikoid reseptörlerle birleşerek histon deasetilaz aktivasyonuna neden olmalarıdır. Böylece kor histon asetilasyonu tersine dönmekte ve inflammatuar gen aktivasyonu supresyonu olmaktadır<sup>(20)</sup>. Steroidler ayrıca inflammatuar proteinlerin mRNA destabilizasyonuna neden olarak posttranskripsiyonel etki ile protein sentezini engellerler<sup>(20)</sup>. (Şekil 3). Steroidler etkilerini HD 2 üzerinden gösterirken HD 1 ve HD 3 ün steroid yanıtı üzerine etkileri yoktur. Burada önemli bir husus, steroidlerin selektif olarak inflammatuar genleri bloke etmeleri; proliferasyon, metabolizma veya hücre yaşam süresini düzenleyen genleri neden etkilemedikleridir. Bunun nedeni henüz tam olarak açıklanamamıştır<sup>(21)</sup>.

İn vitro çalışmalarda, alveoler makrofajlardan salınan sitokinlerin kortikosteroidlerin antiinflamatuar etkilerine dirençli oldukları gösterilmiştir. Sigara içenlerde bu direnç sigara içmeyenlere göre daha fazladır<sup>(18,22,23)</sup>. KOAH'da steroid direncine ilişkin hücresel ve moleküler mekanizmalar 3 ana başlık altında toplanabilir. Bunlar:

1. Nötrofil üzerine etki: Steroidler ozon inhalasyonunu

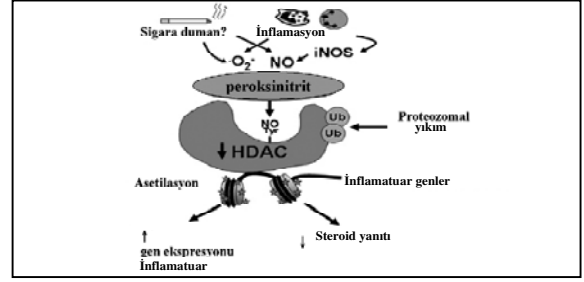


**Şekil 3:** Glukokortikoid reseptör asetilasyonu/ deasetilasyonu. Kortikosteroidlerin glukokortikoid reseptöre bağlanması. Histon asetiltransferaz aracılığı ile reseptörün asetilasyonu ile sonuçlanır, asetillenmiş glukokortikoid reseptörü (GR) gen aktivasyonu veya supresyonu için glukokortikoid yanıt elementine (GRE: glucocorticoid response element) bağlanır. Histon deasetilaz 2 aracılığı ile oluşan GR'nin deasetilasyonu, GR'nin CBP ile etkileşmesi ve inflamatuvar genlerin azalmasına yol açan NF-κB'i inhibe etmek için gereklidir.

takiben gelişen havayolu inflamasyonunda nötrofilik inflamasyonu baskılayamamaktadır. Steroidler apoptozisi inhibe ederek nötrofillerin yaşam süresini uzatmaktadır<sup>(24-26)</sup>.

2. Makrofaj direnci: İn vitro çalışmalarda, alveoler makrofajlardan salınan sitokinlerin steroidler tarafından oluşan inhibitör etkiye dirençli oldukları ve sigara içenlerde bu direncin sigara içmeyenlere göre daha fazla olduğu görülmüştür<sup>(23,24)</sup>.
3. Histon deasetilaz disfonksiyonu: Sigara ve oksidatif stres HD2 fonksiyon bozukluğuna yol açarak steroid yanıtında azalmaya neden olur<sup>(20)</sup>. Oksidatif stres belirteçleri olan 8-isoprostan ve etan sigara içen KOAH hastalarında, sağlıklı sigara içenlerden daha yüksek oranda saptanmıştır<sup>(20,27,28)</sup>. Oksidatif stres ve sigara, histon asetilasyonunu artırarak inflamatuvar gen transkripsiyonunu artırmakta ve HD2 fonksiyonunu bozarak sitokin salınımına inhibitör etkisi olan steroidlerin etkisini azaltmaktadır. Şöyle ki, oksidatif stres nitrik oksit (NO) oluşumundaki artış ile peroksinitrit oluşumuna yol açar. Peroksinitrit de HD ve ilişkili proteinler üzerindeki tirozin artıklarını nitrattayarak nitrotirozin formasyonu oluşturur (Şekil 4). Oksidatif stres bilinmeyen kinazların oluşumu ile histon deasetilaz fosforilasyonuna da neden olur ve sonuç olarak HD fonksiyonu bozulur.

Sigara içimi steroid direncini artırdığı gibi, sigarayı bırakan KOAH hastalarında da steroid yanıtı yetersizdir. Bunun nedeni hava yolunda kalıcı inflamasyona neden olan oksidatif stresdir<sup>(20)</sup>.



**Şekil 4:** KOAH'da HD2 inaktivasyon mekanizması ve sigara ile ilişkisi.

KOAH da sigara dumanı ve inflamasyon, peroksinitrit oluşumunda rol alan iNOS'dan superoksit anyonları (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) ve nitrik oksit(NO) oluşumuna yol açar. Peroksinitrit, tirozin rezidülerini nitrattayarak HD2'nin katalitik aktivitesini inaktive eder ki bu da proteozomal yıkıma neden olur. HD2'deki kayıp histon asetilasyonunu artırarak inflamasyonda şiddetlenmeye neden olur. Böylece steroidlerin antiinflamatuvar etkileri bloke olur.

## TEDAVİ SEÇENEKLERİ

KOAH'da steroid direnci önemli bir klinik sorundur. Steroid direncinde oksidatif ve nitratif stres önemli rol oynadığına göre, antioksidan ve nitrik oksit (NO)sentaz inhibitörleri tedavide rol oynayabilir. Vitamin E, Vitamin C, N-Asetilsistein tam potent antioksidan olmadıkları için akciğerde oksidatif strete anlamlı bir azalmaya yol açmazlar<sup>(19)</sup>.

Steroid direncinde tedavi seçenekleri aşağıdaki gibi özetlenebilir:

1. Antioksidanlar. Oksidatif stresin steroid direncini artırdığı bilinmektedir. Bu nedenle antioksidanlar steroid direncinde yarar sağlayabilir<sup>(24)</sup>.
2. NO sentaz inhibitörleri.
3. Teofilin. Teofilin düşük konsantrasyonda histon deasetilaz aktivitesini artırır. Mekanizma tam belli değildir. Teofilinin bu etkisi fosfodiesteraz inhibisyonu ve adenozin reseptör antagonizması ile ilişkili değildir<sup>(24,29)</sup>. Teofilin histon deasetilaz aktivitesini artırdığı gösterilen ilk ilaçtır. Bu nedenle kortikosteroidlerin antiinflamatuvar etkilerini potansiyalize eder<sup>(18,30)</sup>.
4. NF-κB inhibitörleri. Steroidlerin antiinflamatuvar etkileri, NF-κB'nin transkripsiyonel etkilerinin inhibisyonuna bağlıdır<sup>(24)</sup>.
5. p38 MAP (mitojen aktive protein) kinaz inhibitörleri. Steroid direncini azaltabilirler. Steroide dirençli astımda kullanıldıklarında yararlı olabilirler. Ancak histon deasetilasyon defekti ile ilişkili steroid direncinde yararlı olmadıkları görülmüştür<sup>(24,31)</sup>.

## KAYNAKLAR

1. Barnes PJ, Adcock IM, Ito K. Histone acetylation and deacetylation: importance in inflammatory lung diseases. *Eur Respir J* 2005; 25: 552- 63.
2. Global Initiative for chronic obstructive lung disease. Global strategy for the Diagnosis, Management, and Prevention of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. NHLBI/WHO Workshop Report. US Department of Health and Human Services. Public Health Service, National Institutes of Health, National Heart, Lung and Blood Institute. NIH Publication No.2701, April 21.
3. Global Initiative for chronic obstructive lung disease. Global strategy for the Diagnosis, Management, and Prevention of chronic obstructive pulmonary disease. NHLBI/WHO Workshop Report. US Department of Health and Human Services. Public Health Service, National Institutes of Health, National Heart, Lung and Blood Institute, 2006
4. Wouters EF. Chronic obstructive pulmonary disease. 5. Systemic effects of COPD. *Thorax* 2002; 57: 1067- 70.
5. Boots AW, Haenen GR, Bast A. Oxidant metabolism in chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J* 2003; 46(suppl):14-27.
6. Chung KF. Cytokines in chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J* 2001; 34(suppl): 50- 9.
7. Calikoğlu M, Sahin G, Unlu A, Ozturk C, Tamer L, Ercan B, Kanik A, Atik U. Leptin and TNF-alpha levels in patients with chronic obstructive pulmonary disease and their relationship to nutritional parameters. *Respiration (Herrlisheim)* 2004; 71: 45-50.
8. Sin DD, Man SF. Impaired lung function and serum leptin in men and women with normal body weight population based study. *Thorax* 2003; 58: 695- 8.
9. Barnes PJ, Shapiro SD, Pauwels RA. Chronic obstructive pulmonary disease: Molecular and cellular mechanisms. *Eur Respir J* 2003; 22: 672- 88.
10. Barnes PJ. Mediators of chronic obstructive pulmonary disease. *Pharmacol Rev* 2004; 56: 515.
11. Hogg JC, Chu F, Utokaparch S, et al. The nature of small-airway obstruction in chronic obstructive pulmonary disease. *New Eng J Med* 2004; 350: 2645- 53.
12. Turato G, Di Stefano A, Maestrelli P, et al. Effect of smoking cessation on airway inflammation in chronic bronchitis. *Am J Respir Med* 1995; 152: 1262- 67.
13. Rutgers SR, Postma DS, ten Hacken NH, et al. On going airway inflammation in patients with COPD who do not currently smoke. *Thorax* 2000; 55: 12- 8.
14. Retamales I, Elliott WM, Meshi B, et al. Amplification of inflammation in emphysema and its association with latent adenoviral infection. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164: 469- 73.
15. Domagala-Kulawik J, Maskey-Warzechowska M, Kraszewska I, et al. The cellular composition and macrophage phenotype in induced sputum in smokers and ex-smokers with COPD. *Chest* 2003; 123: 1054- 59.
16. Wright JG, Christman Jw. The role of nuclear factor kB in pathogenesis of pulmonary diseases: implications for therapy. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 2: 211- 9.
17. Di Stefano A, Caramori G, Capelli A, et al. Increased expression of NF-kB in bronchial biopsies from smokers and patients with COPD. *Eur Respir J* 2002; 20: 556- 63.
18. Barnes PJ. How corticosteroids control inflammation.: Quintiles Prize Lecture 2005. *Brit J Pharmacol* 2006; 148: 245- 54.
19. Barnes PJ. Reduced histone deacetylase in COPD. *Chest* 2006; 129: 151- 5.
20. Barnes PJ, Ito Kazuhiro, Adcock IM. Corticosteroid resistance in chronic obstructive pulmonary disease: inactivation of histone deacetylase. *Lancet* 2004; 363: 731- 3.
21. Barnes PJ. Crystal ball. *Clin Exp Allergy* 2005; 35: 843- 5.
22. Lim S, Roche N, Oliver BG, Mattos W, Barnes PJ, Fan CK. Balance of matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 from alveolar macrophages in cigarette smokers regulation by interleukin-10. *Am Respir Crit Care Med* 2000; 162: 1355- 60.
23. Culpitt SV, Rogers DF, Shah P, De Matos C, Russell RE, Donnelly LE, Barnes PJ. Impaired inhibition by dexamethasone of cytokine release by alveolar macrophages from patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 167: 24- 31.
24. Barnes PJ. Corticosteroid resistance in airway disease. *Proc Am Thorac Soc* 2004; 1: 264- 8.
25. Nightingale JA, Rogers DF, Chung KF, Barnes PJ. No effect of inhaled budesonide on the response to inhaled ozone in normal subjects. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: 479- 86.
26. Meagher LC, Cousin JM, Seckl JR, Haslet C. Opposing effects of glucocorticoids on the rate of apoptosis in neutrophilic and eosinophilic granulocytes. *J Immunol* 1996; 156: 4422- 28.
27. Montuschi P, Collins JV, Ciabattini G, et al. Exhaled 8-isoprostane as an in vivo biomarker of lung oxidative stress in patients with COPD and healthy smokers. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162: 1175- 77.
28. Paredi P, Kharitonov SA, Leak D, Ward S, Cramer D, Barnes PJ. Exhaled ethane, a marker of lipid peroxidation, is elevated in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162: 369- 73.
29. Ito K, Lim S, Caramori G, Cosio B, Chung KF, Adcock IM, Barnes PJ. A molecular mechanism of action of theophylline; induction of histone deacetylase activity to decrease inflammatory gene expression. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99: 8921- 26.
30. Barnes PJ. Targeting histone deacetylase 2 in chronic obstructive pulmonary disease treatment . *Expert Opin Ther Targets* 2005; 9: 1111- 21.
31. Lee JC, Kumar S, Griswold DE, Underwood DC, Votta BJ, Adams JL. Inhibition of p38 MAP kinase as a therapeutic strategy. *Immunopharmacology* 2000; 47: 185- 201.