

SODOBNA BIOLOŠKA IN RASTLINSKA ZDRAVILA ZA ZDRAVLJENJE ASTME

MODERN BIOLOGICAL AND PLANT DRUGS FOR THE TREATMENT OF ASTHMA

AVTOR / AUTHOR:

Dr. Aleš Berlec, mag. farm.

*Odsek za biotehnologijo, Institut »Jožef Stefan«,
Jamova 39, SI-1000 Ljubljana*

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:

Tel: 01 477 3754

E-mail: ales.berlec@ijs.si

POVZETEK

Astma, kronična vnetna bolezen dihal, po svetu bremeni več kot 300 milijonov posameznikov. Od teh jih ima 5-10% obliko, ki jo je težko nadzorovati s standardno terapijo s kortikostrodi in β_2 -agonisti in so zato primerni kandidati za zdravljenje z biološkimi zdravili. Omalizumab je monoklonsko protitelo proti imunoglobulinom tipa IgE, ki z vezavo IgE prepreči degranulacijo mastocitov in bazofilcev. Trenutno je omalizumab edino biološko zdravilo za zdravljenje astme, ki je bilo uspešno uvedeno v klinično uporabo. V različnih stopnjah kliničnih raziskav pa so še številna druga biološka zdravila, večinoma monoklonska protitelesa, ki so pretežno usmerjena proti citokinom, zlasti tistim ki posredujejo pri prekomernem T celičnem odzivu tipa 2 (IL-4, IL-5, IL-9, IL-13, GM-CSF). Med ostale tarče za zdravljenje astme se uvrščajo še TNF α , IL-2, IL-17 in IL-23. Biološka zdravila, ki so bila v kliničnih študijah učinkovita proti vsaj enemu podtipu astme so mepolizumab (proti IL-5), pitrakinra (antagonist IL-4R) in dacrizumab (proti IL-2). Učinkovitost opisanih bioloških zdravil bo potrebno potrditi v nadaljnjih kliničnih študijah. Verjetno je, da bodo prilagojena za posamezni podtip astme, ki ga bo potrebno določiti z natančnejšo genotipsko in fenotipsko karakterizacijo pacientov. V primeru njihovega neuspešnega prenosa v klinično uporabo pa bo najbrž potrebno pretehtati celotno strategijo razvoja bioloških zdravil za zdravljenje astme.

Med prehranske dodatke, ki se lahko uporabljajo kot pomoč pri zdravljenju astme, se uvrščajo predvsem antioksidanti in vitamini, ki naj bi zmanjšali oksidativni stres. Njihovo delovanje je slabše podprto s kliničnimi raziskavami, vendar njihova varnost ni vprašljiva. Med novejšje prehranske dodatke se uvrščajo konjugirane linolenske kisline, ki v začetnih raziskavah kažejo obetavne raziskave.

SUMMARY

Asthma is a chronic inflammation of respiratory tract and affects more than 300 million people around the world. Of those, 5-10% suffer from the form of asthma, which is hard to control with standard corticosteroid and β_2 -agonist therapy, and are therefore appropriate candidates for the treatment with biologicals. Omalizumab is a monoclonal antibody against immunoglobulins of IgE subtype, which pre-



vents degranulation of mast cells and basophils. At the moment omalizumab is the only biological that was successfully introduced into the clinical practice. There are several other biologicals, mainly monoclonal antibodies, in various stages of clinical trials. They mainly target cytokines, predominantly those mediating excessive type 2 T cell response (IL-4, IL-5, IL-9, IL-13, GM-CSF). Other targets for the treatment of asthma include TNF α , IL-2, IL-17 and IL-23. Biologicals that were efficient against at least one subtype of asthma in clinical studies include mepolizumab (against IL-5), pitrakinra (IL-4R antagonist) and dacrizumab (against IL-2). Efficacy of biological drugs described will have to be confirmed in further clinical trials. It is probable that they will be adapted to specific subtypes of asthma, which will have to be determined with precise genotypic and phenotypic characterization of patients. In the case of their failure, the entire strategy of the development of biological drugs for asthma treatment will have to be re-evaluated.

Food supplements, which can be used as help in the treatment of asthma, include mainly antioxidants and vitamins, which are supposed to diminish the oxidative stress. Their action is less well supported with clinical trials; however their safety is not questionable. Recently, conjugated linoleic acids were suggested for the treatment of asthma and gave some encouraging initial results.

1 UVOD: DEFINICIJA, PREVALENCIA IN PATOLOŠKA FIZIOLOGIJA ASTME

Astma je definirana kot kronična vnetna bolezen dihal. Vnetne, strukturne in funkcionalne spremembe dihalnih poti vodijo do preobčutljivosti bronhijev in (običajno reverzibilne) obstrukcije dihalnih poti. To se odraža kot ponavljajoče se epizode zasoplosti, tiščanja v prsih in kašljanja. Astma po svetu prizadene več kot 300 milijonov posameznikov (1, 2). Prevalenca astme se med posameznimi državami po svetu bistveno razlikuje in sega od 1,8 % do 32,8%, medtem ko je ocenjena prevalenca v Sloveniji 16% (3). Astmo je moč pri večini pacientov uspešno nadzorovati s standardno terapijo z lokalno aplikacijo kortikosteroidov, aplikacijo agonistov β_2 -adrenergičnih receptorjev ali inhibitorjev sinteze levkotrienov. Pri 5-10% pacientov s

standardno terapijo ni moč doseči izboljšanja simptomov (slabo nadzorovana astma). V tem primeru se lahko poseže po alternativnih terapijah astme, vključno z biološkimi zdravili (4).

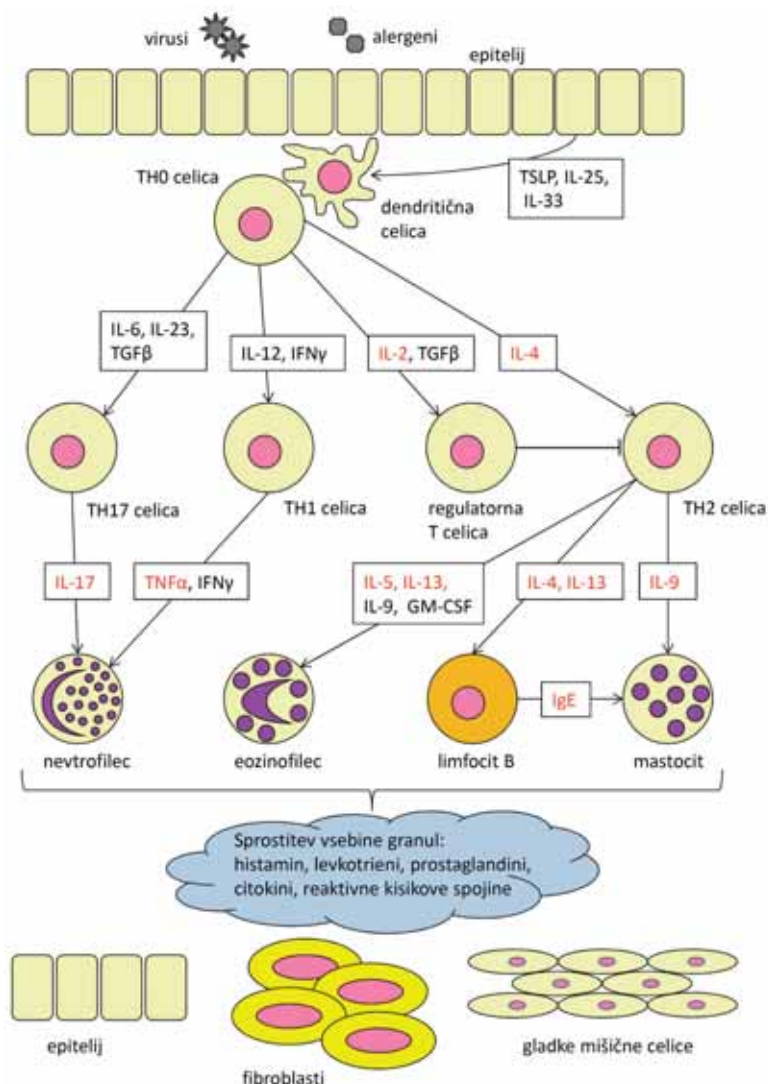
Astma je posledica interakcije genetskih in okoljskih dejavnikov, kamor uvrščamo alergene, respiratorne viruse in polutante. Vnetje dihalnih poti je pogojeno z različnimi vzorci citokinov in vključuje imunske ter vnetne celice, kot so limfociti B in T, mastociti, eozinofilci, bazofilci, nevtrofilci in dendritične celice, pa tudi strukturne celice, kot so epiteljske in mezenhimske celice (4). Preobčutljivost je posledica prekomernega imunskega odziva, ki ga v veliki meri sprožijo T-celice pomagalk tipa 2 (T_H2). Značilnost s T_H2 limfociti pogojene astme je kopičenje eozinofilcev (eozinofilna astma), medtem ko gre pri drugem podtipu (nevtrofilna astma) za kopičenje nevtrofilcev, ki je večinoma pogojeno s T-celicami pomagalkami tipa 17 (T_H17). Vzorec aktivacije citokinov in imunskih celic je prikazan na Sliki 1 (povzeto po (4, 5)).

2 BIOLOŠKA ZDRAVILA ZA ZDRAVLJENJE ASTME

Biološka zdravila za zdravljenje astme v večini primerov posegajo v mrežo aktivacije citokinov, za katere je bilo pri ugotavljanju patofiziološkega poteka astme ugotovljeno povečanje, ali pa delujejo na imuglobuline tipa E (IgE). Protitelo proti IgE, omalizumab, je trenutno edino registrirano biološko zdravilo, medtem ko so ostala v različnih fazah kliničnih ali predkliničnih raziskav. Pri citokinih gre večinoma za protitelesa, ki nevtralizirajo citokine, vpletene v prekomerni T_H2 celični imunski odziv (IL-4, IL-5, IL-9, IL-13, GM-CSF) in TNF α (4, 5). Kot potencialna tarča se je izkazal tudi IL-2, ki vpliva na proliferacijo T celic pomagalk tipa 1 in 2 in njihovo sproščanje citokinov. Med novejša potencialna tarča se uvrščata citokina celičnega odziva T_H17 , IL-17 in IL-23, pa tudi citokini, ki jih izločajo bronhialne epiteljske celice neposredno, IL-25, IL-33 in TSLP (4, 5).

2.1 OMALIZUMAB: IgE

Humanizirano monoklonsko protitelo omalizumab se z visoko afiniteto veže na Ce3 domeno IgE, s čimer prepreči vezavo na receptor Fc ϵ RI in posledično degranulacijo mastocitov in bazofilcev, ki jo sicer sproži kontakt z alergeni (6). Omalizumab lahko zmanjša koncentracijo prostega serumskega IgE za 96-99%, hkrati pa lahko tudi prepreči



Slika 1: Patofiziološki proces razvoja astme z vključenimi imunskimi celicami in citokini. Z rdečo so označene tarče bioloških zdravil (povzeto po (4, 5)).

Figure 1: Pathophysiological process of asthma development, including immune cells and cytokines. Targets of biological drugs are high-lighted in red (the scheme is adapted according to (4, 5)).

tvorbo novega (7). Omalizumab učinkovito zmanjša z alergijo spodbujeno vnetje, novejša raziskava pa kažejo tudi, da lahko omalizumab zmanjša debelino stene dihalnih poti in poveča površino lumna bronhijev (8).

V 3. fazi kliničnih raziskav so imeli pacienti, ki so jih zdravili z omalizumabom, manj poslabšanj astme, občutili so izboljšanje simptomov astme in kvalitete življenja, hkrati pa se jim je tudi zmanjšala potreba po terapiji s kortikosteroidi in bronhodilatatorji, v primerjavi s placebo kontrolirano skupino. Poleg tega so bili pacienti ob zdravljenju z omalizumabom manjkrat hospitalizirani, manjkrat so obiskali zdravnika ali urgentno pomoč (9-11). Stranski učinki zdravljenja so bili lokalne reakcije na mestu injiciranja, glavoboli, utrujenost in slabost, ki pa se med obravnavano in kon-

trojno skupino niso bistveno razlikovali (12). Skrb je povzročalo rahlo povečanje malignih novotvorb pri začetnih kliničnih poskusih zdravljenja z omalizumabom, ki pa se v kasnejših raziskavah ni izkazalo kot pomembno (13).

2.2 MEPOLIZUMAB, RESLIZUMAB, BENRALIZUMAB: IL-5

Mepolizumab, reslizumab in benralizumab so monoklonska protitelesa proti citokinu IL-5, ki ima ključno vlogo pri rasti, zorenju in aktivaciji eozinofilcev. Humanizirano protiteleso mepolizumab je trenutno v 3. fazi kliničnih raziskav. V začetnih študijah so ugotovili, da je mepolizumab varen in da učinkovito zmanjša število eozinofilcev v krvi in dihalih, vendar pa niso uspeli pokazati značilnega izboljšanje simp-

tomov astme, pljučne funkcije in preobčutljivosti bronhijev (14). Se je pa mepolizumab izkazal za učinkovitejšega pri zdravljenju specifičnega podtipa astme, pri katerem prihaja do pogostih poslabšanj, kopičenja eozinofilcev v dihalih in neodzivnosti na kortikosteroide (15). Reslizumab in benralizumab sta monoklonski protitelesi, ki sta v 2. fazi kliničnih raziskav učinkovito zmanjšali število eozinofilcev v pljučih in krvi (4). Kažeta tudi pozitiven trend izboljšanja simptomov astme, ki pa ga bo potrebno dokončno potrditi v nadaljnjih raziskavah. Reslizumab se veže na IL-5, medtem ko je benralizumab usmerjen proti α -podenoti receptorja za IL-5 (IL-5R) in zato bolj ciljano deluje na eozinofilce (4).

2.3 PASCOLIZUMAB, ALTRAKINCEPT, PITRAKINRA: IL-4

Pascolizumab je monoklonsko protitelo proti IL-4, altrakincept pa topni rekombinantni človeški receptor za IL-4. Oba sta se v 2. fazi kliničnih raziskav izkazala za neučinkovita, kar je verjetno posledica redundance med IL-4 in IL-13. To so uspeli potrditi tudi z uporabo rekombinantnega mutiranega IL-4 (spremenjeni dve aminokislini), ki deluje kot antagonist heterodimernega receptorja IL-4R α -IL-13R α 1 in tako inhibira tako IL-4 kot IL-13 signalno pot. Pitrakinra je v 2. fazi kliničnih raziskav zmanjšala pogostost preobčutljivostnih reakcij in poslabšanja astme pri pacientih z eozinofilnim tipom astme (16), ter pri posameznikih s specifičnim polimorfizmom v genu za IL-4R (17).

2.4 LEBRIKIZUMAB, TRALOKINUMAB, ANRUKINZUMAB: IL-13

Lebrikizumab, tralokinumab, anrukinzumab so monoklonska protitelesa, usmerjena proti IL-13. Vsa so v 2. fazi kliničnih raziskav, kar pomeni, da bodo za opredelitev njihove učinkovitosti potrebne nadaljnje raziskave (4). Lebrikizumab v randomizirani multicentrični klinični študiji ni povzročal stranskih učinkov. Pljučna funkcija se je izboljšala pri pacientih z zmerno do hudo obliko astme (18).

2.5 DACLIZUMAB: IL-2

Daclizumab je monoklonsko protitelo, usmerjeno proti α -podenoti receptorja za IL-2. Protitelo je v klinični uporabi za preprečevanje zavrnitve pri presaditvi ledvic. Klinična raziskava na bolnikih z zmerno do hudo obliko astme je pokazala izboljšanje kontrole astme, izboljšanje pljučne funkcije in znižanje koncentracije eozinofilcev v krvi (19).

2.6 SECUKINUMAB: IL-17

Secukinumab je človeško monoklonsko protitelo proti IL-17A, vnetnemu citokinu, ki ga izločajo T celice pomagalke tipa 17 (T_H17) in je ključen pri z nevtrofilci pogojenem vnetju in preoblikovanju tkiva dihalnih poti. Secukinumab je bil zelo učinkovit pri mišjem modelu astme in je trenutno v 2. fazi kliničnih raziskav (4).

2.7 INFLIXIMAB, GOLIMUMAB IN ETANERCEPT: TNF α

Infliximab in golimumab sta monoklonski protitelesi proti TNF α , ki je tudi tarča topnega receptorja za TNF α . TNF α proizvajajo T celice pomagalke tipa 1 (T_H1) in je prekomerno izražen v dihalih pacientov s hudo obliko astme, ter direktno stimulira krčenje gladkih mišic v dihalih. Logično strategijo je torej predstavljalo testiranje obstoječih bioloških zdravil proti TNF α , ki so v klinični uporabi za zdravljenje revmatoidnega artritisa in kronične vnetne črevesne bolezni. Vendar je nevtralizacija TNF α pri bolnikih z astmo privedla do nasprotujočih rezultatov, ki so nakazovali povečano dovzetnost za respiratorne infekcije in razvoj novotvorb, kar je bilo predvsem izrazito pri golimumabu (20). Strategija zdravljenja astme z nevtralizacijo TNF α se zato verjetno ne bo naprej razvijala.

2.8 MEDI-528: IL-9

Humanizirano monoklonsko protitelo MEDI-528 je usmerjeno proti IL-9, ki je prekomerno izražen v dihalnih poteh bolnikov z astmo. Protitelo se je testiralo v 2. fazi kliničnih raziskav, pri katerih je prišlo do izboljšanja kvalitete bolnikov z astmo (21).

3 PRENOS BIOLOŠKIH ZDRAVIL ZA ZDRAVLJENJE ASTME V KLINIČNO PRAKSO: JE KOZAREC NA POL PRAZEN ALI POLN?

Do leta 2011 je bilo v različnih fazah kliničnih raziskav 39 različnih bioloških zdravil za zdravljenje astme, ki so delovala na 23 različnih celičnih tarč (22). Od teh sem v pregled vključil samo del pomembnejših bioloških zdravil, ki so vsaj v 2. fazi kliničnih raziskav. Patofiziološki mehanizmi razvoja astme so podrobno pojasnjeni in znanih je veliko število

mediatorjev, ki so pri astmi povečani in pospešujejo njen razvoj, ter tako predstavljajo potencialne tarče za zdravljenje. Biološka zdravila so namenjena predvsem tistim 5-10% bolnikov, ki se slabo odzivajo na klasično zdravljenje (kortikosteroidi, bronhodilatatorji). Največji uspeh biološkega zdravljenja astme predstavlja uspešna uvedba omalizumaba v terapijo, ki je še posebej učinkovito pri zdravljenju astme, ki se razvije kot posledica alergije. Vzrok za manjšo uspešnost bioloških zdravil, ki so usmerjena proti citokinom, je verjetno velika heterogenost astme kot obolenja, saj obstajajo različni podtipi astme, ki imajo bistveno različen citokinski profil. Domneva se, da bodo sodobna biološka zdravila proti citokinom primerna za zdravljenje specifičnih podtipov astme in bodo torej personalizirana (4). Za bolj ciljano zdravljenje bo potrebna natančnejša genotipska in fenotipska karakterizacija pacientov (23), kot kaže primer identifikacije specifičnega polimorfizma v genu za IL-4R, ki močno vpliva na učinkovitost zdravljenja s pitrakino (4), ki pa bo seveda vplivala na ekonomsko učinkovitost zdravljenja. Nasprotno od tega optimističnega pogleda pa Mullane opisuje razvoj bioloških zdravil za zdravljenje astme kot razočaranje, saj je od 39 testiranih molekul le 6 pokazalo nedvoumne pozitivne učinke (22). Ta relativen neuspeh pripisuje uporabi manj ustreznega mišjega modela astme, kjer se astma umetno spodbudi s senzitivizacijo, kar privede do prekomernega T_H2 odziva, ki se je zato uveljavil kot paradigma za astmo. Svojo trditve utemeljuje tudi z dejstvom, da je bila večina bioloških zdravil za zdravljenje astme učinkovita v poskusih na miših, ki pa se je le v omejenem obsegu prenesla tudi v humane klinične raziskave (22).

Terapevtska uvedba omalizumaba je zagotovo prispevala k povečanemu zanimanju za razvoj bioloških zdravil za zdravljenje astme. Usoda preostalih bioloških zdravil pa se bo dokončno pokazala v nadaljnjih kliničnih raziskavah.

4 PREHRANSKI DODATKI KOT POMOČ PRI LAJŠANJU ASTME

Kot pomoč pri lajšanju astme se v literaturi navajajo predvsem pripravki rastlinskega izvora, s poudarkom na antioksidantih (21), in konjugirane linolenske kisline (KLK) (24). Antioksidanti naj bi zmanjšali oksidativni stres, ki je prisoten pri astmi, in omogočali nadzor nad vnetjem (25). Med antioksidante rastlinskega izvora se uvrščajo flavonoidi, kurkumin, rezervatrol, antioksidativni vitamini (karotenoidi, vitamin C, vitamin E), organskožveplove spojine (α -lipolna

kisline) in hlapljive spojine, kot so fitoncidi (25). Antioksidativne spojine so bile testirane predvsem na celičnih in živalskih modelih, relativno malo pa jih je bilo preverjenih v humanih kliničnih raziskavah. Utemeljitev suplementacije z antioksidanti izhaja predvsem iz populacijskih študij, pri katerih so opazili manjšo pojavnost astme pri ljudeh, ki so uživali več jabolka, rdečega vina in flavonoidov (26, 27). Poleg tega so pri astmatikih opazili tudi znižane koncentracije celokupnih karotenoidov v krvi (28). Nižja koncentracija C vitamina pri otrocih je povezana z večjim tveganjem za pojav astme (29). Dodajanje vitamina C je bilo koristno predvsem pri odraslih kadilcih, pri katerih so opazili zmanjšanje intenzivnosti kašlja in dušenja (30).

KLK predstavljajo enega od novejših prehranskih dodatkov za zdravljenje astme. Njihova uporaba temelji na opažanju, da naraščanje pojavnosti astme v populaciji sovпада z zmanjšanjem vnosa KLK s prehrano in da prehrana bogata s KLK vpliva na zmanjšanje tveganja za razvoj simptomov astme (24). Učinkovitost KLK je bila potrjena tudi v nedavni manjši klinični raziskavi, pri kateri so opazili značilno zmanjšanje preobčutljivosti dihalnih poti in zmanjšanje teže, hkrati pa niso opazili nobenih stranskih učinkov (31).

Učinkovitost prehranskih dodatkov za zdravljenje astme zaenkrat ni ustrezno podprta s kliničnimi raziskavami. Glede na dostopne podatke pa lahko rečemo, da se opisani prehranski dodatki lahko uporabljajo kot pomoč pri lajšanju astme, zlasti v kombinaciji z zdravim načinom življenja, saj so varni in ob priporočeni uporabi na povzročajo stranskih učinkov.

5 REFERENCE:

1. World Health Organization. Chronic respiratory disease - Asthma: definition <http://www.who.int/respiratory/asthma/definition/en/>. Dostop: 19. 4. 2013.
2. Global initiative for asthma (GINA). Global strategy for asthma management and prevention. http://www.ginasthma.org/local/uploads/files/GINA_Report_2012Feb13.pdf. Dostop: 19. 4. 2013.
3. Šuškovič S, Camlek T, Gril M et al. Prevalence of asthma in adults in Slovenia. *Prevalenca astme pri odraslih v Sloveniji* 2010; 80: 451.
4. Pelaia G, Vatrella A, and Maselli R. The potential of biologics for the treatment of asthma. *Nat Rev Drug Discov* 2012; 11: 958-972.
5. Long AA. Monoclonal antibodies and other biologic agents in the treatment of asthma. *MAbs* 2009; 1: 237-246.
6. Shields RL, Whether WR, Zioncheck K et al. Inhibition of allergic reactions with antibodies to IgE. *Int Arch Allergy Immunol* 1995; 107: 308-312.

7. Holgate S, Casale T, Wenzel S et al. The anti-inflammatory effects of omalizumab confirm the central role of IgE in allergic inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 115: 459-465.
8. Hoshino M, and Ohtawa J. Effects of adding omalizumab, an anti-immunoglobulin E antibody, on airway wall thickening in asthma. *Respiration* 2012; 83: 520-528.
9. Humbert M, Beasley R, Ayres J et al. Benefits of omalizumab as add-on therapy in patients with severe persistent asthma who are inadequately controlled despite best available therapy (GINA 2002 step 4 treatment): INNOVATE. *Allergy* 2005; 60: 309-316.
10. Soler M, Matz J, Townley R et al. The anti-IgE antibody omalizumab reduces exacerbations and steroid requirement in allergic asthmatics. *Eur Respir J* 2001; 18: 254-261.
11. Vignola AM, Humbert M, Bousquet J et al. Efficacy and tolerability of anti-immunoglobulin E therapy with omalizumab in patients with concomitant allergic asthma and persistent allergic rhinitis: SOLAR. *Allergy* 2004; 59: 709-717.
12. Cazzola M, Camiciottoli G, Bonavia M et al. Italian real-life experience of omalizumab. *Respir Med* 2012; 104: 1410-1416.
13. Busse W, Buhl R, Fernandez Vidaurre C et al. Omalizumab and the risk of malignancy: results from a pooled analysis. *J Allergy Clin Immunol* 2012; 129: 983-989 e986.
14. Flood-Page P, Swenson C, Faiferman I et al. A study to evaluate safety and efficacy of mepolizumab in patients with moderate persistent asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2007; 176: 1062-1071.
15. Pavord ID, Korn S, Howarth P et al. Mepolizumab for severe eosinophilic asthma (DREAM): a multicentre, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* 2012; 380: 651-659.
16. Wenzel S, Wilbraham D, Fuller R et al. Effect of an interleukin-4 variant on late phase asthmatic response to allergen challenge in asthmatic patients: results of two phase 2a studies. *Lancet* 2007; 370: 1422-1431.
17. Slager RE, Otulana BA, Hawkins GA et al. IL-4 receptor polymorphisms predict reduction in asthma exacerbations during response to an anti-IL-4 receptor alpha antagonist. *J Allergy Clin Immunol* 2012; 130: 516-522 e514.
18. Corren J, Lemanske RF, Hanania NA et al. Lebrikizumab treatment in adults with asthma. *N Engl J Med* 2012; 365: 1088-1098.
19. Busse WW, Israel E, Nelson HS et al. Dacizumab improves asthma control in patients with moderate to severe persistent asthma: a randomized, controlled trial. *Am J Respir Crit Care Med* 2008; 178: 1002-1008.
20. Wenzel SE, Barnes PJ, Bleecker ER et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled study of tumor necrosis factor- α blockade in severe persistent asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2009; 179: 549-558.
21. Parker JM, Oh CK, LaForce C et al. Safety profile and clinical activity of multiple subcutaneous doses of MEDI-528, a humanized anti-interleukin-9 monoclonal antibody, in two randomized phase 2a studies in subjects with asthma. *BMC Pulm Med* 2011; 11: 14.
22. Mullane K. Asthma translational medicine: report card. *Biochem Pharmacol* 2011; 82: 567-585.
23. Thomson NC, Chaudhuri R, and Spears M. Emerging therapies for severe asthma. *BMC Med* 9: 102.
24. Macredmond R, and Dorscheid DR. Conjugated linoleic acid (CLA): is it time to supplement asthma therapy? *Pulm Pharmacol Ther* 2011; 24: 540-548.
25. Park HS, Kim SR, Kim JO et al. The roles of phytochemicals in bronchial asthma. *Molecules* 2010; 15: 6810-6834.
26. Shaheen SO, Sterne JA, Thompson RL et al. Dietary antioxidants and asthma in adults: population-based case-control study. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164: 1823-1828.
27. Knekt P, Kumpulainen J, Jarvinen R et al. Flavonoid intake and risk of chronic diseases. *Am J Clin Nutr* 2002; 76: 560-568.
28. Wood LG, Garg ML, Blake RJ et al. Airway and circulating levels of carotenoids in asthma and healthy controls. *J Am Coll Nutr* 2005; 24: 448-455.
29. Romieu I, and Trenga C. Diet and obstructive lung diseases. *Epidemiol Rev* 2001; 23: 268-287.
30. Allen S, Britton JR, and Leonardi-Bee JA. Association between antioxidant vitamins and asthma outcome measures: systematic review and meta-analysis. *Thorax* 2009; 64: 610-619.
31. MacRedmond R, Singhera G, Attridge S et al. Conjugated linoleic acid improves airway hyper-reactivity in overweight mild asthmatics. *Clin Exp Allergy* 2010; 40: 1071-1078.