

EFFECTO DEL BROMURO DE IPRATROPIO SOBRE LA BRONCOCONSTRICION POR HISTAMINA EN SUJETOS CON OBSTRUCCION CRONICA AL FLUJO AEREO*

LUIS J NANNINI (h)

Neumonología, Hospital de G. Baigorria, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Rosario

Resumen El bromuro de ipratropio (B I) es un agente anticolinérgico muy recomendado para el tratamiento de la obstrucción crónica al flujo aéreo (EPOC). No obstante, no hay definición respecto a la existencia de efectos preventivos (no broncodilatadores) del BI. Con el fin de evaluar la acción del BI (80 µg en aerosol) ante una prueba de histamina se estudiaron 9 sujetos (hombres) con EPOC moderada, mediante un diseño doble ciego, aleatorio, controlado y cruzado entre placebo y BI. Tenían una edad promedio (\pm error standard de media) = 57,9 \pm 2,4 años con antecedentes de tabaquismo de 54,6 \pm 5,1 paquete-años y un FEV₁ basal = 1,36 \pm 0,08 litros (47,2 \pm 3,8 % del teórico). La hiperreactividad bronquial a la histamina en el día control fue logPC₂₀ = -0,54 \pm 0,24 mg/ml (media geométrica: 0,27 mg/ml). El BI produjo un aumento significativo en el FEV₁ basal; aunque no hubo correlación entre la obstrucción basal (FEV₁, FEV₁/FVC%) y la broncodilatación con la hiperreactividad (logPC₂₀). El BI redujo la broncoconstricción por histamina (logPC₂₀ BI = -0,15 \pm 0,17 mg/ml; media geométrica [MG] = 0,70 mg/ml) en comparación con placebo (logPC₂₀ post placebo = -0,76 \pm 0,22 mg/ml [MG = 0,17 mg/ml]; P = 0,018) y la dosis doble fue para BI = 2,02 \pm 0,68 vs placebo = -0,62 \pm 0,79; p: 0,024. Tanto el fenoterol como el BI revirtieron totalmente la caída del FEV₁ al final de la prueba de histamina. Se concluye que el BI mostró un efecto protector ante la histamina en estos sujetos con diagnóstico de EPOC moderada.

Palabras claves: EPOC, ipratropio, histamina

Abstract *Effect of inhaled ipratropium bromide on histamine-induced bronchoconstriction in subjects with moderate chronic airway limitation.* Ipratropium bromide (IB), a quaternary derivative of atropine has been extensively recommended as the first bronchodilator to be tried in chronic obstructive pulmonary disease (COPD). Despite the large information concerning IB use, a controversy still persists about the lack of non bronchodilator effects (preventive) of inhaled IB. Therefore, the purpose was: to study the effects of IB (80 µg) on histamine-induced bronchoconstriction in moderate airway obstruction due to COPD. From outpatient clinic 9 men aged (mean \pm SEM) 57.9 \pm 2.4 yr with smoking history of 54.6 \pm 5.1 pack-yrs and a mean FEV₁ = 1.36 \pm 0.08 liters (47.2 \pm 3.8 % predicted) were enrolled to participate in this randomized placebo-controlled double blind cross-over study. Each subject attended on 3 occasions (first visit was control day; logPC₂₀ = -0.54 \pm 0.24 mg/ml; geometric mean [MG] = 0.27 mg/ml) for histamine challenge tests using the tidal breathing method after either 4 puffs of IB or placebo aerosol. IB significantly increased baseline FEV₁. A correlation between baseline obstruction (FEV₁; FEV₁/FVC) and bronchodilation with airway hiperreactivity (logPC₂₀) could not be demonstrated. The major finding was that IB attenuated the histamine-induced bronchoconstriction (logPC₂₀ = -0.15 \pm 0.17 mg/ml; GM = 0.70 mg/ml) in comparison with placebo (logPC₂₀ = -0.76 \pm 0.22 mg/ml; GM = 0.17 mg/ml; p = 0.018; doubling dosis: IB= 2.02 \pm 0.68 vs placebo = -0.62 \pm 0.79; p= 0.024). The lack of correlation between bronchodilator response to IB and the shift in logPC₂₀ might indicate an intrinsic protective role of IB against histamine. Both IB and fenoterol completely resolved the final fall in FEV₁ after ending the histamine challenge test. In conclusion, IB diminished histamine-induced bronchoconstriction in these subjects with moderate COPD.

Key words: COPD, ipratropium bromide, histamine, bronchial hyperresponsiveness

El bromuro de ipratropio (B I) es un agente anticolinérgico sintético, sal de amonio cuaternario, ampliamente

recomendado para el tratamiento de la obstrucción crónica al flujo aéreo o enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC).¹⁻⁵ Los agonistas de receptores β_2 comparten el primer escalón terapéutico con el BI en esta enfermedad y han relegado del debate⁶ tanto sobre su acción broncodilatadora como no broncodilatadora al BI. Más aún, por años se desconoció la existencia de los efectos preventivos del BI en pruebas de hiperreactividad bronquial con agentes broncoconstrictores⁷ tales como

Recibido: 9-V-2000

Acceptado: 28-XII-2000

* Presentado parcialmente en el Congreso Argentino de Neumonología, Santa Fe, 1997

Dirección postal: Dr. Luis J. Nannini (h), Neumonología, Hospital de G. Baigorria, 2152 G. Baigorria, Rosario, Argentina
Fax: (54-341)4259089 e-mail: nanninlj@cimeron.org.ar

la histamina, con la obvia excepción de la metacolina que posee directa acción colinérgica sobre los receptores muscarínicos del músculo liso bronquial que son bloqueados por atropina y BI.⁸ Un componente de la acción broncoconstrictora de la histamina se supone mediado por la estimulación parasimpática.⁸ Sin embargo, hay discrepancias en la literatura sobre la acción protectora del BI ante la histamina, tanto en EPOC leve^{9,10} como en asma.^{10,11} No se puede discutir el hipotético desarrollo de taquifilaxia de los efectos no broncodilatadores del BI, como sucede con los agonistas β_2 ,⁶ sin antes confirmar la posesión por parte del BI de una acción protectora bronquial. En sujetos con EPOC, llamativamente la histamina es más potente que la metacolina como agente broncoconstrictor.⁹ El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto preventivo del BI ante la histamina y la capacidad de revertir la broncoconstricción al finalizar una prueba de histamina en sujetos con EPOC moderada.

Material y métodos

Para evaluar la acción del ipratropio (80 μ g en aerosol) sobre la curva dosis-respuesta a la histamina en sujetos con EPOC; se estudiaron, mediante un diseño doble ciego, randomizado, controlado y cruzado entre placebo y BI a 9 sujetos que concurrían al Servicio de Neumonología del Hospital en forma ambulatoria.

Criterios de inclusión: a) sujetos con diagnóstico de obstrucción crónica,¹ sin antecedentes de asma, b) fumadores de 20 o más paquete-año, c) Volumen espiratorio forzado en el primer segundo (FEV₁) menor del 65% del valor teórico,¹² ó FEV₁/FVC (capacidad vital forzada) menor de 65%, d) clínicamente estables, no esteroide-dependientes, sin antecedentes de glaucoma o prostatismo y e) sin exacerbaciones en las últimas 6 semanas. Todos los sujetos brindaron su consentimiento y concurren en tres ocasiones separadas por 48 hs como mínimo. Se indicó suspender agonistas β_2 8 hs antes, teofilinas, salmeterol, ipratropio y corticoides inhalados 24 hs, infusiones con xantinas 12 hs, abstinencia de fumar y ejercicios 6 hs. Todos los estudios se efectuaron por la mañana. Luego de un reposo de 10 min, se comenzó con espirometrías en posición sentada, adoptando como valor basal al mejor de tres maniobras y sin variaciones mayores del 5% entre los dos más altos. Se utilizó un equipo «Vitalograph Compact» (Buckingham, Inglaterra) apoyado con un neumotacógrafo para la determinación de flujos y calibrado diariamente con una jeringa de 3 litros. En el día «control», luego de la espirometría basal se continuó con la prueba de histamina de acuerdo a la técnica descrita por Hargreave y colaboradores¹³. En las siguientes visitas recibieron, de acuerdo con el diseño 4 puffs de placebo aerosol o de ipratropio (Atrovent® Boehringer Ingelheim Argentina). A los 10 minutos se controló el FEV₁; si no había una caída mayor del 10% con respecto al FEV₁ basal, se continuaba con la prueba de histamina, comenzando con una concentración de 0,03 mg/ml hasta registrar una caída igual o mayor al 20% en el FEV₁ (PC₂₀) con respecto al FEV₁ post fosfato buffer salino. Las nebulizaciones fueron impulsadas con oxígeno mediante un nebulizador Wright (Roxon, Meditech Canadá) a 8 L/min con una presión de 50 libras por pulgada cuadrada, durante 2 minutos a respiración corriente con una pinza nasal

y a través de una máscara facial. El nebulizador bajo esas condiciones produce una descarga de $0,13 \pm 0,004$ ml/min. Este dato, similar a otros publicados,¹³ resulta de promediar las diferencias en el peso antes y después de las nebulizaciones. La PC₂₀ se calculó mediante la interpolación entre las dos últimas concentraciones en un gráfico semilogarítmico. Al fin de la prueba de histamina se administró a doble ciego 80 μ g de ipratropio en aerosol el día del placebo y 400 μ g de fenoterol en aerosol el día del ipratropio. El FEV₁ se registró a los 5, 10 y 40 minutos de la inhalación del aerosol. El estudio fue aprobado por el comité de docencia e investigación del hospital y por el comité de ética de la facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de Rosario.

Análisis estadístico

Los datos se presentan en media y Error Standard de la Media. Los valores basales se compararon con mediciones repetidas de ANOVA. La PC₂₀ se transformó con logaritmo decimal para todo cálculo y se expresaron como media de $\log PC_{20} \pm$ error standard y como media geométrica (antilogaritmo de la media de $\log PC_{20}$). La reproducibilidad de la prueba de histamina para los días placebo y control se evaluó mediante el método de Bland y Altman,¹⁴ donde el coeficiente de repetibilidad es igual al doble del desvío estándar del promedio de las diferencias y debe ser superior al 95% de las diferencias entre las $\log PC_{20}$ de los días placebo y control. Se utilizó el test de correlación de Spearman para buscar una asociación entre broncodilatación post BI, grado de obstrucción bronquial basal expresado como FEV₁, FEV₁/FVC% y la respuesta broncoconstrictora a la histamina. El test de t pareado se aplicó para demostrar una diferencia significativa entre las medias de $\log PC_{20}$ placebo y $\log PC_{20}$ BI y éste fue el objetivo principal del estudio. Las dosis dobles (DD) se obtuvieron usando la siguiente fórmula:¹⁵ $(\log PC_{20} BI - \log PC_{20} placebo) / \log 2$ y $(\log PC_{20} placebo - \log PC_{20} control) / \log 2$. Las DD se compararon con test de Mann-Whitney. Se consideró significativa una $p < 0,05$.

Resultados

Las características generales y los valores basales se muestran en la Tabla 1. El sujeto #6 de 44 años de edad tenía, además déficit de α -1 antitripsina. No hubo diferencias entre los datos basales de los tres días de estudio. El FEV₁ post ipratropium ($1,38 \pm 0,07$ L) registrado previamente al test de histamina fue significativamente mayor que en el día placebo ($1,22 \pm 0,06$ L; $P = 0,004$). La respuesta al BI no se correlacionó con la $\log PC_{20}$ ($r = -0,08$; $p = 0,84$; ver Fig. 1) ni con la DD ($r = -0,7$; $p = 0,07$). No hubo correlación entre el FEV₁ basal y la respuesta a la histamina ($r = 0,27$; $P = 0,48$); tampoco entre FEV₁/FVC % basal y $\log PC_{20}$ histamina ni entre paquete-año y $\log PC_{20}$. No hubo diferencia significativa entre las medias de $\log PC_{20}$, día control (media geométrica de PC₂₀ [MG] = $0,27$ mg/ml) y placebo (MG = $0,17$ mg/ml; $p = 0,46$). El coeficiente de repetibilidad fue mayor que todas las diferencias de $\log PC_{20}$ entre los días control y placebo; por lo que el test de histamina se consideró reproducible. La diferencia entre la media $\log PC_{20}$ post ipratropium = $-0,15 \pm 0,17$ mg/ml (MG = $0,70$ mg/ml) y la $\log PC_{20}$ post placebo = $-0,76 \pm 0,22$ mg/ml (MG = $0,17$

TABLA 1.- Características generales

Sujeto Nro	Edad años	Altura cm	FVC		FEV ₁		paquete- año	PC ₂₀ mg/ml	Tratamiento
			L	%*	L	%			
1	60	157	2.9	85	1.58	64	73	0.13	Iprat+ Fenoterol
2	56	167	2.68	65	1.5	50	38	0.22	Bud+Iprat
3	68	180	2.93	64	1.14	37	70	1.97	Bud+Salbutamol
4	53	167	2.45	59	1.29	42	47	0.33	Bud+Salmeterol+Iprat
5	57	157	3.25	93	1.77	69	37	2.2	Teofilina+Iprat
6	44	163	3.0	72	1.08	34	43	0.06	Salb
7	60	172	2.88	67	1.4	46	45	0.07	Iprat
8	66	171	2.72	44	1.2	42	66	0.37	Teofilina+Iprat+salb
9	58	164	2.43	53	1.29	46	72	0.11	Teofilina+Bud+ Iprat+salb
Media	57.9	166.1	2.87	66.9	1.36	47.7	54.6	0.27 †	
ESM	2.4	2.5	0.1	5.0	0.08	3.9	5.1		

Iprat: ipratropio. Bud: budesonide. Salmeterol: salmeterol. salb: salbutamol. Valores como porcentaje de teóricos de Morris et al (11). Paquete-año.: número de paquetes/día por total de años de fumador. PC₂₀: concentración de histamina en mg/ml necesaria para producir una caída del 20% en el FEV₁. † Media geométrica.

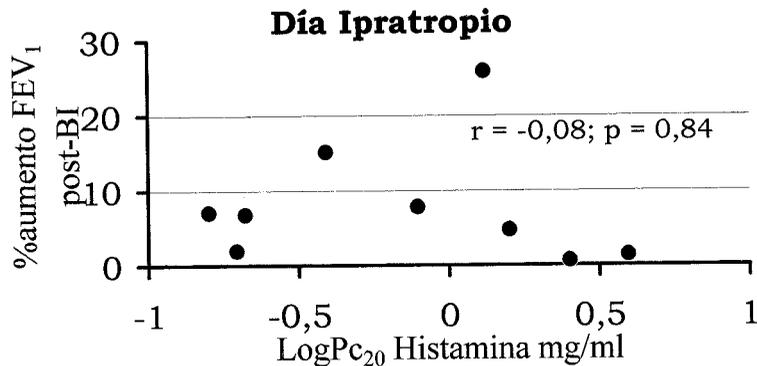


Fig. 1.- En el día que recibieron bromuro de ipratropio (BI) no hubo correlación mediante el test de Spearman ($r = -0.08$; $p = 0.84$) entre el porcentaje de aumento registrado en el FEV₁ a los 10 minutos de recibir BI contra la hiperreactividad medida como logPc₂₀ de histamina en mg/ml.

TABLA 2.- Comparación de los resultados entre placebo y BI

	Placebo		BI		P
FEV ₁ basal	1.27	0.06	1.28	0.06	NS
% teórico	44.59	3.32	44.40	2.66	NS
FEV ₁ /FVC%	50.57	2.8	49.37	2.38	NS
FEV ₁ post-PBS	1.22	0.06	1.38	0.07	0.004
Máxima caída	24.33	1.21	27.54	1.83	NS
logPC ₂₀	-0.76	0.2	-0.15	0.17	0.018
Media geométrica	0.17		0.70		
FEV ₁ Post fenoterol	—		1.42	0.09	
FEV ₁ Post BI.	1.44	0.12	—		
Dosis Doble	-0.62	0.79	2.02	0.68	0.024

Medias ± ESM. NS: no significativa. FEV₁ post-PBS: FEV₁ medido luego de la administración del aerosol y de la primera nebulización con fosfato buffer salino (PBS) y antes de iniciar la prueba de histamina.

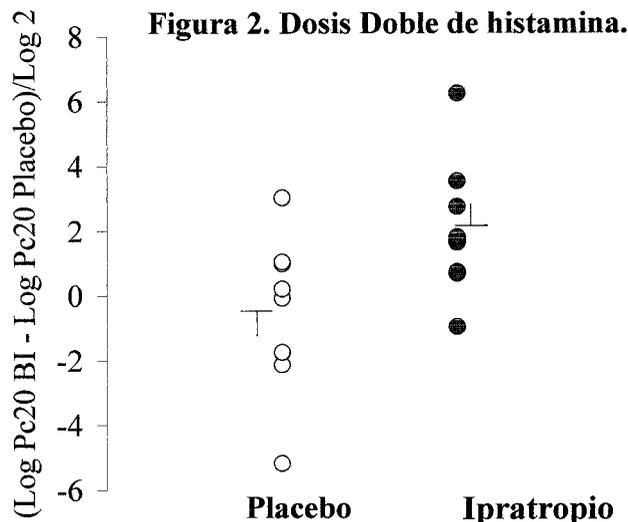


Fig. 2.— Dosis doble de histamina. Comparación de las dosis dobles de cada uno de los 9 sujetos, calculadas luego de placebo y Bromuro de ipratropio (BI). Las líneas horizontales corresponden a las medias \pm ESM; $p=0,024$. La media de DD de histamina= 2,02 significa que luego del BI se requirió aumentar más de 2 veces las concentraciones de histamina para alcanzar la PC_{20} en comparación con el día placebo.

mg/ml) fue significativa; $p=0,018$. La dosis doble también fue significativamente mayor con BI= $2,02 \pm 0,68$ que con placebo = $-0,62 \pm 0,79$; $p: 0,024$ (Fig. 2). No hubo diferencias significativas en las respuestas al BI comparado con las respuestas al fenoterol administrados al final de la prueba de histamina (FEV_1 pos Ipratropio= $1,45 \pm 0,12$ L; FEV_1 pos fenoterol = $1,42 \pm 0,09$ L; $P=0,65$). Estos valores de FEV_1 fueron los máximos obtenidos dentro de los 40 min posteriores a la prueba de histamina. La diferencia con respecto al FEV_1 basal fue significativa (Post-BI: test de t Student pareado; $p=0,006$). Igualmente ocurrió con la recuperación post fenoterol ($p=0,032$; Tabla 2).

Discusión

En este estudio no solo se demostró que el BI tiene un efecto protector ante la broncoconstricción por histamina en estos sujetos con EPOC, sino que también tiene capacidad de revertir la obstrucción al final de la prueba de histamina. La dosis doble de histamina post BI significativamente mayor que post-placebo y el efecto broncodilatador al finalizar la prueba de histamina similar entre 80 μ g de BI y 400 μ g de fenoterol aerosol representan el principal aporte del presente estudio a favor del perfil terapéutico del BI en EPOC.

La broncoconstricción inducida por histamina resultaría de un efecto directo sobre el músculo liso bronquial y en menor grado por un reflejo parasimpático iniciado al estimularse receptores de la mucosa bronquial⁸ que son bloqueados por atropina y BI. No obstante, no parece haber acuerdo en la existencia de un efecto preventivo de BI sobre la respuesta a la histamina en sujetos asmáticos estables^{10,11} y tampoco en sujetos con EPOC leve; en quienes, la respuesta broncoconstrictora a la histamina, sorprendentemente, es mayor que a la metacolina.^{9,11} El estudio de Du Toit y colaboradores⁹ no encontró diferencias en PD_{20} histamina con la administración previa de BI; a pesar de una dosis mayor (200 μ g) a la dosis utilizada (80 μ g) en este estudio. Pero existen numerosas diferencias entre ambos estudios que explicarían los opuestos hallazgos,⁹ a) los sujetos estudiados por Du Toit et al presentaban menor obstrucción basal (FEV_1 % teórico = $77,4 \pm 3,77\%$ vs. $47,7 \pm 3,9\%$ del presente estudio), b) estas variables basales (expresadas tanto en FEV_1 como FEV_1/FVC %) se correlacionaron con la respuesta a la histamina (PD_{20}) en el estudio de Du Toit⁹ y c) no encontraron acción broncodilatadora post BI⁹. Se puede conjeturar que las diferencias entre estos estudios se explican considerando la influencia de la geometría de la vía aérea^{16,17} tanto en la respuesta a la histamina como a los broncodilatadores porque los sujetos estudiados por DuToit y colegas⁹ presentaban menor obstrucción basal (un solo sujeto tenía FEV_1 % teórico < 60% y en el presente estudio, sólo 2 pacientes tenían FEV_1 > 60%). Es decir, que en pacientes con EPOC más grave habría mayor depósito de agentes inhalados en la vía central que presenta una mayor densidad de receptores colinérgicos sobre los que actúa el BI.⁸ No obstante, una mayor obstrucción basal (esto es menor FEV_1) no explicaría totalmente la falta de correlación entre la función pulmonar basal y la hiperreactividad traqueobronquial (cuanto mayor es la hiperreactividad menor la Pc_{20}) en este estudio. Esta ausencia de correlación no descarta que al menos en parte, la protección brindada por el BI esté fundada en su acción broncodilatadora si se piensa que al aumentar el FEV_1 harían falta mayores dosis de histamina para lograr el 20% de caída. Sin embargo, la falta de correlación entre la respuesta broncodilatadora al BI y la $\log PC_{20}$ de histamina (ver figura 1) hace suponer que, el BI ejercería el efecto protector ante la histamina independientemente del efecto broncodilatador. Es importante señalar que, Higgins y colegas no hallaron correlación entre broncodilatación y protección ante histamina tanto con salbutamol como con BI en 9 sujetos con asma y en 10 sujetos con bronquitis crónica.¹⁰ Otro estudio de 9 sujetos asmáticos tampoco encontró correlación entre broncodilatación y efecto preventivo.¹⁸ Sin dudas, el efecto del BI ante la histamina ha sido más estudiado en asma que en EPOC. A pesar

de ello, sigue sin resolverse la controversia sobre la existencia de una acción protectora del BI en asma, con estudios que hallaron un efecto protector^{10,18-20} previo a la prueba de histamina y otros que obtuvieron resultados negativos.^{11,21} Finalmente, en EPOC las evidencias parecerían encaminarse en el mismo sentido que en asma.^{9,10}

Se concluye que la administración de 80 µg de BI en aerosol antes de la prueba de histamina logró reducir la acción broncoconstrictora de la histamina en estos sujetos con EPOC por lo que el BI poseería un efecto preventivo. Al fin de la prueba de histamina el BI revirtió la obstrucción producida artificialmente.

Agradecimientos: A la Dra Silvana Mannarino, al Dr Daniel O. Hofer y a la Lic Daniela M. Flores por la valiosa colaboración.

Bibliografía

1. American Thoracic Society Statement: Standards for the diagnosis and care of patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 152: S77-S120.
2. Siafakas NM, Verriere P, Pride NB, Paoletti P, Gibson J, Howard P. ERS Consensus Statement: optimal assessment and management of chronic obstructive pulmonary disease (COPD). *Eur Respir J* 1995; 8:1398-1420.
3. Montemayor T, Alfageme I, Escudero C, Morera J, Sánchez Agudo L. Normativa sobre diagnóstico y tratamiento de la enfermedad obstructiva crónica. *Arch Bronconeumol* 1996; 32: 285-301.
4. Ferguson GT, Cherniack RM. Management of chronic obstructive pulmonary disease. *New Engl J Med* 1993; 328: 1017-22.
5. Figueroa Casas JC, Abbate E, Martelli NA, Mazzei JA, Raimondi G, Roncoroni AJ. Enfermedad pulmonar obstructiva crónica. Consenso argentino. *Medicina (Buenos Aires)* 1994; 54: 671-96.
6. van Schayck CP, Cloosterman SGM, Hofland ID, van Herwaarden CLA, van Weel C. How detrimental is chronic use of bronchodilators in asthma and chronic obstructive pulmonary disease? *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 151: 1317-9.
7. Gross NJ. Ipratropium bromide. *N Engl J Med* 1988; 319: 486-94.
8. Barnes PJ. Neural control of human airways in health and disease. *Am Rev Respir Dis* 1986; 134: 1289-314.
9. Du Toit JI, Woolcock AJ, Salome CM, Sundrum R, Black JL. Characteristics of bronchial hyperresponsiveness in smokers with chronic air-flow limitation. *Am Rev Respir Dis* 1986; 134: 498-501.
10. Higgins BG, Powell RM, Cooper S, Tattersfield AE. Effect of salbutamol and ipratropium bromide on airway calibre and bronchial reactivity in asthma and chronic bronchitis. *Eur Respir J* 1991; 4: 415-20.
11. Woolcock AJ, Salome CM, Yan K. The shape of the dose-response curve to histamine in asthmatic and normal subjects. *Am Rev Respir Dis* 1984; 130: 71-5.
12. Morris JF, Koski A, Johnson LC. Spirometric standards for healthy non-smoking adults. *Am Rev Respir Dis* 1971; 103: 57-67.
13. Hargreave FE, Ryan G, Thomson NC, et al. Bronchial responsiveness to histamine or methacholine in asthma; measurement and clinical significance. *J Allergy Clin Immunol* 1981; 68: 347-55.
14. Bland M, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement *Lancet* 1986; 1: 307-10.
15. O'Connor BJ, Fan Chung K, Chen-Worsdell MY, Fuller RW, Barnes PJ. Effect of inhaled furosemide and bumetanide on adenosine^{5'}-monophosphate- and sodium metabisulfite-induced bronchoconstriction in asthmatic subjects. *Am Rev Respir Dis* 1991; 143: 1329-33.
16. Moreno RH, Hogg JC, Pare PD. Mechanics of airway narrowing. *Am Rev Respir Dis* 1986; 133: 1171-1180.
17. Postma DS, Kerstjens HAM. Characteristics of airway hyperresponsiveness in asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158: S187-S192.
18. Ihre E, Larsson K. Airways responses to ipratropium bromide do not vary with time in asthmatic subjects. *Chest* 1990; 97: 46-51.
19. Magnussen H, Nowak D, Wiebicke W. Effect of inhaled ipratropium bromide on the airway response to methacholine, histamine, and exercise in patients with mild bronchial asthma. *Respiration* 1992; 59: 42-7.
20. Clarke PS, Jarrett RG, Hall GJ. The protective effect of ipratropium bromide aerosol against bronchospasm induced by hyperventilation and the inhalation of allergen, methacholine and histamine. *Ann Allergy* 1982; 48: 180-3.
21. Nair N, Twonley RG, Watt G, Schlanger S, Bewtra AK, Stekoll LH. Protection by ipratropium bromide and metaproterenol against methacholine and histamine bronchoconstriction. *Clin Allergy* 1984; 14: 11-9.

Knowledge comes, but wisdom lingers.

La ciencia viene pero la sabiduría se queda.

Alfred Tennyson (1809-1892)
Locksley Hall