

## **ПРИМЕНЕНИЕ ПОЛИВАЛЕНТНЫХ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ЛИЗАТОВ-ИСМИЖЕНА В ЛЕЧЕНИИ ХРОНИЧЕСКИХ ФАРИНГИТОВ И ФАРИНГОТРАХЕОБРОНХИТОВ**

**Эргешова А.М.**

Кыргызский государственный медицинский институт переподготовки и повышения квалификации  
кафедра специализированной хирургической помощи  
Бишкек, Кыргызская Республика

**Резюме.** В статье представлены результаты лечения 97 больных с хроническим фарингитом и с хроническим фаринготрахеобронхитом в стадии обострения. Клинические исследования позволили сделать заключение, что при применении препарата Исмижен, наблюдается стимуляция и усиление выраженности как клеточно-опосредованного, так и гуморального иммунитета.

**Ключевые слова:** поливалентные бактериальные лизаты, фарингит, фаринготрахеобронхит, исмижен.

## **ПОЛИВАЛЕНТТИК БАКТЕРИАЛЫК ЛИЗАТТАРДЫН – ИСМИЖЕНДИН – ӨНӨКӨТТӨШКӨН ФАРИНГИТТЕРДИ ЖАНА ФАРИНГОТРАХЕИТТЕРДИ ДАРЫЛООДО КОЛДОНУУСУ**

**Эргешова А.М.**

Кыргыз Мамлекеттик медициналык институт кайра дааярдоо жана квалификацияны жогорлатуу  
Хирургиялык жардамдардын специализацияларынын кафедрасы  
Бишкек, Кыргыз Республикасы

**Корутунду:** Өнөкөт фарингит жана өнөкөт фаринготрахеобронхиттин курчушу менен ооруган 97 бейтапты дарылоонун жыйын тыктарымакалада көрсөтүлгөн. Клиникалык изилдөөлөрдүн негизинде Исмижен препаратын колдонуу менен гуморалдык жана клетка аркылуу негизделген иммунитеттин чыңдалышы жана стимуляциялануу субайкалат.

**Негизги сөздөр:** поливаленттүү бактериалдуу лизаттар, фарингит, фаринготрахеобронхит, исмижен.

## **APPLICATION OF POLYVALENT BACTERIAL LYSATES - ISMIZHENA IN THE TREATMENT OF CHRONIC PHARYNGITIS AND FARINGOTRACHEOBRONHITIS**

**Ergeshova A.M.**

Department of specialized surgical care of the Kyrgyz State  
Medical Institute Retraining and Development  
Bishkek, Kyrgyz Republic

**Resume:** The article presents the results of of 97 patients with chronic pharyngitis and chronic pharyngotracheobronchitis in the acute stage. Clinical studies have led to the conclusion that the use of the drug Ismijen causes stimulation and increasing of severity of cell-mediated and humoral immunity.

**Key words:** Polyvalent bacterial lysates, pharyngitis, pharyngotracheobronchitis, Ismijen.

### **Введение**

Учитывая, основополагающую роль недостаточности и незрелости иммунитета у больных из группы часто болеющих, для профилактики и лечения у них респираторных инфекций, особые надежды возлагают на иммунореабилитационные мероприятия, в том числе на современную фармакологическую иммунокоррекцию, которая рассматривается в качестве одного из основных компонентов патогенетической терапии рецидивирующих

респираторных инфекций, а также используется для профилактики частых острых респираторных заболеваний (ОРЗ). На фоне недостаточности иммунной системы действие антибиотиков, противовирусных, противогрибковых и других химиотерапевтических средств малоэффективно, так как эти лекарственные препараты только подавляют размножение возбудителя заболевания, а конечное его выведение из организма является результатом деятельности факторов иммунитета. В связи

## ЗАБОЛЕВАНИЯ ГЛОТКИ И ГОРТАНИ

с этим в клинической практике значительное место занимают иммуномодулирующие препараты. В настоящее время широко применяются иммуномодуляторы различных видов, действующие на клетки моноцитарно-макрофагальной системы с целью активизации специфических и неспецифических факторов защиты организма. К препаратам, имеющим иммуномодулирующее действие, относятся бактериальные препараты, препараты тимуса, костного мозга, синтезированные аналоги естественных иммуномодуляторов и биологически активных субстанций (рекомбинатные интерфероны, индукторы интерфероногенеза, тимоген, ликопид и другие).

Специфическая активная иммунизация против наиболее распространенных возбудителей острых респираторных заболеваний выгодно отличается от неспецифической иммуностимуляции своей целенаправленностью и эффективностью. К сожалению, у наиболее высокоэффективного метода профилактики инфекционных заболеваний – вакцин – сегодня ограниченные возможности. Существуют вакцины против пневмококка, гемофильной палочки и др., ежегодно появляются новые вакцины против вируса гриппа, стафилококка. Но против большинства возбудителей вакцин не существует, не говоря об отсутствии поливакцин с антигенами основных возбудителей респираторных инфекций. Поэтому большое значение имеют так называемые вакциноподобные препараты,

действие которых направлено на создание специфического иммунитета против конкретного возбудителя. В связи с этим в последние годы для лечения и профилактики заболеваний у часто болеющих больных широкое применение получили иммунокорректоры бактериального происхождения, вызывающие формирование селективного иммунного ответа против конкретных возбудителей.

Бактериальные иммунопрепараты делятся на три группы:

- очищенные бактериальные лизаты;
- иммуностимулирующие мембранные фракции;
- бактериальные рибосомы в комбинации с мембранными фракциями.

Использование бактериальных лизатов или бактериальных рибосом обуславливает контакт антигенов наиболее значимых возбудителей ОРЗ с макрофагами, находящимися в слизистых респираторного и желудочно-кишечного тракта, с последующей их презентацией лимфоцитам MALT-системы (лимфоидная ткань, ассоциированная со слизистыми). В результате этого появляются коммитированные клоны В-лимфоцитов, продуцирующие специфические антитела к антигенам возбудителей, содержащихся в бактериальных иммунотропных препаратах. Кроме того, миграция коммитированных В-лимфоцитов в другие лимфоидные образования MALT-системы и последующая их дифференциация в плазмциты приводят к

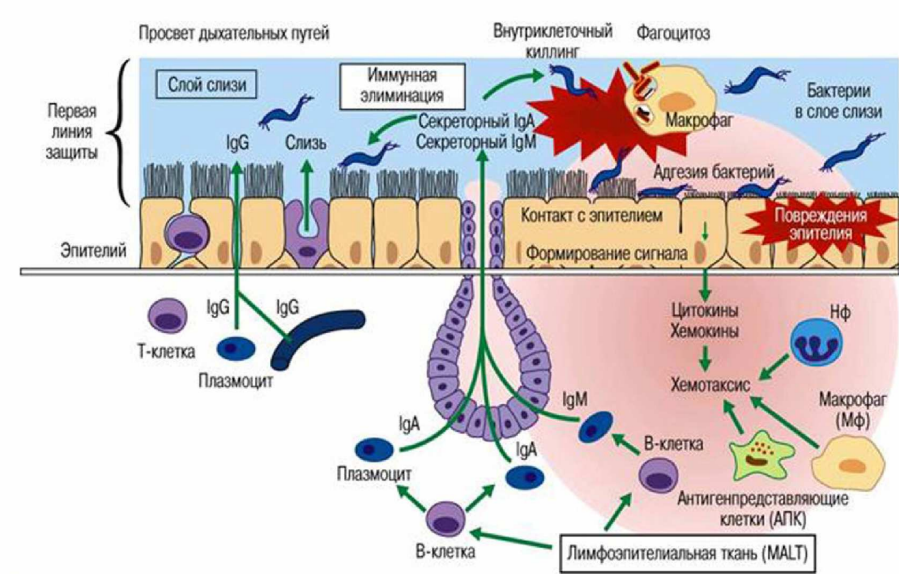


Рис. 1. Защитные механизмы слизистой оболочки

## ЗАБОЛЕВАНИЯ ГЛОТКИ И ГОРТАНИ

продукции специфического секреторного IgA и развитию эффективной местной иммунной защиты против основных возбудителей острых респираторных заболеваний (Рисунок №1).

Бактериальные иммуномодулирующие препараты предназначены для стимуляции специфической защиты организма от патогенного воздействия тех микробов, антигенные субстраты которых входят в состав препарата. Таким образом, прием бактериальных иммуностропных препаратов имеет вакциноподобное действие, сопровождаясь индукцией специфического ответа, как в системе местного, так и системного иммунитета. По современным данным, лимфоглоточное кольцо является одним из основных органов, обеспечивающих организм информацией об антигенном составе окружающего мира в постнатальный период жизни человека. Дозозависимый характер иммунного ответа верхних дыхательных путей с возможной автономной или генерализованной реакцией позволяет не только обеспечивать высокую специфическую защиту верхних дыхательных путей (ВДП) от возбудителей, но и сформировать специфический общий иммунный ответ. Теснейшее взаимодействие иммунных образований лимфоглоточного кольца дыхательных путей с подобными структурами желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) (пейеровы бляшки, аппендикс и т.д.) дает возможность выбирать различные варианты вакцинотерапии – системную или топическую.

Препараты, содержащие лизаты бактерий, способствуют профилактике инфекций носоглотки и респираторного тракта, не вызывают формирования протективного длительного иммунитета, поэтому правильнее называть

их бактериальными иммуномодуляторами. Бактериальные иммуномодуляторы создавались, как «вакцины», с целью выработки стойкого протективного иммунитета против бактерий. Возможности вакцинации *per os* изучаются с 1927 г. (А. Besredka). Большое значение в этой связи имеет изучение системы местного иммунитета слизистых, особенно синтеза и секреции иммуноглобулина А (IgA). Антиген-стимулированные клетки с поверхностным IgA попадают с циркулирующей кровью в лимфоидные органы, например, пейеровы бляшки. Развитие специфического иммунного ответа происходит при кооперации Т – и В – лимфоцитов, макрофагов или дендритных клеток. В дальнейшем специфический IgA вновь транспортируется на поверхность слизистых, препятствуя инвазии инфекционных агентов, их адсорбции, фагоцитозу и формированию иммунных комплексов. С другой стороны, активация цитотоксических Т-лимфоцитов приводит к уничтожению инфицированных клеток [1].

Бактериальные лизаты представляют собою смесь антигенов, полученных в результате инактивации патогенных бактерий различных видов. Принцип их действия основывается на усилении (стимуляции) систем защиты организма и иммунного контроля («системы наблюдения»), что обуславливает профилактику инфекций, вызванных вышеуказанными патогенами. Именно поэтому бактериальных лизатов иногда по-другому называют и «пероральными вакцинами». Поливалентные бактериальные лизаты приготавливаются с использованием различных видов бактерий, как правило – самых распространенных патогенов, вызывающих заболевания верхних и нижних дыхательных

Таблица 1.

Сравнение химически и механически обработанных поливалентных бактериальных лизатов		
Бактериальный лизат	ПХЛБ	ПМЛБ
Технология лизирования	получают при проведении химического (обработка щелочными веществами) лизиса клеток	получают при проведении механического (обработка высоким давлением пара) лизиса клеток
Окраска методом Грамма	выявляется аморфная субстанция	ясно выявляются бактериальные частицы
Потенциал иммуногенности	происходит денатурация белков – иммуногенность уменьшается	корпускулярные антигены сохранены - характеризуются высокой иммуногенностью

путей. В частности, каждый бактериальный штамм отдельно выращивается на специальной питательной среде; после сбора и инактивации бактерий производят их лизис с целью получения антигенных структур. Лизис бактерий технологически производится с использованием механического или химического метода лизирования. Именно с учетом использованной методологии клеточного лизирования все бактериальные лизаты подразделяются на 2 основные группы: поливалентные химически лизированные бактерии (ПХЛБ) и поливалентные механически лизированные бактерии (ПМЛБ) (Таблица 1).

Тогда как ПХЛБ получают на основании химического лизиса (обработка щелочными веществами) бактериальных клеток, что в свою очередь обуславливает денатурацию клеточных белков, технология производства ПМЛБ подразумевает механический лизис бактерий под воздействием высокого давления с сохранением наличия корпускулярных антигенов.

После лиофилизации полученные различные бактериальные лизаты смешиваются фиксированной пропорцией друг с другом и расфасовываются в конечную лекарственную форму (таблетка, капсула, порошок).

Исмижен в лечении хронических фарингитов и фарингобронхитов

Иммуномодулятором (иммуностимулятором) бактериального происхождения нового поколения с поливалентным, синергетическим действием является препарат - Исмижен. В состав препарата входит полученный на основании механического лизиса бактерий (чаще всего вызывающих острые и хронические инфекции респираторной системы) очищенный лиофилизированный экстракт. Препарат представляет антигенную смесь следующих механически лизированных микроорганизмов (6 миллиардов для каждого вида): *Streptococci pneumoniae* (серотипы 1, 2, 3, 5, 8, 47), *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella ozaenae*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus viridans*, *Streptococcus pyogenes*, *Neisseria catarrhalis*. Оригинальность Исмижена, как классического представителя ПМЛБ, состоит также и в правиле его применения, как лекарственного средства. А именно, препарат выпускается в виде сублингвальных (подъязычных) таблеток, рассасывающихся в ротовой полости. Указанный путь применения

препарата обеспечивает максимальный, непосредственный контакт входящих в состав бактериального лизата антигенов с иммунocyтaми ротовой полости и глотки, что в свою очередь обуславливает активацию локальной, региональной иммунной системы. Сублингвальный метод приема препарата также обеспечивает лучший контроль иммунной системы на всем протяжении слизистого барьера, так как циркулирующие клетки памяти иммунной системы в процессе циркуляции избирательно возвращаются в места их первичного контакта с антигенами. Эксклюзивная технология производства Исмижена, как оригинального препарата, разработана фармацевтической компанией "Lallemant PHARMA" (Швейцария) и предусматривает следующие основные этапы:

*-Селекция входящих в состав препарата микроорганизмов из клеточного банка патогенных бактерий и их прекультивация;*

*-Перенос прекультивированных бактерий в ферментатор, содержащий воду и разные питательные среды, с целью последующего роста и размножения бактериальных культур (период ферментации для каждой культуры составляет 3 недели; в целом для 13 штаммов – 39 недель);*

*-Последующая инактивация патогенов (в условиях температуры 100°C □);*

*-Получение «чистой» бактериальной биомассы на основании высокоскоростного центрифугирования;*

*-Обработка (согласно оригинальной технологии) бактериальной биомассы с помощью высокого давления с последующим пропуском через атмосферное давление (в итоге получают бактериальные антигены с сохраненной структурой);*

*-Сублимация, проводимая на фоне добавления глицина, что обеспечивает вследствие испарения процесс лиофилизации и получение сухого порошка;*

*-Последним этапом получения активной субстанции является смешивание (блендинг) всех используемых штаммов с целью стандартизации активного ингредиента и придание лиофилизированной массе лекарственной формы (сублингвальной таблетки).*

Воздействие перорально применяемого бактериального лизата на иммунную систему макроорганизма опосредуется

через лимфооточное кольцо Пирогова и подобные структуры ЖКТ (пейеровы бляшки, аппендикс и т.д.). На фоне иммуностимуляции Исмиженом достоверно уменьшается частота, тяжесть, длительность течения бактериальных инфекций дыхательных путей, а также надобность применения лекарственных средств (в первую очередь – антибиотиков). С целью установления основных принципов клинической эффективности Исмижена были изучены механизмы его действия с использованием *in vivo* и *in vitro* методов исследования. Согласно данным проведенных исследований, механизм действия данного препарата подразумевает стимуляцию как специфического, так и неспецифического иммунного ответа. Как известно, основным предназначением иммунной системы является предотвращение инвазии патогена (иммунный контроль), а в случае неэффективности последнего – воспроизведение иммунного ответа против внедрившегося патогена. При таком раскладе сил различают два вида иммунного ответа: системный иммунный ответ, опосредуемый циркулирующими иммуноцитами и местный иммунный ответ (защита слизистых оболочек, что в основном опосредуется т.н. секреторными иммуноглобулинами (S-IgA), которые продуцируются самими-же слизистыми оболочками и представляют первичный иммунный барьер для патогенов). Таким образом, локальная иммунизация (оральная, сублингвальная или интраназальная) обуславливает секрецию антиген-специфических иммуноглобулинов в месте аппликации и тем самым, усиливает локальную иммунную защиту. Под воздействием Исмижена в первую очередь происходит активация процессов созревания дендритных клеток, а также нарастание экспрессии расположенных на их мембранах стимулирующих молекул CD 80, CD 83 и CD 86 [2]. Дендритные клетки занимают особое место в иммунном ответе обладая свойством антиген - презентующих клеток и фактически являются связывающим звеном между специфическим и неспецифическим иммунным ответом. Дендритными клетками фагоцитируются бактериальные агенты, которые транспортируются в региональные лимфоузлы, где и происходит презентация специфических антигенов активированным лимфоцитам и фагоцитам. Препарат способен инициировать продукцию антиген - специфических антител посредством активации

процессов дифференциации В – лимфоцитов. Например, в результате проведенного клинического исследования было выявлено, что при применении Исмижена наблюдалось нарастание продукции антиген - специфических секреторных иммуноглобулинов (S-IgA) слизистой оболочкой на месте аппликации препарата [3].

### Материал и методы

В клинике оториноларингологии, хирургии головы и шеи Национального Госпиталя при МЗКР проведено обследование и лечение 97 амбулаторных пациентов, страдающих с хроническим фарингитом и хроническим фаринготрахеобронхитом, в возрасте от 18 до 70 лет. Мужчин было 55, женщин - 42. Из них 67 больных с обострением хронического фарингита и 30 больных с обострением хронического фаринготрахеобронхита. Подавляющее большинство больных беспокоили чувство саднения и першения, боли при глотании, сухая кашель не приносящая облегчения. Все вышеперечисленные жалобы повторялись после каждого перенесенного ОРВИ. Больные до обращения в лор-клинику получали курс антибактериальной и патогенетической терапии, порою не однократно. Пациенты с фаринготрахеобронхитом в стадии обострения помимо вышеуказанной терапии дополнительно получали и кортикостероидную терапию.

Терапия в нашем исполнении сводилась в применении препарата исмижена сублингвально. Больным после вирусных заболеваний дыхательных путей параллельно применяли и курс антигистаминной терапии.

### Клинические исследования и результаты лечения

Сравнивался эффект действия сублингвального Исмижена у пациентов инфекциями ВДП. У больных длительность лечения составляла 3 месяца, 10 первых дней каждого месяца по 1 таблетке 1 раз в сутки утром натощак. После 10 дневного приема препарата по инструкции, больные отмечали положительную динамику. Согласно результатам проведенного исследования, частота обострения инфекций ВДП достоверно уменьшалась у больных применявших Исмижен. Эта положительная динамика сохранялась не только в период лечения, но и спустя 3 месяца после окончания курса лечения. Более того, показатели длительности течения обостренных эпизодов,

как и показатели пропуска рабочих дней, были достоверно ниже. Аналогично, у этих больных достоверно снижалась и потребность проведения антибиотикотерапии. Но двух случаях наша терапия оказалась не эффективной. Мы считаем, что в данных случаях антигенные субстраты микробов (лизаты) не входят в состав препарата.

По данным *Boris et al.* на фоне лечения Исмиженом достоверно уменьшалась в течение года частота повторения инфекционных эпизодов у 330 пациентов, снижалась потребность применения антибиотиков. Схожие данные были получены и при обследовании детской популяции. А именно, было произведено сравнительное исследование 120 детей (в возрасте 4-9 лет), которые были привержены к обострению оториноларингологических инфекций ВДП в зимний период года. И в этом исследовании результаты сублингвального применения сравнивались с данными, полученными при лечении пероральным ПХЛБ. Клиническая и превентивная эффективность поливалентных вакцин оценивалась на основе пропорциональных количественных показателей тех детей, у которых не наблюдалось наличие эпизодов обострения инфекции в период лечения и в течение последующих 5 месяцев. Согласно результатам проведенного исследования, данный препарат был значительно эффективен ( $P \leq 0.016$ ) по сравнению с ПХЛБ в превенции рекуррентных инфекций ВДП в течение обеих периодов наблюдения, а также было выявлено, что на фоне лечения Исмиженом достоверно уменьшалась частота повторения инфекционных эпизодов, количество пропусков школьных дней, снижалась потребность применения антибиотиков и антипиретиков [4].

Эффективность превентивного действия препарата была продемонстрирована в одном рандомизированном, плацебо-контролируемом исследовании 180 детей в возрасте от 5 до 10 лет, болеющих рекуррентными инфекциями [5]. Проведенное исследование показало значительное уменьшение у детей леченных Исмиженом средних показателей респираторных инфекций (на 54%) и дней пропуска школы (на 49.7%) по сравнению с детьми контрольной группы. Также было выявлено снижение в потребности параллельно применяемых антибиотиков (48%-ое снижение «антибиотико-дней») на фоне лечения.

В другом, рандомизированном, плацебо-

контролируемом исследовании, проведенном с применением двойного слепого метода, было выявлено значительное улучшение иммунного статуса больных, применявших Исмижен, что выражалось в достоверно значительном увеличении концентраций сывороточных иммуноглобулинов и слюнного секреторного иммуноглобулина класса А по сравнению с плацебо-группой [6]. Вышеуказанная иммуностимуляция на фоне лечения ассоциировалась с уменьшением частоты инфекционных эпизодов и длительности их течения.

Клинически очень важную сферу применения поливалентных бактериальных лизатов и соответственно – Исмижена представляют собою хронические заболевания легких и в особенности хроническое обструктивное заболевание легких (ХОЗЛ), являющееся значимой терапевтической дилеммой для современной пульмонологии. Исследование, проведенное, в этом направлении выявило выраженную фармакологическую эффективность в деле профилактики обострения ХОЗЛу больных хроническим бронхитом. **Аналогичные результаты были получены и другими авторами [7,8,9].** Согласно данным указанного исследования, добавление препарата к комплексному курсу лечения ассоциировалось с 20%-ным урежением частоты обострения ХОЗЛ в течение года, а также отмечалось снижение количества таких обострений, которые требовали применения пероральных кортикостероидов и антибиотиков; также было выявлено снижение показателей вынужденных госпитализаций.

Действие препарата является совокупным действием его компонентов, поэтому проведение кинетических исследований не представляется возможным.

Суммируя данные разных вышеупомянутых исследований можно заключить, что при применении препарата Исмижен наблюдается стимуляция и усиление выраженности как клеточно-опосредованного, так и гуморального иммунитета. А именно:

-Активируются процессы созревания и дифференциации дендритных клеток, что в основном обусловлено усиленной секрецией интерлейкина-4 циркулирующими моноцитами (Lanzilli, 2005), а также нарастанием экспрессии расположенных на их мембранах стимулирующих молекул CD 80, CD 83 и CD 86 (Mellioli,

2005; Canonica 2010);

-Стимулируется выработка и секреция интерлейкина-1 и простагландина E2 альвеолярными макрофагами;

-Активируются на альвеолярных макрофагах рецепторы для интерлейкина-2;

-Возрастает активность макрофагов против инфекционных агентов;

-Стимулируется синтез цитокинов (IL - 2, IL - 10, IL - 12, IFN -  $\gamma$  и TNF- $\alpha$ ) (Canonica 2010);

-Активируются цитотоксические лимфоциты (NK - клетки);

-Уменьшается количество супрессорных лимфоцитов (CD8+ - клетки) и возрастает показатель иммунорегуляторного индекса (соотношение CD4+/CD8+ - клеток);

-Возрастает количество клеток имеющих рецепторы для интерлейкина-2 (CD 25+ - клетки) а также показатель соотношения CD24+CD27+ - клеток (активированные В - лимфоциты) (Lanzilli, 2006);

-Возрастает концентрация сывороточных IgA, IgG и IgM, а также концентрация секреторных (слюна, слизистый и бронхиальный секрет) IgA антител.

Обобщая изложенное выше, можно подчеркнуть, что применение иммуномодуляторов вакцинного типа (бактериальных лизатов), в частности препарата Исмижен, имеет выраженный лечебный и профилактический эффект, что позволяет рекомендовать его к более широкому использованию в лор практике в амбулаторных и стационарных условиях.

### **Литература:**

1. Maul J. *Stimulation of immunoprotective mechanisms by OM-85 BV. Respiration, 1994, N 61 (Suppl. 1), P.8-15.*

2. Braido F, Villa E, Schenone G, Canonica GW and Melioli G, *A good clinical outcome therapy with a polyvalent mechanical bacterial lysate (PMBL) correlates with the capacity of inducing a specific locoregional immunoresponse in patients with recurrent upper respiratory tract infection, XXVII Congress of the European Academy of Allergology and Clinical Immunology, 2008.*

3. Fuggetta MP and Lanzilli G, *Attivazione ed elicitorie delle difese immunitarie mediante l'uso di batteri vivi, EurRespir News 15: pp69-77, 2007.*

4. La Mantia I, Nicolosi F, Maiolino L and Serra A, *Immunoprophylaxis of recurring bacterial infections of respiratory tracts in pediatric age: clinical experience through a new immune stimulating vaccine (It), GIMMOC, Quaderni di Microbiologia e Clinica XI: pp1-8, 2007.*

5. Aksic OT, Cattaneo L and Rosaschino F, *Evaluation of the clinical efficacy of a new polyvalent bacterial lysate obtained by mechanical lysis (PMBL) in a population of 180 school-aged children with recurrent respiratory infections, European Journal of Aerobiology Environmental Medicine and Air-borne Infections 1: p1, 2005.*

6. Villa E, Garelli V, Braido F, Melioli G and Canonica GW, *May we strengthen the human natural defenses with bacterial lysates. World Allergy Organization Journal 3(8): ppS17-S23, 2010.*

7. Tricarico D, Varricchio A, D'Ambrosio S, Ascione E and Motta G, *Prevention of recurrent upper respiratory tract infections in a community of cloistered nuns using a new immunostimulating bacterial lysate: a randomized, double-blind clinical trial, Arzneimittelforschung 54: pp57-63, 2004.*

8. Cazzola M, *A new bacterial lysate protects by reducing infectious exacerbations in moderate to very severe COPD: a double-blind, randomized, placebo controlled trial, Trends in Med 6: pp191-199, 2006;*

9. Cazzola M, Noschese P and Di Perna F, *Value of adding a polyvalent mechanical bacterial lysate to therapy of COPD patients under regular treatment with salmeterol / fluticasone, Therapeutics Advances in Respiratory Diseases 3(2): pp59-63, 2009.*