Β' ΠΑΙΔΙΑΤΡΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΑΘΗΝΩΝ

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

ΔΙΕΥΘΥΝΤΡΙΑ: ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ ΧΡ.ΤΖΟΥΜΑΚΑ-ΜΠΑΚΟΥΛΑ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ

ΚΛΙΝΙΚΗΣ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ – ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗΣ

&

ΜΟΝΑΔΑ ΑΛΛΕΡΓΙΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΚΛΙΝΙΚΗΣ ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΑΣ

ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΛΕΥΚΟΤΡΙΕΝΙΩΝ ΣΤΑ ΟΥΡΑ ΠΑΙΔΙΩΝ ΜΕ ΣΥΡΙΤΤΟΥΣΑ ΑΝΑΠΝΟΗ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΛΟΙΜΩΞΗ (ΦΑΙΝΟΤΥΠΟ ΛΟΙΜΩΔΟΥΣ ΑΣΘΜΑΤΟΣ) ΜΕ Η ΧΩΡΙΣ ΑΤΟΠΙΑ.

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΜΑΡΜΑΡΙΝΟΣ ΑΝΤΩΝΙΟΣ

ΒΙΟΛΟΓΟΣ

ΑΘΗΝΑ 2013

Ημερομηνία αίτησης: 06-12-2002

Ημερομηνία ορισμού τριμελούς επιτροπής: 06-12-2003

Τα μέλη της τριμελούς επιτροπής:

Α.Κωνσταντόπουλος	Καθηγητής
Φ. Παπαγεωργιου	Αναπλ. Καθηγήτρια- Επιβλέπον μέλος
Δ. Γουργιώτης	Καθηγητής

Ημερομηνία ορισμού θέματος: 24-04-2003

Ημερομηνία κατάθεσης διδακτορικής διατριβής: 01-02-2013

Πρόεδρος Ιατρικής Σχολής : Καθ. Α. Δημόπουλος

Τα μέλη της επταμελούς εξεταστικής επιτροπής:

Α.Κωνσταντόπουλος	Καθηγητής
Φ. Παπαγεωργιου	Αναπλ. Καθηγήτρια
Δ. Γουργιώτης	Καθηγητής
Χ.Τζουμάκα-Μπακούλα	Καθηγήτρια
Μ.Τσολιά	Αναπλ.Καθηγήτρια
Α.Γαρούφη	Ανάπλ.Καθηγήτρια
Κ.Πρίφτης	Επίκ.Καθηγητής

«Η έγκριση διδακτορικής διατριβής υπό της Ιατρικής Σχολής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών δεν υποδηλώνει την αποδοχή των γνωμών του συγγραφέως» (Νόμος 5343/1932, άρθρο 202, παρ.2)

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Το άσθμα είναι χρόνια φλεγμονώδης νόσος των αεροφόρων οδών με εξάρσεις και υφέσεις, του οποίου το 70% αρχίζει στην προσχολική ηλικία. Υπάρχουν σαφείς ενδείξεις ότι μπορεί να παραμείνει στην ενήλικο ζωή και να προκαλέσει μόνιμη βλάβη στην πνευμονική λειτουργία. Γι' αυτό το λόγο η έγκαιρη έναρξη μακροχρόνιας θεραπείας με αντιφλεγμονώδη φάρμακα, συμπεριλαμβανομένων και των αντιλευκοτριενίων, συνίσταται από τις πιο πρόσφατες διεθνείς ομοφωνίες.

Σκοπός της προτεινόμενης μελέτης είναι ο προσδιορισμός των κυστεϊνιλικών λευκοτριενίων (LTE_4) στα ούρα σε παιδιά προσχολικής ηλικίας με υποτροπιάζοντα επεισόδια συρίττουσας αναπνοής μετά από λοιμώξεις του ανώτερου αναπνευστικού (φαινότυπος λοιμώδους άσθματος) με η χωρίς ατοπική προδιάθεση.

Αναμενόμενα Αποτελέσματα/Δευτερογενή Οφέλη:

Το πρωτεύον αποτέλεσμα είναι η αξιολόγηση της συμπεριφοράς του κυστεϊνιλικού λευκοτριενίου Ε4 (LTE4) στο φαινότυπο του λοιμώδους άσθματος με ή χωρίς ατοπία.

Τα δευτερογενή οφέλη που προκύπτουν είναι η εκτίμηση του ρόλου της ατοπίας (IgE-μεσολαβούμενοι μηχανισμοί) και η αξιολόγηση του LTE4 ως φλεγμονώδης δείκτης στην έγκαιρη διάγνωση επικείμενης έξαρσης και στην πρόβλεψη απάντησης στα διάφορα αντιφλεγμονώδη φάρμακα.

Η διατριβή εκπονήθηκε στο σύνολο της στα εργαστήρια Κλινικής Βιοχημείας Μοριακής Διαγνωστικής της Β΄ Παιδιατρικής Κλινικής του Πανεπιστημίου Αθηνών υπό την επίβλεψη του Αναπληρωτή Καθηγητή Δ. Γουργιώτη.

Για τη συμβολή τους στην εκπόνηση της διατριβής αυτής θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα:

Την Καθηγήτρια κα Χρύσα Τζουμάκα-Μπακούλα, Διευθύντρια της Β΄ ΠΠΚ, για την συμβολή της στην ολοκλήρωση της μελέτης.

Τον ομότιμο καθηγητή κ. Ανδρέα Κωνσταντόπουλο, Διευθυντή της Β'ΠΠΚ, που μου υπέδειξε και μου ανέθεσε τη παρούσα διατριβή.

Τον ομότιμο Καθηγητή κ. Δημήτρη Καφετζή, Διευθυντή της Β'ΠΠΚ, για την υποστήριξη του σε όλο το διάστημα που ήταν διευθυντής της Κλινικής.

Την επιβλέπουσα της 3μελούς επιτροπής της διδακτορικής μου διατριβής, Διευθύντρια της Μονάδας Αλλεργιολογίας και Κλινικής Ανοσολογίας του νοσοκομείου, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια κα Φωτεινή Σαξώνη Παπαγεωργίου για το σχεδιασμό της μελέτης και τη συμβολή στην ανάλυση των αποτελεσμλατων. Με την πολύτιμη εμπειρία της και τις εξειδικευμένες γνώσεις συνέβαλλε καθοριστικά στην ολοκλήρωση της μελέτης.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες οφείλω στον συνεπιβλέποντα Αναπληρωτή Καθηγητή και υπεύθυνο του Εργαστηρίου Κλινικής Βιοχημείας - Μοριακής Διαγνωστικής της Β΄ΠΠΚ κ. Δ. Γουργιώτη, ο οποίος υπήρξε πραγματικός δάσκαλος, για την ανάθεση της διατριβής, για τη συνεχή και αδιάλειπτη παρουσία του όλα αυτά τα χρόνια και για την εμπιστοσύνη και συμπαράστασή του σε όλα τα στάδια εκπόνησης της διατριβής αυτής.

Τον αναπληρωτή καθηγητή και υπεύθυνο της Μονάδας Αλλεργιολογίας και Κλινικής Ανοσολογίας του νοσοκομείου κ. Νικόλαο Παπαδόπουλο και το διευθυντή του ΕΣΥ κο Μανώλη Μανουσάκη για την βοήθεια του πάνω στο κλινικό κομμάτι της μελέτης.

Το Διευθυντή της Α' Χειρουργικής του Νοσοκομείου κ. Γεώργιο Πετούση και το Διευθυντή της Β' Χειρουργικής κ. Αλέξανδρο Πασσαλίδη, για τη συμβολή τους στη συλλογή του υλικού της μελέτης.

Τον επίκουρο καθηγητή κ. Δημήτρη Κασίμο, για τη πολύτιμη βοήθεια στη συλλογή δειγμάτων βρογχιολίτιδας.

Τον ιατρό κ. Χαράλαμπο Τσεντίδη για τη σημαντική βοήθεια του στην στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων της διατριβής.

Τον επίκουρο καθηγητή κ.Πέτρο Κουκουτσάκη για τις πολύτιμες συμβουλές του.

Τους συνερευνητές και φίλους του εργαστηρίου Κλινικής Βιοχημείας - Μοριακής Διαγνωστικής, Παιδίατρο Βενετία-Μαρία Βράιλα, ιατρό Λαμπρινή Σταμάτη, και τους βιολόγους Μαρέλα Παλατιανού, Μαρία Κωνσταντίνου, Δέσποινα Πιατοπούλου και Μαριέττα Ξαγοράρη, για την αμέριστη βοήθεια τους όπου και όταν αυτή χρειάστηκε.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Βιογραφικό Σημείωμα 8
Συντομογραφίες 23
Α. Γενικό Μέρος 25
Εισαγωγή 26
1. ΆΣΘΜΑ 28
1.1. Ορισμός και Αξιολόγηση 28
1.2. Αιτίες Άσθματος 29
1.2.1. Περιβαλλοντολογικοί Παράγοντες και Άσθμα στα Βρέφη/Παιδιά 31
1.2.2. Γενετικοί Παράγοντες 33
1.2.3. Αλληλεπίδραση Περιβάλλοντος- Γονιδίων 33
1.2.4. Η Υπόθεση της Υγιεινής 34
1.3. Διάγνωση του Άσθματος 34
1.4. Η Θεραπεία του Άσθματος 37
1.4.1. Φάρμακα Ταχείας Δράσης 37
1.4.2. Φάρμακα Μακροπρόθεσμου Ελέγχου 37
1.4.3. Τρόποι Χορήγησης 38
1.4.4. Ασφάλεια και Αρνητικές Επιπτώσεις 38
2. ΛΕΥΚΟΤΡΙΕΝΙΑ 39
2.1. Ονομασία Τύποι και Κατασκευή 39
2.2. Σύνθεση των λευκοτριενίων μέσω της λιποξυγενάσης 40
3. Ο Ρόλος των Αντιλευκοτριενίων στην Αντιμετώπιση του
άσθματος 42
3.1. Τρόποι Μείωσης των Επιπτώσεων από Τα Λευκοτριένια 45
3.2. Ο ρόλος των λευκοτριενίων στο άσθμα 45
3.3. Η φαρμακογενετική οδός των Λευκοτριενίων 46
3.4. Επιδράσεις των λευκοτριενίων στην αναδιαμόρφωση των αεραγωγών 47
3.5. Ο ρόλος των λευκοτριενίων στο ασκησιογενές άσθμα (ΑΑ) 48
4. ΛΕΥΚΟΤΡΙΕΝΙΑ Ε4 (LTE4) 49
4.1. Το Λευκοτριένιο LTE4 ως Βιοδείκτης Άσθματος 50

5. ΦΑΙΝΟΤΥΠΟΙ ΠΑΙΔΙΚΟΥ ΑΣΘΜΑΤΟΣ 53
5.1. Καθοριστικα Στοιχεία Φαινοτύπου 53
6. ΥΠΟΘΕΣΗ-ΣΚΟΠΟΣ-ΟΦΕΛΟΣ 58
Β. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ 59
7. ΥΛΙΚΑ-ΟΡΓΑΝΑ-ΜΕΘΟΔΟΙ 60
7.1. Ασθενείς / Υλικά 60
7.1.1. Συλλογή και Αποθήκευση Δειγμάτων 61
7.2. Όργανα 62
7.3. Μέθοδοι 62
7.3.1. Προσδιορισμός Λευκοτριενίων με Ανοσοενζυμική Μέθοδο 62
7.3.2.Ποσοτικός προσδιορισμός της συγκέντρωσης της Κρεατινίνης στα ούρα με τη μέθοδο Jaffe 68
7.3.3. Δερματική Δοκιμασία Νυγμού (Prick Test) 69
7.3.4. Προσδιορισμός της Ολικής και Ειδικής IgE με τη μέθοδο Pharmacia CAP FEIA 69
7.3.5. Στατιστική Μεθοδολογία 70
8. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ 71
8.1. Σύγκριση Ασθενών με Μάρτυρες 71
8.1.1. Συσχέτιση Μαρτύρων και Ασθενών σε Έξαρση 71
8.1.2. Συσχέτιση Μαρτύρων και Ασθενών σε Ύφεση 72
8.1.3. Συσχέτιση Ασθενών σε Έξαρση και Ασθενών σε Ύφεση 73
8.2. Σύγκριση Ατοπικών Ασθενών με Μάρτυρες 74
8.2.1. Συσχέτιση Ατοπικών σε Ύφεση και Μαρτύρων 74
8.2.2. Συσχέτιση Ατοπικών σε ‘Εξαρση και Μαρτύρων 75
8.2.3. Συσχέτιση Μεταξύ Ατοπικών σε Έξαρση και Ατοπικών σε ‘Υφεση 76
8.3. Σύγκριση Μη Ατοπικών Ασθενών με Μάρτυρες 77
8.3.1. Συσχέτιση μη Ατοπικών σε Έξαρση και Μαρτύρων 77
8.3.2. Συσχέτιση μη Ατοπικών σε Ύφεση και Μαρτύρων. 78
8.4. Σύγκριση Μη Ατοπικών Ασθενών με Ατοπικών Ασθενών 79
8.4.1. Συσχέτιση μεταξύ Ατοπικών σε Έξαρση και μη Ατοπικών σε Έξαρση 79
8.4.2. Συσχέτιση μεταξύ Ατοπικών σε Ύφεση και μη Ατοπικών σε Ύφεση 80

8.5. Σύγκριση των Ασθενών με Ζεύγη Δειγμάτων με τους Μάρτυρες 81
8.5.1. Συσχέτιση Μαρτύρων και Ασθενών σε Έξαρση στα Ζευγάρια 81
8.5.2. Συσχέτιση Μαρτύρων και Ασθενών σε Ύφεση στα Ζευγάρια 82
8.5.3. Συσχέτιση Ασθενών σε Έξαρση στα Ζεύγη και Ασθενών σε Ύφεση στα Ζεύγη 83
8.5.4. Συσχέτιση Έξαρσης και Ύφεσης στα ζεύγη ανάλογα με το φύλο. 84
8.6. Κινιτική Μελέτη στους Ασθενείς με Ζεύγη Δειγμάτων 85
8.7. Σύγκριση της Ολικής IgE των Ατοπικών Ασθενών με τους Μάρτυρες 87
8.7.1. Συσχέτιση IgE μαρτύρων και IgE Ατοπικών σε Έξαρση 87
8.7.2. Συσχέτιση IgE μαρτύρων και IgE Ατοπικών σε Ύφεση 88
8.7.3. Συσχέτιση IgE Ατοπικών σε Έξαρση και IgE Ατοπικών σε Ύφεση 89
8.8. Σύγκριση της Ολικής IgE των Μη Ατοπικών Ασθενών με τους Μάρτυρες 90
8.8.1. Συσχέτιση IgE μαρτύρων και IgE Μη Ατοπικών σε Έξαρση 90
8.8.2. Συσχέτιση IgE μαρτύρων και IgE Μη Ατοπικών σε Ύφεση 91
8.8.3. Συσχέτιση IgE Μη Ατοπικών σε Έξαρση και IgE Μη Ατοπικών σε Ύφεση 91
8.9. Σύγκριση των Επιπέδων του U-LTE4 σε Βρέφη με Έξαρση Βρογχιολίτιδας και σε ασθενείς με Έξαρση Άσθματος με τους Μάρτυρες 92
9. ΣΥΖΗΤΗΣΗ 93
ΠΕΡΙΛΗΨΗ 97
ABSTRACT 99
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ 101
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ – ΠΙΝΑΚΕΣ ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗΣ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗΣ 119

ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

Ονοματεπώνυμο: Αντώνιος Σ. Μαρμαρινός
Όνομα Πατρός: Σπυρίδων
Όνομα Μητρός: Σταματία-Νίνα
Ημερομηνία Γέννησης: 26 Νοεμβρίου 1977
Τόπος Γέννησης: Γιοχάνεσμπουργκ, Νότιος Αφρική
Διεύθυνση Κατοικίας: Γρεβενών 36, Χολαργός
Τηλέφωνο: 210-6514369 & 6945086707

ΠΟΡΕΙΑ ΣΠΟΥΔΩΝ

1997-1998: Εισαγωγή στο Πανεπιστήμιο του St-Andrews στη Σκωτία.

Ιούνιος 2001: Απόκτηση διπλού πτυχίου ανωτάτης εκπαίδευσης (**Bachelor of Science with Honors BSc(Honors))** στην Υδροβιολογία και Περιβαλλοντολογία (Marine and Environmental Biology) από το Πανεπιστήμιο του St-Andrews της Σκωτίας.

Αύγουστος 2002: Απόκτηση μεταπτυχιακού διπλώματος (**Master of Science MSc.**) στη Μοριακή Βιολογία (Molecular Biology) από το Πανεπιστήμιο Swansea της Ουαλίας.

Σεπτέμβριος 2002: Έναρξη εκπαίδευσης στο Εργαστήριο Κλινικής Βιοχημείας και Μοριακής Διαγνωστικής της Β΄Παιδιατρικής Κλινικής του Πανεπιστημίου Αθηνών.

Ιούνιος 2003: Έναρξη **Διδακτορικής Διατριβής PhD** στο Εργαστήριο Κλινικής Βιοχημείας και Μοριακής Διαγνωστικής της Β΄ Πανεπιστημιακής Παιδιατρικής Κλινικής του Πανεπιστημίου Αθηνών με Θέμα «Προσδιορισμός Λευκοτριενίων στα Ούρα Παιδιών με Συρίττουσα Αναπνοή Μετά από Λοίμωξη (Φαινότυπο Λοιμώδους Άσθματος) με ή Χωρίς Ατοπία».

ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΓΝΩΣΕΙΣ

Άρτια γνώση ηλεκτρονικών υπολογιστών καθώς και στατιστικών εργαλείων όπως το SPSS, BIOSTAT.

Γενικές γνώσεις συντήρησης εργαστηριού καθώς και ποικίλες εργαστηριακές τεχνικές όπως: τεχνικές χρωματογραφίας, αέρια χρωματογραφία, HPLC, RNA extraction, Western Blotting, καλλιέργεια και απομόνωση λεμφοκυττάρων, τεχνικές απομόνωσης, χαρακτηρισμού και ανάλυσης νουκλεϊνικών οξέων, τεχνικές αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR, Multiplex PCR, RT-PCR, Quantitative PCR) καθώς και τεχνικές ELISA, RIA και IRMA.

ΕΜΠΕΙΡΙΑ

1998: Πιστοποιητικό διαχείρισης ραδιενεργών υλών από το Πανεπιστήμιο του St-Andrews.

2000-2001: Επιστημονικός συνεργάτης και ερευνητής στο Εθνικό Κέντρο Θαλασσίων Ερευνών (ΕΚΘΕ), σε θέματα σχετικά με τη μέτρηση και στατιστική ανάλυση της βιοπανίδας στις μυδοκαλλιέργειες του Θερμαϊκού καθώς και το συσχετισμό με τα επίπεδα μόλυνσης των υδάτων.

2002-2004: Επιστημονικός συνεργάτης και ερευνητής στο Εργαστήριο Κλινικής Βιοχημείας και Μοριακής Διαγνωστικής της Β΄Παιδιατρικής Κλινικής του Πανεπιστημίου Αθηνών.

2005-2007: Θέση συνερευνητή στο επιδοτούμενο Ευρωπαϊκό πρόγραμμα **Πυθαγόρας ΙΙ**, με τίτλο «Ανάλυση Έκφρασης και Μελέτη του Νέου, Σχετιζόμενου με την Απόπτωση, Γονιδίου BCL2L12, στη Λευχαιμία. Ένας Νέος Μοριακός Δείκτης Ανταπόκρισης στη Χημειοθεραπεία».

2008-2009: Εκπλήρωση της στρατιωτικής θητείας στο σώμα του Υγειονομικού, με την ειδικότητα «Βοηθός Μικροβιολόγου Βιοχημικού».

2009-Σήμερα: Επιστημονικός συνεργάτης και ερευνητής στο Εργαστήριο Κλινικής Βιοχημείας και Μοριακής Διαγνωστικής της Β΄Παιδιατρικής Κλινικής του Πανεπιστημίου Αθηνών.

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΥΜΕΝΑ ΑΡΘΡΑ ΣΕ ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΑ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΑ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ (μετά από κρίση) :

1. Kafalidis G, Boutsikou T, Briana DD, Boutsikou M, Marmarinos A, Baka S, Hassiakos D, Gourgiotis D, Malamitsi-Puchner A.
   Adipokines vaspin and omentin-1 are up-regulated in large for gestational age infants at term.
   «Cytokine» Under Revision (2012)»

2. Briana, D.D., Liosi, S., Gourgiotis, D.,Boutsikou, M., Marmarinos, A., Baka, S., Hassiakos, D.,Malamitsi-Puchner, A.
   Fetal concentrations of the growth factors TGF-α and TGF-β1 in relation to normal and restricted fetal growth at term
   Cytokine. 2012 Oct;60(1):157-61

3. Kossiva, Lydia; Gourgiotis, Dimitris; Douna, Varvara; Marmarinos, Antonios; Sdogou, Triantafyllia; Tsentidis, Charalampos.
   Composite Bacterial Infection Index in the evaluation of bacterial versus viral infections in children. A single centre study.
   Clinical Microbiology and Infection, Post Acceptance 01-Jun-2012

4. Papapostolou, Thalis; Briana, Despina D; Boutsikou, Maria; Iavazzo, C.; Puchner, Karl-Phillip; Gourgiotis, Demetrios; Marmarinos, Antonios; Malamitsi-Puchner, Ariadne.
   Midtrimester amniotic fluid concentrations of angiogenic factors in relation to maternal, gestational and neonatal characteristics in normal pregnancies.
   J Matern Fetal Neonatal Med. 2013 Jan;26(1):75-8

5. Briana Despoina; Liosi S ;Gourgiotis Dimitrios; Boutsikou Maria ;Baka Stavroula ; Marmarinos Antonios ;Hassiakos Dimitrios; Malamitsi-Puchner Ariadne
   Cord blood intestinal fatty acid-binding protein (I-FABP) in full-term intrauterine growth restricted pregnancies
   J Matern Fetal Neonatal Med. 2012 Oct;25(10):2062-5

6. Kossiva Lydia, Gourgiotis I. Dimitrios, Tsentidis Charalampos, Anastasiou Theodora, Marmarinos Antonis, Vasilenko Helen, Sdogou Triantafyllia, Georgouli Helen.

Serum Hepcidin and Ferritin to Iron Ratio in Evaluation of Bacterial versus Viral Infections in Children: A Single Center Study
Pediatr Infect Dis J. 2012 Aug;31(8):795-8

7. Gourgiotis Dimitrios, Briana Despina, Georgiadis Anestis , Boutsikou Maria , Baka Stavroula , Marmarinos Antonios , Hassiakos Demetrios , Malamitsi-Puchner Ariadne.
Perinatal collagen turnover markers in intrauterine growth restriction
J Matern Fetal Neonatal Med. 2012 Sep;25(9):1719-22

8. Briana, D.D. , Gourgiotis, D. , Georgiadis, A. , Boutsikou, M. , Baka, S.A , Marmarinos, A. , Hassiakos, D. ,Malamitsi- Puchner, A.
Intrauterine growth restriction may not suppress bone formation at term, as indicated by circulating concentrations of undercarboxylated osteocalcin and Dickkopf-1.
Metabolism: Clinical and Experimental 2012, 61(3):335-40

9. Briana DD, Liosi S, Gourgiotis D, Boutsikou M, Baka S, Marmarinos A, Hassiakos D, Malamitsi-Puchner A.
The Potential Role of the Lectin Pathway of Complement in the Host Defence of Full-Term Intrauterine Growth Restricted Neonates at Birth.
J Matern Fetal Neonatal Med. 2012 May;25(5):531-4

10. Briana DD, Boutsikou M, Baka S, Gourgiotis D, Marmarinos A, Liosi S, et al.
Omentin-1 and Vaspin are present in the fetus and neonate, and perinatal concentrations are similar in normal and growth-restricted pregnancies.
Metabolism: Clinical and Experimental. 60 (4): 486-490 APR 2011

11. Manoura A, Gourgiotis D, Galanakis E, Matalliotakis E, Hatzidaki E, Korakaki E, Marmarinos A, et al. **Circulating concentrations of α- and β-chemokines in neonatal sepsis**. *International Journal of Infectious Diseases. 2010;14(9):e806-9.*

12. Briana, D.D., Gourgiotis, D. , Boutsikou, M. , Baka, S. , Marmarinos, A. , Liosi, S. , Hassiakos, D., Malamitsi-Puchner, A. **Clara cell protein in full-term pregnancies: The influence of intrauterine growth restriction.**
Pediatric Pulmonology Vol 42: 12, December 2010, Pages 1186-1191

13. Liosi S, Briana DD, Gourgiotis D, Boutsikou M, Baka S, Marmarinos A, et al.
Calprotectin in human cord blood: Relation to perinatal parameters and restricted fetal growth. *J Perinat Med. 2010;38 (5):523-6.*

14. Briana DD, Boutsikou M, Gourgiotis D, Boutsikou T, Baka S, Marmarinos A, et al. **Serum fetuin-A/α2-HS-glycoprotein in human pregnancies with**

normal and restricted fetal growth. *Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine. 2008;21(11):826-30.*

15. Kontara L, Briana DD, Baka S, Boutsikou M, Marmarinos A, Gourgiotis D, et al. **Serum beta-2-microglobulin levels in intrauterine growth-restricted and normal pregnancies**. *Fetal Diagn Ther. 2008;24(3):220-4.*

16. Briana DD, Boutsikou M, Baka S, Gourgiotis D, Marmarinos A, Hassiakos D, et al. **Perinatal changes of plasma resistin concentrations in pregnancies with normal and restricted fetal growth**. *Neonatology. 2008;93(3):153-7.*

17. Briana DD, Boutsikou M, Baka S, Hassiakos D, Gourgiotis D, Marmarinos A, et al. **N-terminal parathyroid hormone-related protein levels in human intrauterine growth restricted pregnancies.** *Acta Obstet Gynecol Scand. 2007;86(8):945-9.*

18. Korakaki E, Gourgiotis D, Aligizakis A, Manoura A, Hatzidaki E, Giahnakis E, Marmarinos A, et al. **Levels of bone collagen markers in preterm infants: Relation to antenatal glucocorticoid treatment**. *J Bone Miner Metab. 2007;25(3):172-8.*

19. Malamitsi-Puchner A, Briana DD, Gourgiotis D, Boutsikou M, Puchner K-, Baka S, Marmarinos A, et al. **Insulin-like growth factor (IGF)-I and insulin in normal and growth-restricted mother/infant pairs**. *Mediators Inflamm. 2007*;

20. Malamitsi-Puchner A, Briana DD, Kontara L, Boutsikou M, Baka S, Hassiakos D, Marmarinos A, et al. **Serum cystatin C in pregnancies with normal and restricted fetal growth**. *Reproductive Sciences. 2007;14(1):37-42.*

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΩΣ SUPPLEMENTS ΣΕ ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΑ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΑ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ:

1. Drakatos A, Klinaki E, Tsendidis C, Kyriakou D, Vorre S, Marmarinos A, Ferentinos G, Garoufi A. **Comparing directly measured and calculated low-density lipoprotein cholesterol as a screening method, and/or evaluation and follow up for dyslipidemia, in pediatric population.** *Clinical Biochemistry 44 (7): 534-534 Sp. Iss. Si, May 2011*.

2. Sklavou R, Karavanaki K, Gourgiotis D, Giannaki M, Marmarinos A, Konstantinou M, Tsolia M, Polychronopoulou S. **A comparison of lipopolysaccharide-binding protein (lbp) with C-reactive protein (crp) as early infection indices in pediatric oncologic patients.** *Pediatric Blood & Cancer 55 (5): 975-975 Nov. 2010*

3. Vorre S, Klinaki E, Tsouvalas E, Antonios Marmarinos et al. **Effectiveness of dietary plant sterols on lowering ldl-cholesterol in children and adolescents**.
   Acta Paediatrica 99: 41-41 Suppl. 462 Dec 2010

4. Briana DD, Baka S, Gourgiotis D, Boutsikou M, Hassiakos D, Marmarinos A, Iakovidou N, Malamitsi-Puchner A. **Evidence that intrauterine growth restriction may not affect bone metabolism in full term fetuses/newborns.** *Acta Paediatrica 96: 230-231 Suppl. 456, OCT (2007).*

5. Paleologou N, Antonaki G, Vraila V, Lebessi E, Marmarinos A, Kallergi K, Doxara A, Toulika S, Gourgiotis D. **Serum IL-15 in inhalant allergic children.** *Allergy 63: 313-313 842 Suppl. 88, (2008).*

ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΕΙΣ ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΑ ΣΥΝΕΔΡΙΑ

1. N. Paleologoy, K. Kallergi, G. Antonaki, A. Marmarinos, D. Gourgiotis, M. Foustoukou, F. Saxoni-Papageorgiou.
   'Cross-reactivity between honeybee and yellow jacket in children with hymenoptera allergy.'
   Microbiology department of 'P. and A. Kyriakou' hospital of Athens Medical School, University of Athens, Greece, 2006.

2. A. Malamitsi-Puchner, D. Gourgiotis, M. Boutsikou, S. Baka, D.D. Briana, L. Kontara, M. Kyriakakou, A. Marmarinos, D. Hassiakos
   "Neonatal and maternal circulating visfatin concentrations in normal and intrauterine growth restricted pregnancies".
   European Academy of Paediatrics Congress, Barcelona, Spain, 7-10 October, 2006.

3. D.D. Briana, A. Malamitsi-Puchner, D. Gourgiotis, M. Boutsikou, L. Kontara, A. Marmarinos, S. Baka, T. Boutsikou, D. Hassiakos
   "Serum osteoprotegerin and RANKL concentrations in the perinatal period: the impact of intrauterine growth restriction".
   European Academy of Paediatrics Congress, Barcelona, Spain, 7-10 October, 2006.

4. N. Paleologoy, K. Kallergi, G. Antonaki, A. Marmarinos, D. Gourgiotis, M. Foustoukou.
   ' Development of a RAST inhibition test for the identification of venom cross reactivity.'
   Microbiology department of 'P. and A. Kyriakou' Children's Hospital of Athens Medical School, University of Athens, Greece, 2006.

5. D.Briana, A.Malamitsi-Puchner, D.Gourgiotis, M.Boutsikou, L.Kontara, A.Marmarinos, S.Baka, T.Boutsikou, D.Hassiakos.
   "Serum Osteoprotegerin and rankl concentrations in the perinatal period: The impact of intrauterine growth restriction".
   European Academy of Paediatrics, Barcelona, Spain, 7-10 October 2006.
   →Abstract: P.159.

6. A.Malamitsi-Puchner, D.Gourgiotis, M.Boutsikou, S.Baka, D.Briana, L.Kontara, M.Kyriakakou, A.Marmarinos, D.Hassiakos.
   "Neonatal and maternal circulating visfatin levels in normal and intrauterine growth restricted pregnancies".
   European Academy of Paediatrics, Barcelona, Spain, 7-10 October 2006- Abstract Pg.159

7. L.Kontara, A.Malamitsi-Puchner, D.Gourgiotis, M.Boutsikou, M.Kyriakakou, K.E.Nikolaou, A.Marmarinos, S.Baka, D.Hassiakos
   "Serum cystatin C levels in intrauterine growth restricted and appropriate for gestational age fetuses and neonates".
   European Academy of Paediatrics, Barcelona, Spain, 7-10 October 2006- Abstract Pg. 267

8. D.D. Briana, S. Baka, D. Gourgiotis, M. Boutsikou, D. Hassiakos, A. Marmarinos, N. Iacovidou, A. Malamitsi-Puchner
   "Evidence that intrauterine growth restriction may not affect bone metabolism in full-term fetuses/newborns".
   48th Annual Meeting of the European Society for Paediatric Research, Prague, Czech Republic, 6-8 October, 2007.

9. D.D. Briana, D. Gourgiotis, M. Boutsikou, K.P. Puchner, S. Baka, A. Marmarinos, D. Hassiakos, A. Malamitsi-Puchner
   "Insulin-like growth factor (IGF)-I and insulin in normal and growth restricted mother/infant pairs".
   8th World Congress of Perinatal Medicine, Florence, 9-13 September, 2007.

10. D.D. Briana, D. Gourgiotis, T. Boutsikou, M. Boutsikou, S. Baka, A. Marmarinos, D. Hassiakos, A. Malamitsi-Puchner
"Serum fetuin-A/α2-HS glycoprotein in human pregnancies with normal and restricted fetal growth".
8th World Congress of Perinatal Medicine, Florence, 9-13 September, 2007.

11. D.D. Briana, M. Boutsikou, S. Baka, D. Gourgiotis, A. Marmarinos, D. Hassiakos, A. Malamitsi-Puchner **"Plasma resistin concentrations in full-term pregnancies: the impact of intrauterine growth restriction"**.
25th International Congress of Pediatrics, Athens, 25-30 August, 2007.

12. L. Kontara, D.D. Briana, S. Baka, M. Boutsikou, D. Gourgiotis, A. Marmarinos, D. Hassiakos, A. Malamitsi-Puchner
"Serum beta2-microglobulin levels in pregnancies with normal and restricted fetal growth".
25th International Congress of Pediatrics, Athens, 25-30 August, 2007.

13. N.Paleologou, G.Antonaki, V.Vraila, A.Marmarinos, K.Kallergi, A.Doxara, S.Toulika, D.Gouriotis
"Serum Il-15 in inhalant allergic children"
XXVII *EACCI Congress, Barcelona, Spain, June 2008 – Abstract No842*
→*Abstracts: Allergy 63:313-313, 842, Suppl.88, 2008* (I.F.=5.014)

14. N.Palaiologou, A.Marmarinos, V-M. Vraila, S.Labrini, D.Gourgiotis.
'Cross reactivity between honeybee and yellow jacket in children with hymenoptera allergy.'
Eaaci & Ga2len Allergy School On Hymenoptera Venom Allergy, Ancona September 3rd- 6th 2009

15. Despina Briana, Maria Boutsikou, Dimitrios Gourgiotis, Stavroula Baka, Theodora Boutsikou, Antonios Marmarinos, Dimitrios Hassiakos, Ariadne Malamitsi-Puchner
'**Perinatal circulating surfactant protein D concentrations in intrauterine growth restriction'**
9th World Congress of Perinatal Medicine, Berlin, Germany,24-28 October 2009

16. Liosi S., Briana D., Gourgiotis D., Boutsikou M., Baka S., Marmarinos A., Hassiakos D., Malamitsi_Puchner A.
'**Coord blood calprotectin concentrations in full-term pregnancies with normal and restricted fetal growth'.**
4th European Congress of Paediatrisians, Moscow, 3-6 July, 2009

17. Briana D., Boutsikou T., Gourgiotis D., Karali A, Marmarinos A, Georgiadis A, Baka S, Hassakos D, Malamitsi-Puchner A.
The effect of intrauterine growth restriction on circulating concentrations of bone collagen markers in full-term pregnancies.
3rd Congress of the European Academy of Paediatrics, Copenhagen 23-26 October 2010

18. Rigina Sklavou, Kyriaki Karavanaki, Dimitrios Gourgiotis, Maria Giannaki, Antonios Marmarinos, Maria Konstantinou, Maria Tsolia, Sophia Polychronopoulou.
A Comparison of Lipopolysaccharide-Binding Protein (LBP) With C-Reactive Protein (CRP) as Early Infection Indices in Pediatric Oncologic Patients.
42nd Congress of the International Society of Paediatric Oncology. Boston 21-24 October 2010

19. Briana DD, Gourgiotis D,Boutsikou M, Baka S, Marmarinos A, Hassiakos D, Malamitsi-Puchner A.
Intrauterine growth restriction may not suppress bone formation at term, as indicated by circulating concentrations of undercarboxylated osteocalcin and Dickkopf -1.
2nd International Congress of European Neonatal and Perinatal Societies. Istanbul, November 15-17 2010.

20. T. Boutsikou, S. Liosi, M. Boutsikou, D.D. Briana, A. Marmarinos, S. Baka, D. Hassiakos, D. Gourgiotis, A. Malamitsi-Puchner. **The Possible Role Of Lectin Pathway Of Complement Activation In Intrauterine Growth Restriction At Term**. Recent Advances in Neonatal Medicine an International Symposium, Wurzburg Germany, October 2-4 2011

21. Garoufi A, Kalimeraki E, Tsentidis Ch, Katsarou E, Kyriakou D, Koemtzidou E, Marmarinos A, Gourgiotis D. **Plasma Brain Natriuretic Peptide Concentrations In Children With Epilepsy: The Effect Of Antiepileptic Drugs.** 52nd annual meeting of the European Society for Paediatric Research Newcastle , United Kingdom ,October 14-17 2011

22. S. Liosi, D.D. Briana[1], M. Boutsikou[1], A. Marmarinos, T. Boutsikou[1], S. Baka[1], D. Hassiakos, D. Gourgiotis, A. Malamitsi-Puchner. **Intrauterine Growth Restriction: Possible Influence On Cord Blood Mannose Binding Protein Concentrations At Term** 52nd annual meeting of the European Society for Paediatric Research Newcastle , United Kingdom ,October 14-17 2011→*Abstracts:* **66**

23. T. Papapostolou, D. D. Briana, M. Boutsikou, C. Iavazzo, K.-P. Puchner, A. Marmarinos, D. Gourgiotis, A. Malamitsi-Puchner. **Midtrimester Amniotic Fluid Concentrations Of Angiogenic Factors In Relation To Maternal, Fetal And Neonatal Characteristics In Normal Pregnancies.** European Congress of Perinatal Medicine, Paris, France, June 13-16 2012.

24. D. D. Briana, M. Boutsikou, D. Gourgiotis, A. Marmarinos, S. Baka, D. Hassiakos, A. Malamitsi-Puchner. **Relationships Between Maternal Novel Adipocytokines And Bone Biochemical Markers in Full-Term Pregnancies With Normal And Restricted Fetal Growth.** European Congress of Perinatal Medicine, Paris, France, June 13-16 2012.

25. D. D. Briana, M. Boutsikou, D. Gourgiotis, A. Marmarinos, S. Baka, D. Hassiakos, A. Malamitsi-Puchner. **Associations of Novel Adipocytokines With Bone Biomarkers In Intrauterine Growth Restricted**

Fetuses/Neonates At Term. European Congress of Perinatal Medicine, Paris, France, June 13-16 2012.

26. Kafalidis G, Briana Dd, Boutsikou T, Boutsikou M, Marmarinos A, Baka S, Hassiakos D, Gourgiotis D, Malamitsi-Puchner A. **Adipocytokines omentin and vaspin are upregulated in large for gestational age fetuses at term**. *4th* Congress of the European Academy of Paediatric Societies, Istanbul, Turkey, October 5-9, 2012

27. A Garoufi, E Kalimeraki, C Tsendidis, E Katsarou, D Kyriakou, E Koemtzidou, A Marmarinos and D Gourgiotis. **Plasma Brain Natriuretic Peptide Concentrations in Children with Epilepsy: the Effect of Antiepileptic Drugs.**Pediatric Research (2012) **70**, 173–173; doi:10.1038/pr.2011.398

28. Kyriaki Karavanaki, Rigina Sklavou, Eleni Critselis1, Dimitris Gourgiotis, Lydia Cossiva, Maria Giannaki,Maria Tsolia, Antonis Marmarinos, Maria Konstantinou, Sophia Polychronopoulou. **Evaluation Of Lipopolysaccharide-Binding Protein (Lbp) And C-Reactive Protein (Crp) For The Early Detection Of Bacterial Infection In Pediatric Oncology Patients** Poster in Madrid, pending title..

ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΕΙΣ ΣΕ ΕΛΛΗΝΙΚΑ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΑ ΣΥΝΕΔΡΙΑ

1. Δ. Μπριάνα, Α. Μαλαμίτση-Puchner, Δ. Γουργιώτης, Μ. Μπούτσικου, Λ. Κονταρά, Α. Μαρμαρινός, Θ. Μπούτσικου, Σ. Μπάκα, Δ. Χασιάκος
   'Επίπεδα ορού οστεοπροτεγερίνης και RANKL στην περιγεννητική περίοδο: Η επίδραση του ενδομητρίου περιορισμού της αύξησης.'
   3ο Ετήσιο Επιστημονικό Συνέδριο Ιατρικής Σχολής, Αθήνα 12-13/5/2006 (Βιβλίο περιλήψεων σελ. 175)

2. Δ. Μπριάνα, Μ. Μπούτσικου, Σ. Μπάκα, Ν. Ιακωβίδου, Α. Μαρμαρινός, Δ. Χασσιάκος, Δ. Γουργιώτης, Α. Μαλαμίτση-Πούχνερ
   'Διερεύνηση του οστικού καταβολισμού σε νεογνά με ενδομήτριο περιορισμό αύξησης (ΕΠΑ) και κανονικό βάρος γέννησης (ΚΒΓ)'
   14ο Πανελλήνιο Συνέδριο Περιγεννητικής Ιατρικής, Αθήνα 2-4/3/2007 (Βιβλίο περιλήψεων σελ. 14)

3. Ν. Παλαιολόγου, Κ. Καλλέργη, Γ. Αντωνάκη, Α. Μαρμαρινός, Δ. Γουργιώτης, Μ. Φουστούκου, Φ. Σαξώνη-Παπαγεωργίου.
   'Διασταυρούμενη αντιδραστικότητα μεταξύ μέλισσας και σφήκας σε παιδιά με αλλεργία στα υμενόπτερα.'
   Μικροβιολογικό Εργαστήριο Νοσοκομείου Παίδων 'Π. και Α. Κυριακού', Αθήνα Ερευνητικά Εργαστήρια Β'Παιδιατρικής Κλινικής Πανεπιστημίου Αθηνών(2007)

4. Ν.Παλαιολόγου, Α.Μαρμαρινός, Β.Μαρια Βράιλα, Φ.Στέφου, Δ.Γουργιώτης, Φ.Σαξώνη Παπαγεωργίου
'Συχνότητα Ευαισθητοποίησης των Παιδιών από Ενδοοικιακά Αλλεργιογόνα.*45ο Πανελλήνιο Παιδιατρικό Συνέδριο, Σιθωνία Χαλκιδικής, 25-27 Μαΐου 2007*.

5. Λ. Κονταρά, Δ. Μπριάνα, Σ. Μπάκα, Μ. Μπούτσικου, Δ. Γουργιώτης, Α. Μαρμαρινός, Δ. Χασσιάκος, Α. Μαλαμίτση-Πούχνερ
'Περιγεννητικές μεταβολές των επιπέδων Β2- Μικροσφαιρίνης σε κυήσεις με ενδομήτριο περιορισμό της αύξησης (ΕΠΑ).'
14ο Πανελλήνιο Συνέδριο Περιγεννητικής Ιατρικής, Αθήνα 2-4/3/2007 (Βιβλίο περιλήψεων σελ. 58)

6. Ε. Κορακάκη, Δ. Γουργιώτης, Α.Αλιγιζάκης, Α. Μάνουρα, Ε. Χατζιδάκη, Ε. Σαϊτάκης, Ε. Γιαχνάκης, Α. Μαρμαρινός, Μ-Κ. Μαργάρη, Χ. Γιαννακοπούλου
'Επίδραση της χορήγησης κορτικοστεροειδών κατά τη διάρκεια της κύησης στους δείκτες οστικού μεταβολισμού των πρόωρων νεογνών.'
14ο Πανελλήνιο Συνέδριο Περιγεννητικής Ιατρικής, Αθήνα 2-4/3/2007 (Βιβλίο περιλήψεων σελ. 77)

7. Ν. Ιακωβίδου, Δ. Μπριάνα, Μ. Μπούτσικου, Σ. Μπάκα, Α. Μαρμαρινός, Δ. Γουργιώτης, Δ. Χασσιάκος, Α. Μαλαμίτση-Πούχνερ
'Επίπεδα καρδιακής Τροπονίνης-Ι σε νεογνά με ενδομήτριο περιορισμό αύξησης (ΕΠΑ) και κανονικό βάρος γέννησης (ΚΒΓ)'
14ο Πανελλήνιο Συνέδριο Περιγεννητικής Ιατρικής, Αθήνα 2-4/3/2007 (Βιβλίο περιλήψεων σελ. 81)

8. Δ. Μπριάνα, Μ. Μπούτσικου, Σ. Μπάκα Σ, Α. Μαρμαρινός, Δ. Γουργιώτης, Δ. Χασσιάκος, Α. Μαλαμίτση-Πούχνερ
'Επίπεδα ορού Βισφατίνης σε νεογνά με ενδομήτριο περιορισμό αύξησης (ΕΠΑ) και κανονικό βάρος γέννησης (ΚΒΓ)'
14ο Πανελλήνιο Συνέδριο Περιγεννητικής Ιατρικής, Αθήνα 2-4/3/2007 (Βιβλίο περιλήψεων σελ. 82)

9. Δ. Μπριάνα, Δ. Γουργιώτης, Μ. Μπούτσικου, Σ. Μπάκα, Α. Μαρμαρινός, Δ. Χασσιάκος, Α. Μαλαμίτση-Πούχνερ
'Επίπεδα ορού Βισφατίνης σε φυσιολογικές τελειόμηνες κυήσεις.'
14ο Πανελλήνιο Συνέδριο Περιγεννητικής Ιατρικής, Αθήνα 2-4/3/2007 (Βιβλίο περιλήψεων σελ. 83)

10. Λ. Κονταρά, Δ. Μπριάνα, Μ. Μπούτσικου, Σ. Μπάκα, Δ. Χασιάκος, Α. Μαρμαρινός, Δ. Γουργιώτης, Α. Μαλαμίτση-Πούχνερ.
'Διερεύνηση νεφρικής λειτουργίας σε νεογνά με ενδομήτριο περιορισμό αύξησης (ΕΠΑ) και κανονικό βάρος γέννησης(ΚΒΓ).
14ο Πανελλήνιο Συνέδριο Περιγεννητικής Ιατρικής, Αθήνα 2-4/3/2007 (Βιβλίο περιλήψεων σελ. 90)

11. Δ. Μπριάνα, Μ. Μπούτσικου, Σ. Μπάκα, Λ. Κονταρά, Σ. Λιόση, Δ. Γουργιώτης, Α. Μαρμαρινός, Δ. Χασιάκος, Ν. Ιακωβίδου, Α. Μαλαμίτση-Πούχνερ.
'Επίπεδα πλάσματος Ρεσιστίνης σε τελειόμηνα νεογνά με κανονικό βάρος γέννησης (ΚΒΓ) και ενδομήτριο περιορισμό της αύξησης (ΕΠΑ)'
4ο Ετήσιο Επιστημονικό Συνέδριο Ιατρικής Σχολής, Αθήνα 1-2/6/2007
(Βιβλίο περιλήψεων σελ. 14)

12. Δ. Μπριάνα, Μ. Μπούτσικου, Δ. Γουργιώτης, Θ. Μπούτσικου, Λ. Κονταρά, Σ. Λιόση, Σ. Μπάκα, Δ. Χασιάκος, Α. Μαρμαρινός, Α. Μαλαμίτση-Πούχνερ
'Επίπεδα ορού Φετουίνης-Α σε τελειόμηνα νεογνά με κανονικό βάρος γέννησης (ΚΒΓ) και ενδομήτριο περιορισμό της αύξησης (ΕΠΑ)'
4ο Ετήσιο Επιστημονικό Συνέδριο Ιατρικής Σχολής, Αθήνα 1-2/6/2007
(Βιβλίο περιλήψεων σελ. 39)

13. Α. Μαλαμίτση-Πούχνερ, Δ. Γουργιώτης, Μ. Μπούτσικου, Σ. Μπάκα, Λ. Κονταρά, Σ. Λιόση, Δ. Χασιάκος, Α. Μαρμαρινός, Ν. Ιακωβίδου, Δ. Μπριάνα
'Διερεύνηση του ρόλου της Απελίνης στην αύξηση του εμβρύου και του νεογνού.'
4Ο Ετήσιο Επιστημονικό Συνέδριο Ιατρικής Σχολής, Αθήνα 1-2/6/2007
(Βιβλίο περιλήψεων σελ. 41)

14. Δ.Γουργιώτης , Α.Σκορίλας, Ε.Κοσμίδη, Α.Μαρμαρινός Et Al.
«Ανάλυση έκφρασης και μελέτης του νέου σχετιζόμενου με την απόπτωση γονιδίου BCL2L12, στη λευχαιμία. Ένας νέος μοριακός δείκτης ανταπόκρισης στη χημειοθεραπεία.»
Υποέργο 31: Γ' Κοινοτικό Πλαίσιο Στήριξης, Επιχειρησιακό Πρόγραμμα Εκπαίδευσης και Αρχικής Επαγγελματικής Κατάρτισης (ΕΠΕΑΕΚ ΙΙ).
Αποτελέσματα Ερευνητικών Προγραμμάτων του Έργου Πυθαγόρας ΙΙ: Ενίσχυση Ερευνητικών Ομάδων του Ε.Κ.Π.Α. Ιούνιος 2008

15. Δ. Μπριάνα, Μ. Μπούτσικου, Σ. Μπάκα, Γ. Παπαδόπουλος, Δ. Γουργιώτης, Α. Μαρμαρινός, Π. Τρίκκα, Δ. Χασιάκος, Α. Μαλαμίτση-Πούχνερ
Η επίδραση του ενδομητρίου περιορισμού της αύξησης στα κυκλοφορούντα επίπεδα του χημειοτακτικού παράγοντα των μονοκυττάρων-1 (MCP-1) κατά την περιγεννητική περίοδο.
2ο Πανελλήνιο Συνέδριο Νεογνολογίας, Αθήνα 4-6/4/2008

16. Ρ.Σκλάβου, Κ. Καραβανάκη, Γ.Γουργιώτης, Μ.Γιαννάκη, Α.Μαρμαρινός, Μ. Κωνσταντίνου, Μ.Τσολιά, Σ.Πολυχρονοπούλου.
'Η χρησιμότητα της δεσμευτικής λιποπολυσακχαριδικής πρωτεΐνης οξείας φάσης (LBP) ως πρώιμου δείκτη φλεγμονής σε παιδιά με αιματολογικό-ογκολογικό νόσημα.'
47ο Πανελλήνιο Παιδιατρικό Συνέδριο, Χανιά, 19-21/6/2009

17. Σ.Λιόση, Δ. Μπριάνα, Δ. Γουργιώτης, Μ. Μπούτσικου, Σ. Μπάκα, Α.Μαρμαρινός, Δ. Χασιάκος, , Α. Μαλαμίτση-Πούχνερ
'Επίπεδα Καλπροτεκτίνης στον ομφάλιο λώρο από τελειόμηνες κυήσεις με φυσιολογική και υπολειπόμενη εμβρυική αύξηση.'
15^{ο} Πανελλήνιο Συνέδριο Περιγεννητικής Ιατρικής, Θεσσαλονίκη 28-20/09/2009 (Βιβλίο περιλήψεων σελ. 23)

18. Ν.Παλαιολόγου, Α. Μαρμαρινός, Β-Μ Βράιλα, Δ.Γουργιώτης.
'Προσδιορισμός της IL-15 σε παιδιά με αλλεργία σε εισπνεόμενα'
Πανελλήνιο Συνέδριο Κλινικής Χημείας, Αθήνα 2-3/10/2009

19. Ρηγίνα Σκλάβου, Κυριακή Καραβανάκη, Δημήτριος Γουργιώτης, Μαρία Γιαννάκη, Αντώνιος Μαρμαρινός, Μαρία Κωνσταντίνου, Μαρία Τσολιά, Σοφία Πολυχρονοπούλου
Συγκριση Μεταξύ Δεσμευτικής Λιποπολυσακχαριδικής Πρωτεΐνης Οξείας Φάσης (Lbp) και C- Αντιδρώσας Πρωτεΐνης (Crp) ως Πρώιμων Δεικτών Φλεγμονής σε Παιδιατρικούς Ασθενείς με Αιματολογικό-Ογκολογικό Νόσημα (ΑΟΝ)
48^{ο} Πανελλήνιο Παιδιατρικό Συνέδριο 21-23 Μαΐου 2010 - Μύκονος

20. Α.Δρακάτος, Χ.Τσεντίδης, Ε.Κλινάκη, Σ.Βορρέ, Ε.Τσουβαλάς, Α.Μαρμαρινός, Α.Γαρούφη.
'**Ανίχνευση, αξιολόγηση και παρακολούθηση των παιδιών και των εφήβων με δυσλιπιδαιμία: Άμεση μέτρηση ή υπολογισμός της LDL-C'**. 14^{ο} Πανελλήνιο Συνέδριο Λιπιδιολογίας Αθηροσκλήρωσης και Αγγειακής Νόσου. Αθήνα 13-15 Οκτωβρίου 2011

21. Μπριανα Δ, Λιοση Σ, Γουργιωτης Δ, Μπουτσικου Μ, Μπακα Σ, Μαρμαρινος Α, Χασιακος Δ, Μαλαμιτση-Πουχνερ Α.
Ο πιθανός ρόλος της οδού των λεκτινών του συμπληρώματος στο ανοσοποιητικό σύστημα των τελειόμηνων νεογνών με ενδομήτρια υπολειπόμενη αύξηση.
16^{ο} Πανελλήνιο Συνέδριο Περιγεννητικής Ιατρικής, Αθήνα, 21-23 Οκτωβρίου, 2011

22. Μπριανα Δ, Μπουτσικου Μ, Γουργιωτης Δ, Μαρμαρινος Α, Μπακα Σ Χασιακος Δ, Μαλαμιτση-Πουχνερ Α.
Πιθανή ρύθμιση του οστικού μεταβολισμού από νεότερες λιποκυτταροκίνες στο τελειόμηνο έμβρυο/νεογνό με κανονική και ενδομήτρια υπολειπόμενη αύξηση.
4^{ο} Πανελλήνιο Συνέδριο Νεογνολογίας, Αθήνα, 11-13 Μαΐου, 2012

23. Μπριανα Δδ, Λιοση Σ, Γουργιωτης Δ, Μπουτσικου Μ, Μπακα Σ, Μπουτσικου Θ, Μαρμαρινος Α, Χασιακος Δ, Μαλαμιτση-Πουχνερ Α.
Κυκλοφορούντα επίπεδα ομφαλίου λώρου της εντερικής πρωτεΐνης σύνδεσης των λιπαρών οξέων (I-FABP) σε νεογνά με ενδομήτρια υπολειπόμενη αύξηση.
16^{ο} Πανελλήνιο Συνέδριο Περιγεννητικής Ιατρικής, Αθήνα, 21-23 Οκτωβρίου, 2011

24. Π. Χλαπουτάκη, Α. Δρακάτος, Δ .Γουργιώτης, Σ .Βορρέ, Ε .Γραμματικός, Α. Μαρμαρινός, Σ .Δήμου, Α. Γαρούφη, Ε .Παρασκάκη. **'Μελέτη των αντισωμάτων έναντι της οξειδωμένης LDL σε παιδιά και εφήβους με και χωρίς διαταραχές των λιπιδίων.** 4° Πανελλήνιο Συνέδριο Ιατρικής Βιοχημείας , Θεσσαλονίκη 31-2 Απριλίου 2011

25. Μπριανα Δ, Μπουτσικου Μ, Γουργιωτης Δ, Μαρμαρινος Α, Μπακα Σ, Χασιακος Δ, Μαλαμιτση-Πουχνερ Α. **Πιθανή ρύθμιση του οστικού μεταβολισμού από νεότερες λιποκυτταροκίνες στο τελειόμηνο έμβρυο/νεογνό με κανονική και ενδομήτρια υπολειπόμενη αύξηση.** 4ο Πανελλήνιο Συνέδριο Νεογνολογίας, Αθήνα, 11-13 Μαΐου, 2012

Μέλος Οργανισμών:

- Μέλος της Ευρωπαϊκής Ακαδημίας Αλλεργιολογίας και Κλινικής Ανοσολογίας (EAACI) από το 2003 έωςσήμερα.
- Μέλος της Ελληνικής Εταιρίας Ελευθέρων Ριζών και Οξειδωτικού Στρες (ΕΕΕΡ-ΟΣ) από το 2006 έως σήμερα.

ΣΥΝΕΔΡΙΑ-ΣΕΜΙΝΑΡΙΑ-ΣΥΝΑΝΤΗΣΕΙΣ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΩΝ ΕΤΑΙΡΕΙΩΝ

Έλαβα ενεργό μέρος ή οι εργασίες μου έγιναν αποδεκτές στα ακόλουθα επιστημονικά συνέδρια.

- **2003**: Συμμετοχή στο 4° Πανελλήνιο Συνέδριο Αλλεργιολογίας & Κλινικής Ανοσολογίας, Αθήνα 3-5 Μαρτίου.
- **2004**: Συμμετοχή στο XXII Congress of European Academy of Allergology and Clinical Immunology (EAACI), Amsterdam, Netherlands 12-16 Ιουνίου.
- **2005**: Συμμετοχή στο Second Symposium on Lysosomal Storage Disorders, Advancing the Understanding of Lysosomal Disorders. Αθήνα, 2-4 Μαρτίου.
- **2005:** Συμμετοχή στο XXIII Congress of European Academy of Allergology and Clinical Immunology (EAACI), Munich, Germany 10-15 Ιουνίου.
- **2006:** Συμμετοχή στο European Academy of Paediatrics Congress, Barcelona, Spain, 7-10 October
- **2006:** Συμμετοχή στο XXIV Congress of European Academy of Allergology and Clinical Immunology (EAACI), Vienna, Austria 10-15 Ιουνίου.
- **2006:** Συμμετοχή στο 3° Ετήσιο Επιστημονικό Συνέδριο Ιατρικής Σχολής, Αθήνα 12-13 Μαΐου.

- **2007:** Συμμετοχή στο 14° Πανελλήνιο Συνέδριο Περιγεννητικής Ιατρικής, Αθήνα 2-4 Μαρτίου.

- **2007:** Συμμετοχή στο 45° Πανελλήνιο Παιδιατρικό Συνέδριο, Σιθωνία Χαλκιδικής, 25-27 Μαΐου.

- **2007:** Συμμετοχή στο 4° Ετήσιο Επιστημονικό Συνέδριο Ιατρικής Σχολής, Αθήνα 1-2 Ιουνίου.

- **2007:** Συμμετοχή στο 25th International Congress of Pediatrics, Athens, 25-30 Αυγούστου.

- **2007:** Συμμετοχή στο 8th World Congress of Perinatal Medicine, Florence, 9-13 Σεπτεμβρίου.

- **2007:** Συμμετοχή στο 48th Annual Meeting of the European Society for Paediatric Research, Prague, Czech Republic, 6-8 Οκτωβρίου.

- **2009:** Συμμετοχή στο 4thEuropean Congress of Paediatrisians, Moscow, 3-6 Ιουλίου.

- **2009:** Συμμετοχή στο EAACI & GA2LEN Allergy School On Hymenoptera VENOM ALLERGY Ancona- Ιταλία. 3-6 Σεπτεμβρίου.

- **2009**: Συμμετοχή στο 50th Annual Meeting of the European Society for Paediatric Research, Hamburg, Germany, 9-12 Οκτωβρίου.

- **2010:** Συμμετοχή στο 42nd Congress of the International Society of Paediatric Oncology. Boston 21-24 October.

- **2010:** Συμμετοχή στο 2nd International Congress of European Neonatal and Perinatal Societies. Istanbul, November 15-17.

- **2010:** Συμμετοχή στο 3rd Congress of the European Academy of Paediatrics, Copenhagen 23-26 October

- **2011**: Συμμετοχή στο 52nd annual meeting of the European Society for Paediatric ResearchNewcastle , United Kingdom ,October 14-17

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

AA =Αραχιδονικό οξύ
AA =Ασκησιογενές άσθμα
AAA=Κοιλιακό αορτικό ανεύρυσμα
ABCC1=ATP-δεσμευτική κασέτα, υποοικογένεια C μέλος 1
AHR =Υπεραπαντητικότητα Αεραγωγών
ApoE=Απολιποπρωτεΐνη Ε
ASA = Άσθμα ευαίσθητο στην ασπιρίνη
LTB4R1 =Υποδοχέας 1 των λευκοτριενίων Β4
LTB4R2 = Υποδοχέας 2 των λευκοτριενίων Β4
cPLA2 =Κυτοσολική φωσφολιπάση Α2
CysLTs = Κυστεϊνιλικά Λευκοτριένια
CysLT1 =Ανταγωνιστές του τύπου 1 υποδοχέων των CysLTs
CysLT2 =Ανταγωνιστές του τύπου 2 υποδοχέων των CysLTs
DC =Δενδριτικά Κύτταρα
EIA= Ασκησιογενές Άσθμα
EC=Ενδοθηλιακά Κύτταρα
ECM =Εξωκυττάρια Θεμέλια Ουσία
ELISA =Ανοσοενζυμική Μέθοδος
FDA= Υπηρεσία/Διεύθυνση τροφίμων και φαρμάκων των Η.Π.Α
FENO= Ποσοτική μέτρηση του εκπνεόμενου νιτρικού οξειδίου
FEV1= Εκπνεόμενος όγκος αέρα σε 1 δευτερόλεπτο
FLAP =Πρωτεΐνη Ενεργοποίησης της 5-λιποξυγενασης
GSH =Γλουταθιώνη
ICS =Εισπνεόμενα Κορτικοστεροειδή
IFN-g= Ιντερφερόνη - γ
IL=Ιντερλευκίνη
LABA=Μακράς δράσης βήτα-αδρενεργικοί ανταγωνιστές
LT= Λευκοτριένιο
LTA4 =Λευκοτριένιο Α4
LTA4H=Υδρολάση Λευκοτριένιου Α4
LTB4 =Λευκοτριένιο Β4
LTC4 =Λευκοτριένιο C4
LTC4S =Συνθετάση λευκοτριένιου C4
LTD4 =Λευκοτριένιο D4
LTE4=Λευκοτριένιο Ε4
MC =Μαστικά κύτταρα
MO = Μέσος όρος
NAEPP= Εθνικό πρόγραμμα εκπαίδευσης και πρόληψης του άσθματος.
NO =Μονοξείδιο του Αζώτου
MMP =Μεταλλοπρωτεϊνάση
MRP1= Πρωτεΐνη πολλαπλής. αντοχής1
NIH =Εθνικό ινστιτούτο υγείας
PAF =Παράγοντας ενεργοποίησης αιμοπεταλίων
PMN =Πολυμορφοπύρηνα λευκοκύτταρα
RAST=Ράδιο-αλλεργο-προσροφητική δοκιμή
ROS =Δραστικές μορφές οξυγόνου
SABA =Βραχείας δράσης βήτα-αδρενεργικοί ανταγωνιστές
SNP =Μονονουκλεοτιδικός πολυμορφισμός

SRS-A =Ουσία Αργής αντίδρασης της αναφυλαξίας
TNF-a =Παράγοντας νέκρωσης όγκων-a
U-LTE4 = Λευκοτριένια Ε4 στα ούρα
VOC =Πτητικές οργανικές ενώσεις
5-LO =5-λιποξυγενάση

Α. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το άσθμα είναι μια χρόνια φλεγμονώδης νόσος των αεροφόρων οδών που παρουσιάζει εξάρσεις και παρατηρείται το 70% να αρχίζει στην προσχολική ηλικία. Υπάρχουν σαφείς ενδείξεις ότι μπορεί να παραμείνει στην ενήλικο ζωή και να προκαλέσει μόνιμη βλάβη στην πνευμονική λειτουργία. Για το λόγο αυτό, η έγκαιρη έναρξη μακροχρόνιας θεραπείας με αντιφλεγμονώδη φάρμακα συνίσταται από τις πιο πρόσφατες διεθνείς ομοφωνίες.

Τα κύρια συμπτώματα άσθματος είναι η συρίττουσα αναπνοή (συριγμός στην εκπνοή), βήχας και δύσπνοια που υποχωρούν με τη θεραπεία ή και αυτόματα.

Τα επεισόδια συρίττουσας αναπνοής στη βρεφική-προσχολική ηλικία συνιστούν ένα πολύ συχνό πρόβλημα και αποτελούν διαγνωστική και θεραπευτική πρόκληση για τον παιδίατρο, ιδιαίτερα όταν είναι έντονα ή επίμονα.

Μακροχρόνιες μελέτες από τον Martinez et al. που έγιναν σε παιδιά προσχολικής ηλικίας (γέννηση - 6 ετών), έδειξαν ότι η παθογένεια και η φυσική πορεία των βρεφών με υποτροπιάζοντα συμπτώματα άσθματος διαφέρει (φαινότυποι άσθματος). Το κυριότερο, βέβαια, εκλυτικό αίτιο των εξάρσεων άσθματος είναι οι λοιμώξεις του ανώτερου αναπνευστικού και στην προσχολική ηλικία αποτελεί την πιο συχνή προβάλλουσα κλινική εικόνα άσθματος.

Η διάγνωση όμως του πρώιμου παιδικού άσθματος περιορίζεται από την έλλειψη διεθνών κριτηρίων ορισμού του άσθματος στα βρέφη καθώς και από την εγγενή δυσκολία για την αξιολόγηση της πνευμονικής λειτουργίας και φλεγμονής των αεροφόρων οδών σε αυτή την ηλικία.

Οι φαινότυποι άσθματος (σύνδρομα συρίττουσας αναπνοής) που έχουν περιγραφεί ως τώρα, αναφέρονται γενικά στην ομάδα με παροδικά συμπτώματα και στην ομάδα με επιμένοντα επεισόδια συρίττουσας αναπνοής προϊούσης της ηλικίας.

Σημαντικός γενετικός παράγοντας που φαίνεται να συνδέεται με την ανάπτυξη επιμένοντος φαινότυπου συρίττουσας αναπνοής, είναι η ατοπία, η οποία ορίζεται ως

το ιστορικό άσθματος, ρινίτιδας, ατοπικής δερματίτιδας στους 1ου βαθμού συγγενείς ή η παρουσία ρινίτιδας, ατοπικής δερματίτιδας στο παιδί σε συνδυασμό με ευαισθητοποίηση σε ένα ή περισσότερα συνήθη αλλεργιογόνα. Έτσι, η ομάδα με επιμένοντα επεισόδια συρίττουσας αναπνοής υποδιαιρείται σε ατοπικά και μη ατοπικά παιδιά,. Θεωρείται μάλιστα ότι η ατοπία μπορεί να προβλέψει και την απάντηση στη θεραπεία, αν και για φάρμακα που έχουν εγκριθεί για την ηλικία αυτή, όπως εισπνεόμενα κορτικοστεροειδή μακράς δράσεως, β2 διεγέρτες και αντιλευκοτριενικοί παράγοντες, ελάχιστες μελέτες υπάρχουν.

Προσδοκάται ότι εάν ταυτοποιηθεί σωστά το παιδί που παρουσιάζει αυξημένο κίνδυνο για την ανάπτυξη άσθματος, η έγκαιρη χορήγηση αντιφλεγμονωδών φαρμάκων θα μπορεί να ελαττώσει τη νοσηρότητα και τη θνητότητα που συνοδεύει τη φλεγμονώδη νόσο των αεροφόρων (άσθμα).

Εκτός από την ατοπία (προβλεπτική αξία περίπου 50-60%), έχουν χρησιμοποιηθεί και διάφοροι παράμετροι αλλλεργικής/ασθματικής φλεγμονής όπως κυτταροκίνες και μεσολαβητές για την πρόγνωση και διάγνωση της ανάπτυξης άσθματος ή την παρακολούθηση της απάντησης στη θεραπεία, χωρίς ωστόσο, ιδιαίτερη επιτυχία.

Τα κυστεϊνιλικά λευκοτριένια (LTC4, LTD4, LTE4), είναι ισχυροί μεσολαβητές της αλλεργικής φλεγμονής. Παράγονται δε στα ηωσινόφιλα, μονοκύτταρα, μακροφάγα, σιτευτικά (μαστοκύτταρα), βασεόφιλα, και σε μικρότερο βαθμό στα ενδοθηλιακά κύτταρα και στα Τ-λεμφοκύτταρα. Είναι προϊόντα μεταβολισμού του αραχιδονικού οξέος με τη δράση της 5-λιποξυγενάσης. Το LTC4 μεταβολίζεται ενζυματικά σε LTD4 και κατόπιν σε LTE4 το οποίο αποβάλλεται με τα ούρα. Σε συνδυασμό με τις προσταγλαδίνες και τον παράγοντα ενεργοποίησης αιμοπεταλίων (PAF), τα λευκοτριένια εμπλέκονται στη παθογένεση των αλλεργικών νοσημάτων. Άτομα με άσθμα μπορεί να έχουν αυξημένη in vitro παραγωγή λευκοτριενίων μετά τη διέγερση με αλλεργιογόνα καθώς επίσης και υψηλότερα επίπεδα εκκρινόμενης ενδογενούς LTE4 στα ούρα σε σύγκριση με τα φυσιολογικά επίπεδα 5,6,7.

Τα λευκοτριένια διαμεσολαβούν σε ένα ευρύ φάσμα φλεγμονωδών διεργασιών και προκαλούν κυρίως ισχυρότατη βρογχοσύσπαση, αγγειοδιαστολή, αυξημένη διαβατότητα τριχοειδών, οίδημα καθώς και προσέλκυση ηωσινοφίλων.

1 ΑΣΘΜΑ

1.1 Ορισμός και Αξιολόγηση

Το άσθμα είναι μια συχνή χρόνια φλεγμονώδης νόσος των αεραγωγών που χαρακτηρίζεται από διακυμάνσεις με υποτροπιάζοντα συμπτώματα, αναστρέψιμη απόφραξη των αεραγωγών και βρογχόσπασμο. [219] Τα συμπτώματα περιλαμβάνουν συριγμό, βήχα, σφίξιμο στο στήθος και δύσπνοια [219,2].

Η θεραπεία των οξέων συμπτωμάτων γίνεται συνήθως με ένα εισπνεόμενο βήτα-2 ανταγωνιστή βραχείας δράσεως, (όπως η σαλβουταμόλη) [3]. Τα συμπτώματα μπορεί να προληφθούν με την αποφυγή των διαφόρων αλλεργιογόνων [4] και ερεθιστικών ουσιών καθώς και με την εισπνοή κορτικοστεροειδών [5]. Οι ανταγωνιστές λευκοτριενίων είναι λιγότερο αποτελεσματικοί από τα κορτικοστεροειδή και επομένως λιγότερο προτιμώμενοι [6].

Ο επιπολασμός του άσθματος έχει αυξηθεί σημαντικά από τη δεκαετία του 1970. Από το 2009 μέχρι σήμερα περίπου 300 εκατομμύρια άνθρωποι σε όλο τον κόσμο παρουσίασαν κρούσματα άσθματος [7]. Την ίδια χρονιά, το άσθμα ήταν η κύρια αιτία για 250.000 θανάτους παγκοσμίως. [7] Παρ 'όλα αυτά, με τον κατάλληλο έλεγχο του άσθματος και με την κατάλληλη θεραπεία, η πρόγνωση μπορεί να είναι αρκετά θετική για τον ασθενή.

Το άσθμα κλινικά όσον αφορά στη βαρύτητα των συμπτωμάτων, κατατάσσεται ανάλογα με τη συχνότητα τους, τον εκπνεόμενο όγκο σε 1 δευτερόλεπτο (FEV1) και τη μέγιστη εκπνευστική ροή [8]. Το άσθμα μπορεί επίσης να χαρακτηριστεί ως ατοπικό (εξωγενές) ή μη ατοπικό (ενδογενές) με κριτήριο αν τα συμπτώματα προκλήθηκαν από αλλεργιογόνα (ατοπικό) ή όχι (μη ατοπικό) [10].

Αν και το άσθμα έχει ταξινομηθεί με βάση τη σοβαρότητα (πίνακας-1), αυτή τη στιγμή δεν υπάρχει σαφής μέθοδος για την ταξινόμηση των διαφόρων φαινοτύπων του [11]. Η ανεύρεση τρόπων για τον εντοπισμό των υποομάδων που ανταποκρίνονται καλά σε διαφορετικά είδη θεραπειών είναι ο τρέχων κρίσιμος

στόχος της έρευνας πάνω στο άσθμα [11].

Πινακας-1: Κλινική ταξινόμηση του άσθματος ανάλογα με τη σοβαρότητα [8]

Η σοβαρότητα σε ασθενείς ≥ 12 ετών	**Συχνότητα συμπτωμάτων**	**Συμπτώματα τη νύχτα**	**% της προβλεπόμενης FEV1**	**FEV1 Μεταβλητότητα**	**Χρήση μεταβλητότητας βραχείας δράσης β2 ανταγωνιστών για τον έλεγχο των συμπτωμάτων (όχι για την πρόληψη της EIB)**
Διαλείπων	≤2 ανά εβδομάδα	≤2 ανά μήνα	≥80%	<20%	≤2 ημέρες ανά εβδομάδα
Ήπιο Επίμονο	≤2 ανά εβδομάδα αλλά όχι κάθε μέρα	3-4 ανά μήνα	≥80%	20-30%	>2 ημέρες ανά εβδομάδα αλλά όχι κάθε μέρα
Μέτριο Επίμονο	Κάθε μέρα	>1 ανά εβδομάδα αλλά όχι τη νύχτα	60-80%	>30%	Κάθε μέρα
Σοβαρό Επίμονο	Καθ' όλη τη διάρκεια της μέρας	Συχνά (7 ημέρες την εβδομάδα)	<60%	>30%	Αρκετές φορές την ημέρα

Αν και το άσθμα είναι μια χρόνια αποφρακτική κατάσταση, δε θεωρείται μέρος της χρόνιας αποφρακτικής πνευμονικής νόσου [9]. Σε αντίθεση με τις ασθένειες αυτές, η απόφραξη των αεραγωγών στο άσθμα είναι συνήθως αναστρέψιμη. Ωστόσο, όπως θα αναφέρουμε και στη συνέχεια αν η απόφραξη των αεραγωγών αφεθεί χωρίς θεραπεία, η χρόνια φλεγμονή των πνευμόνων κατά τη διάρκεια του άσθματος μπορεί να καταστεί αμετάκλητη εξαιτίας της αναδιαμόρφωσης των αεραγωγών [12] Σε αντίθεση με το εμφύσημα, το άσθμα πλήττει τους βρόγχους και όχι τις κυψελίδες [13].

1.2 Αιτίες Άσθματος

Το άσθμα είναι αποτέλεσμα γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων, οι οποίοι καθορίζουν την εμφάνισή του αλλά και την αντίδραση του ασθενούς στη

φαρμακευτική αγωγή [29,30]. Η αλληλεπίδραση αυτή είναι σύνθετη και δεν έχει κατανοηθεί πλήρως [31].

Μελετώντας τον επιπολασμό του άσθματος και τις συναφείς ασθένειες, όπως το έκζεμα και την αλλεργική ρινίτιδα, καταλήγουμε σε σημαντικά στοιχεία σχετικά με ορισμένους βασικούς παράγοντες κινδύνου [32]. Ο ισχυρότερος παράγοντας κινδύνου για την ανάπτυξη άσθματος είναι το ιστορικό ατοπικής νόσου στην οικογένεια ή στο άτομο [33]. Το ιστορικό αυτό αυξάνει την πιθανότητα αλλεργικής ρινίτιδας μέχρι και 5 φορές και τον κίνδυνο άσθματος κατά 3-4 φορές. [34]. Σε παιδιά ηλικίας μεταξύ 3-14 ετών οι παράγοντες που αυξάνουν την πιθανότητα να έχουν ή να αποκτήσουν άσθμα, είναι μια τουλάχιστον θετική δερματική δοκιμασία νυγμού ή η αυξημένη ειδική IgE ορού σε συνήθη αλλεργιογόνα [35].

Επειδή πολλές φορές το αλλεργικό άσθμα συσχετίζεται και με ευαισθησία σε διάφορα ενδοοικιακά αλλεργιογόνα και λόγω του δυτικού τρόπου ζωής μέσα στο σπίτι, οι περισσότερες έρευνες έχουν επικεντρωθεί στην αυξημένη έκθεση σε αυτά τα αλλεργιογόνα στην παιδική και τη βρεφική ηλικία καθώς πρόκειται για τα κύρια αιτία της αύξησης του άσθματος [37] [38]. Αρκετές μελέτες πρωτογενούς πρόληψης, που έχουν ως στόχο την επιθετική μείωση των αεροαλλεργιογόνων που υπάρχουν σε ένα σπίτι με βρέφη, παρουσιάζουν ανάμικτα αποτελέσματα. Η αυστηρή μείωση των αλλεργιογόνων ακάρεας της σκόνης, για παράδειγμα, μειώνει τον κίνδυνο αλλεργικής ευαισθητοποίησης στα ακάρεα της σκόνης, και πιθανώς μειώνει τον κίνδυνο εκδήλωσης άσθματος μέχρι την ηλικία των 8 ετών [39,40,41,42]. Ωστόσο, μελέτες έδειξαν ότι οι επιπτώσεις της έκθεσης βρεφών σε αλλεργιογόνα γάτας και σκύλου λειτούργησαν προστατευτικά κατά την έκθεση αυτών στη διάρκεια του πρώτου έτους της ζωής τους και βρέθηκε να μειώνεται ο κίνδυνος αλλεργικής ευαισθητοποίησης και ανάπτυξης άσθματος αργότερα σε αυτά [43,44,45].

Η προαναφερόμενη ασυνέπεια των δεδομένων έχει δώσει το έναυσμα για έρευνα σχετικά με τις επιπτώσεις της επικράτησης του άσθματος και σε άλλες πτυχές της δυτικής κοινωνίας,. Ένα σχετικά πρόσφατο εύρημα είναι η πιθανή συσχέτιση της ανάπτυξης άσθματος με την παχυσαρκία. Στο Ηνωμένο Βασίλειο και τις Ηνωμένες Πολιτείες, η αύξηση των κρουσμάτων άσθματος ακολουθήθηκε από μια σχεδόν ανάλογη άνοδο στην παιδική παχυσαρκία. [46,47,48,49]. Στην Ταϊβάν, τα αυξημένα

συμπτώματα της αλλεργίας και της υπέρ-αντιδραστικότητας των αεραγωγών συσχετίστηκαν με αύξηση 20% στο δείκτη μάζας σώματος [50] στα παιδιά. Πολλοί είναι οι παράγοντες που συνδέονται με την παχυσαρκία και που μπορεί να παίζουν ρόλο στην παθογένεια του άσθματος. Τέτοιοι παράγοντες περιλαμβάνουν τη μειωμένη αναπνευστική λειτουργία λόγω συσσώρευσης λιπώδους ιστού (λίπους) και το γεγονός ότι ο λιπώδης ιστός οδηγεί σε μια προ-φλεγμονώδη κατάσταση, η οποία έχει συσχετισθεί με το μη ηωσινοφιλικό άσθμα [51].

1.2.1 Περιβαλλοντολογικοί Παράγοντες και Άσθμα στα Βρέφη και στα Παιδιά

Είναι πολλοί οι περιβαλλοντικοί παράγοντες κινδύνου που έχουν συσχετισθεί με την ανάπτυξη άσθματος και τη δημιουργεία νοσηρότητας στα παιδιά.

Ο καπνός στον περιβάλλοντα χώρο, ιδιαίτερα το μητρικό κάπνισμα, σχετίζεται με υψηλό κίνδυνο ανάπτυξης άσθματος, συριγμό καθώς και με λοιμώξεις του αναπνευστικού. [54] Η πολύ χαμηλή ποιότητα του αέρα από την κυκλοφοριακή ρύπανση ή τα υψηλά επίπεδα όζοντος [55,56] έχουν επανειλημμένα συνδεθεί με αυξημένη εμφάνιση άσθματος.

Πρόσφατες μελέτες δείχνουν μια συσχέτιση μεταξύ της έκθεσης σε ατμοσφαιρικούς ρύπους (από την κυκλοφορία για παράδειγμα) και το παιδικό άσθμα [58]. Η εν λόγω έρευνα διαπιστώνει ότι τόσο η εμφάνιση της νόσου όσο και η επιδείνωση του άσθματος στην παιδική ηλικία επηρεάζονται από τους ατμοσφαιρικούς ρύπους.
Η έκθεση σε υψηλά επίπεδα ενδοτοξίνης μπορεί επίσης να συμβάλλει στον κίνδυνο ανάπτυξης άσθματος [59].

Επιπροσθέτως, οι ιογενείς λοιμώξεις του αναπνευστικού συστήματος δεν είναι μόνο ένας από τους κορυφαίους ενεργοποιητές μιας έξαρσης, αλλά μπορούν να αυξήσουν τον κίνδυνο για την ανάπτυξη άσθματος στον άνθρωπο, ιδίως στα μικρά παιδιά. [9,33]

Τα προηγούμενα χρόνια είχε επικρατήσει η άποψη ότι η ψυχολογική πίεση μπορεί να προκαλέσει άσθμα αλλά μόνο τις τελευταίες δεκαετίες βρέθηκαν πειστικά

επιστημονικά στοιχεία για τη τεκμηρίωση αυτής της υπόθεσης. Θεωρείται ότι η ψυχολογική πίεση επηρεάζει το ανοσοποιητικό σύστημα με αποτέλεσμα την αυξημένη απαντητικότητα των φλεγμενόντων αεραγωγών σε αλλεργιογόνα και ερεθιστικές ουσίες. [56,60]

Επίσης η χρήση αντιβιοτικών στην πρώιμη παιδική ηλικία έχει συνδεθεί και αυτή με την ανάπτυξη άσθματος. Πιστεύεται ότι τα αντιβιοτικά καθιστούν τα ατοπικά παιδιά ευαίσθητα στην ανάπτυξη του άσθματος, διότι τροποποιούν τη χλωρίδα του εντέρου [61]. Οι συνθήκες προσωπικής υγιεινής του παιδιού, όπως θα αναφερθεί και στη συνέχεια, μπορούν να επηρεάσουν αρνητικά ή θετικά τη δημιουργία άσθματος αλλά και άλλων αλλεργικών ασθενειών όπως υποστηρίζεται από επιδημιολογικά δεδομένα [62]. Όλοι αυτοί οι παράγοντες, μπορεί να επηρεάσουν αρνητικά την έκθεση σε ωφέλιμα βακτήρια και σε άλλους διαμορφωτές του ανοσοποιητικού συστήματος που είναι σημαντικοί για την σωστή ανάπτυξη του παιδιού και συνεπώς μπορεί να προκαλέσουν αυξημένο κίνδυνο για τη δημιουργία άσθματος καθώς και διαφόρων τύπων αλλεργιών.

Η καισαρική τομή έχει επίσης συνδεθεί με το άσθμα, πιθανώς λόγω των τροποποιήσεων στο ανοσοποιητικό σύστημα (όπως περιγράφεται από την υπόθεση της υγιεινής) [63].

Οι λοιμώξεις του αναπνευστικού από διάφορους ρινοϊούς, Chlamydia pneumoniae και κοκκύτη Bordetella συσχετίζονται κυρίως με εξάρσεις άσθματος [64].

Τα φάρμακα που περιέχουν β-αναστολείς, όπως είναι η μετοπρολόλη μπορούν να προκαλέσουν άσθμα σε παιδιά που έχουν αυξημένο κίνδυνο [65] .

Μελέτες παρατήρησης έχουν διαπιστώσει ότι η εσωτερική έκθεση σε πτητικές οργανικές ενώσεις (VOCs) μπορεί να αποτελέσει το έναυσμα για τη δημιουργία άσθματος, ωστόσο πειραματικές μελέτες που έχουν γίνει δεν έχουν επιβεβαιώσει αυτές τις παρατηρήσεις μέχρι σήμερα. [66]

1.2.2 Γενετικοί Παράγοντες

Υπάρχουν πάνω από 100 γονίδια τα οποία έχουν συνδεθεί με το άσθμα σε μία τουλάχιστον γενετική μελέτη συσχέτισης. [67] Ωστόσο, τέτοιες μελέτες πρέπει να επαναλαμβάνονται για να εξασφαλιστεί ότι τα αποτελέσματα δεν είναι τυχαία αλλά αντιθέτως αποτελούν αξιόπιστες ενδείξεις.

Στα τέλη του 2005, 25 γονίδια είχαν συσχετιστεί με το άσθμα σε έξι ή περισσότερες χωριστές πληθυσμιακές ομάδες: [67]

- GSTM1
- IL10
- CTLA-4
- SPINK5
- LTC4S
- HLA-DQB1
- TNF
- FCER1B
- IL4R
- ADAM33
- LTA
- GRPA
- NOD1
- CC16
- GSTP1
- STAT6
- NOS1
- CCL5
- TBXA2R
- TGFB1
- IL4
- IL13
- CD14
- ADRB2
- HLA-DRB1

Πολλά από αυτά τα γονίδια σχετίζονται με το ανοσοποιητικό σύστημα ή με την αυξομείωση της φλεγμονής. Ωστόσο, δεν υπήρξε αναπαραγωγή των αποτελεσμάτων μεταξύ όλων των πληθυσμών που είχαν δοκιμαστεί, ακόμη και μεταξύ των εν λόγω γονιδίων που σχετίζονται με το άσθμα [67]. Αυτό υποδηλώνει ότι τα συγκεκριμένα γονίδια δε σχετίζονται απαραίτητα με το άσθμα κάτω από όλες τις συνθήκες, και ότι απαιτείται περαιτέρω έρευνα για να διερευνηθούν οι πολύπλοκες αλληλεπιδράσεις που προκαλεί τελικά το άσθμα.

Η επικρατέστερη θεωρία είναι ότι το άσθμα αποτελεί ένα σύνδρομο και ότι διάφορα γονίδια θα μπορούσαν να παίζουν ρόλο σε συγκεκριμένους φαινότυπους άσθματος. Για παράδειγμα, μια ομάδα γενετικών διαφορών (σημειακών μεταλλάξεων στο 17q21) συσχετίστηκε με το άσθμα που αναπτύσσεται στην παιδική ηλικία [68].

1.2.3 Αλληλεπίδραση Περιβάλλοντος-Γονιδίων

Έρευνες δείχνουν ότι ορισμένες γενετικές ποικιλομορφίες μπορούν να προκαλέσουν άσθμα μόνο όταν αυτές συνδυάζονται με συγκεκριμένες περιβαλλοντικές εκθέσεις, διαφορετικά δεν μπορεί να αποτελούν παράγοντες κινδύνου για ανάπτυξη άσθματος [29].

Ο γονότυπος CD14 μονονουκλεοτιδικός πολυμορφισμός (SNP) C-159T και η έκθεση σε ενδοτοξίνη (ένα βακτηριδιακό προϊόν) είναι ένα καλό παράδειγμα αλληλεπίδρασης γονιδίων-περιβάλλοντος που σχετίζεται με το άσθμα. Η έκθεση στην ενδοτοξίνη ποικίλλει από άτομο σε άτομο και μπορεί να προέρχεται από διαφορετικές περιβαλλοντικές πηγές, συμπεριλαμβανομένου του καπνίσματος, των σκυλιών, και της ζωής στα αγροκτήματα. Οι ερευνητές έχουν διαπιστώσει ότι ο κίνδυνος άσθματος μεταβάλλεται με βάση τον γονότυπο ενός ατόμου στο CD14 C-159T και τα επίπεδα έκθεσης αυτού σε ενδοτοξίνη. [69].

1.2.4 Η Υπόθεση της Υγιεινής

Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, μια θεωρία για τα αίτια αύξησης του επιπολασμού του άσθματος σε όλο τον κόσμο είναι η λεγόμενη «υπόθεση της υγιεινής»[9]. Η υπόθεση αναφέρει ότι η αύξηση του επιπολασμού των αλλεργιών και του άσθματος αποτελεί ένα άμεσο και ακούσιο αποτέλεσμα της επιτυχίας των σύγχρονων πρακτικών υγιεινής στην πρόληψη των λοιμώξεων της παιδικής ηλικίας. [72] Τα παιδιά που ζουν σε λιγότερο υγιεινό περιβάλλον (για παράδειγμα τα παιδιά που ζούσαν στην Ανατολική Γερμανία σε σχέση με τη Δυτική Γερμανία [73], ή οι πολύτεκνες οικογένειες), [74,75,76] τείνουν να παρουσιάζουν λιγότερα περιστατικά άσθματος και αλλεργικών παθήσεων. Αυτό φαίνεται να έρχεται σε αντίθεση με τη λογική ότι οι ιοί είναι συχνά οι αιτιολογικοί παράγοντες στην επιδείνωση του άσθματος. [78] [79] [80]

Μελέτες μέχρι στιγμής έχουν δείξει ότι οι λοιμώξεις του ανώτερου αναπνευστικού δρουν προστατευτικά ενάντια στον κίνδυνο άσθματος. Σε αντίθεση, οι λοιμώξεις της κατώτερης αναπνευστικής οδού τείνουν να αυξάνουν τον κίνδυνο άσθματος [82].

1.3 Διάγνωση του Άσθματος

Επί του παρόντος δεν υπάρχει μια αξιόπιστη φυσιολογική, ανοσολογική ή ιστολογική δοκιμασία για τη διάγνωση του άσθματος. Η διάγνωση γίνεται συνήθως με βάση το υπόστρωμα των συμπτωμάτων (απόφραξη αεραγωγών και υπεραντιδραστικότητα) ή την ανταπόκριση στη θεραπεία (μερική ή πλήρης αναστρεψιμότητα) με την πάροδο

του χρόνου [88].

Η βρετανική Εταιρεία Θώρακος προτείνει ως διαγνωστικό κριτήριο του άσθματος την ανταπόκριση στη θεραπεία. Εάν ο ασθενής ανταποκρίνεται στην αντιασθματική αγωγή, τότε το γεγονός αυτό θεωρείται ως μια επιβεβαίωση της διάγνωσης του άσθματος. Η μετρούμενη απόκριση είναι η αναστρεψιμότητα της απόφραξης των αεραγωγών μετά τη θεραπεία. Η ροή του αέρα στους αεραγωγούς μετράται με το ροόμετρο ή το σπιρόμετρο και για την αξιολόγησή της χρησιμοποιούνται τα ακόλουθα διαγνωστικά κριτήρια: [89]

- ≥ 20% διαφορά στα συμπτώματα, για τουλάχιστον τρεις μέρες την εβδομάδα για τουλάχιστον 2 εβδομάδες.

- ≥ 20% βελτίωση της μέγιστης εκπνευστικής ροής μετά τη θεραπεία μετά από τη χορήγηση:
  * εισπνεόμενου β-ανταγωνιστή για 10 λεπτά (π.χ. σαλβουταμόλη)
  * εισπνεόμενων κορτικοστεροειδών για 6 εβδομάδες (π.χ. beclometasone)
  * 30 mg πρεδνιζολόνης την ημέρα, για 14 ημέρες.

- ≥ 20% μείωση στη μέγιστη εκπνευστική ροή μετά από έκθεση σε ένα εκλυτικό αίτιο, όπως ψυχρός αέρα ή άσκηση.

Σε αντίθεση, το US National Asthma Education and Prevention Program (NAEPP) χρησιμοποιεί την προσέγγιση «κλινικά συμπτώματα» [90]. Σύμφωνα με την προσέγγιση αυτή, η διάγνωση του άσθματος ξεκινά με το εάν κάποιος από τους παρακάτω δείκτες είναι παρών ή όχι [90] [91].
Αν και οι δείκτες από μόνοι τους δεν επαρκούν για να υποστηρίξουν τη διάγνωση του άσθματος, η παρουσία πολλαπλών βασικών δεικτών αυξάνει την πιθανότητα της σωστής διάγνωσης του άσθματος [90]. Η σπιρομέτρηση είναι απαραίτητη για να πραγματοποιηθεί η διάγνωση του άσθματος [90].

- Ο συριγμός, οι ήχοι σφυρίγματος υψηλής συχνότητας κατά την εκπνοή -ιδιαίτερα στα παιδιά. (Η έλλειψη συριγμού και μια κανονική εξέταση στο στήθος δεν αποκλείουν το άσθμα.)

- Ιστορικό οποιουδήποτε από τα ακόλουθα:
  - ο Βήχας, εντονότερος ιδίως τη νύχτα
  - ο Περιοδικός συριγμός
  - ο Επαναλαμβανόμενη δυσκολία στην αναπνοή
  - ο Περιοδικό σφίξιμο στο στήθος

- Τα συμπτώματα εμφανίζονται ή επιδεινώνονται κατά την:
  - ο Άσκηση
  - ο Ιογενή λοίμωξη
  - ο Επαφή με ζώα, με τη γούνα ή τα μαλλιά
  - ο Επαφή με ακάρεα(σκόνη) στο σπίτι (σε στρώματα, μαξιλάρια, επικαλυμμένα έπιπλα, χαλιά)
  - ο Επαφή με καπνό
  - ο Επαφή με γύρη
  - ο Αλλαγές στις καιρικές συνθήκες
  - ο Ισχυρή συναισθηματική έκφραση (γέλιο ή κλάμα σκληρό)
  - ο Επαφή με χημικά
  - ο Κατά τη διάρκεια της εμμήνου ρύσεως

- Τα συμπτώματα εμφανίζονται ή επιδεινώνονται τη νύχτα, ξυπνώντας τον ασθενή.

Οι τελευταίες οδηγίες από το U.S. National Asthma Education and Prevention Program (NAEPP) προτείνουν σπιρομέτρηση κατά τη στιγμή της αρχικής διάγνωσης, μετά την έναρξη της θεραπείας και αφού τα συμπτώματα έχουν σταθεροποιηθεί, κατά την επιδείνωση των συμπτωμάτων καθώς και κάθε 1 ή 2 έτη σε τακτική βάση. [92]

1.4 Η Θεραπεία του Άσθματος

Τα φάρμακα που χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία του άσθματος χωρίζονται σε δύο γενικές κατηγορίες: Τα ταχείας δράσης φάρμακα που χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία έντονων και άμεσων συμπτωμάτων και τα φάρμακα μακροπρόθεσμης δράσης που χρησιμοποιούνται για την πρόληψη εξάρσεων και περαιτέρω επιδείνωσης [103].

1.4.1 Φάρμακα Ταχείας Δράσης

- Οι ταχείας δράσεως β2-αδρενεργικοί ανταγωνιστές (SABA) όπως η σαλβουταμόλη (αλβουτερόλη USAN), αποτελούν τη θεραπεία πρώτης γραμμής για την ανακούφιση των συμπτωμάτων του άσθματος [3].
- Τα αντιχολινεργικά φάρμακα όπως το βρωμιούχο ιπρατρόπιο παρέχουν ένα επιπλέον όφελος, όταν χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό με το SABA σε άτομα με μέτρια ή σοβαρά συμπτώματα. [3] Τα αντιχολινεργικά βρογχοδιασταλτικά συνιστώνται επίσης σε περιπτώσεις όπου ένα άτομο δεν μπορεί να ανεχτεί τη θεραπεία με SABA [9].
- Οι παλαιότεροι, λιγότερο επιλεκτικοί αδρενεργικοί ανταγωνιστές, όπως η εισπνοή επινεφρινών, έχουν παρόμοια αποτελεσματικότητα με το SABA. [104] Ωστόσο, δε συνιστώνται πλέον λόγω αναφορών σχετικά με υπερβολική καρδιακή διέγερση. [105]

1.4.2 Φάρμακα Μακροπρόθεσμου Ελέγχου

- Τα γλυκοκορτικοειδή συνιστούν την πιο αποτελεσματική διαθέσιμη θεραπεία για το μακροχρόνιο έλεγχο του ασθενούς [106]. Χρησιμοποιούνται συνήθως οι εισπνεόμενες μορφές, εκτός από περιπτώσεις σοβαρών επίμονων ασθενειών, στις οποίες μπορεί να απαιτηθεί η λήψη στεροειδών από το στόμα. [106] Οι εισπνεόμενες φόρμουλες του φαρμάκου, μπορούν να χρησιμοποιηθούν μία ή δύο φορές ημερησίως, ανάλογα με τη σοβαρότητα των συμπτωμάτων.[107]

- Οι μακράς δράσης βήτα-αδρενεργικοί ανταγωνιστές (LABA) έχουν αποτέλεσμα που διαρκεί τουλάχιστον 12 ώρες. Ωστόσο, πρέπει να χρησιμοποιούνται μόνο σε συνδυασμό με στεροειδή, λόγω του αυξημένου κινδύνου σοβαρών συμπτωμάτων. [108] [109] [110]

- Οι ανταγωνιστές λευκοτριενίων, όπως θα αναλυθεί λεπτομερώς στη συνέχεια (montelucast) αποτελούν μια εναλλακτική λύση των εισπνεόμενων γλυκοκορτικοειδών ή μπορούν να χρησιμοποιηθούν και παράλληλα με αυτά [106].

- Οι σταθεροποιητές κυττάρων Mast (όπως το νάτριο cromolyn) είναι μια επιπλέον εναλλακτική αντιμετώπιση αλλά δεν προτιμάται [106].

1.4.3 Τρόποι Χορήγησης

Τα φάρμακα συνήθως χορηγούνται μέσω δοσιμετρικών συσκευών εισπνοής (MDI), σε συνδυασμό με ένα αεροθάλαμο ή μέσω συσκευής εισπνοών ξηράς κόνεως. Ο αεροθάλαμος είναι ένας πλαστικός κύλινδρος που αναμιγνύει το φάρμακο με τον αέρα, γεγονός που καθιστά ευκολότερη τη λήψη της πλήρους δόσης του φαρμάκου. Επίσης μπορεί να χρησιμοποιηθεί και ένας νεφελοποιητής. Οι νεφελοποιητές και οι αεροθάλαμοι είναι εξίσου αποτελεσματικοί σε άτομα με ήπια έως μέτρια συμπτωματολογία, ωστόσο δεν υπάρχουν επαρκή αποδεικτικά στοιχεία για να καθοριστεί εάν είναι το ίδιο αποτελεσματικά και σε άτομα με σοβαρή συμπτωματολογία. [112]

1.4.4 Ασφάλεια και Αρνητικές Επιπτώσεις.

Η μακροχρόνια χρήση των γλυκοκορτικοειδών μπορεί να επιφέρει ορισμένες δυσμενείς επιπτώσεις. Για παράδειγμα, η συχνότητα του καταρράκτη είναι αυξημένη στα άτομα που υποβάλλονται σε θεραπεία για το άσθμα με κορτικοστεροειδή, λόγω της τροποποίησης που γίνεται στα επιθηλιακά κύτταρα του φακού. [113] Η συχνότητα εμφάνισης της οστεοπόρωσης είναι επίσης αυξημένη, λόγω των αλλαγών στην οστιαία αναδιαμόρφωση. [114,115]

2 ΛΕΥΚΟΤΡΙΕΝΙΑ

Τα λευκοτριένια αποτελούν προϊόντα του μεταβολισμού του αραχιδονικού οξέος. Πρόκειται για εκπληκτικά ευέλικτες ενώσεις, οι οποίες συμμετέχουν σε μια εξαιρετική ποικιλία φυσιολογικών διεργασιών, όπως είναι η διατήρηση της αρτηριακής πίεσης και της θερμοκρασίας του σώματος, προστατεύοντας τα όργανα από βλάβες που προκαλούνται έπειτα από ασθένειες, τραύματα και άγχος.

2.1 Ονομασία, τύποι και κατασκευή

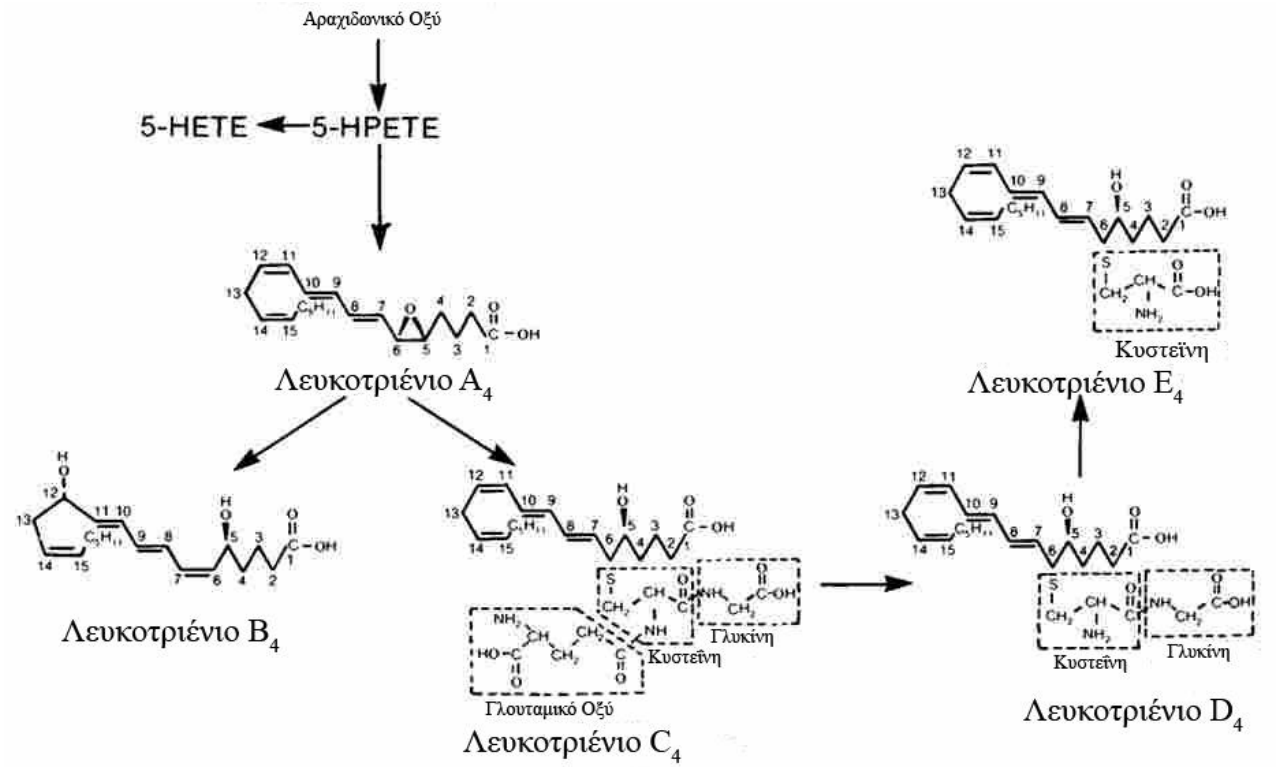
Το όνομα, "λευκοτριένια", επινοήθηκε από τον Samuelsson [161] για να περιγράψει μια οικογένεια μορίων, η καθεμία από τις οποίες περιέχει τρεις συζευγμένους διπλούς δεσμούς. Αυτά τα μόρια παράγονται στα λευκοκύτταρα από τη μετατροπή του αραχιδονικού οξέος μέσω του εξαρτημένου από το ασβέστιο ενζύμου 5-λιποξυγενάση. Υπάρχουν πολλοί τύποι λευκοτριενίων: LTA4, LTB4, LTC4, LTD4, LTE4 και LTF4.

Τα LTC4, LTD4 και LTE4 καλούνται συχνά και κυστεϊνιλικά λευκοτριένια λόγω της παρουσίας του αμινοξέος "κυστεΐνη" στη δομή τους. Τα κυστεϊνιλικά λευκοτριένια μαζί, συνθέτουν την ουσία αργής-αντίδρασης της αναφυλαξίας (SRS-A).

Οι ονομασίες των διαφόρων τύπων των λευκοτριενίων υποδεικνύουν τη σειρά της ανακάλυψής τους. Τα λευκοτριένια Α (LTA), ως εκ τούτου, ήταν τα πρώτα που περιγράφηκαν. Όλα ξεκίνησαν με τη μελέτη του Samuelsson των προϊόντων που παράγονται, όταν το αραχιδονικό οξύ υποβάλλεται σε ενζυματική θεραπεία με διάφορες λιποξυγενάσες. Ο εν λόγω ερευνητής βρήκε ότι τα πολυμορφοπύρηνα λευκοκύτταρα στο κουνέλι (PMNs) μεταβολίζουν την αραχιδονάση σε μια οικογένεια του διυδρόξυ οξέος που δείχνει τριπλή φασματοφωτομετρική απορρόφηση στις κορυφές 259, 269, και 279 nm. Αυτές οι τρεις κορυφές ήταν που πρότειναν την ύπαρξη τριών συζευγμένων διπλών δεσμών στα μόρια. Ορισμένα από τα προϊόντα της αραχιδονικής αποδόμησης, που προέρχονται από τα PMN, έχουν υδροξυλικές ομάδες στις θέσεις C-5 και C-12, ενώ άλλα έχουν αντικατασταθεί στις θέσεις C-5 και C-6. Ισοτοπικές μελέτες έδειξαν ότι το μόνο υδροξύλιο που προέρχεται από το ατμοσφαιρικό οξυγόνο ήταν αυτό στη θέση C-5, ενώ όλα τα υπόλοιπα είχαν προέλθει από το νερό.

Το φαινόμενο αυτό οδήγησε στην πρόταση ότι όλοι οι μεταβολίτες είχαν μία και μόνο 5,6-epoxy-eicosatetraenoic όξινη πρόδρομη ουσία, η οποία ορίζεται ως λευκοτριένιο A (LTA4) [167]. Το LTA4 στη συνέχεια απομονώθηκε, και η στερεοχημεία του επιβεβαιώθηκε με συνολική σύνθεση. Οι δομές των πρωτοβάθμιων λευκοτριενίων, LTA4, LTB4, LTC4, LTD4, και LTE4 δίδονται στο σχήμα-1. Ο αριθμητικός δείκτης τέσσερα στην κάθε ονομασία υποδηλώνει την παρουσία των τεσσάρων διπλών δεσμών στο μόριο.

Σχήμα-1: Δομές των πρωτοβάθμιων λευκοτριενίων



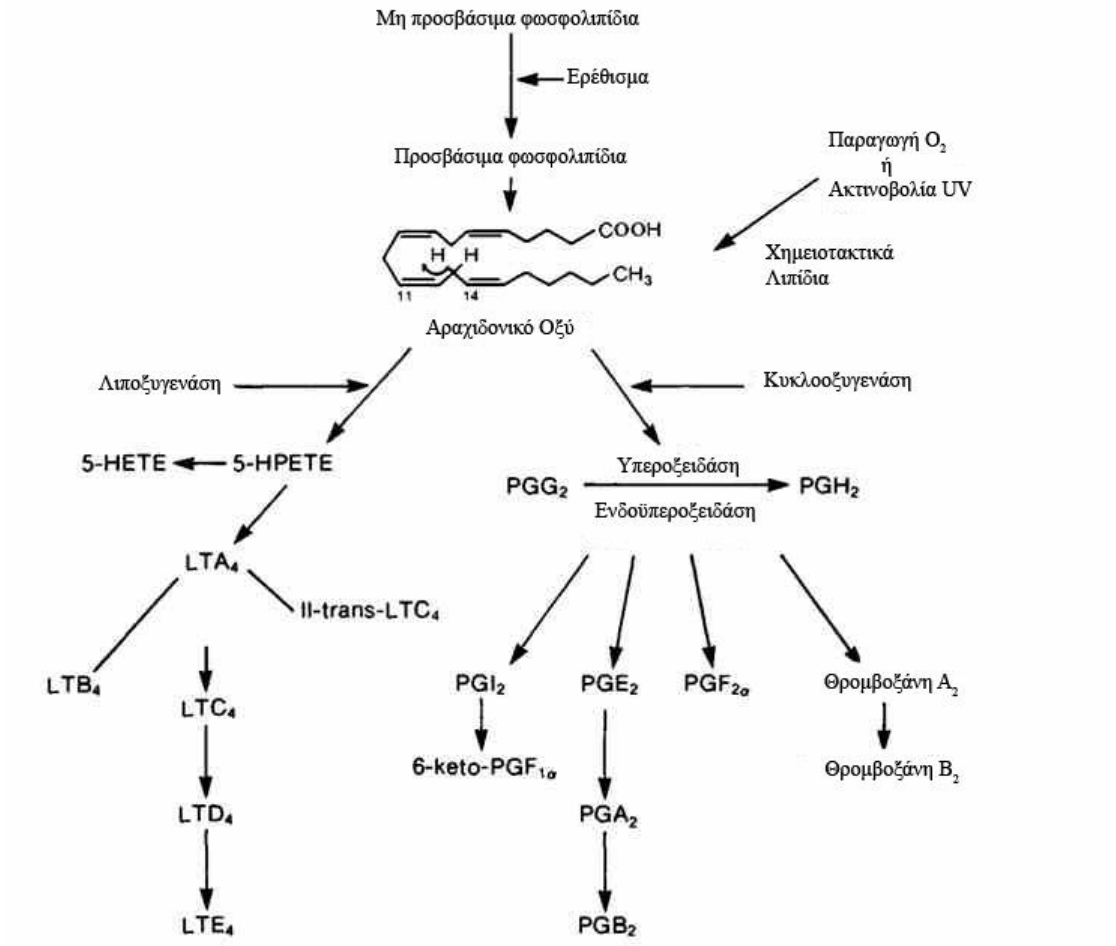
2.2 Σύνθεση των λευκοτριενίων μέσω της λιποξυγενάσης

Ο ενζυμικός μεταβολισμός του αραχιδονικού οξέος από την 5-λιποξυγενάση έχει ως αποτέλεσμα το σχηματισμό των 5-hydroperoxyeicosatetraenoic οξέων (5-HPETE). Στο σχήμα-2 φαίνεται ένα κλασικό παράδειγμα, το 5-HPETE (υποκατάσταση στη θέση C-5), ωστόσο δυνατές είναι οι υποκαταστάσεις που καταλύονται και από άλλες

λιποξυγενάσες στα σημεία C-8, 9, 11, 12, και 15. Τα PMNs είναι ικανά να σχηματίσουν HPETEs με υποκαταστάσεις σε καθεμία από τις πρώτες πέντε θέσεις ταυτόχρονα [168], ενώ άλλα κύτταρα, όπως τα αιμοπετάλια φαίνεται να κατέχουν μόνο το ένζυμο 12-λιποξυγενάση, και εμφανίζονται να παράγουν μόνο 12-HPETE [169]. Τα HPETEs είναι υδροϋπεροξείδια, τα οποία μπορούν να μεταβολίζονται είτε στις ανάλογες αλκοόλες τους, μέσω υπεροξειδάσης, είτε σε λευκοτριένια. Τα παράγωγα αλκοόλης των HPETEs φαίνεται να έχουν ισχυρή, αν και χωρίς ανοσοποιητικότητα, δράση στα κύτταρα υποδοχής των θηλαστικών. Για παράδειγμα, η αλκοόλη που σχηματίζεται από το 5-HPETE, είναι ένας ισχυρός διεγέρτης για την απελευθέρωση ορμόνης γοναδοεκλυτίνης από καλλιεργημένα κύτταρα της υπόφυσης σε αρουραίους [170]. Εναλλακτικά, το 5-HPETE, μεταβολίζεται από το ένζυμο LTA4-συνθετάση σε C-5,6-transepoxide με τρεις συζευγμένους (7,9-trans,II-cis) ολεφινικούς δεσμούς και ένα τέταρτο μη συζευγμένο διπλό δεσμό στη θέση C-14. Αυτή η ένωση είναι η LTA4.

Δύο ενζυμικές διαδρομές έχουν περιγραφεί στο μεταβολισμό της LTA4: Η πρώτη είναι αυτή της LTA4-υδρολάσης, η οποία οδηγεί στην LTB4 (5S, 12R-διυδροξυ 6,14-cis8,10-transeicosatetraenoic οξύ). Η δεύτερη διαδρομή είναι αυτή της γλουταθειόνης-S- τρανσφεράσης, η οποία οδηγεί διαδοχικά στα τρία είδη λευκοτριενίων, LTC4, LTD4 και LTE4, και η οποία αρχικά είχε περιγραφεί ως μια ουσία αργής αντίδρασης της αναφυλαξίας (SRS-A). Η διαδρομή που οδηγεί στην σύνθεση του SRS-A παράγει 5Shydroxy,6R-S-glutathionyl-7,9-trans,l1,14-cis eicosatetraenoic οξύ (LTC4) από LTA4 με το άνοιγμα του εποξειδίου με τη γλουταθειόνη. Το LTC4 στη συνέχεια μεταβολίζεται για να διαμορφώσει ένα 6R-S-cysteinylglycine ανάλογο (LTD4) με την αφαίρεση του γλουταμινικού οξέος από το πεπτίδιο, και στη συνέχεια ένα 6RS-cysteinyl ανάλογο (LTE4) με την αφαίρεση της γλυκίνης.

Σχήμα-2:Κυριότεροι μεταβολιτές του Αραχιδονικού Οξέως



3 Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΑΝΤΙΛΕΥΚΟΤΡΙΕΝΙΩΝ ΣΤΗΝ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΟΥ ΑΣΘΜΑΤΟΣ

Τα λευκοτριένια, όπως έχει προαναφερθεί, αποτελούν προφλεγμονώδεις μεσολαβητές με ιδιαίτερη σημασία πάνω στη φυσιολογία του άσθματος. Ελευθερώνονται από πολλά είδη κυττάρων ιδιαίτερα μετά από έκθεση σε αλλεργιογόνα και προκαλούν μια ισχυρή σύσπαση του βρογχικού λείου μυός με αποτέλεσμα να μειώνεται το διαμέτρημα των αεραγωγών. Επίσης προκαλούν έγχυση του πλάσματος από τα αγγεία και αυξανόμενη παραγωγή βλέννας, με αποτέλεσμα τη δημιουργία οιδήματος και την περαιτέρω απόφραξη των αεραγωγών. Για τον παραπάνω λόγο, τα λευκοτριένια αποτέλεσαν από την αρχή το αντικείμενο βασικής έρευνας τόσο πάνω στο άσθμα όσο και σε άλλες παθήσεις των αεραγωγών.

Μέχρι σήμερα έχει παραχθεί ένας σημαντικός αριθμός από αντιλευκοτριενικούς παράγοντες. Τρεις κυρίως από τους αντιλευκοτριενικούς παράγοντες χρησιμοποιούνται στην κλινική πράξη στα παιδιά: Η Zafirlucast και η Montelucast, που ανταγωνίζονται για τον υποδοχέα των λευκοτριενίων και η Zileuton, η οποία αναστέλλει τη σύνθεση των λευκοτριενίων (Πίνακας-2). Η Ζαφιρλουκάστη ήταν το πρώτο αντιλευκοτριενικό φάρμακο το οποίο εγκρίθηκε στην Ευρώπη αλλά δεν συνταγογραφείται πλέον συχνά λόγω της απαιτούμενης διπλής χορήγησής του την ημέρα και λόγω κάποιων αντιδράσεων με συγκεκριμένες κατηγορίες τροφίμων και φαρμάκων [196, 197].

Η Μοντελουκάστη είναι ο συχνότερος συνταγογραφούμενος ανταγωνιστής των υποδοχέων CysLT1 στην Ευρώπη και τις ΗΠΑ, ενώ η Πρανλουκάστη διατίθεται μόνο στην Ιαπωνία και σε άλλες ασιατικές χώρες [195].

Το γεγονός ότι οι ειδικοί ανταγωνιστές CysLT1 και οι αναστολείς 5-LO έχουν παρόμοια αποτελεσματικότητα σε βραχυπρόθεσμα μοντέλα θεραπείας και πρόκλησης, δείχνει ότι οι περισσότερες από τις αντιασθματικές επιδράσεις των αντιλευκοτριενίων οφείλονται στον ανταγωνισμό των CysLT1[197].

Η χρήση του Zileuton είναι περιορισμένη λόγω αφενός της απαραίτητης χορήγησής της 4 φορές την ημέρα και αφετέρου λόγω της περιορισμένης, αλλά πιθανής αύξησης που προκαλεί στα ηπατικά ένζυμα, κάτι που δε συμβαίνει με τη Μοντελουκάστη.

Οι ανταγωνιστές των CysLT1 έχουν βρεθεί ότι βελτιώνουν τα συμπτώματα και τη λειτουργία των πνευμόνων. Επίσης μειώνουν σημαντικά τον ρυθμό επιδείνωσης και τη χρήση β2 βρογχοδιασταλτικών σε ενήλικες και παιδιά με άσθμα διαφορετικού βαθμού σοβαρότητας [196-198]. Επιπρόσθετα παρέχουν ταχεία βελτίωση στον έλεγχο του άσθματος, αν και τα εισπνεόμενα γλυκοκορτικοειδή σε μικρή δόση είναι γενικά πιο αποτελεσματικά σε ασθενείς με επίμονο άσθμα [199].

Όταν προστεθεί στην καθιερωμένη θεραπεία σε ασθενείς με εξάρσεις άσθματος, η ενδοφλέβια χορήγηση (7mg) Μοντελουκάστης βελτιώνει άμεσα και σημαντικά την απόφραξη των αεραγωγών μέσα στα πρώτα 10 λεπτά και για διάρκεια τουλάχιστον 2 ωρών, υποδεικνύοντας ένα πιθανό θεραπευτικό ρόλο που μπορεί να έχουν οι υποδοχείς CysLT1 στο οξύ άσθμα [200,201].

Πινακας-2: Βασικά φαρμακολογικά χαρακτηριστικά των Αντιλευκοτριενίων [194]

Drug	Mechanism of action	Indication	Benefits	Side effects	Dose	Comments
Montelukast	$CysLT_1$ receptor antagonism	asthma, allergic rhinitis	as monotherapy in children with mild persistent asthma; particularly effective in exercise-induced asthma, ASA, allergen-induced asthma; as add-on therapy with ICS	headache, abdominal pain; possible association with Churg-Strauss syndrome	adults: 10 mg o.d. children 6 to 14 years of age: 5 mg o.d. children 2 to 5 years of age: 4 mg o.d.	most widely prescribed $CysLT_1$ receptor antagonist
Pranlukast	$CysLT_1$ receptor antagonism	asthma, allergic rhinitis	particularly effective in exercise-induced asthma, ASA, allergen-induced asthma; as add-on therapy with ICS	abdominal pain, liver enzymes elevations; possible association with Churg-Strauss syndrome	adults: 225 mg b.i.d.	only marketed in Asia
Zafirlukast	$CysLT_1$ receptor antagonism	asthma	particularly effective in exercise-induced asthma, ASA, allergen-induced asthma; as add-on therapy with ICS	headache, abdominal pain, liver enzymes elevations; possible association with Churg-Strauss syndrome	children ≥ 12 years of age and adults: 20 mg b.i.d. children 5 to 11 years of age: 10 mg b.i.d.	first $CysLT_1$ receptor antagonist to be approved; food and drug interactions
Zileuton	5-LO inhibition	asthma	particularly effective in exercise-induced asthma and ASA	headache, abdominal pain; liver enzymes elevations (5%)	adults and children 12 years of age and older: 600 mg q.i.d.	virtually abandoned because of poor compliance and hepatic toxicity

Οι ανταγωνιστές του υποδοχέα CysLT1 είναι αποτελεσματικοί στη μείωση της αλλεργικής απόκρισης, είτε αυτή είναι πρώιμη είτε όψιμη [202,203]. Επιπρόσθετα, η θεραπεία με τη χρήση των ανταγωνιστών των υποδοχέων (CysLT1) μειώνει τον χρόνο ανάρρωσης από τη μέγιστη μείωση του FEV1 έναντι του χρόνου μετά την άσκηση [204]. Τα αποτελέσματα γίνονται εμφανή μόλις 2 ώρες μετά την εφάπαξ λήψη δια στόματος Μοντελουκάστης δόσης 10mg και μπορεί να διατηρηθούν μέχρι και 24 ώρες [205,206].

3.1 Τρόποι μείωσης των επιπτώσεων από τα Λευκοτριένια

Εν μέρει λόγω της ισχυρής τους δράσης ως βρογχοσυσπαστές, τα λευκοτριένια αναγνωρίζονται ως σημαντικοί μεσολαβητές της φλεγμονής στο άσθμα. Για τη μείωση αυτών των επιπτώσεων έχουν ληφθεί κυρίως δύο βασικές φαρμακολογικές προσεγγίσεις: Η πρώτη είναι η προσπάθεια αποκλεισμού των υποδοχέων στα λευκοτριένια και η δεύτερη είναι η διακοπή της βιοσύνθεσής τους.

Όπως έχει αναφερθεί, το αραχιδονικό οξύ αποτελεί το χημικό πρόδρομο των λευκοτριενίων. Απελευθερώνεται από την ενδοκυτταρική μεμβράνη και μπορεί να μεταβολιστεί χρησιμοποιώντας μια από τις ακόλουθες δύο διαδρομές: αυτή της κυκλοξυγενάσης ή αυτή της λιποξυγενάσης (Σχήμα-2). Το μονοπάτι της κυκλοξυγενάσης δημιουργεί θρομβοξάνες και προσταγλανδίνες ενώ το μονοπάτι της λιποξυγενάσης παράγει λευκοτριένια.

Οι περισσότεροι ανασταλτικοί παράγοντες σύνθεσης των λευκοτριενίων δρουν με το να ανακόπτουν τη σύνθεση της 5-λιποξυγενάσης ή να αναστέλλουν τη δράση της πρωτεΐνης ενεργοποίησης (FLAP). Τέτοιες ενώσεις αναστέλλουν τη σύνθεση των LTB4 καθώς και τα κυστεϊνιλικά λευκοτριένια. Σε αντίθεση οι περισσότεροι ανταγωνιστές υποδοχέων των λευκοτριενίων μηδενίζουν τις επιπτώσεις των κυστεϊνιλικών λευκοτριενίων στον υποδοχέα τους CysLT1 και ως εκ τούτου δεν επηρεάζουν τη δραστηριότητα του LTB4. Τα συγκριτικά πλεονεκτήματα των δύο αυτών προσεγγίσεων θα συζητηθούν αργότερα.

3.2 Ο ρόλος των Λευκοτριενίων στο άσθμα

Όπως έχει αναφερθεί, τα λευκοτριένια είναι σημαντικοί μεσολαβητές λιπιδίων που εμπλέκονται στο άσθμα, την αλλεργική φλεγμονή και την ανοσία. Σε αντίθεση με πολλούς προσχηματισμένους μεσολαβητές, τα λευκοτριένια συντίθενται de novo μέσω μιας οδού μεταβολισμού των οξειδωτικών λιπιδίων, σε απόκριση σε διάφορα ερεθίσματα. Ουσιώδης πρόοδος έχει σημειωθεί πρόσφατα στην κατανόηση της ρύθμισης της βιοσύνθεσης του λευκοτριενίου σε κυτταρικό και μοριακό επίπεδο. Πρόσφατα στοιχεία δείχνουν ότι η γενετική διακύμανση στη σύνθεση των

λευκοτριενίων μπορεί να εξηγήσει τις διαφορές στη φαρμακολογική απόκριση στις αντιλευκοτριενικές θεραπείες στο άσθμα.

Εκτός από τον σαφή ρόλο που έχουν τα κυστεϊνιλικά λευκοτριένια (CysLTs) στο άσθμα, υπάρχουν αποδείξεις ότι και το λευκοτριένιο B4 (LTB4) παίζει σημαντικό ρόλο, ειδικά κατά τη διάρκεια ευαισθητοποίησης. Παρά το γεγονός ότι πολύ λίγες μελέτες έχουν ασχοληθεί με την επίδραση που έχουν τα διάφορα φάρμακα πάνω στη διαδρομή των λευκοτριενίων, υπάρχουν αρκετές προκλινικές αποδείξεις ότι τα λευκοτριένια ενέχονται στην ανάπτυξη υπερπλασίας στα βλεννογόνα κύτταρα και στη πάχυνση των λείων μυών στις αεροφόρες οδούς καθώς και στην υποεπιθηλιακή ίνωση. Οι ασθματικοί ασθενείς στους οποίους έχει προκληθεί βρογχόσπασμος με άσκηση (ΕΤΕπ), παρουσιάζουν αυξημένα επίπεδα λευκοτριενίων στους αεραγωγούς τους και ανταποκρίνονται τόσο σε βραχυχρόνιες θεραπείες με αντιλευκοτριενικά όσο και σε χρόνιες θεραπείες.

3.3 Η φαρμακογενετική οδός των Λευκοτριενίων

Πρόσφατες μελέτες έχουν ασχοληθεί με τη σχέση μεταξύ της γενετικής παραλλαγής εντός της συνθετικής οδού του λευκοτριενίου, την ευαισθησία στο άσθμα και τη φαρμακολογική ανταπόκριση στις θεραπείες για το άσθμα. Οι μελέτες για τον προσδιορισμό τυχόν συσχετίσεων μεταξύ της ευαισθησίας στο άσθμα και της γενετικής παραλλαγής στη συνθετική οδό των λευκοτριενίων απαιτούν περαιτέρω επαναλήψεις και έχουν περιορισμένα αποτελέσματα. Αυτό σημαίνει ότι η γενετική παραλλαγή έχει σχετικά μικρή επίδραση στην ευαισθησία του άσθματος [170]. Αντιθέτως, υπάρχουν ισχυρές ενδείξεις ότι η γενετική παραλλαγή επηρεάζει την ανταπόκριση στη θεραπεία στους ασθενείς με άσθμα.

Σε μια από τις πρώτες σχετικές μελέτες διαπιστώθηκε ότι οι παραλλαγές στον αριθμό των μοτίβων δέσμευσης Sp1 στο 5-LO γονίδιο υποκινητή (ALOX5), αν εξαιρέσουμε τον άγριο τύπο, συνδέονται με μειωμένη γονιδιακή μεταγραφή του 5-LO in vitro και με μειωμένη κλινική ανταπόκριση στο 5-LO αναστολέα ABT-761 [171]. Ομοίως, σε μια μελέτη για την αξιολόγηση της ανταπόκρισης στη Μοντελουκάστη, οι ασθενείς με τουλάχιστον ένα αντίγραφο του άγριου τύπου 5-LO υποκινητή πολυμορφισμού παρουσίασαν βελτίωση στον εκπνεόμενο όγκο αέρα σε 1 δευτερόλεπτο (FEV1) και

λιγότερους παροξυσμούς σε σύγκριση με τους ασθενείς με τους εναλλακτικούς γονοτύπους [172].

Από τους 28 πολυμορφισμούς που βρίσκονται σε 5 γονίδια της συνθετικής οδού των λευκοτριενίων, οι πολυμορφισμοί στο εσώνιο 2 του γονιδίου 5-LO και στο γονίδιο ABBC1 το οποίο συμμετέχει στη μεταφορά του LTC4 στο εξωκυττάριο χώρο, σχετίζονται με την αλλαγή στο FEV1 κατά τη διάρκεια της θεραπείας με Μοντελουκάστη[173]. Σε μια άλλη μελέτη, η οποία αξιολόγησε αρκετά από αυτά τα γονίδια οι ίδιοι δύο πολυμορφισμοί στα γονίδια 5-LO και ABCC1 συσχετίστηκαν με την απάντηση στη θεραπεία με Zileuton, ο οποίος είναι αναστολέας του 5-LO [174].

Σε μια φαρμακοκινητική μελέτη, ο μη-συνώνυμος πολυμορφισμός rs12422149, ο οποίος βρίσκεται στο διαλυτό φορέα των οργανικών ανιόντων στο γονίδιο (SLCO2B1), το οποίο εμπλέκεται στην απορρόφηση της Μοντελουκάστης, συσχετίστηκε με μειωμένη συγκέντρωση αυτού του CysLT1 ανταγωνιστή του υποδοχέα στο πλάσμα, σε ασθενείς με το γονότυπο παραλλαγής και με έλλειψη της μείωσης των συμπτωμάτων κατά τη διάρκεια της θεραπείας με Μοντελουκάστη[175].

3.4 Επιδράσεις των Λευκοτριενίων στην αναδιαμόρφωση των αεραγωγών

Η αναδιαμόρφωση των αεραγωγών αναφέρεται στις μακροπρόθεσμες αλλαγές που πραγματοποιούνται στα τοιχώματα των αεραγωγών των ασθενών με άσθμα. Σε αυτές τις αλλαγές συμπεριλαμβάνονται η πάχυνση του πλεγματοειδούς της βασικής μεμβράνης, η μεταπλασία της κυτταρικής βλέννας, η αύξηση στη μάζα του λείου μυός και η εναπόθεση εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας (ECM), όπως είναι πρωτεΐνες σαν το κολλαγόνο, την τενασκίνη και τη λαμινίνη.

Υπάρχουν in vitro και in vivo μελέτες, οι οποίες παρουσιάζουν πολλές πληροφορίες σχετικά με το πώς τα λευκοτριένια εμπλέκονται στην αναδιαμόρφωση των αεραγωγών. Υπάρχουν αποδείξεις ότι το επίπεδο των CysLTs στον εκπνεόμενο αέρα συσχετίζεται με την πάχυνση του πλεγματοειδούς της βασικής μεμβράνης [176]. Δυστυχώς, υπάρχουν περιορισμένες πληροφορίες σχετικά με την

αποτελεσματικότητα που έχουν τα αντιλευκοτριενικά φάρμακα στη διαδικασία αναδιαμόρφωσης σε ανθρώπους.

Σε μια μελέτη χρόνιου άσθματος σε ποντίκια, η χορήγηση Μοντελουκάστης μείωσε τη μεταπλασία των καλυκοειδών κυττάρων, τη λεία μυϊκή μάζα και την απόθεση υποεπιθηλιακού κολλαγόνου. Σε αντίθεση, η αντιμετώπιση μόνο με κορτικοστεροειδή, όπως η dexamethasone, περιορίστηκε στη μείωση μόνο της μεταπλασίας των καλυκοειδών κυττάρων [177].

Αρκετές πρόσφατες μελέτες αποδεικνύουν ότι τα CysLTs επάγουν την έκφραση του γονιδίου βλεννίνης και τη δημιουργία πηκτώματος βλεννίνης σε καλλιέργειες επιθηλιακών κυττάρων [178,179].

Στις λείες μυϊκές ίνες των ανθρώπινων αεραγωγών, οι οποίες περιέχουν υποδοχείς BLT1 και BLT2, τα λευκοτριένια LTB4 επάγουν τη μετανάστευση και το πολλαπλασιασμό τους μέσω του BLT1 υποδοχέα [180]. Επίσης σε καλλιεργούμενα λεία μυϊκά κύτταρα η κυτοκίνη IL-13 επάγει τον πολλαπλασιασμό αυτών των κυττάρων μέσω ενός μηχανισμού, ο οποίος εξαρτάται από τα λευκοτριένια [181].

Σε μια επιθηλιακή κυτταρική γραμμή που εκφράζει τόσο τους CysLT1 υποδοχείς, όσο και τους CysLT2, τα λευκοτριένια LTD4 και LTE4 αύξησαν την έκφραση της Τενασκίνης ενώ τα LTD4 και όχι τα LTE4 προκάλεσαν τη σύνθεση της B2 αλυσίδας της Λαμιμίνης, η οποία εξαρτάται από τους CysLT1 υποδοχείς[182]. Ο ρόλος του υποδοχέα CysLT2 στην αναδιαμόρφωση των αεραγωγών δεν έχει καθοριστεί ακόμα πλήρως, παρ' όλα αυτά σε ένα μοντέλο μπλεομυκινής για πνευμονική ίνωση η γενετική ανεπάρκεια του υποδοχέα CysLT2 μειώνει την ίνωση του πνεύμονα [183].

3.5 Ο ρόλος των λευκοτριενίων στο ασκησιογενές άσθμα (ΑΑ)

Έχει αποδειχθεί ότι τα λευκοτριένια παίζουν ένα πολύ σημαντικό ρόλο στο ασκησιογενές άσθμα. Η συγκεκριμένη κατάσταση χαρακτηρίζεται από βρογχόσπασμο, ο οποίος διαρκεί 30-90 λεπτά μετά από μια σύντομη περίοδο άσκησης. Μεταξύ των ασθματικών ασθενών έχει βρεθεί ότι περίπου το 40-50% αντιμετωπίζουν αυτή την κατάσταση[184].

Οι ασθματικοί ασθενείς με ΑΑ έχουν αυξημένες συγκεντρώσεις επιθηλιακών κυττάρων στα πτύελα και αυξημένα επίπεδα κυστεϊνιλικών λευκοτριενίων και στα πτύελα και στο συμπύκνωμα εκπνεόμενου αέρα [185,186].

Παρά το γεγονός ότι υπάρχουν πολλά εικοσανοειδή τα οποία απελευθερώνονται στους αεραγωγούς κατά την άσκηση, η απελευθέρωση των κυστεϊνιλικών λευκοτριενίων έχει ιδιαίτερη σημασία, όπως αποδεικνύεται από την παρατεταμένη αύξηση στη συγκέντρωση τους (0,5 έως και 6 ώρες) μετά την άσκηση στους ασθενείς με ασκησιογενές άσθμα [187,188].

Από μελέτες που έχουν γίνει έχει αποδειχθεί ότι υπάρχει απελευθέρωση LTB4 στους αεροφόρους μετά από άσκηση αλλά όχι απαραίτητα σε όλα τα περιστατικά [187].

Σε πειραματικά μοντέλα με ζώα, η επίδραση των λευκοτριενίων σε δοκιμασία βρογχοσυστολής με υπεραερισμό έχει άμεση σχέση με τις ταχυκινίνες οι οποίες παράγονται από τα αισθητήρια νεύρα [189-190].

Πρόσφατες in-vitro μελέτες έχουν αποδείξει ότι τα λευκοτριένια και αυξάνουν την ευαισθησία των αισθητήριων νεύρων και μειώνουν το όριο στο οποίο τα νεύρα αυτά διεγείρονται [191]. Ένα σημαντικό επίσης εύρημα είναι η αύξηση του ενζύμου sPLA2-X στους αεραγωγούς μετά από άσκηση καθώς μπορεί να αποτελεί ένα σημαντικό ρυθμιστή στην παραγωγή λευκοτριενίων σε απάντηση της πρόκλησης με άσκηση [192].

Υπάρχουν σημαντικές αποδείξεις ότι κατά την άμεση χορήγησή τους αλλά και σε μακροχρόνιες θεραπείες επίμονου άσθματος, ο ανταγωνιστής του υποδοχέα CysLT1 και οι αναστολείς 5-LO μειώνουν τη σοβαρότητα του ασκησιογόνου άσθματος [193].

4. Λευκοτριένια Ε4 (LTE4)

Η αργά αντιδρώσα ουσία της αναφυλαξίας (SRS-A) ταυτοποιήθηκε αρχικά ως μια ουσία, η οποία παράγεται μετά από in vitro πρόκληση με αντιγόνο/αλλεργιογόνο σε πνεύμονες ενεργά ευαισθητοποιημένων ινδικών χοιριδίων. Η ισχυρή συσφικτική της ικανότητα στα βρογχιόλια ανθρώπων και ινδικών χοιριδίων υπό την παρουσία αντισταμινικού αποτελεί πειστική ένδειξη για τον εν δυνάμει ρόλο της στο άσθμα [210].

Οι αρχικές αναλύσεις στα φυσικά χαρακτηριστικά και τη σύνθεση της SRS-A πρότειναν πιθανή περιεκτικότητα σε θείο [211]. Το γεγονός αυτό οδήγησε στην ανακάλυψη του LTC4 από τον Murphy που αποτελεί και το πρώτο συστατικό της SRS-A. [212]

Το LTC4 αποτελείται από ένα μεταβολίτη του αραχιδονικού οξέος με 3 συζυγικούς διπλούς δεσμούς και ένα πεπτίδιο προσαγωγής μέσω μιας γέφυρας θείου. Η ακριβής στερεοχημεία του λιπιδίου και η αλληλουχία αμινοξέων του S-συνδεδεμένου πεπτιδίου του LTC4 λήφθηκαν συγκρίνοντας καθαρισμένο φυσικό SRS-A με υποψήφιο συνθετικό cysLT [213]. Αρχικά είχε θεωρηθεί ότι η δράση της SRS-A αποδίδεται μόνο στα λευκοτριένια LTC4. Στη συνέχεια όμως ανακαλύφθηκε ότι η μερικώς καθαρισμένη SRS-A, από την περιτοναϊκή κοιλότητα των αρουραίων που υποβάλλονταν σε IgA εξαρτώμενη αναφυλαξία, αποτελείτο από 3 προϊόντα του αραχιδονικού οξέος, όλα με συζυγικούς διπλούς δεσμούς και που το καθένα είχε συσταλτική δραστηριότητα για τον ειλεό του ινδικού χοιριδίου. Τα προϊόντα αυτά είναι τα λευκοτριένια LTC4 και οι δύο μεταβολίτες του, τα λευκοτριένια LTD4 και LTE4. [214]

Η διαλεύκανση των δομών και των συνθετικών οδών για τα λευκοτριένια ακολουθήθηκε σύντομα από μια συνολική εκτίμηση για τις βιολογικές λειτουργίες τους. Οι περισσότερες από τις αρχικές μελέτες επικεντρώθηκαν στα LTC4 και στα LTD4 και απέδειξαν ότι και οι δύο ενώσεις αποτελούσαν πολύ ισχυρούς επαγωγείς συστολής στους αεραγωγούς ινδικών χοιριδίων και σε απομονωμένα ανθρώπινα βρογχιόλια [215]. In vivo μελέτες σε υγιή άτομα επιβεβαίωσαν ότι τα LTC4 και LTD4 όταν εισπνέονταν ήταν πολύ πιο ισχυρά από την ισταμίνη στην επαγωγή των συστολών των αεραγωγών [216]. Η βιολογική δραστηριότητα των LTE4 είχε αρχικά μελετηθεί πολύ λιγότερο, πιθανώς επειδή ήταν ένα τελικό προϊόν του μεταβολισμού των CysLT και έδειχνε χαμηλότερη δραστικότητα σε σύγκριση με τα βρογχοκατασταλτικά LTC4 ΚΑΙ LTD4 και μόνο τα τελευταία χρόνια η έρευνα έχει αρχίσει να επικεντρώνεται και σε αυτά [217].

4.1. Το Λευκοτριένιο LTE4 ως βιοδείκτης άσθματος

Η κλινική έρευνα του άσθματος δυσχεραίνεται σημαντικά λόγω ανεπαρκούς τυποποίησης στην αξιολόγηση των αποτελεσμάτων της. Αποτέλεσμα αυτού είναι η δυσκολία στην εξαγωγή και τη σύγκριση των αποτελεσμάτων σε δοκιμές και κλινικές μελέτες και πιο σημαντικά στην εφαρμογή αυτών των αποτελεσμάτων σε ευρεία κλίμακα πέρα από μια κλινική δοκιμή ή μελέτη παρατήρησης (γενετική, γονιδιωματική, φαρμακοοικονομική κ.ά) [221].

Το Εθνικό Ινστιτούτο Καρδιάς, Πνευμόνων και Αίματος, το Εθνικό Ινστιτούτο Περιβαλλοντικών Επιστημών Υγείας και το Εθνικό Ινστιτούτο Αλλεργιών και Λοιμωδών Νοσημάτων στις ΗΠΑ, έχουν συμφωνήσει σε μια κοινή προσπάθεια για την τυποποίηση των αποτελεσμάτων.

Η μέτρηση των βιοδεικτών έχει ενσωματωθεί στις κλινικές μελέτες άσθματος, για να χαρακτηρίσει τον συμμετέχοντα στη μελέτη πληθυσμό και για να προσπαθήσει να συνδέσει την εξέλιξη της νόσου με την περιβαλλοντική επίδραση και τη θεραπευτική παρέμβαση.

Πίνακας-3: Συστάσεις για την ταξινόμηση βιοδεικτών άσθματος σε κλινικές έρευνες του NIH σε ενήλικες και σε παιδιά [221].

	Characterization of study population for prospective clinical trials (ie, baseline information)	Prospective clinical trial efficacy/effectiveness outcomes	Observational study outcomes*
Core outcomes	Serologic multiallergen screen (IgE) to define atopic status (also for observational studies)	None	None
Supplemental outcomes	1. FENO 2. Sputum eosinophils 3. CBC (total eosinophils) 4. Total IgE 5. Allergen-specific IgE 6. Urinary LTE_4	1. FENO 2. Sputum eosinophils 3. CBC (total eosinophils) 4. Total IgE 5. Allergen-specific IgE 6. Urinary LTE_4	1. FENO 2. Sputum eosinophils 3. CBC (total eosinophils) 4. Total IgE 5. Allergen-specific IgE 6. Urinary LTE_4
Emerging outcomes	1. Allergen skin prick testing 2. Sputum neutrophils and analytes† 3. Airway imaging 4. Exhaled breath condensate markers 5. Discovery through genetics and genomics	1. Allergen skin prick testing 2. Sputum neutrophils and analytes 3. Airway imaging 4. Cortisol measures 5. Exhaled breath condensate markers 6. Discovery through genetics and genomics	1. Sputum neutrophils and analytes 2. Airway imaging 3. Discovery through genetics and genomics

*Observational study designs include cohort, case-control, cross-sectional, retrospective reviews; genome-wide association studies (GWAS); and secondary analysis of existing data. Some measures may not be available in studies using previously collected data.
†The substance(s) being analyzed.

Η μέτρηση του FENO, η ποσοτική μέτρηση δηλαδή του νιτρικού οξειδίου(NO) των αεραγωγών, όταν γίνεται σε σταθερό ρυθμό ροής μπορεί να χρησιμοποιηθεί σαν ένας απλός και ασφαλής βιοδείκτης φλεγμονής, για χρήση σε κλινικές δοκιμές στο άσθμα. Τα άτομα που πάσχουν από άσθμα έχει αποδειχθεί ότι εκπνέουν υψηλότερα επίπεδα NO, σε σχέση με τους υγιείς, τα οποία μειώνονται με τη χρήση κορτικοστεροειδών. Ωστόσο, αυξημένα επίπεδα NO μπορούν να εμφανιστούν και σε ατοπικούς ασθενείς χωρίς άσθμα. Δεν έχει παρατηρηθεί μεγάλη διακύμανση στις μετρήσεις του FENO σε διαφορετικές περιοχές χρησιμοποιώντας εγκεκριμένες από τον FDA συσκευές. Το κόστος αγοράς και συντήρησης των συσκευών αυτών μπορεί να είναι απαγορευτικό για ορισμένες μελέτες. Η μέτρηση FENO γενικά συνίσταται ως ένα συμπληρωματικό αποτέλεσμα, το οποίο θα βοηθήσει στο χαρακτηρισμό του πληθυσμού της μελέτης,

πάνω σε υποψήφιες κλινικές δοκιμές, καθώς και σε μελέτες παρατήρησης. Η μέτρηση είναι μη επεμβατική, ακίνδυνη και εύκολα ανεκτή από τα παιδιά και τους ασθενείς με σοβαρή απόφραξη των αεραγωγών. Υπάρχει επικάλυψη στις τιμές του FENO μεταξύ υγειών, ατοπικών και ασθματικών ασθενών και γενικά δεν αντικατοπτρίζουν τη σοβαρότητα της νόσου[221].

Η ανάλυση των ηωσινόφιλων στα επαγόμενα πτύελα είναι μια χρήσιμη και μη επεμβατική μέθοδος για την αξιολόγηση της φλεγμονής των αεραγωγών (221) και για τον εντοπισμό των ασθενών που έχουν ηωσινοφιλικούς και μη ηωσινοφιλικούς τύπους άσθματος. Η ηωσινοφιλία των αεραγωγών αποτελεί ένα σαφώς καθορισμένο χαρακτηριστικό φλεγμονής στο άσθμα, το οποίο ανταποκρίνεται σε θεραπεία με κορτικοστεροειδή. Μολονότι οι αριθμοί των ηωσινόφιλων στα πτύελα ασθενών με άσθμα καλύπτουν ένα μεγάλο εύρος τιμών, ένα μεγάλο ποσοστό ασθενών με άσθμα παρουσιάζει χαμηλά ποσοστά ηωσινόφιλων, όμοια με ασθενείς που δεν έχουν άσθμα [221]. Σε σύγκριση με τον μη ηωσινοφιλικό φαινότυπο άσθματος, ο ηωσινοφιλικός φαινότυπος έχει εντονότερη υποεπιθηλιακή ίνωση και ανταποκρίνεται περισσότερο στα εισπνεόμενα κορτικοστεροειδή [221]. Επιπλέον, πρόσφατες μελέτες αποδεικνύουν ότι οι TH2 κιτοκίνες ρυθμίζουν το φαινότυπο του ηωσινοφιλικού άσθματος. Με την αυξανόμενη έμφαση σε όλο και πιο ακριβείς ορισμούς πάνω στο φαινότυπο του άσθματος, οι οποίοι θα οδηγήσουν τελικά στη βελτιστοποίηση της θεραπείας [221], είναι λογικός ο υπολογισμός των ηωσινόφιλων στα πτύελα, σε κάθε ασθενή που συμμετέχει σε ερευνητικές μελέτες του άσθματος. Η πληροφορία αυτή θα επιτρέψει την καλύτερη κατανόηση για το πώς οι ηωσινοφιλικοί και οι μη ηωσινοφιλικοί φαινότυποι άσθματος επηρεάζουν την απάντηση στη θεραπεία και επίσης θα διευκολύνει τις μελέτες πάνω στο μηχανισμό αυτών των διακριτών φαινοτύπων [221].

Η ποσότητα της ολικής και της ειδικής IgE στον ορό αποτελεί ένα ακόμα σημαντικό βιοδείκτη για το καθορισμό του φαινοτύπου ενός ασθενούς, ο οποίος παρουσιάζει συμπτώματα άσθματος [221].

Η ολική IgE συγκεκριμένα στον ορό έχει συσχετισθεί με το άσθμα [219] και εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από την ηλικία. Τα ατοπικά βρέφη για παράδειγμα, παρουσιάζουν πιο γρήγορη και πιο απότομη αύξηση στα επίπεδα της IgE στον ορό από ότι τα μη ατοπικά φυσιολογικά βρέφη[219]. Στα επίπεδα των ενηλίκων η IgE φτάνει στο υψηλότερο σημείο στην ηλικία των 10 έως 15 ετών και σταδιακά μειώνεται από τη δεύτερη δεκαετία της ζωής και μετά. Παρ’ όλα αυτά, ένα σημαντικό

πρόβλημα που παρουσιάζεται, είναι η σημαντική επικάλυψη στα επίπεδα της IgE μεταξύ των ατοπικών και μη-ατοπικών πληθυσμών, η οποία μειώνει τη χρησιμότητα της στον προσδιορισμό ατοπίας [221].

Ένας σχετικά καινούριος βιοδείκτης είναι τα λευκοτριένια Ε4 (LTE4), τα οποία είναι και ο τελευταίος μεταβολίτης των κυστεϊνυλικών λευκοτριενίων, ο οποίος μπορεί να μετρηθεί στα ούρα, όχι απαραίτητα 24ωρου καθώς δεν υπάρχει σαφές όφελος. Η μέθοδος με την οποία τα LTE4 προσδιορίζονται είναι η ELISA και η φασματομετρία μάζας [128,129].

Τα LTE4 αποτελούν ένα έμμεσο δείκτη της δραστηριότητας των κυστεϊνυλικών λευκοτριενίων στους πνεύμονες και τα οποία αυξάνονται σε εξάρσεις άσθματος μετά από έκθεση σε αλλεργιογόνα, σε πρόκληση με ασπιρίνη και κατά τη διάρκεια του νυχτερινού άσθματος [130-133]. Τα αντιλευκοτριενικά φάρμακα που όπως έχουμε αναφέρει εμποδίζουν τη σύνθεση των λευκοτριενίων, μειώνουν σημαντικά τα επίπεδα των LTE4 στα ούρα[134,135] σε αντίθεση με τα κορτικοστεροειδή [131,136].

5. ΦΑΙΝΟΤΥΠΟΙ ΠΑΙΔΙΚΟΥ ΑΣΘΜΑΤΟΣ

Στο άσθμα η ηλικία και τα διάφορα εκλυτικά αίτια μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τον προσδιορισμό των διαφορετικών φαινοτύπων της νόσου. Ο διαχωρισμός των φαινοτύπων είναι χρήσιμος γιατί με αυτό τον τρόπο αναγνωρίζεται η ετερογένεια του παιδικού άσθματος, το οποίο δε διαχωρίζεται σε ξεχωριστές ασθένειες αλλά αντίθετα αποτελεί μέρος ενός γενικότερου συνόλου που ονομάζεται σύνδρομο άσθματος [220]. Οι κατευθυντήριες γραμμές που χρησιμοποιούνται για τη διάκριση των φαινοτύπων του άσθματος θα οδηγήσουν σε πιο αποτελεσματικές προγνωστικές και θεραπευτικές στρατηγικές

5.1 Καθοριστικά Στοιχεία Φαινοτύπου

Ηλικία

Η ηλικία αποτελεί έναν από τους πιο ισχυρούς και καθοριστικούς παράγοντες του φαινοτύπου του άσθματος στα παιδιά. Περιλαμβάνει δε παθοφυσιολογικές εκδηλώσεις, περιβαλλοντική έκθεση και ιστορικούς παράγοντες.

Λόγω της ετερογένειας στο φαινότυπο της νόσου μεταξύ των διαφόρων ηλικιών, είναι πολύ σημαντικό να υπάρχουν διαγνωστικές και θεραπευτικές στρατηγικές αντιμετώπισης ανάλογα με την ηλικία. Πρακτικές ηλικιακές ομάδες για το σκοπό αυτό είναι:

- Βρέφη(0-2 ετών)
- Παιδιά προσχολικής ηλικίας (3-5 ετών)
- Παιδιά σχολικής ηλικίας (6-12 ετών)
- Έφηβοι

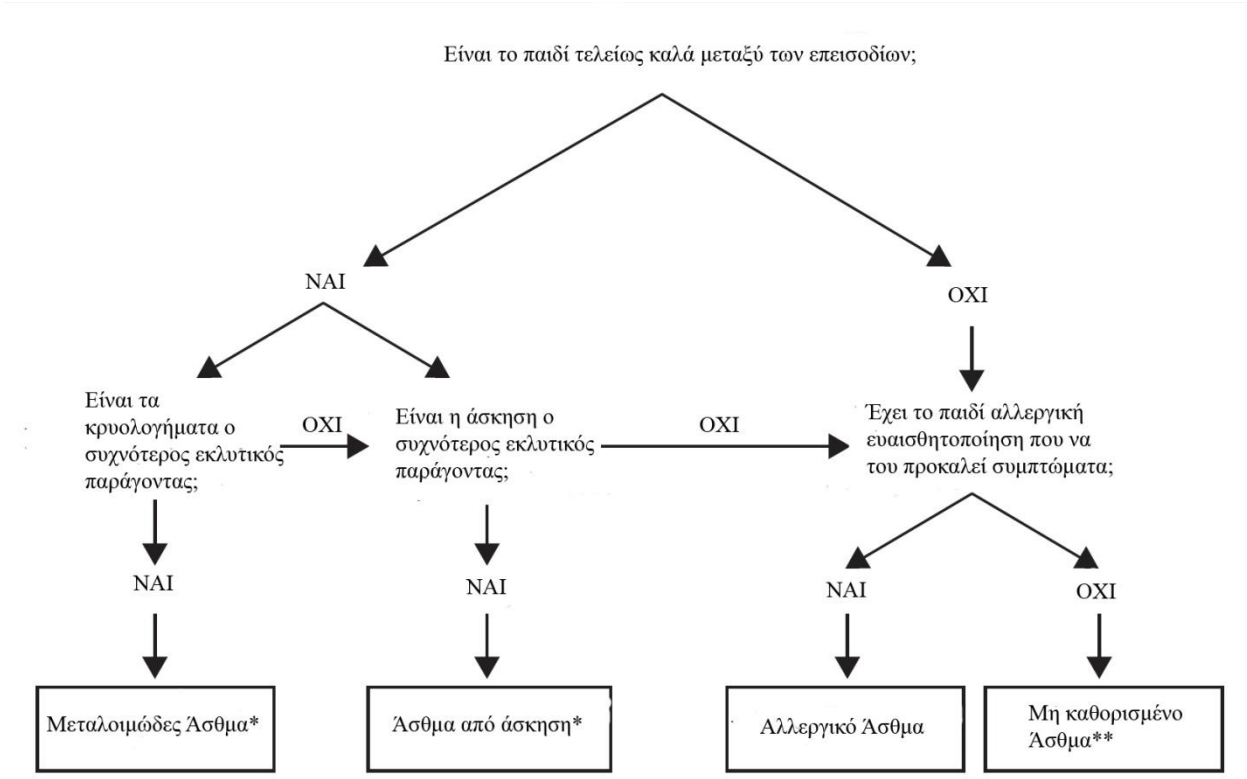
Στα βρέφη η επιμονή των συμπτωμάτων είναι ένας σημαντικός δείκτης της σοβαρότητας της νόσου. Γι αυτό το λόγο, θα πρέπει να διαπιστωθεί αν το βρέφος έχει συριγμό τις περισσότερες μέρες της εβδομάδας τους τελευταίους 3 μήνες. Σε αυτή την περίπτωση τα βρέφη μετά από το προσεκτικό αποκλεισμό άλλων αιτιών, θα πρέπει να διαγνωστούν με επίμονο βρεφικό συριγμό. Τα βρέφη εκείνα με διαλείπουσα νόσο (υποτροπιάζοντα επεισόδια) μπορούν να ταξινομηθούν ως έχοντα είτε σοβαρή είτε ήπια νόσο, ανάλογα με την ανάγκη ιατρικών πόρων (χρήση στεροειδών ή νοσηλεία).

Στα παιδιά προσχολικής ηλικίας ο κύριος διαχωριστικός παράγοντας στο φαινότυπο του άσθματος, είναι η επιμονή των συμπτωμάτων κατά τη διάρκεια του τελευταίου χρόνου (σχήμα-3). Σε περίπτωση που δεν υπάρξουν συμπτώματα μεταξύ των επεισοδίων και την έξαρση του άσθματος ακολουθήσει μόνο ένα κρυολόγημα, η πιο κατάλληλη διάγνωση είναι αυτή του ιογενούς άσθματος. Οι ιοί αποτελούν το βασικό εκλυτικό παράγοντα σε αυτή την ηλικιακή ομάδα.. Το ασκησιογόνο άσθμα αποτελεί και αυτό ένα μοναδικό φαινότυπο σε αυτή την ηλικιακή κατηγορία.

Θα πρέπει να γίνουν δερματικές δοκιμασίες νυγμού ή προσδιορισμός ειδικής IgE αντισωμάτων στον ορό έναντι συνήθων αλλεργιογόνων καθώς και προσπάθειες για να διαπιστωθεί αν υπάρχει συσχετισμός μεταξύ της έκθεσης στα αλλεργιογόνα και της εμφάνισης των συμπτωμάτων. Αν ισχύσει κάτι τέτοιο, ο φαινότυπος είναι επαγόμενος από το αλλεργικό άσθμα ή από το ατοπικό άσθμα. Πρέπει να τονιστεί ότι η ατοπία είναι ένας παράγοντας κινδύνου για επιμονή άσθματος, ανεξάρτητα από το αν τα αλλεργιογόνα είναι εμφανή γενεσιουργά ή εκλυτικά αίτια της νόσου. Εάν δεν υπάρχει κανένας ειδικός αλλεργικός εκλυτικός παράγοντας για την εμφάνιση του άσθματος, τότε ο φαινότυπος μπορεί να χαρακτηριστεί με μια επιφύλαξη ως μη αλλεργικό άσθμα. Ωστόσο, το γεγονός αυτό μπορεί να εξακολουθεί να σημαίνει ότι ο

ειδικός αλλεργικός γεννεσιουργός ή ο εκλυτικός παράγοντας δεν έχει ανιχνευθεί ακόμα.

Σχήμα-3: Φαινότυποι Άσθματος σε παιδιά μεγαλύτερα των δύο ετών.[220]



* Τα παιδιά μπορεί να είναι επίσης ατοπικά

**Μπορούν να συμπεριληφθούν διαφορετικές αιτιολογίες περιλαμβάνοντας την έκθεση σε ερεθιστικούς παράγοντες ή/και αλλεργίες που δεν έχουν χαρακτηριστεί ακόμη.
Η βαρύτητα πρέπει να εκτιμάται σε κάθε φαινότυπο. Η συνύπαρξη μεταξύ των φαινοτύπων είναι συχνή

Στα παιδιά σχολικής ηλικίας υπάρχουν οι ίδιοι διαφοροποιητές άσθματος με αυτούς των παιδιών της προσχολικής ηλικίας (σχήμα-3). Ωστόσο, οι περιπτώσεις αλλεργικού άσθματος είναι πιο συχνές και ορατές και η εποχικότητα γίνεται αρκετά εμφανής. Το ιογενές άσθμα εξακολουθεί να είναι σύνηθες σε αυτή την ηλικιακή κατηγορία. Η σοβαρότητα των συμπτωμάτων του άσθματος μπορεί να παίξει πολύ σημαντικό ρόλο στη θεραπεία του αλλεργικού άσθματος σε αυτή την ηλικία..

Το ατοπικό άσθμα μπορεί να πρωτοεμφανιστεί κατά τη διάρκεια της εφηβείας και υπάρχουν περισσότερες νέες περιπτώσεις από υφέσεις. [219] Το μη ατοπικό άσθμα μπορεί και αυτό να αρχίσει κατά τη διάρκεια της εφηβείας. [219]. Παρουσιάζονται

δε, πρόσθετα προβλήματα στη διαχείριση και την ταξινόμηση του άσθματος στους έφηβους. Πολλοί έφηβοι είναι απρόθυμοι να χρησιμοποιούν σε καθημερινή βάση φάρμακα και να υποστούν τους απαιτούμενους περιορισμούς. Το κάπνισμα παίζει και αυτό σοβαρό ρόλο σε αυτή την ηλικιακή κατηγορία. Επιπρόσθετα, μπορεί να υπάρξει μια δύσκολη μεταβατική περίοδος όταν οι ασθενείς σταματήσουν να παρακολουθούνται από τον παιδίατρο τους.

Βαρύτητα

Το σοβαρό άσθμα, τόσο σε ενήλικες όσο και σε παιδιά, έχει ιδιαίτερα παθολογικά χαρακτηριστικά, που υποδηλώνουν ότι θα μπορούσε να θεωρηθεί και ως ξεχωριστός φαινότυπος άσθματος. Η βαρύτητα της νόσου σχετίζεται άμεσα με την επιμονή και την αδυναμία ανταπόκρισης στη θεραπεία. Παρ' όλα αυτά, τα επίπεδα της βαρύτητας της νόσου ποικίλλουν σε τέτοιο βαθμό, ώστε να μην μπορούν να χρησιμοποιηθούν εύκολα σαν μια πρόσθετη παράμετρο για τον καθορισμό του φαινότυπου του άσθματος. Η σοβαρότητα της νόσου εξαρτάται σε ένα μεγάλο βαθμό από την ηλικία. Η επιμονή των συμπτωμάτων στα βρέφη θα πρέπει να θεωρείται σοβαρή. Στα μεγαλύτερα παιδιά οι εξάρσεις του άσθματος που χρήζουν νοσηλείας είναι αυτές που περιλαμβάνουν αναπνευστική δυσχέρεια. Οι εξάρσεις αυτές μπορούν να εμφανισθούν ανεξάρτητα από τα συνήθη κριτήρια σοβαρότητας, όπως η συχνότητα των συμπτωμάτων και η πνευμονική λειτουργία.

Συμπερασματικά

- Η προσεκτική αναγνώριση και η αξιολόγηση των εκλυτικών παραγόντων του άσθματος είναι πολύ σημαντική για την κατανόηση και ταξινόμηση των ασθενών και για τη γενικότερη πρόγνωση της νόσου.
- Η αναγνώριση του φαινοτύπου του άσθματος θα πρέπει πάντα να περιλαμβάνει και την αξιολόγηση της ατοπικής κατάστασης.
- Τα συμπτώματα του άσθματος μεταξύ των εξάρσεων αποτελούν ένα σημαντικό δείκτη για την αξιολόγηση του φαινοτύπου της νόσου στην παιδική ηλικία.
- Στα βρέφη είναι σχετικά δύσκολη η φαινοτυπική κατάταξη του άσθματος ενώ στα παιδιά προσχολικής και σχολικής ηλικίας με υποτροπιάζουσες ιογενείς εξάρσεις, ο όρος ιογενές άσθμα θα πρέπει να περιλαμβάνει την παρουσία συριγμού στα συμπτώματα.

- Συχνά υπάρχει πολλαπλότητα παραγόντων λόγω επικάλυψης φαινοτύπων στο ίδιο άτομο. Υπάρχει επίσης ένα ποσοστό άσθματος το οποίο είναι αταξινόμητο. [219]

6. ΥΠΟΘΕΣΗ-ΣΚΟΠΟΣ-ΟΦΕΛΟΣ

Το άσθμα είναι χρόνια φλεγμονώδης νόσος των αεροφόρων οδών, με εξάρσεις και υφέσεις, του οποίου το 70% αρχίζει στην προσχολική ηλικία. Υπάρχουν σαφείς ενδείξεις ότι μπορεί να παραμείνει στην ενήλικο ζωή και να προκαλέσει μόνιμη βλάβη στην πνευμονική λειτουργία. Γι' αυτό το λόγο, η έγκαιρη έναρξη μακροχρόνιας θεραπείας με αντιφλεγμονώδη φάρμακα, συμπεριλαμβανομένων και των αντιλευκοτριενίων, συνίσταται από τις πιο πρόσφατες διεθνείς ομοφωνίες. Εντούτοις, ένα ποσοστό μόνο των ασθενών ανταποκρίνεται στα αντιλευκοτριένια, χωρίς ως τώρα να έχει καθοριστεί η αιτία και παρά το γεγονός ότι έχει δειχθεί ότι τα αντιλευκοτριενικά φάρμακα είναι ικανά να μειώνουν τα κυστεϊνιλικά λευκοτριένια στα ούρα. Πιθανώς να υπάρχουν διάφοροι φαινότυποι άσθματος που να επηρεάζονται από τη συμπεριφορά των κυστεϊνιλικών λευκοτριενίων και την επίδραση των φαρμάκων σε αυτά.

Σκοπός της προτεινόμενης μελέτης είναι ο προσδιορισμός των κυστεϊνιλικών λευκοτριενίων (LTE_4) στα ούρα σε παιδιά προσχολικής ηλικίας με υποτροπιάζοντα επεισόδια συρίττουσας αναπνοής μετά από λοιμώξεις του ανώτερου αναπνευστικού (φαινότυπος λοιμώδους άσθματος) με ή χωρίς ατοπική προδιάθεση.

Αναμενόμενα Αποτελέσματα/Δευτερογενή Οφέλη:

Το πρωτεύον αποτέλεσμα είναι η αξιολόγηση της συμπεριφοράς του κυστεϊνιλικού λευκοτριενίου Ε4 (LTE4), στο φαινότυπο του λοιμώδους άσθματος με ή χωρίς ατοπία.

Τα δευτερογενή οφέλη που προκύπτουν είναι η εκτίμηση του ρόλου της ατοπίας (IgE-μεσολαβούμενοι μηχανισμοί) και η αξιολόγηση του LTE4 ως φλεγμονώδη δείκτη στην έγκαιρη διάγνωση επικείμενης έξαρσης και στην πρόβλεψη απάντησης στα διάφορα αντιφλεγμονώδη φάρμακα.

Β. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

7. ΥΛΙΚΑ- ΟΡΓΑΝΑ - ΜΕΘΟΔΟΙ

7.1 ΑΣΘΕΝΕΙΣ / ΥΛΙΚΑ

Έντυπα συγκατάθεσης, εγκρινόμενα από την επιτροπή ηθικής και δεοντολογίας του νοσοκομείου, δόθηκαν σε όλους τους γονείς που συμμετείχαν στη μελέτη. Ως ασθενείς επιλέχθηκαν παιδιά προσχολικής ηλικίας 2-5 ετών, με μέση ηλικία τα 3,6 χρόνια, με λοιμώξεις του ανώτερου αναπνευστικού (φαινότυπος λοιμώδους άσθματος) ανεξαρτήτως ατοπίας, σε έξαρση (43 δείγματα) πριν την έναρξη φαρμακευτικής αγωγής αλλά και σε περιόδους ύφεσης (59 δείγματα). Οι ασθενείς προήρθαν από το τμήμα Αλλεργιολογίας και Κλινικής Ανοσολογίας του Νοσοκομείου Παίδων Π&Α Κυριακού. Επιπρόσθετα, οι ασθενείς χωρίστηκαν σε ατοπικούς (52 ασθενείς) και μη ατοπικούς (50 ασθενείς). Η ατοπία αξιολογήθηκε με μέτρηση της ειδικής IgE και με δερματική δοκιμασία νυγμού (prick test) σε μια σειρά συνήθων αλλεργιογόνων σύμφωνα με τις τελευταίες διεθνείς ομοφωνίες.

Ως μάρτυρες επιλέχθηκαν 40 υγιή παιδιά ηλικίας 2-5 ετών, με μέση ηλικία τα 3,1 χρόνια, χωρίς αλλεργική νόσο ή ατοπική προδιάθεση. Οι μάρτυρες προήρθαν από αιμοληψίες που έγιναν στη $1^{η}$ και τη $2^{η}$ Χειρουργική Κλινική του Νοσοκομείου Παίδων Π&Α Κυριακού στο πλαίσιο προεγχειρητικού ελέγχου "ψυχρών περιστατικών" και δεν ελάμβαναν φάρμακα ούτε είχαν νοσήσει τον τελευταίο μήνα.

Επιπρόσθετα, τα επίπεδα των κυστεϊνιλικών λευκοτριενίων Ε4 στα ούρα μετρήθηκαν και σε 38 βρέφη (2 - 24 μηνών) με μέσο όρο τους 12 μήνες, τα οποία είχαν εξακριβωμένη έξαρση βρογχιολίτιδας και τα οποία προήλθαν από το Νοσοκομείο Αλεξανδρούπολης.

Στην προσπάθεια αξιολόγησης της κινητικής του U-LTE4 επιλέχθηκαν 17 ατοπικοί ασθενείς. Οι μετρήσεις έγιναν στη διάρκεια έξαρσης λοιμώδους άσθματος και στη διάρκεια της ύφεσης. Η χρονική περίοδος της δεύτερης δειγματοληψίας μετά την έξαρση κυμάνθηκε από 28 μέχρι 203 ημέρες.

7.1.1 Συλλογή και αποθήκευση δειγμάτων

Συνολικά συγκεντρώθηκαν 181 δείγματα ούρων, 141 παθολογικά και 40 μάρτυρες. Αμέσως μετά τη δειγματοληψία, τα δείγματα αποθηκεύτηκαν σε κλάσματα (aliquots) των 400μl σε βαθιά κατάψυξη Jouan VX5706 – 80° C μέχρι τη στιγμή της μέτρησής τους.

- Για τη δερματική δοκιμασία νυγμού (prick test) χρησιμοποιήθηκαν 7 αλλεργιογόνα της εταιρίας ALK Abello (γύρη μίγματος αγρωστωδών, γύρη ελιάς, τρίχωμα γάτας, ακάρι *D.pteronyssinus,* μύκητας *A.alternata*, γύρη παριετάριας *P.judaica,* και ασπράδι αυγου).
- Για τη μέτρηση της ολικής και της ειδικής IgE, χρησιμοποιήθηκε το σύστημα CAP (κεφ.7.3.4)
- Για τη μέτρηση με ανοσοενζυμική μέθοδο (EIA) των κυστεϊνιλικών λευκοτριενίων (LTE4) χρησιμοποιήθηκε το κιτ της GE Healthcare Amersham Leukotriene C4/D4/E4 Biotrak Enzyme immunoassay (EIA) System 96 wells Code: RPN224. (κεφ.7.3.1)
- Για τον ποσοτικό προσδιορισμό της συγκέντρωσης της Κρεατινίνης στα ούρα χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος Jaffe σε σύστημα Cobas Integra (0-334) . (κεφ.7.3.2)
- Οι πλαστικοί φυγοκεντρικοί σωλήνες που χρησιμοποιήθηκαν 15 ml και 50 ml ήταν από την εταιρία Corning.
- Τα tips yellow 200μl και blue 1000μl ήταν από την εταιρία Greiner.
- Οι μικροπλάκες πολυστυρενίου 96 θέσεων F-Bottom και V-Bottom ήταν από την εταιρία Greiner.
- Τα eppendorfs (1.5ml) ήταν από την εταιρία Greiner.
- Οι πιπέτες που χρησιμοποιήθηκαν για τα πειράματα (100μl, 200μl, 1000μl, 4X100μl) ήταν της εταιρίας Gilson.

Τα υπόλοιπα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν ήταν αναλυτικού βαθμού καθαρότητας των εταιρειών Sigma (St.Louis, USA), Scharlau, Serva (Heidelberg, Germany) και Merck (Darmstadt, Germany).

7.2 ΟΡΓΑΝΑ

- Η διατήρηση των δειγμάτων καθώς και των υπερκειμένων από τα πειράματα έγινε σε βαθιά κατάψυξη Jouan VX5706 – 80° C.
- Οι φυγοκεντρήσεις των δειγμάτων έγιναν σε ψυχωμένη φυγόκεντρο Jouan CR 1000.
- Ο προσδιορισμός των λευκοτριενίων έγινε με EIA σε φωτόμετρο Ceres 900C, Bio-Tec Instruments,Inc,Winooski VT,USA, και σε φωτόμετρο Tecan Infinite M200, Tecan Group Ltd. Austria.
- Η ολική και ειδική IgE μετρήθηκε με τη μέθοδο Pharmacia CAP FEIA σε ημιαυτόματο αναλυτή Unicap 100.
- Η Κρεατινίνη μετρήθηκε με τη μέθοδο Jaffe σε αυτόματο αναλυτή Cobas Integra 800.

7.3 ΜΕΘΟΔΟΙ

7.3.1 Προσδιορισμός Λευκοτριενίων με ανοσοενζυμική μέθοδο

Αρχή της Μεθόδου:

Στη συναγωνιστική ή ανταγωνιστική Elisa το προσροφημένο στην επιφάνεια αντίσωμα αναμιγνύεται με καθορισμένη ποσότητα αντιγόνου σημασμένου με ένζυμο σε συνθήκες τέτοιες, ώστε να υπάρχει ανταγωνισμός ανάμεσα στο προς μέτρηση αντιγόνο και το σημασμένο αντιγόνο, για την πρόσδεσή τους στο ακινητοποιημένο αντίσωμα. Η ενζυμική δράση είναι μέγιστη απουσία αντιγόνου στο προς εξέταση βιολογικό υγρό, ενώ μειώνεται αυξανομένης της συγκέντρωσής του. Επομένως, η ενζυμική δραστηριότητα είναι αντιστρόφως ανάλογη της ποσότητας του προς μέτρηση αντιγόνου. Το ένζυμο καταλύει αντίδραση με κατάλληλο υπόστρωμα που παράγει έγχρωμο προϊόν. Η συγκέντρωση του προϊόντος αυτού είναι ανάλογη της ενεργότητας του ενζύμου και ανάλογη της συγκέντρωσης του αντιγόνου[223]. Η τυποποίηση της μεθόδου μας έδωσε μια φυσιολογική τιμή για τους μάρτυρες 150pg/ml U-LTE4 και όριο ανίχνευσης τα 14 pg/ml U-LTE4.

Ποσοτικός Προσδιορισμός :

Στον ποσοτικό προσδιορισμό του αντιγόνου χρησιμοποιούνται πάντα παράλληλα με τα υπό εξέταση δείγματα, διαλύματα αναφοράς ή πρότυπα διαλύματα αντιγόνου για το σχηματισμό πρότυπης καμπύλης (σχήμα-7). Η καμπύλη αυτή μπορεί να είναι γραμμική ή ημιλογαριθμική, ανάλογα με τις απαιτήσεις του πειράματος. Με τη μέθοδο της παρεμβολής επιτρέπεται η έκφανση των αποτελεσμάτων σε μονάδες συγκέντρωσης [223].

Στη συγκεκριμένη μελέτη, ο προσδιορισμός των λευκοτριενίων έγινε με την ανοσοενζυμική μέθοδο Elisa (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) της εταιρίας GE Healthcare.

Η μέθοδος αυτή, όπως αναφέρθηκε, συνδυάζει τη χρήση ενός συζυγού λευκοτριενίου C4 επισημασμένου με υπεροξειδάση, έναν αντιορό ειδικό σε πεπτιδολευκοτριένια, ο οποίος μπορεί να ακινητοποιηθεί σε προ-επικαλυμμένες μικροπλάκες και ένα δοχείο με σταθεροποιημένο διάλυμα υποστρώματος. Το τελευταίο παρέχει μια γρήγορη, ευαίσθητη και μη ισοτοπική μέθοδο για τον προσδιορισμό των λευκοτριενίων C4/D4/E4 στο εύρος των 0,77pg έως 49.5pg ανά κυψέλη μικροπλάκας.

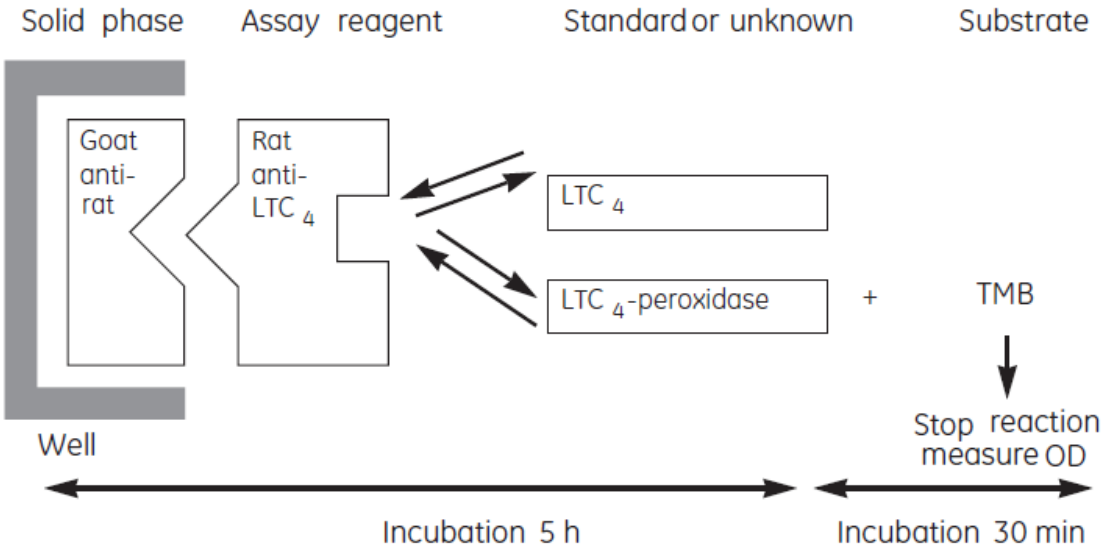
Κάθε συσκευασία περιέχει αρκετό υλικό για τον προσδιορισμό σε 96 κυψέλες. Αυτό επιτρέπει την κατασκευή μίας πρότυπης καμπύλης και τη διπλή μέτρηση 39 δειγμάτων.

Η διαδικασία βασίζεται στον ανταγωνισμό μεταξύ των μη σημασμένων λευκοτριένιων C4 και μιας καθορισμένης ποσότητας λευκοτριενίων C4 επισημασμένων με υπεροξειδάση, για έναν περιορισμένο αριθμό θέσεων σύνδεσης σε αντίσωμα ειδικό σε πεπτιδολευκοτριένια.

Έχοντας σταθερή ποσότητα αντισωμάτων και λευκοτριενίων C4 επισημασμένων με υπεροξειδάση, η ποσότητα του επισημασμένου με υπεροξειδάση προσδέματος που θα συνδέεται με το αντίσωμα, θα είναι αντιστρόφως ανάλογη προς τη συγκέντρωση του μη επισημασμένου προσδέματος.

Ο προσδέτης υπεροξειδάσης που είναι συνδεδεμένος με το αντίσωμα ακινητοποιείται στις κυψέλες της μικροπλάκας πολυστυρενίου οι οποίες είναι προ-επικαλλυμένες με δευτερεύων αντίσωμα, όπως φαίνεται στο **σχήμα -4:**

Σχήμα-4: Διαδικασία Elisa για τη μέτρηση Λευκοτριενίων C4/D4/E4



Με αυτό τον τρόπο, οποιοσδήποτε μη επισημασμένος προσδέτης, μπορεί να αφαιρεθεί από την κυψέλη με μια απλή διαδικασία πλύσης.

Η ποσότητα των επισημασμένων με υπεροξειδάση Λευκοτριενίων C4 τα οποία είναι δεσμευμένα στο αντίσωμα, προσδιορίζονται με προσθήκη Τετραμέθυλβενζιδίνης (TMB)/υπόστρωμα υπεροξειδίου του υδρογόνου.

Η ενζυμική αντίδραση διακόπτεται με την προσθήκη διαλύματος οξέος, και το χρώμα που προκύπτει διαβάζεται στα 450nm σε ειδικό φασματοφωτόμετρο μικροπλάκας.

Η συγκέντρωση των μη επισημασμένων λευκοτριενίων C4 σε ένα δείγμα προσδιορίζεται με την παρεμβολή του στην πρότυπη καμπύλη.

<u>Πρωτόκολλο:</u>

Υπάρχουν δύο πρωτόκολλα που μπορούν να επιλεχθούν στο συγκεκριμένο κιτ: το πρώτο αφορά τη διαδικασία του πειράματος στους 4-10°C και το άλλο στους 15-25°C. Το πρωτόκολλο που γίνεται στους 4-10°C καταλήγει σε μεγαλύτερο cross reactivity για τα LTE4 που μας ενδιαφέρουν (70%) από αυτό που γίνεται στους 15-25°C (30%), οπότε θα είναι και αυτό που θα χρησιμοποιηθεί στην παρούσα μελέτη (πίνακας-4).

1. Προετοιμασία των υλικών της ανάλυσης και των σταθερών όπως παρουσιάστηκε στην προηγούμενη παράγραφο.

2. Προετοιμασία της μικροπλάκας με αρκετές κυψέλες ώστε να γίνεται δυνατή η χρήση διπλών σταθερών και διπλών δειγμάτων.
3. Με μια πιπέτα (200μl) προσθέτουμε 100μl assay buffer μέσα στις non - Specific Binding (NSB) κυψέλες (σχήμα -4).
4. Με μια πιπέτα (100μl) προσθέτουμε 50μl από το assay buffer μέσα στις Zero Standard κυψέλες B_o (σχήμα -4).
5. Αρχίζοντας με το πιο αραιωμένο standard, μεταφέρουμε με μια πιπέτα (100μl) 50μl από το κάθε standard ή άγνωστο δείγμα στη κατάλληλη κυψέλη (σχήμα -4).
6. Με μια πιπέτα (100μl) προσθέτουμε 50μl από το antiserum σε κάθε κυψέλη εκτός των κενών κυψελών (blank wells) και των NSB κυψελών.
7. Καλύπτουμε τη μικροπλάκα με το καπάκι της και την αφήνουμε να επωάσει στους 4-10°C για 2 ώρες.
8. Μετά το πέρας των 2 ωρών. με μια πιπέτα (100μl) προσθέτουμε 50μl από την ένωση Leukotriene C4 Peroxidase σε όλες τις κυψέλες εκτός από αυτές των κενών δειγμάτων.
9. Καλύπτουμε τη μικροπλάκα με το καπάκι της και την αφήνουμε να επωάσει στους 4-10°C για 3 ώρες.
10.

Σχήμα-5: Τοποθέτηση των Standard και των Δειγμάτων στη μικροπλάκα

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	B	B	24.8	24.8	S	S	S	S	S	S	S	S
B	NSB	NSB	49.5	49.5	S	S	S	S	S	S	S	S
C	0	0	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
D	0.77	0.77	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
E	1.55	1.55	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
F	3.1	3.1	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
G	6.2	6.2	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
H	12.4	12.4	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

11. Για τη διαδικασία πλύσης της μικροπλάκας γεμίζουμε και ξεβγάζουμε όλες τις κυψέλες 4 φορές με 300μl από το Wash Buffer.
12. Αμέσως μεταφέρουμε με μια πολυπιπέτα (8X200μl) 150μl από το ενζυμικό υπόστρωμα σε όλες τις κυψέλες και καλύπτουμε τη μικροπλάκα με το καπάκι της. Στη συνέχεια τοποθετούμε τη μικροπλάκα στο ειδικό μηχάνημα ανάδευσης (microplate shaker) για ακριβώς 30 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου (15-25°C). Κατά τη διάρκεια της ενζυμικής αντίδρασης αναπτύσσεται μπλε χρώμα στις κυψέλες το οποίο μπορεί να διαβαστεί στα 630 nm.
13. Για να σταματήσουμε την ενζυμική αντίδραση μετά το πέρας των 30 λεπτών, μεταφέρουμε με μια πολυπιπέτα (8X200μl) 100μl 1M από Sulphuric Acid σε κάθε κυψέλη, ανακινούμε προσεκτικά και προσδιορίζουμε την οπτική πυκνότητα σε ένα plate reader στα 450nm μέσα σε ένα διάστημα 30 λεπτών.

Υπολογισμοί:

Τα συλλεγόμενα στοιχεία έχουν την ακόλουθη μορφή:

Σχήμα-6: Τυπικά αποτελέσματα πειράματος

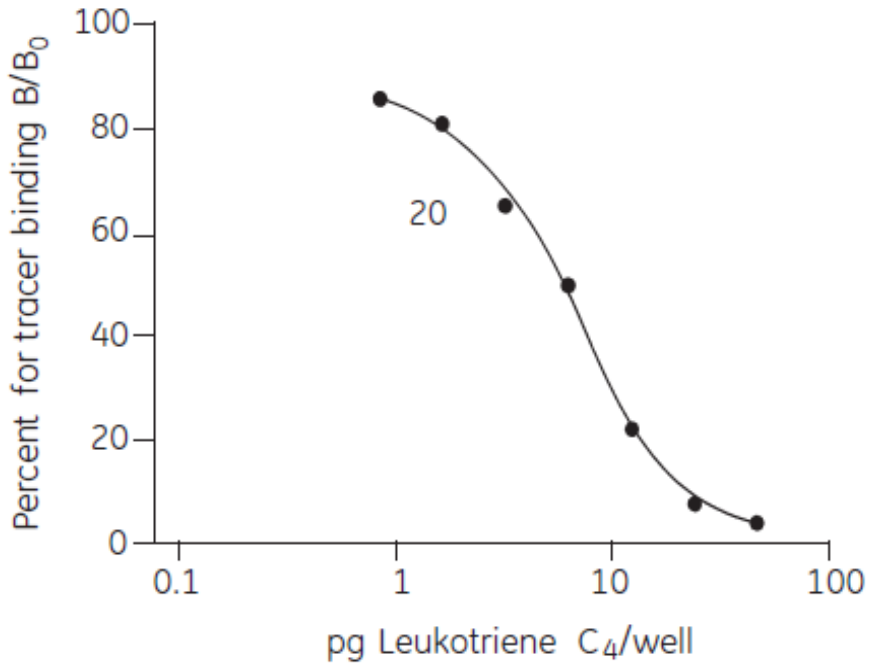
Standard (pg/well)	Optical (OD) at 450 nm	Mean OD at 450 nm	Mean OD - NSB	%B/B$_0$
Substrate blank	0.042 0.044	0.043		
NSB	0.078 0.080	0.079		
0	1.096 1.099	1.097	1.018	
0.77	1.038 1.033	1.036	0.957	94.0
1.55	1.001 1.035	1.018	0.939	92.2
3.1	0.935 0.954	0.944	0.865	85.0
6.2	0.749 0.748	0.753	0.674	66.2
12.4	0.487 0.508	0.498	0.419	41.2
24.8	0.257 0.236	0.247	0.168	16.5
49.5	0.130 0.132	0.131	0.052	5.1

Η μέση οπτική απορρόφηση υπολογίζεται για κάθε σετ δειγμάτων και σταθερών.
Το τελικό ποσοστό που δεσμεύτηκε για κάθε δείγμα και σταθερά υπολογίζεται σύμφωνα με τον τύπο:

$$\%B/B_0 = \frac{(\text{standard or sample OD-NSB OD}) \times 100}{(B_0\ \text{OD - NSB OD})}$$

Με αυτό τον τρόπο μία καμπύλη σταθεράς μπορεί να σχεδιαστεί σε ημιλογαριθμικό χαρτί βάζοντας στον χ άξονα τα pg των λευκοτριενίων που γνωρίζουμε από τα standards του πειράματος και στον y άξονα το $\%B/B_o$ που υπολογίσαμε από το παραπάνω τύπο. Η καμπύλη που θα προκύψει θα έχει την ακόλουθη μορφή.

Σχήμα-7: Καμπύλη Σταθεράς των C4 Λευκοτριενίων



Τα λευκοτριένια Ε4 που μας ενδιαφέρουν μπορούν να υπολογιστούν από την καμπύλη ως εξής. Πρώτα προβάλλουμε την τιμή %B/Bo που έχουμε υπολογίσει για κάθε δείγμα πάνω στη καμπύλη και υπολογίζουμε τα pg C4 λευκοτριενίων που αναλογούν για κάθε δείγμα σε κάθε κυψέλη. Στη συνέχεια γνωρίζοντας ότι το Cross reactivity για το πρωτόκολλο που επιλέξαμε είναι 70% αρκεί να πολλαπλασιάσουμε την παραπάνω τιμή με το λόγο 100/70, για να βρούμε πόσα pg Λευκοτριενίων Ε4

υπάρχουν σε κάθε κυψέλη. Αυτή η ποσότητα αναλογεί στα 50μl δείγματος που χρησιμοποιήσαμε σε κάθε κυψέλη. Πολλαπλασιάζοντας την τιμή με το 20 υπολογίζουμε τα pg λευκοτριενίων Ε4 σε κάθε ml (1000μl) δείγματος.

Πινακας-4 : Διασταυρούμενη αντιδραστηκότητα λευκοτριενίων.

Analyte	% Cross-reactivity 4–10°C	% Cross-reactivity 15–25°C
Leukotriene C_4	100	100
Leukotriene D_4	100	100
Leukotriene E_4	70	30
Leukotriene B_4	<1.35	
Prostaglandin $F_2\alpha$	<0.006	
Prostaglandin D_2	<0.006	
Prostaglandin E_2	<0.006	
6-Keto-prostaglandin $F_1\alpha$	<0.006	
Thromboxane B_2	<0.006	
Glutathione	<0.006	

7.3.2 Ποσοτικός προσδιορισμός της συγκέντρωσης της Κρεατινίνης στα ούρα με τη μέθοδο Jaffe

Η ποσότητα της κρεατινίνης που απεκκρίνεται ημερησίως από ένα άτομο είναι σχετικώς σταθερή. Γι αυτό το λόγο, όταν δεν γίνεται συλλογή 24ωρου, τα επίπεδα της κρεατινίνης στα ούρα μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να ομαλοποιήσουν το ρυθμό απέκκρισης του προς προσδιορισμού μορίου.

Στη συγκεκριμένη μελέτη τα επίπεδα της κρεατινίνης στα ούρα υπολογίστηκαν με τη μέθοδο της κινητικής αντίδρασης Jaffe (CREAJ) Cobas Integra σε αναλυτή Cobas Integra 800.

Σε αλκαλικό διάλυμα η κρεατινίνη αντιδρά με πικρικό οξύ και σχηματίζει ένα κιτρινέρυθρο προϊόν προσθήκης. Η ταχύτητα σχηματισμού της χρωστικής (ένταση του χρώματος) είναι ευθέως ανάλογη της συγκέντρωσης της κρεατινίνης στο δείγμα και μετριέται με την αύξηση της απορρόφησης στα 512nm.

7.3.3 Δερματική Δοκιμασία Νυγμού (Prick Test)

Η δερματική δοκιμασία νυγμού προσδιορίζει την παρουσία λειτουργικής ειδικής IgE στην επιφάνεια των μαστοκυττάρων. Η μέθοδος βασίζεται στην ιδιότητα των ευαισθητοποιημένων μαστοκυττάρων να ενεργοποιούνται και να εκλύουν μεσολαβητές υπό την επίδραση αλλεργιογόνου, που γεφυρώνει δύο παρακείμενες ειδικές IgE. Η έκλυση των μεσολαβητών οδηγεί σε τοπική αντίδραση με αποτέλεσμα την εμφάνιση πόμφου, περιφερικής ερυθρότητας και κνησμού.

Συγκεκριμένα, μια σταγόνα από εκχύλισμα συγκεκριμένου αλλεργιογόνου τοποθετείται στο βραχίονα του ασθενή και διατρυπάται το δέρμα κάτω από τη σταγόνα ώστε να εισχωρήσει μια ποσότητα αλλεργιογόνου στο δέρμα. Στην περίπτωση που ο ασθενής είναι ευαισθητοποιημένος στο υπό μελέτη αλλεργιογόνο, το δέρμα στο σημείο εκείνο, θα αντιδράσει και θα δημιουργήσει τοπικό ερέθισμα. Η τοπική αυτή αντίδραση συγκρίνεται με έναν θετικό και αρνητικό μάρτυρα. Ως θετικός μάρτυρας χρησιμοποιείται ισταμίνη και ως αρνητικός μάρτυρας φυσιολογικός ορός. Η ισταμίνη ως εκχύλισμα δημιουργεί την ίδια φυσιολογική αντίδραση με τη φυσική ισταμίνη που εκλύεται κατά τη διάρκεια της αλλεργικής αντίδρασης και η σύγκριση με το αλλεργιογόνο καθορίζει αν ο ασθενής είναι ατοπικός ή όχι.

Στη μελέτη χρησιμοποιήθηκαν 7 βασικά αλλεργιογόνα και συγκεκριμένα: γύρη μίγματος αγρωστωδών, γύρη ελιάς, τρίχωμα γάτας, ακάρι *D.pteronyssinus,* μύκητα *A.alternata,* γύρη παριετάριας *P.judaica,* και ασπράδι αυγου. Το αρνητικό αποτέλεσμα σε συνδυασμό με την ειδική IgE και το ελεύθερο ατομικό και οικογενειακό ιστορικό αποκλείουν την παρουσία ατοπίας στην ομάδα των μαρτύρων.

Η επιλογή των συγκεκριμένων αλλεργιογόνων έγινε λόγω της αυξημένης τους εύρεσης στη γεωγραφική περιοχή διαμονής των ασθενών και των μαρτύρων που περιλαμβάνονται στη μελέτη.

7.3.4 Προσδιορισμός της Ολικής και Ειδικής IgE με τη μέθοδο Pharmacia CAP FEIA(Fluorenzymeimmunoassay).

Η ανακάλυψη της IgE το 1967 από τον Ishizaka και Johansson [207,208] έθεσε τις βάσεις για τη μελέτη της αλλεργίας. Η ανακάλυψη μιας μεθόδου μέτρησης in vitro

της IgE υλοποιήθηκε από τους Wide et al. το 1987 [209] με τη μέθοδο RAST η οποία οδήγησε σε σημαντική πρόοδο τη διάγνωση των αλλεργικών ασθενειών.
Η μέθοδος RAST από την ανακάλυψή της μέχρι σήμερα έχει αξιολογηθεί ευρέως και έχει δείξει ότι μπορεί να επιτύχει υψηλή εξειδίκευση αλλά χαμηλή ευαισθησία, ιδιαίτερα όταν συγκριθεί με in vivo δοκιμασίες, όπως αυτές του δέρματος.
Για το λόγο αυτό, έχει προκύψει μια νέα γενιά μεθόδων οι οποίες προσπαθούν να ξεπεράσουν αυτό το μειονέκτημα. Η πιο πρόσφατη "in vitro" δοκιμασία που εισήχθη για τον προσδιορισμό της συνολικής και ειδικής IgE ονομάζεται CAP[209]. Η σημαντικότερη συνεισφορά της μεθόδου CAP είναι η στερεά φάση η οποία αποτελείται από ένα πολυμερές κυτταρίνης το οποίο ενεργοποιείται μέσα σε μια κάψουλα (immunocap), η οποία μπορεί να δεσμεύει περισσότερες πρωτεΐνες από ότι το αντίστοιχο χαρτί-δίσκος. Στη συγκεκριμένη μελέτη επιλέχθηκε η μέθοδος CAP, η οποία παρουσιάζει μεγαλύτερη ευαισθησία από το σύστημα RAST και το σύστημα UniCap 100 το οποίο περιλαμβάνει έναν αυτοαναλυτή ο οποίος συνδυάζει την πλήρη αυτοματοποίηση με την υψηλή ευαισθησία του συστήματος CAP, χωρίς να απαιτείται καθημερινή βαθμονόμηση. Τα αντιδραστήρια προήλθαν από την εταιρεία Phadia.

7.3.5 Στατιστική Μεθοδολογία

Όλες οι στατιστικές αναλύσεις και η διαχείριση των δεδομένων έγιναν με τη χρήση του προγράμματος STATA 8.5 για το λειτουργικό Windows (StataCorp, Texas,USA,2006).
Τα δεδομένα εκφράζονται ως μέση τιμή ± SD. Η σύγκριση των ομαδοποιημένων δεδομένων έγινε με τη μη-παραμετρική μέθοδο Mann-Whitney U test (για ανεξάρτητα δείγματα) ή αλλιώς, έλεγχος αθροίσματος διατάξεων του Wilcoxon (wilcoxon rank-sum test) ή αλλιώς, έλεγχος Mann-whitney-wilcoxon.
Ως στατιστικά σημαντική διαφορά χρησιμοποιήθηκε το **P <0,05**.

8. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Πίνακας 5. ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΣΘΕΝΩΝ							
	Σύνολο Ασθενών	**Μάρτυρες**	**Ατοπικοί Ασθενείς**		**Μη Ατοπικοί Ασθενείς**		**Ασθενείς με Βρογχιολίτιδα**
			Έξαρση	**Ύφεση**	**Έξαρση**	**Ύφεση**	
Αριθμός Ασθενών	181	40	22	30	21	29	40
Ηλικία, χρ	3,6	3,1	3,3	3,2	3,4	3,7	1
Φύλλο Αρρεν/Θήλυ	101/80	25/15	12/10	18/12	12/9	17/11	17/23

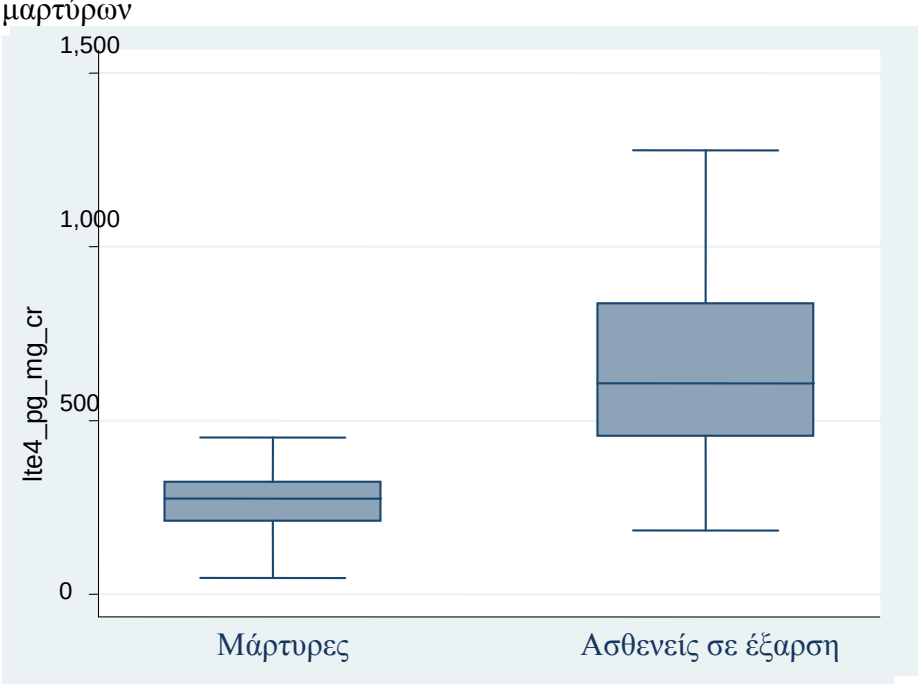
8.1. Σύγκριση Ασθενών με Μάρτυρες

8.1.1:Συσχέτιση Μαρτύρων και Ασθενών σε Έξαρση

Έγινε σύγκριση μεταξύ των επιπέδων των LTE4 των ασθενών που βρίσκονταν σε έξαρση (ΜΟ: 642**,** μεταβλητότητα 268) , σε σχέση με τα επίπεδα των λευκοτριενίων LTE_4 των μαρτύρων (ΜΟ: 271**,** μεταβλητότητα 83). Βρέθηκε ότι τα επίπεδα των λευκοτριενίων LTE_4 των ασθενών σε έξαρση είναι σημαντικώς υψηλότερα (**p<0.001)**, σε σχέση με αυτά των μαρτύρων. (Παράρτημα.1,2,17)

Πίνακας 6. Συσχέτιση Μαρτύρων και Ασθενών σε Έξαρση			
Τύπος Δείγματος	**Αριθμός Δειγμάτων (N)**	**Μέσος όρος U-LTE4** (pg/mg creatinine)	**P -Value**
Μάρτυρες	36	271	**<0.001**
Ασθενείς σε Έξαρση	80	642	

Σχήμα-8: Σύγκριση μεταξύ των επιπέδων των LTE4 των ασθενών, ατοπικών και μη, που βρίσκονταν σε έξαρση σε σχέση με τα επίπεδα των λευκοτριενίων LTE_4 των μαρτύρων

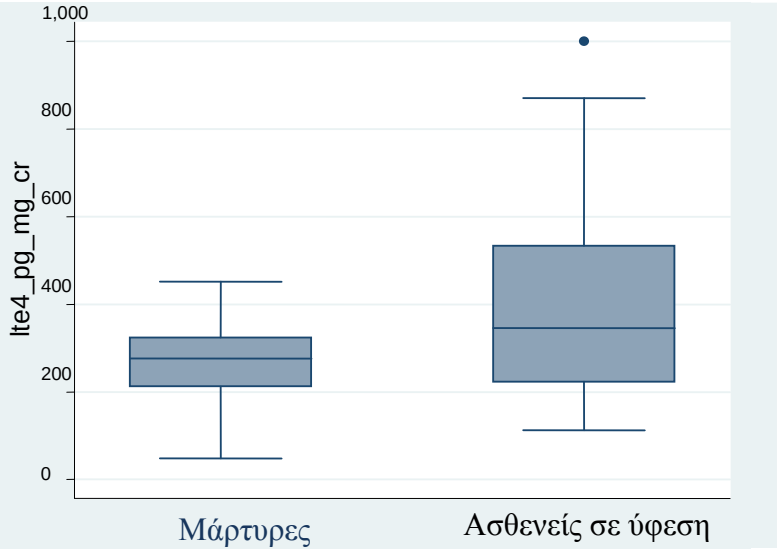


8.1.2:<u>Συσχέτιση Μαρτύρων και Ασθενών σε Ύφεση</u>

Έγινε σύγκριση μεταξύ των επιπέδων των LTE4 των ασθενών που βρίσκονταν σε ύφεση (ΜΟ: 399**,** μεταβλητότητα 204) σε σχέση με τα επίπεδα των λευκοτριενίων LTE_4 των μαρτύρων (ΜΟ: 271**,** μεταβλητότητα 83). Βρέθηκε ότι τα επίπεδα των λευκοτριενίων LTE_4 των ασθενών σε ύφεση, είναι σημαντικώς υψηλότερα (**p<0.001)**, σε σχέση με αυτά των μαρτύρων. (Παράρτημα.1,3,18)

<u>Πίνακας 7</u>. Συσχέτιση Μαρτύρων και Ασθενών σε Ύφεση			
Τύπος Δείγματος	**Αριθμός Δειγμάτων (N)**	**Μέσος όρος U-LTE4** (pg/mg creatinine)	**P -Value**
Μάρτυρες	36	271	**<0.001**
Ασθενείς σε Ύφεση	58	399	

Σχήμα-9: Σύγκριση μεταξύ των επιπέδων των LTE4 των ασθενών, ατοπικών και μη, που βρίσκονταν σε ύφεση σε σχέση με τα επίπεδα των λευκοτριενίων LTE_4 των μαρτύρων

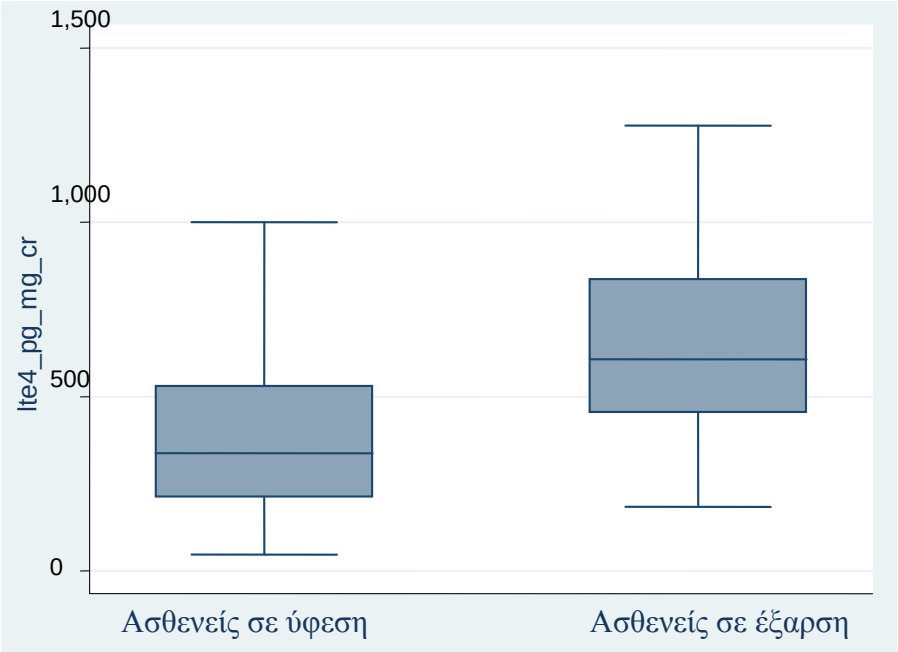


8.1.3:<u>Συσχέτιση Ασθενών σε Έξαρση και Ασθενών σε Ύφεση</u>

Έγινε σύγκριση μεταξύ των επιπέδων των LTE4 των ασθενών,που βρίσκονταν σε ύφεση (ΜΟ: 387**,** μεταβλητότητα 202) σε σχέση με τα επίπεδα των LTE4 των ασθενών, που βρίσκονταν σε έξαρση (ΜΟ: 642**,** μεταβλητότητα 268). Βρέθηκε ότι τα επίπεδα των λευκοτριενίων LTE_4 των ασθενών σε έξαρση, είναι σημαντικώς υψηλότερα (**p<0.001)**, σε σχέση με τους ασθενείς στο στάδιο της ύφεσης. (Παράρτημα.2,3,19)

<u>Πίνακας 8</u>. Σύσχέτιση Ασθενών σε Ύφεση και Ασθενών σε Έξαρση			
Τύπος Δείγματος	**Αριθμός Δειγμάτων (N)**	**Μέσος όρος U-LTE4** (pg/mg creatinine)	**P -Value**
Ασθενείς σε Έξαρση	80	642	**<0.001**
Ασθενείς σε Ύφεση	58	399	

Σχήμα-10: Σύγκριση μεταξύ των επιπέδων των LTE4 των ασθενών, ατοπικών και μη, που βρίσκονταν σε ύφεση, σε σχέση με τα επίπεδα των λευκοτριενίων LTE_4 των ασθενών, ατοπικών και μη, που βρίσκονταν σε έξαρση



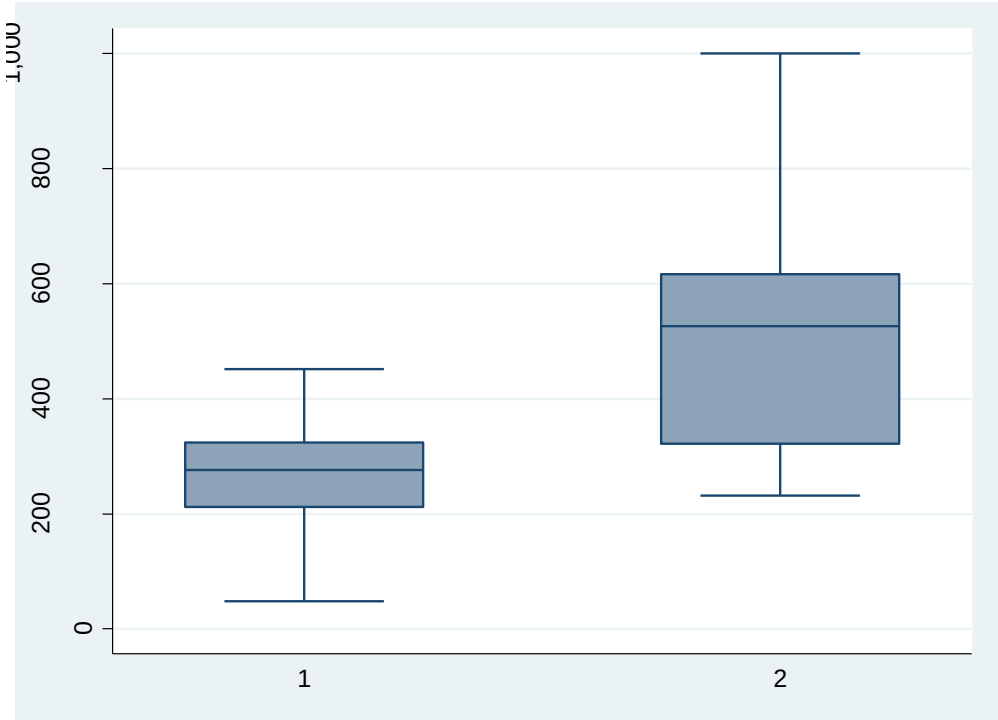
8.2. Σύγκριση Ατοπικών Ασθενών με Μάρτυρες

8.2.1: Συσχέτιση Ατοπικών ασθενών σε ύφεση και Μαρτύρων

Έγινε σύγκριση μεταξύ των επιπέδων των LTE4 των ατοπικών ασθενών που βρίσκονταν στο στάδιο της ύφεσης (ΜΟ: 508**,** μεταβλητότητα 182) σε σχέση με τα επίπεδα των λευκοτριενίων LTE_4 των μαρτύρων (ΜΟ: 271**,** μεταβλητότητα 83). Βρέθηκε ότι τα επίπεδα των LTE_4 των ατοπικών ασθενών στο στάδιο της ύφεσης, είναι σημαντικώς υψηλότερα (**p<0.001)** σε σχέση με αυτά των μαρτύρων. (Παράρτημα.1,5,20)

Πίνακας 9. Συσχέτιση Ατοπικών ασθενών σε ύφεση και Μαρτύρων			
Τύπος Δείγματος	**Αριθμός Δειγμάτων (N)**	**Μέσος όρος U-LTE4** (pg/mg creatinine)	**P -Value**
Μάρτυρες	36	271	**<0.001**
Ατοπικοί Ασθενείς σε Ύφεση	30	508	

Σχήμα-11: Σύγκριση μεταξύ των επιπέδων των LTE4 των ατοπικών ασθενών, που βρίσκονταν σε ύφεση(2), σε σχέση με τα επίπεδα των λευκοτριενίων LTE_4 των μαρτύρων(1).

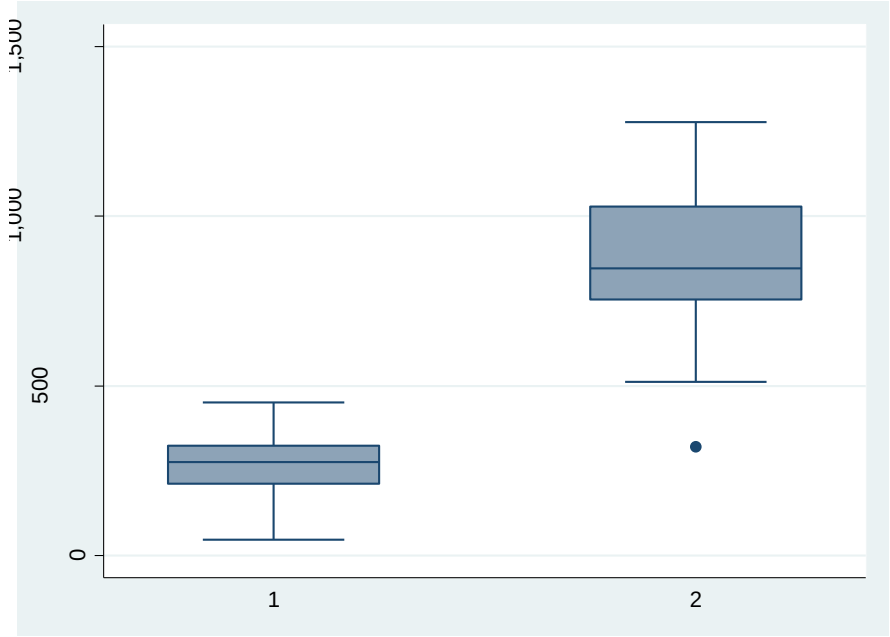


8.2.2:<u>Συσχέτιση Ατοπικών ασθενών σε 'Εξαρση και Μαρτύρων</u>

Έγινε σύγκριση μεταξύ των επιπέδων του U-LTE4 των ατοπικών ασθενών που βρίσκονταν στο στάδιο της έξαρσης (ΜΟ: 872**,** μεταβλητότητα 246), σε σχέση με τα επίπεδα του U-LTE4 των μαρτύρων (ΜΟ: 271**,** μεταβλητότητα 83). Βρέθηκε ότι τα επίπεδα του U-LTE4 των ατοπικών ασθενών που βρίσκονταν στο στάδιο της έξαρσης είναι σημαντικώς υψηλότερα (**p<0.001)** σε σχέση με αυτά των μαρτύρων. (Παράρτημα.1,4,21)

<u>Πίνακας 10</u>. Συσχέτιση Ατοπικών ασθενών σε 'Εξαρση και Μαρτύρων			
Τύπος Δείγματος	**Αριθμός Δειγμάτων (N)**	**Μέσος όρος U-LTE4** (pg/mg creatinine)	**P -Value**
Μάρτυρες	36	271	**<0.001**
Ατοπικοί Ασθενείς σε Έξαρση	22	872	

Σχήμα-12: Σύγκριση μεταξύ των επιπέδων των LTE4 των ατοπικών ασθενών που βρίσκονταν σε έξαρση(2) σε σχέση με τα επίπεδα των λευκοτριενίων LTE_4 των μαρτύρων(1)

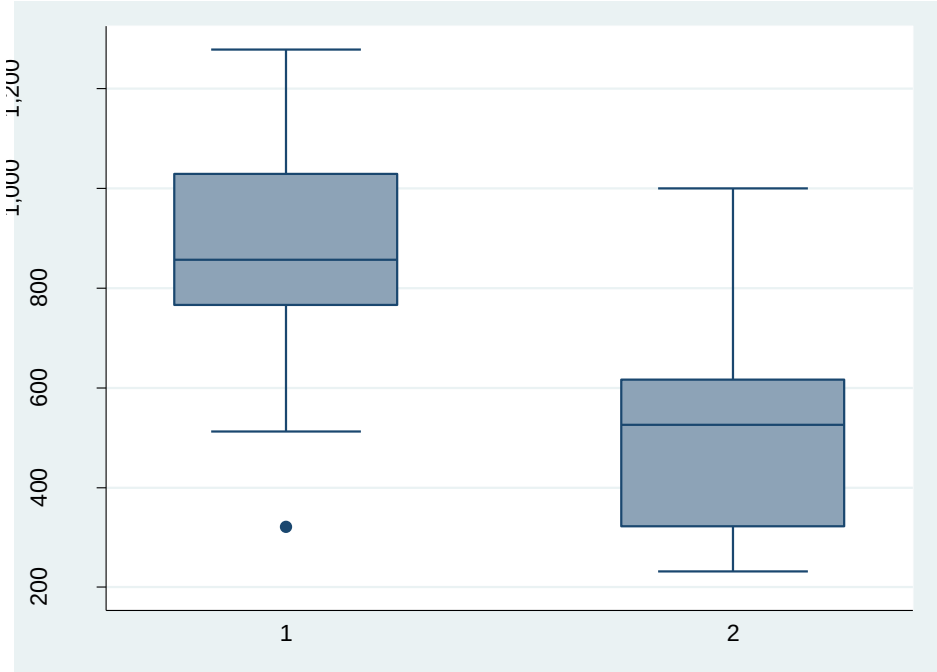


8.2.3: <u>Συσχέτιση μεταξύ ασθενών Ατοπικών σε Έξαρση και Ατοπικών σε 'Υφεση</u>.

Έγινε σύγκριση μεταξύ των επιπέδων των LTE4 των ατοπικών ασθενών που βρίσκονταν στο στάδιο της έξαρσης (ΜΟ: 872**,** μεταβλητότητα 246) σε σχέση με τα επίπεδα των λευκοτριενίων LTE_4 των ατοπικών ασθενών που βρίσκονταν στο στάδιο της ύφεσης (ΜΟ: 508**,** μεταβλητότητα 182). Βρέθηκε ότι τα επίπεδα των λευκοτριενίων LTE_4 ατοπικων ασθενών που βρίσκονταν στο στάδιο της έξαρσης είναι σημαντικώς υψηλότερα (**p<0.001)** σε σχέση με αυτά των ατοπικων ασθενών που βρίσκονταν στο στάδιο της ύφεσης. (Παράρτημα.4,5,22)

<u>Πίνακας 11</u>. Συσχέτιση μεταξύ ασθενών Ατοπικών Σε Έξαρση και Ατοπικών σε 'Υφεση.			
Τύπος Δείγματος	**Αριθμός Δειγμάτων (N)**	**Μέσος όρος U-LTE4** (pg/mg creatinine)	**P -Value**
Ατοπικοί Ασθενείς σε Έξαρση	22	872	**<0.001**
Ατοπικοί Ασθενείς σε Ύφεση	30	508	

Σχήμα-13: Σύγκριση μεταξύ των επιπέδων των LTE4 των ατοπικών ασθενών, που βρίσκονταν σε έξαρση(1) σε σχέση με τα επίπεδα των λευκοτριενίων LTE_4 των ατοπικών ασθενών, που βρίσκονταν σε ύφεση(2)



8.3. Σύγκριση Μη Ατοπικών Ασθενών με Μάρτυρες

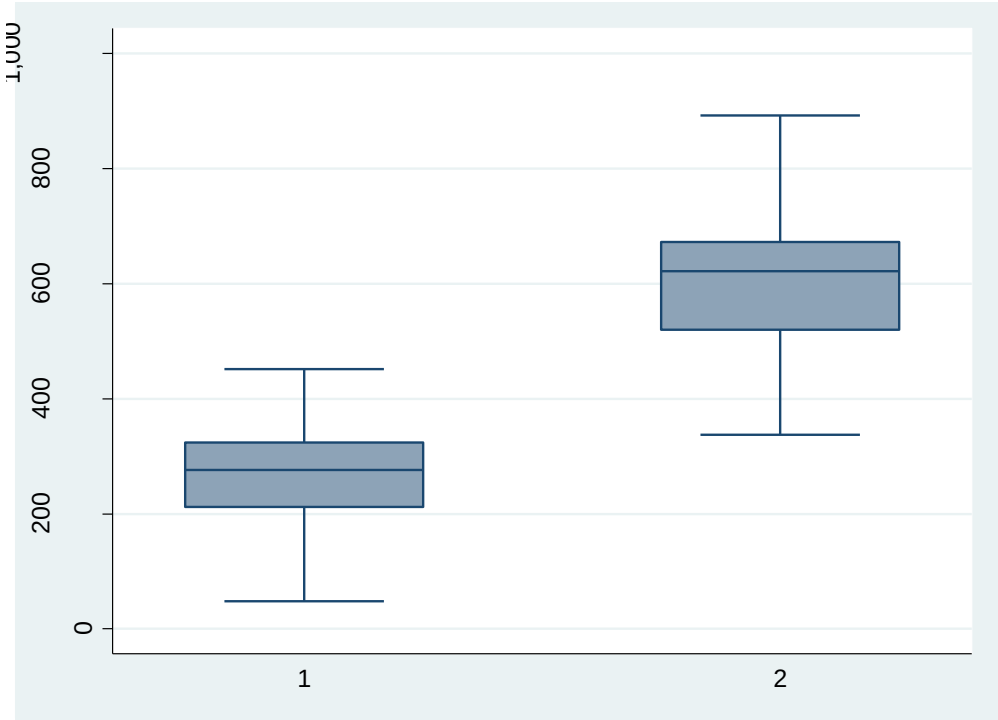
8.3.1:<u>Συσχέτιση μη Ατοπικών σε Έξαρση και Μαρτύρων</u>

Έγινε σύγκριση μεταξύ των επιπέδων των LTE4 των μη- ατοπικών ασθενών που βρίσκονταν στο στάδιο της έξαρσης (ΜΟ: 605**,** μεταβλητότητα 138) σε σχέση με τα επίπεδα των λευκοτριενίων LTE_4 των μαρτύρων (ΜΟ: 271**,** μεταβλητότητα 83). Βρέθηκε ότι τα επίπεδα των LTE_4 των μη- ατοπικών ασθενών στο στάδιο της έξαρσης, είναι σημαντικώς υψηλότερα (**p<0.001)**, από αυτά των μαρτύρων. (Παράρτημα.1,6,23)

<u>Πίνακας 12</u>. Συσχέτιση μη Ατοπικών σε Έξαρση και Μαρτύρων

Τύπος Δείγματος	**Αριθμός Δειγμάτων (N)**	**Μέσος όρος U-LTE4** (pg/mg creatinine)	**P -Value**
Μάρτυρες	36	271	**<0.001**
Μη Ατοπικοί Ασθενείς σε Έξαρση	16	605	

Σχήμα-14: Σύγκριση μεταξύ των επιπέδων των LTE4 των ατοπικών ασθενών, που βρίσκονταν σε έξαρση(2) σε σχέση με τα επίπεδα των λευκοτριενίων LTE_4 των μαρτύρων(1).

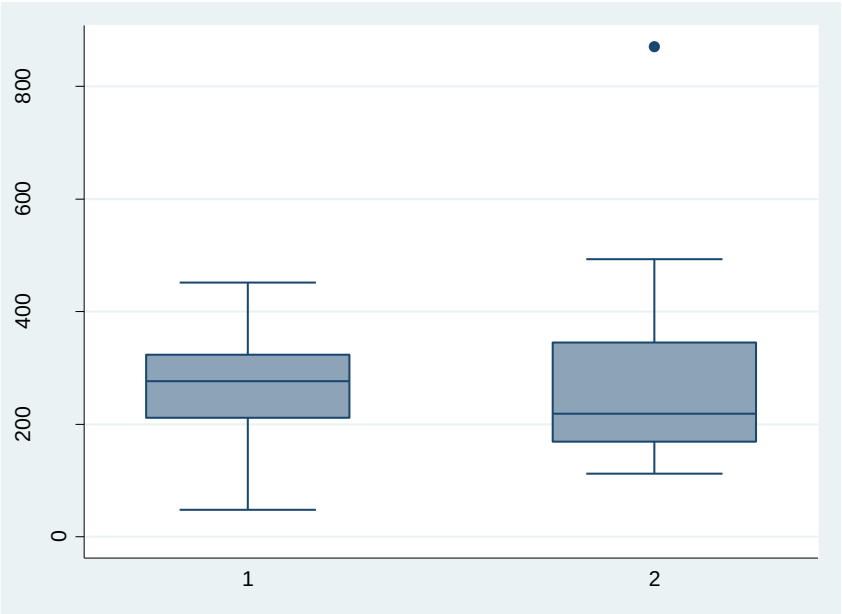


8.3.2:<u>Συσχέτιση μη Ατοπικών ασθενών σε Ύφεση και Μαρτύρων.</u>

Έγινε σύγκριση μεταξύ των επιπέδων των LTE4 των μη- ατοπικών ασθενών που βρίσκονταν στο στάδιο της ύφεσης (ΜΟ: 284**,** μεταβλητότητα 160) σε σχέση με τα επίπεδα των λευκοτριενίων LTE_4 των μαρτύρων (ΜΟ: 271**,** μεταβλητότητα 83). Βρέθηκε ότι τα επίπεδα των LTE_4 των μη- ατοπικών ασθενών στο στάδιο της ύφεσης δεν έχουν στατιστικώς σημαντική διαφορά (**p=0.4325)** από αυτά των μαρτύρων. (Παράρτημα.1,7,24)

<u>Πίνακας 13</u>. Συσχέτιση μη Ατοπικών ασθενών σε Ύφεση και Μαρτύρων.			
Τύπος Δείγματος	**Αριθμός Δειγμάτων (N)**	**Μέσος όρος U-LTE4** (pg/mg creatinine)	**P -Value**
Μάρτυρες	36	271	**0.4325**
Μη Ατοπικοί Ασθενείς σε Ύφεση	29	284	

Σχήμα-15: Σύγκριση μεταξύ των επιπέδων των LTE4 των μη ατοπικών ασθενών, που βρίσκονταν σε ύφεση(2) σε σχέση με τα επίπεδα των λευκοτριενίων LTE_4 των μαρτύρων(1).



8.4. Σύγκριση Μη Ατοπικών Ασθενών με Ατοπικούς Ασθενείς

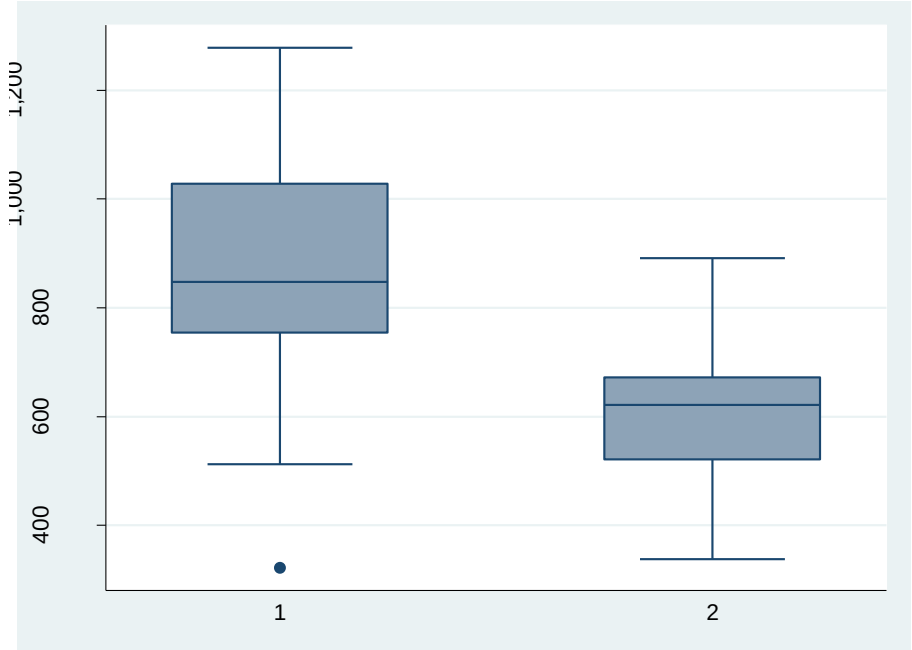
8.4.1:Συσχέτιση μεταξύ Ατοπικών Σε Έξαρση και Μη-Ατοπικών σε Έξαρση

Έγινε σύγκριση μεταξύ των επιπέδων των LTE4 των ατοπικών ασθενών που βρίσκονταν στο στάδιο της έξαρσης (ΜΟ: 872**,** μεταβλητότητα 246) σε σχέση με τα επίπεδα των λευκοτριενίων LTE_4 των μη - ατοπικων ασθενών που βρίσκονταν στο στάδιο της έξαρσης (ΜΟ: 613**,** μεταβλητότητα 150). Βρέθηκε ότι τα επίπεδα των λευκοτριενίων LTE_4 ατοπικών ασθενών που βρίσκονταν στο στάδιο της έξαρσης, είναι σημαντικώς υψηλότερα (**p=0.0013)** σε σχέση με αυτά των μη ατοπικών ασθενών που βρίσκονταν στο στάδιο της έξαρσης. (Παράρτημα.4,6,25)

Πίνακας 14. Συσχέτιση μεταξύ Ατοπικών Σε Έξαρση και Μη-Ατοπικών σε Έξαρση

Τύπος Δείγματος	**Αριθμός Δειγμάτων (N)**	**Μέσος όρος U-LTE4** (pg/mg creatinine)	**P -Value**
Ατοπικοί σε Έξαρση	22	872	**0.0013**
Μη Ατοπικοί σε Έξαρση	16	613	

Σχήμα-16: Σύγκριση μεταξύ των επιπέδων των LTE4 των ατοπικών ασθενών που βρίσκονταν σε έξαρση(1) σε σχέση με τα επίπεδα των λευκοτριενίων LTE_4 των μη ατοπικών ασθενών που βρίσκονταν σε έξαρση(2)



Η διαφορά είναι στατιστικά σημαντική με p=0.0013

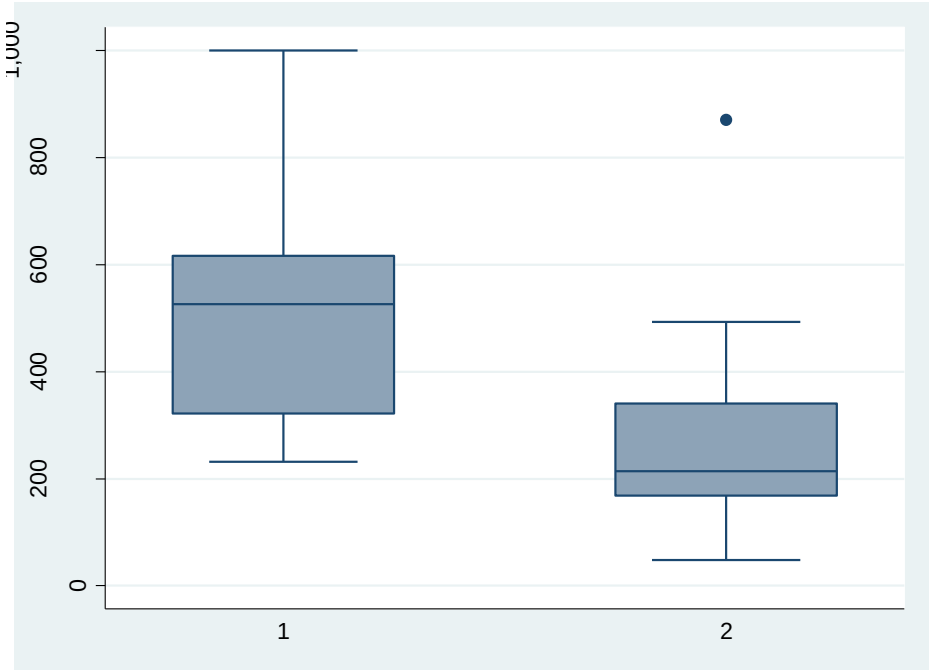
8.4.2:<u>Συσχέτιση μεταξύ ασθενών Ατοπικών σε Ύφεση και Μη-Ατοπικών σε Ύφεση</u>

Έγινε σύγκριση μεταξύ των επιπέδων των LTE4 των ατοπικών ασθενών που βρίσκονταν στο στάδιο της ύφεσης (ΜΟ: 508**,** μεταβλητότητα 182) σε σχέση με τα επίπεδα των λευκοτριενίων LTE_4 των μη ατοπικών ασθενών που βρίσκονταν στο στάδιο της ύφεσης (ΜΟ: 275**,** μεταβλητότητα 163). Βρέθηκε ότι τα επίπεδα των λευκοτριενίων LTE_4 των ατοπικών ασθενών που βρίσκονταν στο στάδιο της ύφεσης είναι σημαντικώς υψηλότερα (**p<0.001)** σε σχέση με αυτά των μη ατοπικών ασθενών που βρίσκονταν στο στάδιο της ύφεσης. (Παράρτημα5,7,26)

<u>Πίνακας 15</u>. Συσχέτιση μεταξύ ασθενών Ατοπικών σε Ύφεση και Μη-Ατοπικών σε Ύφεση

Τύπος Δείγματος	**Αριθμός Δειγμάτων (N)**	**Μέσος όρος U-LTE4** (pg/mg creatinine)	**P -Value**
Ατοπικοί σε Ύφεση	30	508	**<0.001**
Μη Ατοπικοί σε Ύφεση	29	275	

Σχήμα-17: Σύγκριση μεταξύ των επιπέδων των LTE4 των ατοπικών ασθενών που βρίσκονταν σε ύφεση(1) σε σχέση με τα επίπεδα των λευκοτριενίων LTE_4 των μη ατοπικών ασθενών που βρίσκονταν σε ύφεση(2)



Η διαφορά είναι στατιστικά σημαντική με p<0.001

8.5. Σύγκριση των Ατοπικών Ασθενών με ζεύγη δειγμάτων με τους Μάρτυρες

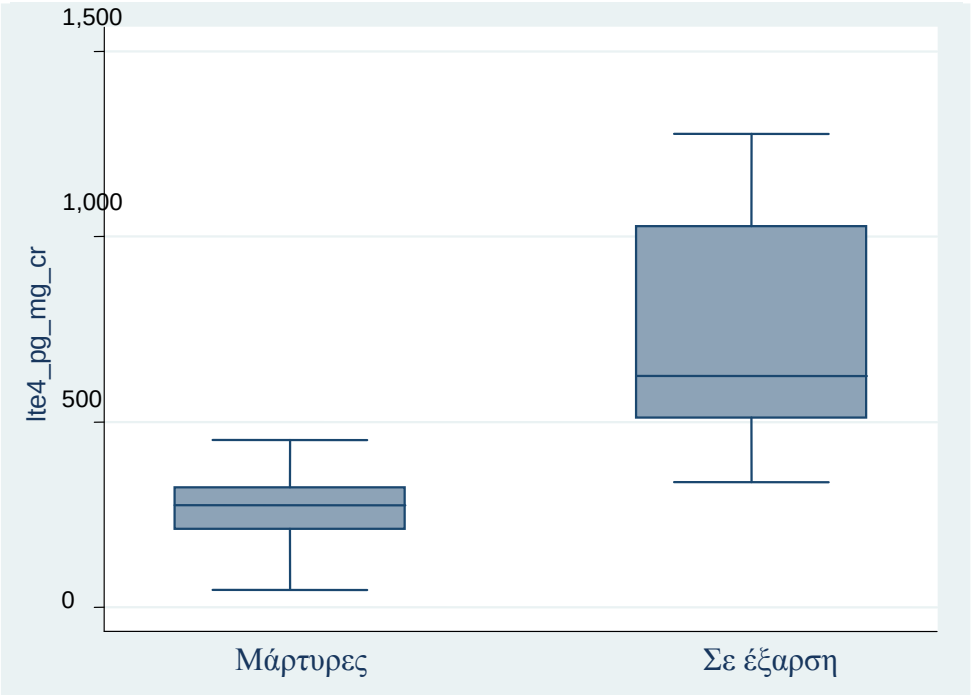
8.5.1:Συσχέτιση Μαρτύρων και Ατοπικών Ασθενών σε Έξαρση στα Ζεύγη

Έγινε σύγκριση μεταξύ των επιπέδων των LTE4 των ατοπικών ασθενών που είχαν ζεύγη δείγματος μόνο σε έξαρση (ΜΟ: 729**,** μεταβλητότητα 321) σε σχέση με τα επίπεδα των λευκοτριενίων LTE_4 των μαρτύρων (ΜΟ: 271**,** μεταβλητότητα 83). Βρέθηκε ότι τα επίπεδα των LTE_4 των ατοπικών ασθενών σε έξαρση με ζεύγη δειγμάτων είναι σημαντικώς υψηλότερα (**p<0.001)** από αυτά των μαρτύρων. (Παράρτημα.1,8,27)

Πίνακας 16. Συσχέτιση Μαρτύρων και Ασθενών σε Έξαρση στα Ζεύγη.

Τύπος Δείγματος	**Αριθμός Δειγμάτων (N)**	**Μέσος όρος U-LTE4** (pg/mg creatinine)	**P -Value**
Μάρτυρες	36	271	**<0.001**
Ατοπικά Ζεύγη σε Έξαρση	11	729	

Σχήμα-18: Σύγκριση μεταξύ των επιπέδων των LTE4 των ασθενών με ζευγάρια δείγματος που βρίσκονταν σε έξαρση σε σχέση με τα επίπεδα των λευκοτριενίων LTE_4 των μαρτύρων.



Η διαφορά είναι στατιστικά σημαντική με p<0.001

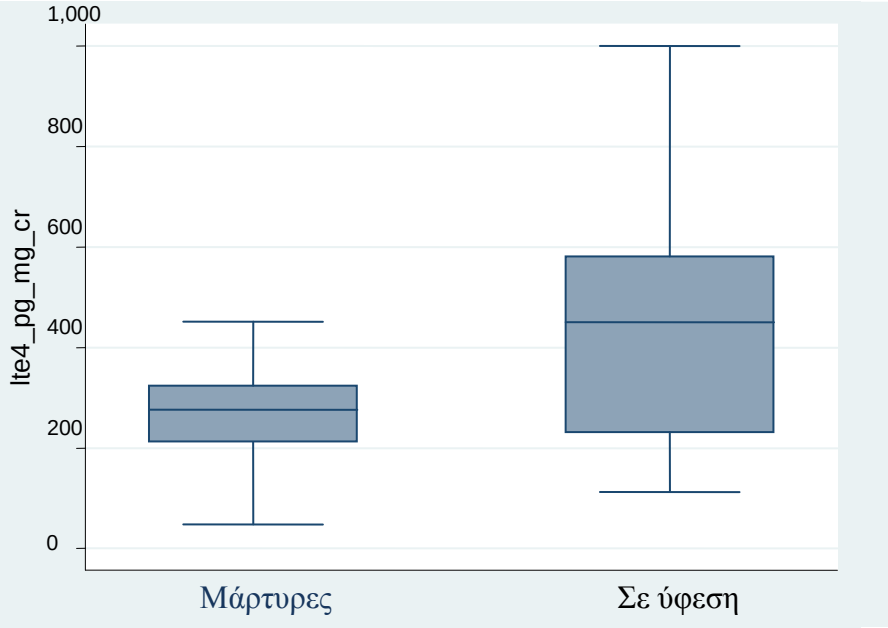
8.5.2:<u>Συσχέτιση Μαρτύρων και Ασθενών σε Ύφεση στα Ζευγάρια</u>

Έγινε σύγκριση μεταξύ των επιπέδων των LTE4 των ατοπικών ασθενών που είχαν ζεύγη δείγματος σε ύφεση (ΜΟ: 448**,** μεταβλητότητα 227) σε σχέση με τα επίπεδα των λευκοτριενίων LTE_4 των μαρτύρων (ΜΟ: 271**,** μεταβλητότητα 83). Βρέθηκε ότι τα επίπεδα των LTE_4 των ατοπικών ασθενών με ζεύγη δειγμάτων, είναι σημαντικώς υψηλότερα **(p=0.0046)** από αυτά των μαρτύρων. (Παράρτημα.1,9,28)

<u>Πίνακας 17</u>. Συσχέτιση Μαρτύρων και Ασθενών σε Ύφεση στα Ζεύγη.

Τύπος Δείγματος	**Αριθμός Δειγμάτων (N)**	**Μέσος όρος U-LTE4** (pg/mg creatinine)	**P -Value**
Μάρτυρες	36	271	**0.0046**
Ατοπικά Ζεύγη σε Ύφεση	15	448	

Σχήμα-19: Σύγκριση μεταξύ των επιπέδων των LTE4 των ασθενών με ζευγάρια δείγματος που βρίσκονταν σε ύφεση σε σχέση με τα επίπεδα των λευκοτριενίων LTE_4 των μαρτύρων(1).



Η διαφορά είναι στατιστικά σημαντική με p=0.0046

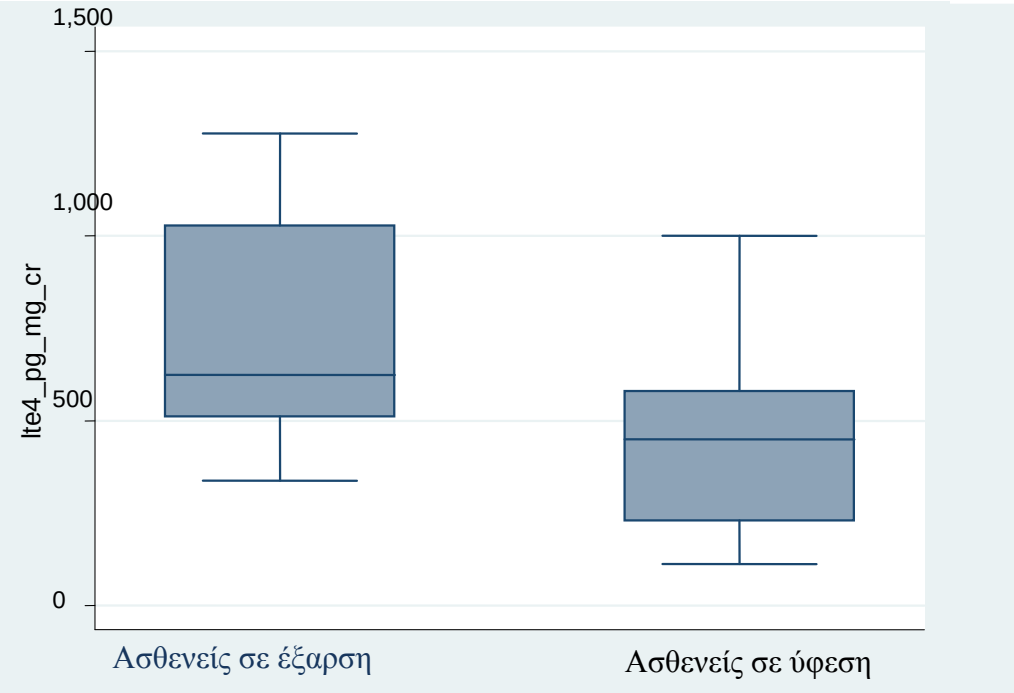
8.5.3:<u>Συσχέτιση Ασθενών σε Έξαρση στα Ζευγάρια και Ασθενών σε Ύφεση στα Ζευγάρια</u>.

Έγινε σύγκριση μεταξύ των επιπέδων των LTE4 των ατοπικών ασθενών που είχαν ζεύγη δείγματος μόνο σε έξαρση (ΜΟ: 729**,** μεταβλητότητα 321) σε σχέση με τα επίπεδα των λευκοτριενίων LTE_4 των ατοπικών ασθενών που είχαν ζεύγη δείγματος μόνο σε ύφεση (ΜΟ: 448**,** μεταβλητότητα 227). Βρέθηκε ότι τα επίπεδα των LTE_4 των ατοπικών ασθενών σε έξαρση με ζεύγη δειγμάτων είναι σημαντικώς υψηλότερα (**p=0.0209)** σε σχέση με τα επίπεδα των ατοπικών ασθενών που είχαν ζεύγη δείγματος μόνο σε ύφεση. (Παράρτημα.8,9,29)

<u>Πίνακας 18</u>. Συσχέτιση Ασθενών σε Έξαρση στα Ζευγάρια και Ασθενών σε Ύφεση στα Ζευγάρια.

Τύπος Δείγματος	**Αριθμός Δειγμάτων (N)**	**Μέσος όρος U-LTE4** (pg/mg creatinine)	**P -Value**
Ατοπικά Ζεύγη σε Έξαρση	11	729	**0.0209**
Ατοπικά Ζεύγη σε Ύφεση	15	448	

Σχήμα-20: Σύγκριση μεταξύ των LTE4 των ασθενών με ζευγάρια δείγματος που βρίσκονταν σε έξαρση σε σχέση με τα επίπεδα των LTE_4 των ασθενών με ζευγάρια δείγματος που βρίσκονταν σε ύφεση.



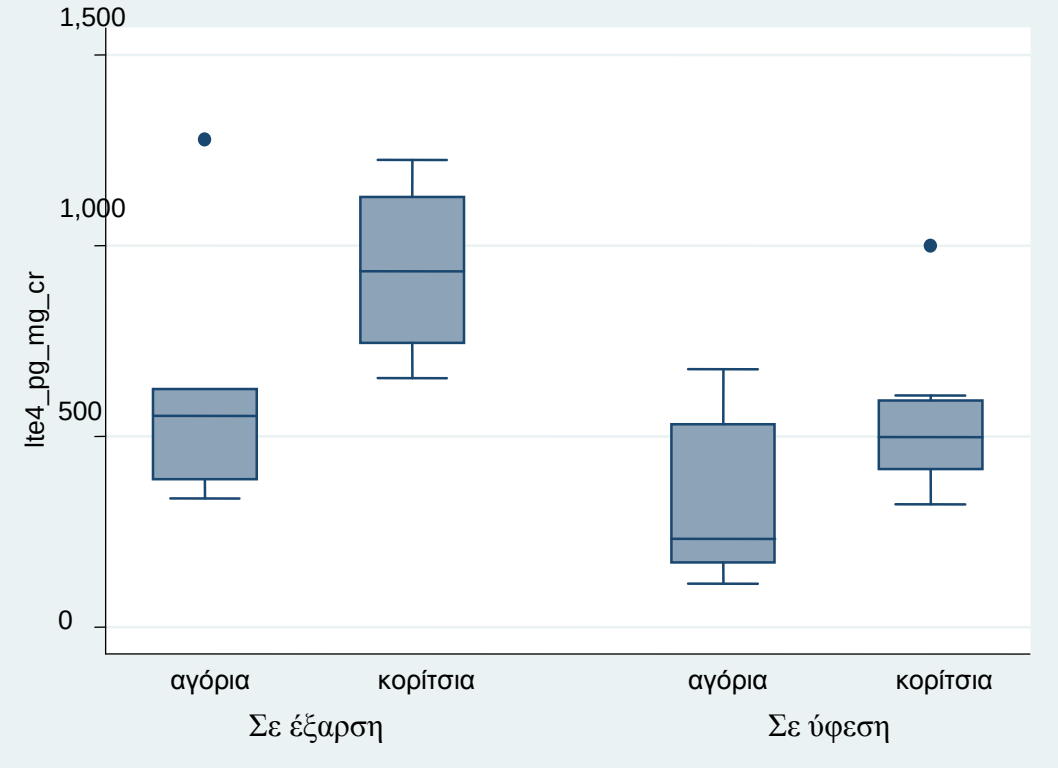
Η διαφορά είναι στατιστικά σημαντική με p=0.0209

8.5.4:<u>Συσχέτιση Έξαρσης και Ύφεσης στα ζεύγη ανάλογα με το φύλο.</u>

Έγινε σύγκριση μεταξύ των επιπέδων των LTE4 των ατοπικών ασθενών που είχαν ζεύγη δείγματος σε έξαρση και ανάλογα με το φύλο **(P=0.058)**, καθώς και σε σχέση με τα επίπεδα των λευκοτριενίων LTE_4 των ατοπικών ασθενών που είχαν ζεύγη δείγματος σε ύφεση ανάλογα με το φύλο **(P=0.132)**. (Παράρτημα.10,11,12,13,30,31)

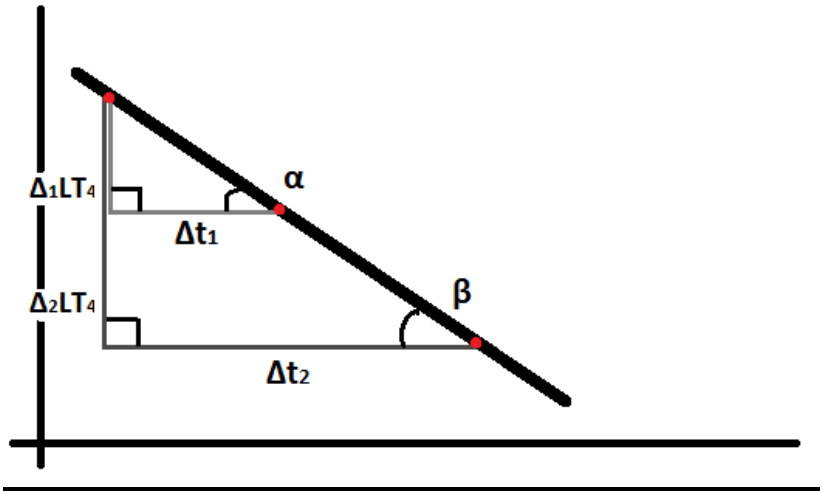
<u>Πίνακας 19</u>. Συσχέτιση Έξαρσης και Ύφεσης στα ζεύγη ανάλογα με το φύλο			
Τύπος Δείγματος	**Αριθμός Δειγμάτων (N)**	**Μέσος όρος U-LTE4** (pg/mg creatinine)	**P -Value**
Αγόρια με ζεύγη δείγματος σε έξαρση	7	611	**0.058**
Κορίτσια με ζεύγη δείγματος σε έξαρση	4	935	
Αγόρια με ζεύγη δείγματος σε ύφεση	7	341	**0.132**
Κορίτσια με ζεύγη δείγματος σε ύφεση	8	541	

Σχήμα-21: Σύγκριση μεταξύ των επιπέδων των LTE4 των ατοπικών ασθενών που είχαν ζεύγη δείγματος σε έξαρση **και ανάλογα με το φύλο (P=0.05)** καθώς και σε σχέση με τα επίπεδα των λευκοτριενίων LTE_4 των ατοπικών ασθενών που είχαν ζεύγη δείγματος σε ύφεση ανάλογα με το φύλο(**(P=0.13)**.

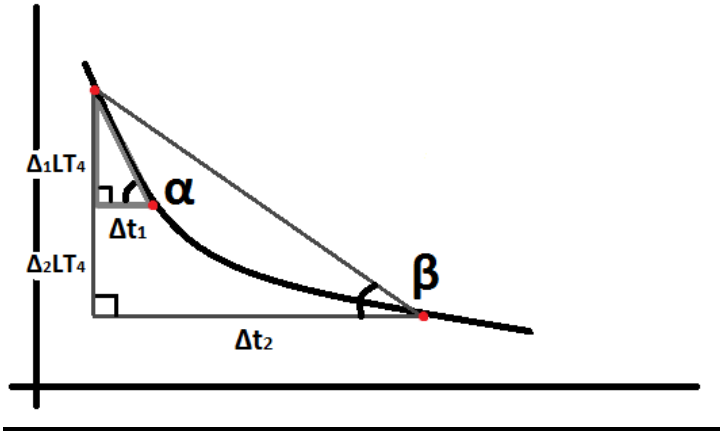


8.6. Κινητική Μελέτη στους Ασθενείς με Ζεύγη Δειγμάτων

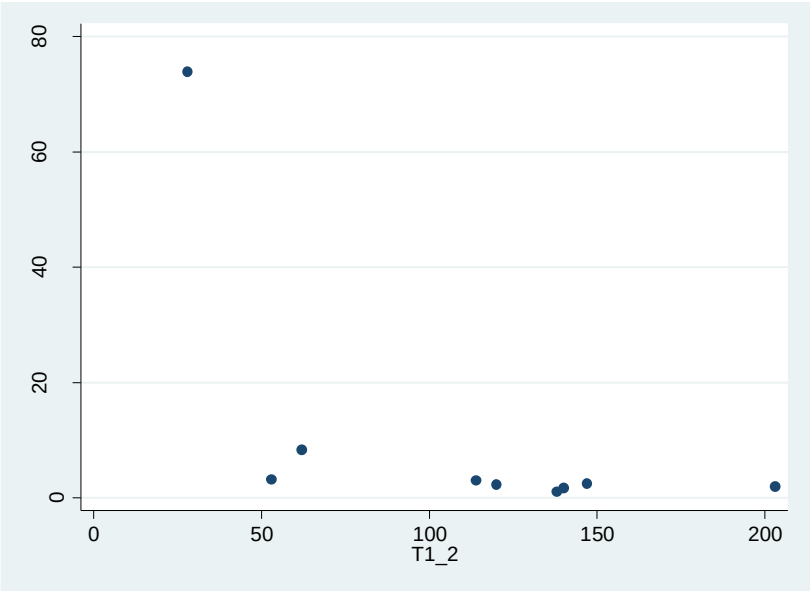
Σχήμα-22:Πρωτοβάθμια μεταβολή της συγκέντρωσης των LTE4 με τον χρόνο



Σχήμα-23: Εκθετική μεταβολή της συγκέντρωσης των LTE4 με τον χρόνο.



- **Σχήμα-24:** Εφαπτομένες των εκάστοτε γωνιών (ΔLT4/Δt) σε συνάρτηση με τον χρόνο



Πίνακας-20: Μεταβολή των εφαπτομένων των εκάστοτε γωνιών σε συνάρτηση με το χρόνο

Τ (ημέρες)	**εφ(φ)**
28	73,91
53	3,18
62	8,31
114	2,98
120	2,27
138	0,98
140	1,69
147	2,42
203	1,93

8.7. Σύγκριση της Ολικής IgE των Ατοπικών Ασθενών με τους Μάρτυρες

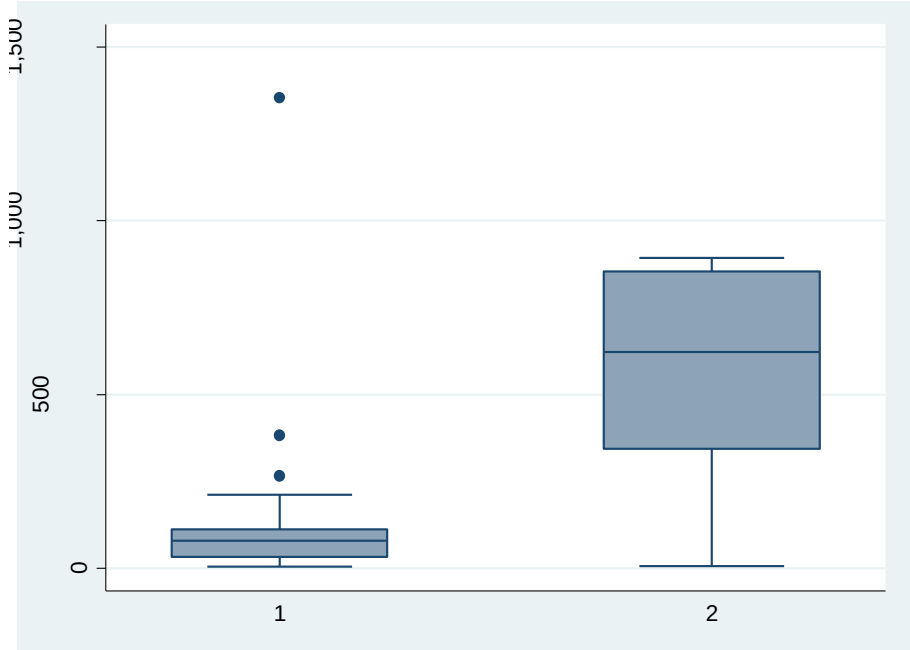
8.7.1:Συσχέτιση IgE μαρτύρων και IgE Ατοπικών σε Έξαρση

Έγινε σύγκριση μεταξύ των επιπέδων της ολικής IgE των μαρτύρων (ΜΟ: 126**,** μεταβλητότητα 226) σε σχέση με τα επίπεδα της ολικής IgE των ατοπικών ασθενών που βρίσκονταν στο στάδιο της έξαρσης (ΜΟ: 551**,** μεταβλητότητα 317). Βρέθηκε ότι τα επίπεδα ολικής IgE των ατοπικών ασθενών που βρίσκονταν στο στάδιο της έξαρσης είναι σημαντικώς υψηλότερα (**p<0.001)** σε σχέση με αυτά των ατοπικών ασθενών που βρίσκονταν στο στάδιο της ύφεσης. (Παράρτημα.14,15,32)

Πίνακας 21. Συσχέτιση IgE μαρτύρων και IgE Ατοπικών σε Έξαρση

Τύπος Δείγματος	**Αριθμός Δειγμάτων (N)**	**Μέσος όρος Tot. IgE kU/L**	**P -Value**
Μάρτυρες	35	126	**<0.001**
Ατοπικοί σε Έξαρση	13	551	

Σχήμα-25: Σύγκριση μεταξύ των επιπέδων της IgE των ατοπικών ασθενών που βρίσκονταν σε έξαρση(2) σε σχέση με τα επίπεδα της IgE των μαρτύρων(1)



Η διαφορά είναι στατιστικά σημαντική με p<0.001

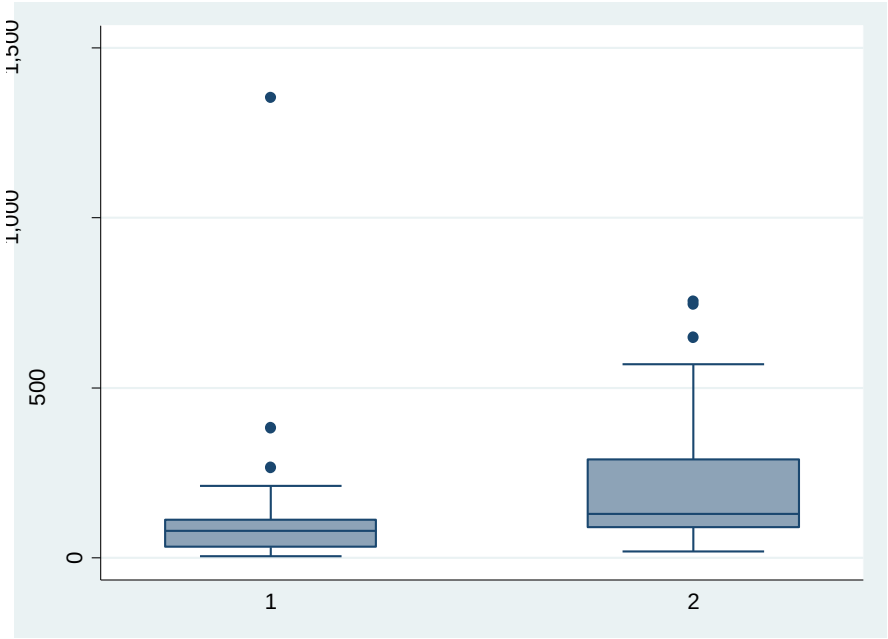
8.7.2:<u>Συσχέτιση IgE μαρτύρων και IgE Ατοπικών ασθενών σε Ύφεση</u>

Έγινε σύγκριση μεταξύ των επιπέδων της ολικής IgE των μαρτύρων (ΜΟ: 126**,** μεταβλητότητα 226) σε σχέση με τα επίπεδα της ολικής IgE των ατοπικών ασθενών που βρίσκονταν στο στάδιο της ύφεσης (ΜΟ: 242**,** μεταβλητότητα 234). Βρέθηκε ότι τα επίπεδα ολικής IgE των ατοπικών ασθενών που βρίσκονταν στο στάδιο της έξαρσης είναι σημαντικώς υψηλότερα (**p=0.0027)** σε σχέση με αυτά των ατοπικών ασθενών που βρίσκονταν στο στάδιο της ύφεσης. (Παράρτημα.14,16,33)

<u>Πίνακας 22</u>. Συσχέτιση IgE μαρτύρων και IgE Ατοπικών ασθενών σε Ύφεση

Τύπος Δείγματος	**Αριθμός Δειγμάτων (N)**	**Μέσος όρος Tot. IgE kU/L**	**P -Value**
Μάρτυρες	35	126	**0.0027**
Ατοπικοί σε Ύφεση	22	242	

Σχήμα-26: Σύγκριση μεταξύ των επιπέδων της IgE των ατοπικών ασθενών που βρίσκονταν σε ύφεση (2) σε σχέση με τα επίπεδα της IgE των μαρτύρων(1)



Η διαφορά είναι στατιστικά σημαντική με p=0.0027

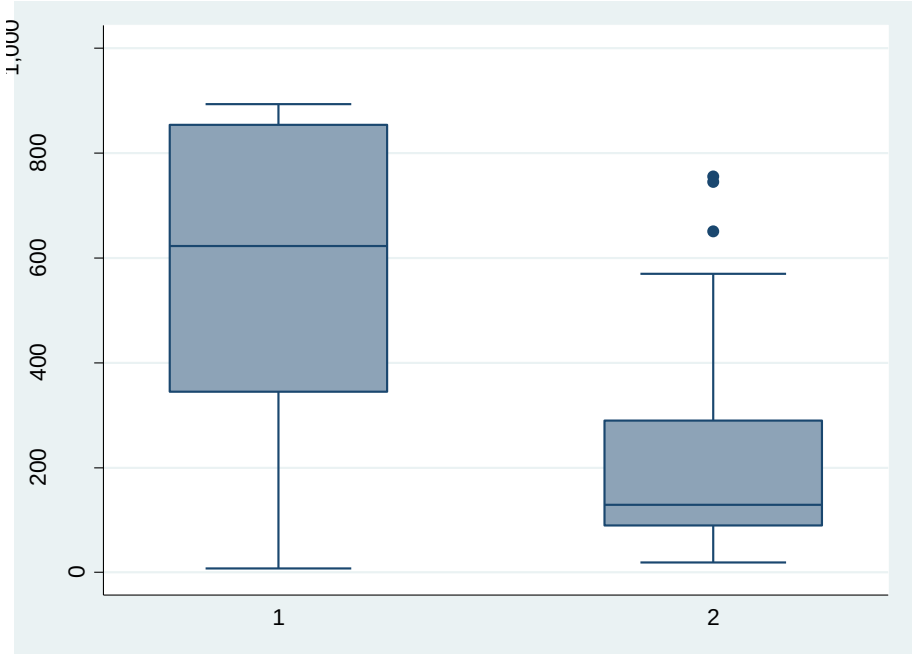
8.7.3:Συσχέτιση IgE ασθενών Ατοπικών σε Έξαρση και IgE Ατοπικών σε Ύφεση

Έγινε σύγκριση μεταξύ των επιπέδων της ολικής IgE των ατοπικών ασθενών που βρίσκονταν στο στάδιο της έξαρσης (ΜΟ: 551**,** μεταβλητότητα 317) σε σχέση με τα επίπεδα της ολικής IgE των ατοπικών ασθενών που βρίσκονταν στο στάδιο της ύφεσης (ΜΟ: 242**,** μεταβλητότητα 234). Βρέθηκε ότι τα επίπεδα ολικής IgE των ατοπικων ασθενών που βρίσκονταν στο στάδιο της έξαρσης είναι σημαντικώς υψηλότερα (**p=0.0115)** σε σχέση με αυτά των ατοπικών ασθενών που βρίσκονταν στο στάδιο της ύφεσης. (Παράρτημα.15,16,34)

Πίνακας 23. Συσχέτιση IgE μαρτύρων και IgE Ατοπικών ασθενών σε Ύφεση

Τύπος Δείγματος	**Αριθμός Δειγμάτων (N)**	**Μέσος όρος Tot. IgE kU/L**	**P -Value**
Ατοπικοί σε Έξαρση	13	551	**0.0115**
Ατοπικοί σε Ύφεση	22	242	

Σχήμα-27: Σύγκριση μεταξύ των επιπέδων της IgE των ατοπικών ασθενών που βρίσκονταν σε έξαρση(1) σε σχέση με τα επίπεδα της IgE των ατοπικών ασθενών που βρίσκονταν σε ύφεση(2).



Η διαφορά είναι στατιστικά σημαντική με p=0.0115

8.8. Σύγκριση της Ολικής IgE των Μη Ατοπικών Ασθενών με τους Μάρτυρες

8.8.1:Συσχέτιση IgE μαρτύρων και IgE Μη Ατοπικών σε Έξαρση

Έγινε σύγκριση μεταξύ των επιπέδων της ολικής IgE των μαρτύρων (ΜΟ: 126**,** μεταβλητότητα 226) σε σχέση με τα επίπεδα της ολικής IgE των μη ατοπικών ασθενών που βρίσκονταν στο στάδιο της έξαρσης (ΜΟ: 551**,** μεταβλητότητα 317). Βρέθηκε ότι τα επίπεδα ολικής IgE των μη ατοπικών ασθενών που βρίσκονταν στο στάδιο της έξαρσης είναι σημαντικώς υψηλότερα (**p<0.001)** σε σχέση με αυτά των μαρτύρων. (Παράρτημα.14, 35)

Πίνακας 24. Συσχέτιση IgE μαρτύρων και IgE Μη Ατοπικών σε Έξαρση

Τύπος Δείγματος	**Αριθμός Δειγμάτων (N)**	**Μέσος όρος Tot. IgE kU/L**	**P -Value**
Μάρτυρες	35	126	**<0.001**
Μη Ατοπικοί σε Έξαρση	18	585	

8.8.2:Συσχέτιση IgE μαρτύρων και IgE Μη Ατοπικών σε Ύφεση

Έγινε σύγκριση μεταξύ των επιπέδων της ολικής IgE των μαρτύρων (ΜΟ: 126**,** μεταβλητότητα 226) σε σχέση με τα επίπεδα της ολικής IgE των μη ατοπικών ασθενών που βρίσκονταν στο στάδιο της ύφεσης (ΜΟ: 190). Βρέθηκε ότι τα επίπεδα ολικής IgE των μη ατοπικών ασθενών που βρίσκονταν στο στάδιο της ύφεσης δεν είναι σημαντικώς υψηλότερα (**p=0.329)** σε σχέση με αυτά των μαρτύρων. (Παράρτημα.14, 36)

Πίνακας 25. Συσχέτιση IgE μαρτύρων και IgE Μη Ατοπικών σε Ύφεση			
Τύπος Δείγματος	**Αριθμός Δειγμάτων (N)**	**Μέσος όρος Tot. IgE kU/L**	**P -Value**
Μάρτυρες	35	126	**0.329**
Μη Ατοπικοί σε Ύφεση	22	191	

8.8.3:Συσχέτιση IgE Μη Ατοπικών σε Έξαρση και IgE Μη Ατοπικών σε Ύφεση

Έγινε σύγκριση μεταξύ των επιπέδων της ολικής IgE των Μη Ατοπικών ασθενών σε Έξαρση (ΜΟ: 585) σε σχέση με τα επίπεδα της ολικής IgE των μη ατοπικών ασθενών που βρίσκονταν στο στάδιο της ύφεσης (ΜΟ: 191). Βρέθηκε ότι τα επίπεδα ολικής IgE των μη ατοπικών ασθενών που βρίσκονταν στο στάδιο της έξαρσης είναι σημαντικώς υψηλότερα (**p<0.001)** σε σχέση με αυτά των Μη Ατοπικών σε Ύφεση. (Παράρτημα.35, 36)

Πίνακας 26. Συσχέτιση IgE μαρτύρων και IgE Μη Ατοπικών σε Ύφεση			
Τύπος Δείγματος	**Αριθμός Δειγμάτων (N)**	**Μέσος όρος Tot. IgE kU/L**	**P -Value**
Μη Ατοπικοί σε Έξαρση	18	585	**<0.001**
Μη Ατοπικοί σε Ύφεση	22	191	

8.9. Σύγκριση των Επιπέδων του U-LTE4 σε Βρέφη με Έξαρση Βρογχιολίτιδας και σε ασθενείς με Έξαρση Άσθματος με τους Μάρτυρες

Σύγκριση έγινε μεταξύ των επιπέδων των LTE4 των ασθενών, ατοπικών και μη που βρίσκονταν σε έξαρση (ΜΟ: 685**,** μεταβλητότητα 383) και των μαρτύρων (ΜΟ: 271**,** μεταβλητότητα 83), σε σχέση με τα επίπεδα των λευκοτριενίων LTE_4 των ασθενών που είχαν έξαρση βρογχιολίτιδας (ΜΟ: 532**,** μεταβλητότητα 241) . Βρέθηκε ότι τα επίπεδα των λευκοτριενίων LTE4 των ασθενών σε έξαρση άσθματος είναι σημαντικώς υψηλότερα σε σχέση με τους ασθενείς με έξαρση βρογχιολίτιδας (**P = 0.0219)** και επιπλέον τα επίπεδα των λευκοτριενίων LTE_4 των ασθενών με έξαρση βρογχιολίτιδας είναι σημαντικώς υψηλότερα σε σχέση με τους μάρτυρες **(P<0.001).**

Πίνακας 27. Σύγκριση των επιπέδων U-LTE4 μεταξύ ασθενών με έξαρση άσθματος και ασθενών με έξαρση βρογχιολίτιδας και μεταξύ ασθενών με έξαρση βρογχιολίτιδας και μαρτύρων

U-LTE4 (pg/mg creatinine)			
	Σύγκριση μεταξύ ασθενών με έξαρση άσθματος και ασθενών με έξαρση βρογχιολίτιδας		
Σύγκριση μεταξύ ασθενών με έξαρση βρογχιολίτιδας και μαρτύρων	Ασθενείς με έξαρση Βρογχιολίτιδας	Μάρτυρες	p value*
	532.84 (±241.42)	271.39 (±83.01)	**<0.001**
	Ασθενείς με έξαρση άσθματος		
	685.73 (±383.51)		
p value*	**0.0219**		
*Mann-Whitney U test			

9. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η συγκριτική αξιολόγηση των επιπέδων των λευκοτριενίων Ε4 στα ούρα παιδιών προσχολικής ηλικίας με φαινότυπο μεταλοιμώδους άσθματος και υγειών μαρτύρων ίδιας ηλικίας έδειξε σε μεγάλο βαθμό σημαντικά υψηλότερα επίπεδα LTE4 στην ομάδα των ασθενών, τόσο στην έξαρση, όσο και στη διάρκεια της ύφεσης (μεταξύ επεισοδίων) (πίνακες 6,7,8). Ο προσδιορισμός των επιπέδων των λευκοτριενίων Ε4 στα ούρα (U-LTE4) είναι ένας πιστοποιημένος δείκτης δραστηριότητας των κυστεϊνιλικών λευκοτριενίων και συχνά χρησιμοποιείται σε κλινικές μελέτες φαρμακευτικών μορίων που μπορεί να επηρεάζουν άμεσα ή έμμεσα αυτό το μεταβολικό μονοπάτι (222). Αύξηση των επιπέδων των U-LTE4 έχει περιγραφεί στις εξάρσεις του άσθματος από διάφορα αίτια όπως είναι οι ιογενείς λοιμώξεις, τα αλλεργιογόνα, η άσκηση και τα μη κορτικοειδή αντιφλεγμονώδη [193-196].

Εν τούτοις, η συσχέτιση των επιπέδων των U-LTE4 με ειδικούς φαινοτύπους άσθματος πέραν του άσθματος που προκαλείται από την χρήση ασπιρίνης στους ενήλικες, δεν έχει διερευνηθεί έως τώρα.

Φαινοτυπικά οι ασθενείς της παρούσας μελέτης και σύμφωνα με τις τελευταίες διεθνείς ομοφωνίες [220], παρουσιάζουν φαινότυπο λοιμώδους άσθματος (σχήμα-3) καθώς επιλέχτηκαν ανεξαρτήτως ατοπικής προδιάθεσης και ικανοποιούν τα απαραίτητα κριτήρια, όπως είναι η ηλικία (2-5 ετών), η μη εμφάνιση συμπτωμάτων μεταξύ των εξάρσεων και τα "κοινά κρυολογήματα" (λοιμώξεις ανωτέρου αναπνευστικού), ως τα κυριότερο εκλυτικά αίτια (πίνακας-5).

Τα ευρήματα της μελέτης συμφωνούν με την άποψη αυτή σε ότι αφορά τις λοιμώξεις του ανωτέρου αναπνευστικού ως εκλυτικό αίτιο και υποδηλώνουν ότι ο προσδιορισμός των επιπέδων των U-LTE4 θα μπορούσε ενδεχομένως να θεωρηθεί ως βιοδείκτης του μεταλοιμώδους φαινοτύπου του άσθματος στη προσχολική ηλικία.

Τα κυστεϊνιλικά λευκοτριένια και συγκεκριμένα το U-LTE4, πληρούν τα χαρακτηριστικά ενός βιοδείκτη [225], εφόσον προσδιορίζονται με αντικειμενικές προδιαγραφές, είναι δείκτης φυσιολογικής και παθολογικής βιολογικής διεργασίας και ανταποκρίνονται φαρμακολογικά σε θεραπευτικές παρεμβάσεις, δεδομένου ότι τα αντιλευκοτριενικά φάρμακα έχουν αποδειχθεί ότι μειώνουν τα επίπεδα του U-LTE4 [221].

Κατά συνέπεια, σύμφωνα με τα αποτελέσματα της μελέτης, τα U-LTE4 αποτελούν σημαντικό δείκτη έξαρσης του φαινοτύπου του λοιμώδους άσθματος σε παιδιά προσχολικής ηλικίας ανεξαρτήτως ατοπικής προδιάθεσης, σε σύγκριση με τους μάρτυρες (πίνακες 6,7,8). Το εύρημα της μελέτης ότι τα λευκοτριένια Ε4 παρουσιάζουν σημαντική αύξηση σε ασθενείς με μεταλοιμώδη έξαρση του ανώτερου αναπνευστικού, συμφωνεί με τα βιβλιογραφικά δεδομένα [219,220]. Έχει μάλιστα προταθεί ότι οι ασθενείς αυτοί αναμένεται να έχουν καλή ανταπόκριση στα αντιλευκοτριενικά φάρμακα [221]. Πράγματι, βιβλιογραφικά δεδομένα δείχνουν ότι η μεταλοιμώδης έξαρση ανταποκρίνεται στη θεραπεία με αντιλευκοτριενικά φάρμακα όπως η Μοντελουκάστη, ειδικά όταν τα επίπεδα των λευκοτριενίων είναι ιδιαιτέρως αυξημένα [221].

Στη προσπάθεια καλύτερης κατανόησης του ρόλου της ατοπίας στα U-LTE4, μετρήθηκαν τα επίπεδα τους συγκριτικά σε ατοπικούς ασθενείς στο στάδιο έξαρσης και ύφεσης, σε μη ατοπικούς ασθενείς στα ίδια στάδια και στους μάρτυρες. Βρέθηκε ότι τα υψηλότερα, με μεγάλη στατιστική διαφορά, επίπεδα των U-LTE4 ήταν στα ατοπικά άτομα σε έξαρση, με στατιστική διαφορά όχι μόνο από τους ατοπικούς σε ύφεση και τους μάρτυρες(πίνακες 9,10,11), αλλά και από τους μη ατοπικούς σε έξαρση (πίνακας-14). Αυξημένα επίπεδα U-LTE4 στους ατοπικούς ασθενείς σε έξαρση, σε σχέση με τους ατοπικούς σε ύφεση και τους μάρτυρες έχει περιγραφεί και από άλλους ερευνητές [197,221].

Επιπλέον, βρέθηκε ότι τα υψηλά επίπεδα U-LTE4 στους ατοπικούς ασθενείς παραμένουν υψηλά με στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με τους μάρτυρες και κατά τη διάρκεια της ύφεσης ακόμη και 1 έτος από τη τελευταία έξαρση. (πίνακας-9). Αντίθετα, τα επίπεδα U-LTE4 στους μη ατοπικούς ασθενείς κατά τη διάρκεια της ύφεσης έφτασαν τα επίπεδα των μαρτύρων (πίνακας-13). Το εύρημα αυτό υποδηλώνει ότι το U-LTE4 δύναται να αποτελεί δείκτη ατοπίας όταν μετρηθεί στη φάση ύφεσης. Κατά συνέπεια ο προσδιορισμός του U-LTE4 σε αυτή τη φάση σε παιδιά προσχολικής ηλικίας με συρίττουσα αναπνοή που δεν έχουν ευαισθητοποιηθεί ακόμη στα συνήθη αλλεργιογόνα, μπορεί να συμβάλλει στη διάγνωση του μεταλοιμώδους ατοπικού φαινοτύπου [218].

Σημαντικός στόχος από το σχεδιασμό της μελέτης ήταν η συλλογή δειγμάτων από τους ίδιους ασθενείς σε διάφορα χρονικά διαστήματα (κυρίως έξαρσης και ύφεσης) της παρακολούθησης, για την καταγραφή της κινητικής του U-LTE4. Η γνώση αυτή είναι ιδιαίτερης σημασίας προκειμένου να χρησιμοποιηθεί η παράμετρος αυτή ως

προγνωστικός δείκτης έξαρσης. Δυστυχώς η συλλογή τέτοιων δειγμάτων κατέστη δυνατή σε ένα περιορισμένο αριθμό ατοπικών ασθενών. Σε αυτά τα ζεύγη δειγμάτων ο χρόνος μετά την έξαρση μέχρι την επόμενη μέτρηση ποικίλει από 28 έως 203 μέρες (σχήμα-24).

Αν και οι μετρήσεις έγιναν σε ένα σχετικά περιορισμένο αριθμό δειγμάτων, πολλά συμπεράσματα μπορούν να εξαχθούν σχετικά με το ποσοστό μεταβολής των επιπέδων των U-LTE4 μετά από ένα επεισόδιο έξαρσης σε συνάρτηση με το χρόνο και τους μάρτυρες (πίνακας -20).

Αν παραδεχτούμε ότι η μεταβολή της συγκέντρωσης των λευκοτριενίων σε συνάρτηση με το χρόνο είναι εκθετική, δεδομένου ότι αποτελεί ένα βιολογικό φαινόμενο (σχήμα -23) και όχι πρωτοβάθμια (σχήμα-22) και με την επιφύλαξη του μικρού σχετικά αριθμού δειγμάτων, φαίνεται ότι η μεγαλύτερη μεταβολή (πτώση) της συγκεντρώσεως των λευκοτριενίων συμβαίνει μέσα στις πρώτες 50 μέρες από την έξαρση (σχήμα 24, πίνακας 20), χωρίς όμως στα ατοπικά αυτά άτομα να φτάνει τα επίπεδα των μαρτύρων (πίνακας 16,17).

Η παραμονή των επιπέδων του U-LTE4 στα ατοπικά παιδιά σε υψηλότερα επίπεδα από τους μάρτυρες, καθ' όλη τη διάρκεια παρακολούθησης, μπορεί να σημαίνει δείκτη ατοπίας. Οι Piedimonte και σία που αξιολόγησαν το ρόλο της ατοπίας σε παιδιά με βρογχιολίτιδα στη μελέτη τους " Leukotriene synthesis during respiratory syncytial virus bronchiolitis: influence of age and atopy" έδειξαν ότι η ατοπία από μόνη της δεν ευθύνεται για την αύξηση του U-LTE4, δεδομένου ότι στα βρέφη με εκζεματική προδιάθεση το U-LTE4 δεν οδηγήθηκε σε αύξηση παρά μόνο στα βρέφη που υπήρχε ασθματική προδιάθεση (λοίμωξη του αναπνευστικού) και ατοπία μαζί [223]. Επισημαίνεται ότι οι δείκτες ατοπίας στη μελέτη των Piedimonte και σία, δεν ήταν ιδανικοί, καθώς λήφθηκε υπόψη μόνο το οικογενειακό ιστορικό και η παρουσία άλλης νόσου όπως έκζεμα και όχι και η ειδική IgE που αποτελεί βασικό κριτήριο και που χρησιμοποιήθηκε στη παρούσα μελέτη. Επειδή όμως δεν είχαμε στην ομάδα των μαρτύρων ατοπικά παιδιά χωρίς ασθματική προδιάθεση, δεν μπορούμε να αξιολογήσουμε απόλυτα αυτό το σημείο.

Επιπρόσθετα, η παραμονή των επιπέδων του U-LTE4 στα ατοπικά παιδιά σε υψηλότερα επίπεδα από τους μάρτυρες, μετά τη λοιμώδη έξαρση του άσθματος, καθ' όλη τη διάρκεια παρακολούθησης, μπορεί να εξηγείται ως μία ένδειξη παρατεταμένης φλεγμονής. Η παρατήρηση αυτή συνάδει με την παρατήρηση των Xepapadaki και σία, ότι η βρογχική υπεραπαντητικότητα στα ατοπικά παιδιά διαρκεί πολύ

περισσότερο από ότι στα μη ατοπικά μετά τη λοιμώδη έξαρση [226]. Κατ' επέκταση, σε αυτά τα παιδιά ίσως χρειάζεται παρατεταμένη θεραπεία με αντιφλεγμονώδεις παράγοντες. Περαιτέρω μελέτες θα προσφέρουν περισσότερες διευκρινήσεις.

Σχετικά με το προσδιορισμό της ολικής IgE, η μελέτη μας έδειξε σημαντική αύξηση της, κατά τη διάρκεια της έξαρσης, τόσο στα ατοπικά όσο και στα μη ατοπικά παιδιά σε σχέση με τους μάρτυρες (πίνακες-21,24). Το εύρημα αυτό επιβεβαιώνει την μη ειδική αύξηση της ολικής IgE κατά τη διάρκεια ιογενών λοιμώξεων του αναπνευστικού [35]. Το επίπεδο της ολικής IgE παρέμεινε σημαντικά υψηλότερο στη φάση της ύφεσης μόνο στα ατοπικά παιδιά της μελέτης μας, και επιβεβαιώνει την επιλογή τους ως ατοπικά (πίνακες 23,25).

Τέλος, η μεγάλη αύξηση των U-LTE4 στα βρέφη με οξεία βρογχιολίτιδα (πίνακας-27) επιβεβαιώνει τον ρόλο του λοιμώδη παράγοντα στην αύξηση των λευκοτριενίων και συμφωνεί με τη βιβλιογραφία [223]. Σημαντικό μειονέκτημα πάνω στην εκτίμηση των αποτελεσμάτων στα βρέφη με βρογχιολίτιδα στη παρούσα μελέτη, είναι η μη διαθεσιμότητα μετρήσεων του U-LTE4 σε υγιείς μάρτυρες ίδιας ηλικίας. Στην περίπτωση που χρησιμοποιούσαμε φυσιολογικές τιμές μαρτύρων της ίδιας ηλικίας από τη βιβλιογραφία [223], φαίνεται ότι τα επίπεδα του U-LTE4 στα βρέφη αυτά είναι σε μεγάλο βαθμό υψηλότερα από την αύξηση του U-LTE4 στα ατοπικά και μη ατοπικά παιδιών μεγαλύτερης ηλικίας στη φάση της έξαρσης, κάτι που συμφωνεί με τα ευρήματα και των Piedimonte και σια [223] και των Bisgaard και σία, σύμφωνα με τα οποία όσο πιο μικρή είναι η ηλικία τόσο ποιο αυξημένη είναι η ποσότητα του U-LTE4 και δυνητικά τόσο καλύτερη είναι η ανταπόκριση στη φαρμακευτική θεραπεία με αντιλευκοτριενικά [227].

Συμπερασματικά, τα αποτελέσματα της μελέτης υποδεικνύουν ότι τα υψηλά επίπεδα των U-LTE4 αποτελούν ισχυρή ένδειξη της έξαρσης του ιογενούς άσθματος στα παιδιά προσχολικής ηλικίας. Η αύξηση αυτή πιθανώς να αποτελεί ένα ατοπικό δείκτη στο ιογενές άσθμα στα παιδιά αυτά ή δείκτη παρατεταμένης φλεγμονής στα ατοπικά παιδιά με το λοιμώδη φαινότυπο του άσθματος.

Τα ευρήματα μας συμβάλλουν στη βελτίωση της προγνωστικής δυνατότητας και στην ανάπτυξη θεραπευτικών στρατηγικών για την αντιμετώπιση παιδιών προσχολικής ηλικίας με υποτροπιάζουσα συρίττουσα αναπνοή.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός της προτεινόμενης μελέτης είναι ο προσδιορισμός των κυστεϊνιλικών λευκοτριενίων (LTE_4) στα ούρα σε παιδιά προσχολικής ηλικίας με υποτροπιάζοντα επεισόδια συρίττουσας αναπνοής μετά από λοιμώξεις του ανώτερου αναπνευστικού (φαινότυπος λοιμώδους άσθματος) με η χωρίς ατοπική προδιάθεση.

Πρωτεύον αποτέλεσμα αποτελεί η αξιολόγηση της συμπεριφοράς του κυστεϊνιλικού λευκοτριενίου Ε4 (LTE4) στο φαινότυπο του λοιμώδους άσθματος με ή χωρίς ατοπία. Τα δευτερογενή οφέλη που προκύπτουν είναι η εκτίμηση του ρόλου της ατοπίας (IgE-μεσολαβούμενοι μηχανισμοί) και η αξιολόγηση του U-LTE4 ως φλεγμονώδης δείκτης στην έγκαιρη διάγνωση επικείμενης έξαρσης και στην πρόβλεψη απάντησης στα διάφορα αντιφλεγμονώδη φάρμακα.

Η μελέτη αυτή έδειξε ότι:

- Κατά τη διάρκεια της έξαρσης τα επίπεδα του U-LTE4 είναι σημαντικά υψηλότερα σε όλα τα παιδιά με ιογενές άσθμα, ατοπικά και μη-ατοπικά σε σύγκριση με Α. Τα παιδιά που ήταν σε ύφεση: 642,20 ± 399,45 έναντι 268 ± 204, P <0,001 και Β τους μάρτυρες.: 642,20 ± 268 έναντι 271,39 ± 83 P <0,001.
- Επιπρόσθετα, οι ατοπικοί ασθενείς είχαν σημαντικά υψηλότερα επίπεδα του U-LTE4 σε σχέση με τους μη ατοπικούς, τόσο κατά τη διάρκεια της έξαρσης (872,13 ± 613,15 έναντι 246 ± 150 P = 0.0013) όσο και στη φάση της ύφεσης (507,59 ± 283,59 έναντι 182 ± 160 P value <0,001) .
- Βρέθηκε επίσης ότι κατά τη διάρκεια της ύφεσης υπάρχει στατιστικώς σημαντική διαφορά των επιπέδων της U-LTE4 μεταξύ των ατοπικών ασθενών και τον μαρτύρων 271.39±83 vs 507.59±182 P=0.002 ενώ δεν παρατηρείται καμία διαφορά μεταξύ των μη-ατοπικών και των μαρτύρων 271.39±83 vs 283.59±160 P=0.432.

Τα παραπάνω αποτελέσματα υποδεικνύουν ότι τα υψηλά επίπεδα των λευκοτριενίων Ε4 στα ούρα (U-LTE4) αποτελούν μια ισχυρή ένδειξη της επιδείνωσης του ιογενούς άσθματος στα παιδιά προσχολικής ηλικίας, πολύ περισσότερο στα ατοπικά, τα οποία είναι τα μόνα που παρουσιάζουν αυξημένα βασικά επίπεδα U-LTE4. Το γεγονός αυτό υποδηλώνει έναν πιθανό ρόλο των U-LTE4 ως δείκτη του ατοπικού ιογενούς άσθματος σε παιδιά προσχολικής ηλικίας.

Η γνώση αυτή συμβάλλει στη βελτίωση της προγνωστικής δυνατότητας και στη μορφοποίηση θεραπευτικής στρατηγικής στην αντιμετώπιση του άσθματος.

Ένα πολύ σημαντικό τμήμα της μελέτης ήταν η κινητική των επιπέδων των U-LTE4 η οποία μπορεί να χρησιμεύσει ως προγνωστικός δείκτης έξαρσης. Στη μελέτη μας βρέθηκε ότι η μεγαλύτερη μεταβολή στα επίπεδα (πτώση) των U-LTE4 έγινε μέσα στις πρώτες 50 μέρες από την έξαρση χωρίς να φτάνει στους ατοπικούς ασθενείς τα επίπεδα των μαρτύρων στο διάστημα αυτό. Κάτι τέτοιο μπορεί να καθιστά τα U-LTE4 πιθανούς δείκτες ατοπίας ή να βοηθά στην εντόπιση παρατεταμένης φλεγμονής, άρα και παρατεταμένης θεραπείας με αντιφλεγμονώδεις παράγοντες. Επίσης οι μετρήσεις της ολικής IgE επιβεβαίωσαν την μη ειδική αύξηση της σε ιογενείς λοιμώξεις του αναπνευστικού, και την παρουσία ατοπίας στην διάρκεια της ύφεσης στα δείγματα που χρησιμοποιήθηκαν.

ABSTRACT

The purpose of the proposed study is to identify the role of U-LTE4 in preschool children with recurrent episodes of wheezing after upper respiratory tract infections (infectious asthma phenotype) with or without atopic predisposition.

Primary outcome of the study is the evaluation of the behavior of U-LTE4 in infectious asthma phenotype with or without atopy.

Secondary benefits include the assessment of the role of atopy (IgE-mediated mechanisms) and the evaluation of U-LTE4 as an inflammatory marker in the early diagnosis of impending outbreaks and in predicting response to various anti-inflammatory drugs.

The study showed that:

- During exacerbation, U-LTE4 was significantly higher in all children, atopic and non-atopic, with virus-induced asthma in comparison to A. Remission: 642.20±268 vs. 399.45±204, P value <0.001 and B. Controls: 642.20±268 vs 271.39±83 P value <0.001.
- Atopic patients demonstrated significantly higher levels of U-LTE4 in relation to non atopic, both during exacerbation (872.13±246 vs 613.15±150 P value=0.0013) and in the remission phase (507.59±182 vs 283.59±160 P value <0.001).
- During remission, a highly significant difference of U-LTE4 was found to persist when controls were compared to atopic patients: 271.39±83 vs 507.59±182 P value=0.002 but not when compared to non atopic ones: 271.39±83 vs 283.59±160 P value=0.432.

The results suggest that U-LTE4 is a strong indicator of virus induced asthma exacerbation in preschool children, more so in atopics. Increased basal levels of urinary LTE4 occur only in atopics. This suggests a potential role of urinary LTE4 as a marker of atopic, virus induced asthma in preschool children.

This knowledge helps to improve the predictive ability and form a better therapeutic strategy in the treatment of asthma.

A very important part of the study was the kinetic measurement of U-LTE4 which can serve as a predictor ofexacerbation. It was found that the greatest change in the levels (drop) of U-LTE4 was within the first 50 days of the outbreak.Atopic patients never reached the baseline of the controls. Such results can make the U-LTE4 a potential marker of atopy or assist in locating prolonged inflammation and thus prolonged treatment with anti-inflammatory agents. The measurements of total IgE also confirmed their non-specific increase in the different viral respiratory infections, and also the presence of atopy during recession in the samples used.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. "Expert Panel Report 3: Guidelines for the Diagnosis and Management of Asthma" . National Heart Lung and Blood Institute. 2007; p.11–12
2. "British Guideline on the Management of Asthma" . British Thoracic Society. 2009;p.3
3. "Expert Panel Report 3: Guidelines for the Diagnosis and Management of Asthma" . National Heart Lung and Blood Institute. 2007; p.214
4. "Expert Panel Report 3: Guidelines for the Diagnosis and Management of Asthma" . National Heart Lung and Blood Institute. 2007; p.169–172
5. "Global Initiative for Asthma". 2009. GINA p.69
6. Fanta CH "Asthma". N Engl J Med 360 (10): 2009; p. 1002–14.
7. "Global Initiative for Asthma". 1GINA 2009; p.2
8. Yawn, BP "Factors accounting for asthma variability: achieving optimal symptom control for individual patients". Primary Care Respiratory Journal 17 (3): 2008; p.138–147. .
9. Self, Timothy. Chrisman, Cary. Finch, Christopher. "Applied Therapeutics: The Clinical Use of Drugs, 9th Edition" Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2009; Chapter 22
10. Kumar, Vinay; Abbas, Abul K; Fausto, Nelson; Aster, Jon . Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease (8th ed.). Saunders. 2010; p. 688.
11. Moore WC, Pascual RM "Update in asthma 2009". American journal of respiratory and critical care medicine 181 (11):2010; p.1181–7.
12. Delacourt, C . "Bronchial changes in untreated asthma". Archives de Pédiatrie 11 (Suppl. 2): 2004; p. 71s–73s.
13. Schiffman, George "Chronic Obstructive Pulmonary Disease". MedicineNet. 2009.
14. "British Guideline on the Management of Asthma". British Thoracic Society. 2009; p.54
15. Mason, Robert J; Broaddus, V Courtney; Murray, John F; Nadel, Jay A "Asthma". Murray and Nadel's Textbook of Respiratory Medicine (4th ed.). Elsevier. 2005.

16. Barnes, PJ. "Asthma". In Fauci, Anthony S; Braunwald, E,; Kasper, DL. Harrison's Principles of Internal Medicine (17th ed.). New York: McGraw-Hill. 2008; pp. 1596–1607.
17. Abu-Hilal, MA; Mookadam, F. "Pulsus paradoxus; historical and clinical perspectives". International Journal of Cardiology 138 (3): 2010; 229–232.
18. Werner, HA. "Status asthmaticus in children: a review". Chest 119 (6): 2001;1596–1607.
19. Shiber JR, Santana J. "Dyspnea". Med. Clin. North Am. 90 (3): 2006;453–79.
20. Dipiro J.T. Talbert R.L. Yee G.C. Matzke G.R. Wells B.G. Posey L.M.,. Pharmacotherpay. a pathophysiologic approach (7 ed.). 2008; pp. 524.
21. Weiler JM, Layton T, Hunt M. "Asthma in United States Olympic athletes who participated in the 1996 Summer Games". J. Allergy Clin. Immunol. 102 (5): 1998; 722–6.
22. Helenius I, Haahtela T. "Allergy and asthma in elite summer sport athletes". J. Allergy Clin. Immunol. 106 (3): 2000; 444–52.
23. "Fatal and Nonfatal Injuries, and Selected Illnesses and Conditions: Respiratory Diseases". Worker Health Chartbook 2004. National Institute for Occupational Safety and Health.
24. National Institute for Occupational Safety and Health."Asthma and Allergies" September 22, 2008.
25. "British Guideline on the Management of Asthma". British Thoracic Society. 2009;. p.12
26. "Global Initiative for Asthma". 2009; p.8–9
27. Boulet LP. "Influence of comorbid conditions on asthma". Eur Respir J 33 (4): 2009;897–906.
28. Harrington JJ, Lee-Chiong T. "Sleep and older patients". Clin Chest Med 28 (4): 2007; p.673–84
29. Martinez FD. "Genes, environments, development and asthma: a reappraisal". Eur Respir J 29 (1): 2007; 179–84.
30. Choudhry S, Seibold MA, Borrell LN "et al.". "Dissecting complex diseases in complex populations: asthma in latino americans". Proc Am Thorac Soc 4 (3): 2007; 226–33.

31. Miller, RL; Ho SM. "Environmental epigenetics and asthma: current concepts and call for studies". American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine 177 (6): 2008; 567–573.
32. "Global Initiative for Asthma". 2009 p.4
33. National Asthma Education and Prevention Program (NAEPP). "Expert Panel Report 3: Guidelines for the Diagnosis and Management of Asthma" National Heart Lung and Blood Institute.N HLBI. 2007; p.11
34. Ronmark E, Lundback B, Jonsson EA, et al.: "Incidence of asthma in adults: Report from the obstructive lung disease in northern Sweden study." Allergy 1997; 52: 1997;1071-1081.
35. Burrows B, Martinez FD, Holonen M, et al.: "Association of asthma with serum IgE levels and skin-test reactivity to allergens." N Engl J Med
36. 1989; 320:271-277.
37. Simpson BM, Custovic A, Simpson A, et al.: NAC Manchester Asthma and Allergy Study (NACMAAS): "Risk factors for asthma and allergic disorders in adults." Clin Exp Allergy 2001; 31:391-399.
38. Peat JK, Tovey E, Toelle BG, et al.: "House dust mite allergens: A major risk factor for childhood asthma in Australia." Am J Respir Crit Care Med 1996; 153:141-146.
39. Custovic A, Smith AC, Woodcock A: "Indoor allergens are a primary cause of asthma: Asthma and the environment." Eur Respir Rev 1998; 53:155-158.
40. Chan-Yeung M, Manfreda J, Dimich-Ward H, et al.: "A randomized controlled study on the effectiveness of a multifaceted intervention program in the primary prevention of asthma in high-risk infants." Arch Pediatr Adolesc Med 2000; 154:657-663.
41. Custovic A, Simpson BM, Simpson A, et al.: "Effect of environmental manipulation in pregnancy and early life on respiratory symptoms and atopy during first year of life: A randomised trial." Lancet 2001; 358:188-193.
42. Arshad SH, Bojarskas J, Tsitoura S, et al.: "Prevention of sensitization to house dust mite by allergen avoidance in school age children: A randomized controlled study." Clin Exp Allergy 2002; 32:843-849.
43. Arshad SH, Bateman B, Matthews SM: "Primary prevention of asthma and atopy during childhood by allergen avoidance in infancy: A randomised controlled study." Thorax 2003; 58:489-493.

44. Celedon JC, Litonjua AA, Ryan L, et al.: "Exposure to cat allergen, maternal history of asthma, and wheezing in first 5 years of life." Lancet 2002; 360:781-782.
45. Ownby DR, Johnson CC, Peterson EL: "Exposure to dogs and cats in the first year of life and risk of allergic sensitization at 6 to 7 years of age." JAMA 2002; 288:963-972.
46. Perzanowski MS, Ronmark E, Platts-Mills TA, Lundback B: "Effect of cat and dog ownership on sensitization and development of asthma among preteenage children." Am J Respir Crit Care Med 2002; 166:696-702.
47. Beuther DA. "Recent insight into obesity and asthma". Curr Opin Pulm Med 16 (1): 2010; 64–70.
48. Holguin F, Fitzpatrick A. "Obesity, asthma, and oxidative stress". J. Appl. Physiol. 108 (3): 2010; 754–9.
49. Kuczmarski RJ, Flegal KM, Campbell SM, Johnson CL: "Increasing prevalence of overweight among US adults: The National Health and Nutrition Examination Surveys, 1960–1991." JAMA 1994; 272:205-211.
50. Troiano RP, Flegal KM, Kuczmarski RJ, et al.: "Overweight prevalence and trends for children and adolescents: The National Health and Nutrition Examination Surveys, 1963–1991." Arch Pediatr Adolesc Med 1995; 149:1085-1091.
51. Huang S-L, Shiao GM, Chou P: "Association between body mass index and allergy in teenage girls in Taiwan." Clin Exp Allergy 1998; 29:323-329.
52. Wood LG, Gibson PG. "Dietary factors lead to innate immune activation in asthma". Pharmacol. Ther. 123 (1): 2009;37–53.
53. Rapini, Ronald P.; Bolognia, Jean L.; Jorizzo, Joseph L. (2007). Dermatology: 2-Volume Set. St. Louis: Mosby.
54. F A Jakobiec, M D Mills, A A Hidayat, R L Dallow, D J Townsend, E A Brinker, and N C Charles. Periocular xanthogranulomas associated with severe adult-onset asthma.Trans Am Ophthalmol Soc. 1993; 91: 99–129.
55. "Global Initiative for Asthma". 2009; p.6
56. "Global Initiative for Asthma". 2009; p.56
57. Gold DR,Wright R; Wright, R . "Population disparities in asthma". Annu Rev Public Health 26: 2005; 89–113.

58. W. James Gauderman et al. The Effect of Air Pollution on Lung Development from 10 to 18 Years of Age.N Engl J Med 2004; 351:1057-1067
59. M Salam et al., "Recent evidence for adverse effects of residential proximity to traffic sources on asthma", Current Opinion Pulmonary Medicine, 2008; Vol. 14, Issue 1
60. Liu AH. "Something old, something new: indoor endotoxin, allergens and asthma". Paediatr Respir Rev 5 Suppl A: 2004; S65–71.
61. Chen E, Miller GE. "Stress and inflammation in exacerbations of asthma.". Brain Behav Immun. 21 (8): 2007; 993–9.
62. Droste, JH; Wieringa MH, Weyler JJ, Nelen VJ et al. . "Does the use of antibiotics in early childhood increase the risk of asthma and allergic disease?". Clinical and Experimental Allergy 30 (11), 2000; 1547–1553.
63. Bufford, JD; Gern JE . "The hygiene hypothesis revisited". Immunology and Allergy Clinics of North America 25 (2): 2005;247–262.
64. "British Guideline on the Management of Asthma" . British Thoracic Society. 2009;p.72
65. Harju TH, Leinonen M, Nokso-Koivisto J, et al. . "Pathogenic bacteria and viruses in induced sputum or pharyngeal secretions of adults with stable asthma". Thorax 61 (7): 2006; 579–84.
66. O'Rourke ST . "Antianginal actions of beta-adrenoceptor antagonists". Am J Pharm Educ 71 (5): 2007; 95.
67. Dales R, Raizenne M . "Residential exposure to volatile organic compounds and asthma". J Asthma 41 (3): 2004; 259–70.
68. Ober C,Hoffjan S; Hoffjan, S . "Asthma genetics 2006: the long and winding road to gene discovery". Genes Immun 7 (2): 2006; 95–100.
69. Bouzigon E, Corda E, Aschard H, et al.. "Effect of 17q21 Variants and Smoking Exposure in Early-Onset Asthma". The New England journal of medicine 359 (19): 2008; 1985.
70. Martinez FD . "CD14, endotoxin, and asthma risk: actions and interactions". Proc Am Thorac Soc 4 (3): 2007; 221–5.
71. Baxi SN, Phipatanakul W . "The role of allergen exposure and avoidance in asthma". Adolesc Med State Art Rev 21 (1): 2010; 57–71, viii–ix.
72. Asthma definition Mayo Clinic. Retrieved

73. Ramsey, CD; Celedón JC . "The hygiene hypothesis and asthma". Current Opinion in Pulmonary Medicine 11 (1): 2005; 14–20.
74. De Lara, C; Noble A . "Dishing the dirt on asthma: What we can learn from poor hygiene". Biologics 1 (2): 2007; 139–150.
75. Strachan DP: "Hay fever, hygiene, and household size." BMJ 1989; 299:1259-1260.
76. Von Mutius E, Martinez FD, Fritzsch C, et al.: "Skin test reactivity and number of siblings." BMJ 1994; 308:692-695.
77. Jarvis D, Chinn S, Luczynska C, Burney P: "The association of family size with atopy and atopic disease." Clin Exp Allergy 1997; 27:240-245.
78. Ball TM, Castro-Rodriguez JA, Griffith KA, et al.: "Siblings, day-care attendance, and the risk of asthma and wheezing during childhood. N Engl J Med 2000; 343:538-543. etc)
79. Pattemore PK, Johnston SL, Bardin PG: "Viruses as precipitants of asthma symptoms. I Epidemiology." Clin Exp Allergy 1992; 22:325-336.
80. Nicholson KG, Kent J,chloes loves kurt Ireland DC: "Respiratory viruses and exacerbations of asthma in adults." BMJ 1993; 307:982-996.
81. Tan WC, Xiang X, Qiu D, et al.: "Epidemiology of respiratory viruses in patients hospitalized with near-fatal asthma, acute exacerbations of asthma, or chronic obstructive pulmonary disease." Am J Med 2003; 115:272-277.
82. Weiss ST, Tager IB, Munoz A, Speizer FE: "The relationship of respiratory infections in early childhood to the occurrence of increased levels of bronchial responsiveness and atopy." Am Rev Respir Dis 1985; 131:573-578.
83. Illi S, von Mutius E, Lau S, et al.: "Early childhood infectious diseases and the development of asthma up to school age: A birth cohort study." BMJ 2001; 322:390-395.
84. World Health Organization “Asthma". 2008
85. "Patient/Public Education: Fast Facts — Asthma Demographics/Statistics". American Academy of Allergy Asthma & Immunology.
86. Environmental Protection Agency. "Cockroaches and Pests — Indoor Environmental Asthma Triggers". Environmental Protection Agency.2009.
87. National Center for Health Statistics . "Asthma Prevalence, Health Care Use and Mortality", 2006; 2002.

88. National Heart, Lung, and Blood Institute. Morbidity & Mortality: 2004 Chart Book On Cardiovascular, Lung, and Blood Diseases. National Institutes of Health.
89. Lemanske RF, Busse WW . "Asthma: clinical expression and molecular mechanisms". J. Allergy Clin. Immunol. 125 (2 Suppl 2): 2010; S95–102.
90. Pinnock H, Shah R . "Asthma". BMJ 334 (7598): 2007; 847–50.
91. National Asthma Education and Prevention Program (NAEPP). Expert panel report 3: guidelines for the diagnosis and management of asthma. Bethesda (MD): National Heart, Lung, and Blood Institute; 2007.
92. Tippets B, Guilbert TW (2009). "Managing Asthma in Children: Part 1: Making the Diagnosis, Assessing Severity". Consultant for Pediatricians 8 (5).
93. Sapp J and Niven AS (2008). "Making the most of pulmonary function testing in the diagnosis of asthma". Journal of Respiratory Diseases.
94. Be in control pack. Asthma UK. Archived from the original on 6 October 2007. http:// www.asthma.org.uk/ document.rm?id=29. Retrieved 2007-11-19.
95. DeShazo RD and Stupko JE (2008). "Diagnosing asthma in seniors: An algorithmic approach". Journal of Respiratory Diseases.
96. Gibson PG, McDonald VM, Marks GB . "Asthma in older adults". Lancet 376 (9743): 2010; 803–13.
97. Hargreave, FE; Parameswaran K . "Asthma, COPD and bronchitis are just components of airway disease". European Respiratory Journal 28 (2): 2006;264–267.
98. Diaz, P. Knoell. "Applied Therapeutics: The Clinical Use of Drugs, 9th Edition" Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2009. Chapter 23 (Chronic Obstructive Pulmonary Disease)
99. National Asthma Education and Prevention Program (NAEPP) . "Expert Panel Report 3: Guidelines for the Diagnosis and Management of Asthma".National Heart Lung and Blood Institute.2007; p.184-185
100. Tippets B Guilbert TW (2009). "Managing Asthma in Children, Part 2: Achieving and Maintaining Control". Consultant for Pediatricians 8 (6).
101. National Asthma Education and Prevention Program (NAEPP) . "Expert Panel Report 3: Guidelines for the Diagnosis and Management of Asthma" .National Heart Lung and Blood Institute. 2007;p.213

102. British Thoracic Society "British Guideline on the Management of Asthma, a National Clinical Guideline”(2012). Scottish Intercollegiate Guidelines Network.
103. Thomson NC, Spears M . "The influence of smoking on the treatment response in patients with asthma". Curr Opin Allergy Clin Immunol 5 (1): 2005; 57–63.
104. National Asthma Education and Prevention Program (NAEPP) . "Expert Panel Report 3: Guidelines for the Diagnosis and Management of Asthma" .National Heart Lung and Blood Institute 2007; p.215
105. Rodrigo GJ, Nannini LJ . "Comparison between nebulized adrenaline and beta2 agonists for the treatment of acute asthma. A meta-analysis of randomized trials". Am J Emerg Med 24 (2): 2006; 217–22.
106. National Asthma Education and Prevention Program (NAEPP) . "Expert Panel Report 3: Guidelines for the Diagnosis and Management of Asthma" .National Heart Lung and Blood Institute. 2007;p.351
107. National Asthma Education and Prevention Program (NAEPP) . "Expert Panel Report 3: Guidelines for the Diagnosis and Management of Asthma" .National Heart Lung and Blood Institute 2007; p.560
108. National Asthma Education and Prevention Program (NAEPP) . "Expert Panel Report 3: Guidelines for the Diagnosis and Management of Asthma" .National Heart Lung and Blood Institute 2007; p.218
109. Fanta CH . "Asthma". New England Journal of Medicine 360 (10): 2009; 1002–14.
110. Cates CJ, Lasserson TJ, Jaeschke R (2009). "Regular treatment with salmeterol and inhaled steroids for chronic asthma: serious adverse events". Cochrane Database Syst Rev (3): DOI: 10.1002/14651858
111. Cates CJ, Cates MJ (2008). "Regular treatment with salmeterol for chronic asthma: serious adverse events". Cochrane Database Syst Rev (3):
112. U.S. Food and Drug Administration.(2010) FDA Drug Safety Communication: New safety requirements for long-acting inhaled asthma medications called Long-Acting Beta-Agonists (LABAs)
113. National Asthma Education and Prevention Program (NAEPP) . "Expert Panel Report 3: Guidelines for the Diagnosis and Management of Asthma" .National Heart Lung and Blood Institute 2007; p.250

114. Wang JJ, Rochtchina E, Tan AG, Cumming RG, Leeder SR, Mitchell P . "Use of inhaled and oral corticosteroids and the long-term risk of cataract". Ophthalmology 116 (4): 2009; 652–7.
115. Dahl R . "Systemic side effects of inhaled corticosteroids in patients with asthma". Respir Med 100 (8): 2006; 1307–17.
116. Nishimura J, Ikuyama S . "Glucocorticoid-induced osteoporosis: pathogenesis and management". J Bone Miner Metab 18 (6): 2000;350–2.
117. Rodrigo GJ, Rodrigo C, Hall JB . "Acute asthma in adults: a review". Chest 125 (3): 2004;1081–102. .
118. Marc Noppen et al. “Magnesium Treatment for Asthma: Where Do We Stand?. CHEST.2002;122(2):396-398
119. National Asthma Education and Prevention Program (NAEPP) . "Expert Panel Report 3: Guidelines for the Diagnosis and Management of Asthma" .National Heart Lung and Blood Institute 2007; p.399
120. Blanc PD, Trupin L, Earnest G, Katz PP, Yelin EH, Eisner MD . "Alternative therapies among adults with a reported diagnosis of asthma or rhinosinusitis : data from a population-based survey". Chest 120 (5): 2001; 1461–7.
121. Shenfield G, Lim E, Allen H . "Survey of the use of complementary medicines and therapies in children with asthma". J Paediatr Child Health 38 (3): 2002; 252–7.
122. Kaur, B; Rowe BH, Arnold E (2009). "Vitamin C supplementation for asthma". Cochrane Database Syst Rev (1):
123. National Asthma Education and Prevention Program (NAEPP) . "Expert Panel Report 3: Guidelines for the Diagnosis and Management of Asthma" .National Heart Lung and Blood Institute 2007; p.240
124. McCarney RW, Brinkhaus B, Lasserson TJ, Linde K (2004). "Acupuncture for chronic asthma". Cochrane Database Syst Rev (1):
125. Blackhall K, Appleton S, Cates CJ (2003). "Ionisers for chronic asthma". Cochrane Database Syst Rev (3):
126. PC Gøtzsche, HK Johansen (2008). "House dust mite control measures for asthma". Cochrane Database Syst Rev (2):
127. Jonathan A. Bernsteina. A review of the effects of impermeable bedding encasements on dust-mite allergen exposure and bronchial hyper-

responsiveness in dust-mite-sensitized patients; journal Clin Exp Allergy; 34(2):2004; 268-75.

128. Hondras MA, Linde K, Jones AP . "Manual therapy for asthma". Cochrane Database Syst Rev (2): 2005; CD001002.
129. PC Gøtzsche, HK Johansen (2008). "House dust mite control measures for asthma". Cochrane Database Syst Rev (2):
130. Maddox L, Schwartz DA . "The pathophysiology of asthma". Annu. Rev. Med. 53: 2002; 477–98.
131. Beckett PA, Howarth PH . "Pharmacotherapy and airway remodelling in asthma?". Thorax 58 (2): 2003; 163–74.
132. National Asthma Education and Prevention Program (NAEPP) (2007). "Expert Panel Report 3: Guidelines for the Diagnosis and Management of Asthma" .National Heart Lung and Blood Institute, p.1
133. "WHO Disease and injury country estimates". World Health Organization. 2009.
134. "World Health Organization Fact Sheet Fact sheet No 307: Asthma". 2009.
135. Braman SS . "The global burden of asthma". Chest 130 (1 Suppl): 2006; 4S–12S.
136. Lazarus SC . "Clinical practice. Emergency treatment of asthma". N. Engl. J. Med. 363 (8): 2010; 755–64.
137. Worldwide variation in prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis, and atopic eczema: ISAAC. The International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) Steering Committee". Lancet 351 (9111): 1998;1225–32.
138. "World Health Organization Fact Sheet Fact sheet No 309: Asthma". 2009.
139. Ng'ang'a LW, Odhiambo JA, Mungai MW, et al. . "Prevalence of exercise induced bronchospasm in Kenyan school children: An urban-rural comparison". Thorax 53 (11): 1998; 919–26
140. Waite DA, Eyles EF, Tonkin SL, O'Donnell TV . "Asthma prevalence in Tokelauan children in two environments". Clin Allergy 10 (1): 1980; 71–5.
141. Anderson, HR; Gupta R, Strachan DP, Limb ES . "50 years of asthma: UK trends from 1955 to 2004". Thorax 62 (1): 2007; 85–90.

142. Getahun D, Demissie K, Rhoads GG . "Recent trends in asthma hospitalization and mortality in the United States". Journal of asthma 42 (5): 2005;373–8.
143. National Asthma Education and Prevention Program (NAEPP) . "Expert Panel Report 3: Guidelines for the Diagnosis and Management of Asthma" .National Heart Lung and Blood Institute, 2007; p.1
144. Hayden, Merrill (2009). "Asthma Guide".
145. Corbett, Sara . "The Asthma Trap". Mother Jones. 2005; http://motherjones.com/print/16323.
146. Simpson CR, Sheikh A . "Trends in the epidemiology of asthma in England: a national study of 333,294 patients". J R Soc Med 103 (3): 2010; 98–106.
147. Grant EN, Wagner R, Weiss KB . "Observations on emerging patterns of asthma in our society". J Allergy Clin Immunol 104 (2 Pt 2):1999; S1–S9.
148. Anandan C, Nurmatov U, van Schayck OC, Sheikh A . "Is the prevalence of asthma declining? Systematic review of epidemiological studies". Allergy 65 (2): 2010; 152–67.
149. World Health Organization "Global surveillance, prevention and control of chronic respiratory diseases: a comprehensive approach". 2007; pp. 15–20, 49.
150. Lara M, Akinbami L, Flores G, Morgenstern H . "Heterogeneity of childhood asthma among Hispanic children: Puerto Rican children bear a disproportionate burden". Pediatrics 117 (1): 2006; 43–53.
151. Davis AM, Kreutzer R, Lipsett M, King G, Shaikh N . "Asthma prevalence in Hispanic and Asian American ethnic subgroups: results from the California Healthy Kids Survey". Pediatrics 118 (2): 2006;e363–70.
152. Johnson DB, Oyama N, LeMarchand L,Wilkens L . "Native Hawaiians mortality, morbidity, and lifestyle: comparing data from 1982, 1990, and 2000". Pac Health Dialog 11 (2): 2004; 120–30
153. Naqvi M, Thyne S, Choudhry S "et al." . "Ethnic-specific differences in bronchodilator responsiveness among african americans, puerto ricans, and mexicans with asthma". J Asthma 44 (8): 2007; 639–48.
154. Burchard EG, Avila PC, Nazario S "et al." . "Lower bronchodilator responsiveness in Puerto Rican than in Mexican subjects with asthma". Am J Respir Crit Care Med 169 (3): 2004; 386–92.

155. Gold DR,Acevedo-Garcia D; Acevedo-Garcia, D . "Immigration to the United States and acculturation as risk factors for asthma and allergy". J Allergy Clin Immunol 116 (1): 2005; 38–41.

156. Eldeirawi KM,Persky VW; Persky, VW . "Associations of acculturation and country of birth with asthma and wheezing in Mexican American youths". J Asthma 43 (4): 2006; 279–86.

157. Bush A, Menzies-Gow A . "Phenotypic differences between pediatric and adult asthma". Proc Am Thorac Soc 6 (8): 2009; 712–9.

158. Opolski M, Wilson I . "Asthma and depression: a pragmatic review of the literature and recommendations for future research". Clin Pract Epidemol Ment Health 1:2005; 18.

159. Deshpande DE et al.."Bitter taste receptors on airway smooth muscle bronchodilate by localized calcium signaling and reverse obstruction. Nature Medicine16, 2010; 1299–1304

160. Rittenhouse-Simmons S: Production of diglyceride from phosphatidylinositol in activated human platelets. Clin. Invest. 63: 1979; 580-7,

161. Samuelsson B: Structures, biosynthesis, and metabolism of prostaglandins. In: Wakil SJ (ed.): Lipid Metabolism, Academic Press, New York, 1970;pp 107-53,

162. Oates JA, Roberts LD, Sweetman BJ, Maas RL, Gerkens JF, Tabber DF: Metabolism of the prostaglandins and thromboxanes. Adv. Prostagl. Thrombox. Res. 6:35-41, 1980. Prostaglandin/leukotriene structure and chemistry 31

163. Devlin, TM (ed.): Textbook of Biochemistry with Clinical Correlations. John Wiley & Sons, Inc., New York, 1982; pp 771-3,

164. Hamberg M, Samuelsson B: On the metabolism of prostaglandins E1 and E2 in man. /. Biol. Chem. 246: 1971; 6713-21,

165. Granstrom E: On the metabolism of prostaglandin F2a in female subjects. Structures of two metabolites in blood. Eur. J. Biochem. 27: 1972;462—9

166. Nugteren DH: The determination of prostaglandin metabolites in human urine. Biol Chem. 250:1975; 2808-12

167. Borgeat P, Samuelsson B: Arachidonic acid metabolism in

polymorphonuclear leukocytes: unstable intermediate information of dihydroxyacids. Proc.Natl. Acad.Sci. USA 76:1979; 3213-17

168. Goetzl EJ, Sun FF: Generation of unique monohydroxy-eicosatetraenoic acids from arachidonic acid by human neutrophils. /. Exp. Med. 150:1979; 40611,

169. Borgeat P, Samuelsson B: Metabolisms of arachidonic acid in polymorphonuclear leukocytes. /. Biol. Chem. 254:1979; 7865-9

170. Naor Z, Vanderhoek JY, Lindner HR, Catt KJ: Arachidonic acid products as possible mediators of the action of gonadotropin-releasing hormone. Adv. Prostagl.Thrombox. Leukotr. Res. 12:1983;259-64

171. Tantisira KG, Drazen JM. Genetics and pharmacogenetics of the leukotriene pathway. J Allergy Clin Immunol 2009; 124:422–427.

172. Drazen JM, Yandava CN, Dube L, et al. Pharmacogenetic association betweenALOX5 promoter genotype and the response to antiasthma treatment.Nat Genet 1999; 22:168–170.

173. Telleria JJ, Blanco-Quiros A, Varillas D, et al. ALOX5 promoter genotype and response to montelukast in moderate persistent asthma. Respir Med 2008; 102:857–861.

174. Lima JJ, Zhang S, Grant A, et al. Influence of leukotriene pathway polymorphisms on response to montelukast in asthma. Am J Respir Crit Care Med 2006;173:379–385.

175. Tantisira KG, Lima J, Sylvia J, et al. 5-lipoxygenase pharmacogenetics in asthma: overlap with cys-leukotriene receptor antagonist loci. Pharmacogenet Genomics 2009; 19:244–247.

176. Mougey EB, Feng H, Castro M, et al. Absorption of montelukast is transporter mediated: a common variant of OATP2B1 is associated with reduced plasma concentrations and poor response. Pharmacogenet Genomics 2009;19:129–138.

177. Lex C, Zacharasiewicz A, Payne DN, et al. Exhaled breath condensate cysteinyl leukotrienes and airway remodeling in childhood asthma: a pilot study. Respir Res 2006; 7:63.

178. Henderson WR Jr, Chiang GK, Tien YT, Chi EY. Reversal of allergen induced airway remodeling by CysLT1 receptor blockade. Am J Respir Crit Care Med2006; 173:718–728.

179. Suzuki S, Takeuchi K, Ishinaga H, et al. Leukotriene D4 upregulates MUC2 gene transcription in human epithelial cells. Pharmacology 2008; 81:221–228.

180. Bai CH, Song SY, Kim YD. The inhibitory effect of the leukotriene receptor antagonist on leukotriene D4-induced MUC2/5AC gene expression and mucin secretion in human airway epithelial cells. Auris Nasus Larynx 2007; 34:203–206.

181. Watanabe S, Yamasaki A, Hashimoto K, et al. Expression of functional leukotriene B4 receptors on human airway smooth muscle cells. J Allergy Clin Immunol 2009; 124:59–65; e51–e53.

182. Parameswaran K, Radford K, Fanat A, et al. Modulation of human airway smooth muscle migration by lipid mediators and Th-2 cytokines. Am J Respir Cell Mol Biol 2007; 37:240–247.

183. Altraja S, Kadai M, Rekker E, Altraja A. Synthesis of tenascin and laminin b2 chain in human bronchial epithelial cells is enhanced by cysteinyl leukotrienes via CysLT1 receptor. Respir Res 2008; 9:44.

184. Beller TC, Maekawa A, Friend DS, et al. Targeted gene disruption reveals the role of the cysteinyl leukotriene 2 receptor in increased vascular permeability and in bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice. J Biol Chem 2004; 279:46129–46134.

185. Cabral AL, Conceicao GM, Fonseca-Guedes CH, Martins MA. Exercise induced bronchospasm in children: effects of asthma severity. Am J Respir Crit Care Med 1999; 159:1819–1823.

186. Hallstrand TS, Moody MW, Aitken ML, Henderson WR Jr. Airway immunopathology of asthma with exercise-induced bronchoconstriction. J Allergy Clin Immunol 2005; 116:586–593.

187. Carraro S, Corradi M, Zanconato S, et al. Exhaled breath condensate cysteinyl leukotrienes are increased in children with exercise-induced bronchoconstriction. J Allergy Clin Immunol 2005; 115:764–770.

188. Hallstrand TS, Moody MW, Wurfel MM, et al. Inflammatory basis of exercise induced bronchoconstriction. Am J Respir Crit Care Med 2005; 172:679– 686.

189. Mickleborough TD, Lindley MR, Ray S. Dietary salt, airway inflammation, and diffusion capacity in exercise-induced asthma. Med Sci Sports Exerc 2005; 37:904–914.

190. Freed AN, McCulloch S, Meyers T, Suzuki R. Neurokinins modulate hyperventilation-induced bronchoconstriction in canine peripheral airways. Am J Respir Crit Care Med 2003; 167:1102–1108.

191. Lai YL, Lee SP. Mediators in hyperpnea-induced bronchoconstriction of guinea pigs. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol 1999; 360:597–602.

192. Taylor-Clark TE, Nassenstein C, Undem BJ. Leukotriene D4 increases the excitability of capsaicin-sensitive nasal sensory nerves to electrical and chemical stimuli. Br J Pharmacol 2008; 154:1359–1368.

193. Hallstrand TS, Chi EY, Singer AG, et al. Secreted phospholipase A2 group X overexpression in asthma and bronchial hyperresponsiveness. Am J Respir Crit Care Med 2007; 176:1072–1078.

194. Hallstrand TS, Henderson WR Jr. Role of leukotrienes in exercise-induced bronchoconstriction. Curr Allergy Asthma Rep 2009; 9:18–25.

195. Montuschi, P.; Sala, A.; Dahlén, S.-E.; Folco, G. Pharmacological modulation of the leukotriene pathway in allergic airway disease. Drug Discov. Today 2007; 12, 404–412.

196. Montuschi, P et. Al, Role of Leukotrienes and Leukotriene Modifiers in Asthma. Pharmaceuticals 2010, 3, 1792-1811.

197. Montuschi, P.; Sala, A.; Dahlén, S.-E.; Folco, G. Pharmacological modulation of the leukotriene pathway in allergic airway disease. Drug Discov. Today 2007; 12, 404–412.

198. Dahlen, S.E. Treatment of asthma with antileukotrienes: First line or last resort therapy? Eur. J.Pharmacol. 2006;533, 40–56.

199. Busse, W.; Kraft, M. Cysteinyl leukotrienes in allergic inflammation: Strategic target for therapy. Chest 2005, 127, 1312–1326.

200. Busse, W.; Raphael, G.D.; Galant, S.; Kalberg, C.; Goode-Sellers, S.; Srebro, S.; Edwards, L.; Rickard, K. Low-dose fluticasone propionate compared with montelukast for first-line treatment of persistent asthma: A randomized clinical trial. J. Allergy Clin. Immunol. 2001; 107, 461–468.

201. Camargo, C.A., Jr.; Smithline, H.A.; Malice, M.P.; Green, S.A.; Reiss, T.F. A randomized controlled trial of intravenous montelukast in acute asthma. Am. J. Resp. Crit. Care Med. 2003; 167, 528–533.

202. Camargo, C.A., Jr.; Gurner, D.M.; Smithline, H.A.; Chapela, R.; Fabbri, L.M.; Green, S.A.; Malice, M.P.; Legrand, C.; Dass, S.B.; Knorr, B.A.; Reiss,

T.F. A randomized placebocontrolled study of intravenous montelukast for the treatment of acute asthma. J. Allergy Clin. Immunol. 2010; 125, 374–380.

203. Roquet, A.; Dahlén, B.; Kumlin, M.; Ihre, E.; Anstrén, G.; Binks, S.; Dahlén, S.E. Combined antagonism of leukotrienes and histamine produces predominant inhibition of allergen-induced early and late phase airway obstruction in asthmatics. Am. J. Resp. Crit. Care Med. 1997; 155,1856–1863.
204. Phipatanakul, W.; Nowak-Wegrzyn, A.; Eggleston, P.A.; Van Natta, M.; Kesavan, J.; Schuberth,K.; Wood, R.A. The efficacy of montelukast in the treatment of cat allergen-induced asthma in children. J. Allergy Clin. Immunol. 2002; 109, 794–799.
205. Leff, J.A.; Busse, W.W.; Pearlman, D.; Bronsky, E.A.; Kemp, J.; Hendeles, L.; Dockhorn, R.;Kundu, S.; Zhang, J.; Seidenberg, B.C.; Reiss, T.F. Montelukast, a leukotriene-receptor antagonist, for the treatment of mild asthma and exercise-induced bronchoconstriction. N. Engl.J. Med. 1998; 339, 147–152.
206. Pearlman, D.S.; van Adelsberg, J.; Philip, G.; Tilles, S.A.; Busse, W.; Hendeles, L.; Loeys, T.;Dass, S.B.; Reiss, T.F. Onset and duration of protection against exercise-induced bronchoconstriction by a single oral dose of montelukast. Ann. Allergy Asthma Immunol. 2006; 97, 98–104.
207. Philip, G.; Pearlman, D.S.; Villarán, C.; Legrand, C.; Loeys, T.; Langdon, R.B.; Reiss, T.F.Single-dose montelukast or salmeterol as protection against exercise-induced bronchoconstriction. Chest 2007; 132, 875–883.
208. Ishizaka K, Ishizaka T, Hornbrook M. Identification of gamma-E-antibodies as a carrier of a reaginic activity. J Immunology 1967;78:1187-98.
209. Johansson SGO, Bennich H. Immunologial studies of an atipical (myeloma) immunoglobulin. Immunology 1967;13: 381-94.
210. Wide L, Bennich H, Johansson SGO. Diagnosis of allergy by an in vitro test for allergen antibodies. Lancet 1967;2:1105-7
211. Brocklehurst WE. The release of histamine and formation of a slow reacting substance (SRS-A) during anaphylactic shock. J Physiol 1960;151:416-35.
212. Orange RP, Murphy RC, Karnovsky ML, Austen KF. The physicochemical characteristics and purification of slow reacting substance of anaphylaxis. J Immunol 1973;110:760-70.

213. Murphy RC, Hammarstrom S, Samuelsson B, Leukotriene C. a slow-reacting substance from murine mastocytoma cells. Proc Natl Acad Sci U S A 1979;76:4275-9.

214. Marfat A, Corey EJ. Synthesis and structure elucidation of leukotrienes. In: Pike JE, Morton DR jr., editors. Advances in prostaglandin, thromboxane, and leukotriene research. New York: Raven; 1985. p. 155-228.

215. Murphy RC, Hammarstrom S, Samuelsson B, Leukotriene C. a slow-reacting substance from murine mastocytoma cells. Proc Natl Acad Sci U S A 1979;76:4275-9.

216. Drazen JM, Austen KF, Lewis RA, Clark DA, Goto G, Marfat A, et al. Comparative airway and vascular activities of leukotrienes C-1 and D in vivo and in vitro. Proc Natl Acad Sci U S A 1980;77:4354-8.

217. Weiss JW, Drazen JM, Coles N, McFadden ER Jr, Weller PF, Corey EJ, et al. Bronchoconstrictor effects of leukotriene C in humans. Science 1982;216:196-8.

218. Davidson AB, Lee TH, Scanlon PD, Solway J, McFadden ER Jr, Ingram RH Jr, et al. Bronchoconstrictor effects of leukotriene E4 in normal and asthmatic subjects. Am Rev Respir Dis 1987;135:333-7.

219. Brockmann PE. wt.al. Urinary leukotriene excretion profile in children with exercise-induced asthma compared with controls: a preliminary study. Allergol Immunopathol (Madr). 201;40(3):181-6

220. Papadopoulos NG et al., International Consensus on (ICON) pediatric asthma. Allergy 67: (2012) 976-997.

221. Bacharier LB et al., Diagnosis and treatment of asthma in Childhood: a PRACTALL consensus report. Allergy 63: (2008) 5-34.

222. Szefler SJ et al., Asthma outcomes: Biomarker. J Allergy Clin Immunol 129:3 (2008) S9-S23.

223. Piedimonte G et al. Leukotriene synthesis during respiratory syncytial virus bronchiolitis: influence of age and atopy. Pediatr Pulmonol. Oct;40(4): (2005) 285-91

224. Ternynck T., Avrameas S., Ανοσοενζυμικές Τεχνικές 1990. Έκδοση Ελληνικού Ινστιτούτου Pasteur.

225. Atkinson AJ et al. Biomarkers and surrogate endpoints: Preferred definitions and conceptual framework Clinical Pharmacology & Therapeutics 69, (2001)89-95

226. Xepapadaki et al. Duration of postviral airway hyperresponsiveness in children with asthma: effect of atopy. J Allergy Clin Immunol. Aug;116(2): (2005)299-304

227. Bisgaard H et al. Montelukast in RSV - Bronchiolitis. Amer. Jour Resp Crit Car Med Vol 169. (2004)pp. 542-543

228. Hernández-Alvídrez et al. Passive Smoking Induces Leukotriene Production in Children: Influence of Asthma. J Asthma. 2013 Mar 19. [Epub ahead of print]

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ
ΠΙΝΑΚΕΣ ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗΣ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗΣ

1. Μάρτυρες

Μάρτυρες	**U-LTE4 pg/mg_cr**			
Percentiles	Smallest			
1%	47.93	47.93		
5%	143.758	143.758		
10%	184.09	169.06	Obs	36
25%	211.621	184.09	Sum of Wgt.	36
50%	276.494	**Mean**	**271.3959**	
	Largest	**Std. Dev.**	**83.01571**	
75%	323.801	388.949		
90%	388.949	408	Variance	6891.608
95%	409.935	409.935	Skewness	-.1046756
99%	451.796	451.796	Kurtosis	3.25800

2. Ασθενείς σε 'Εξαρση

Ασθενείς σε έξαρση	**U-LTE4 pg/mg_cr**			
Percentiles	Smallest			
1%	184.593	184.593		
5%	238.622	234.659		
10%	264.5035	235.765	Obs	43
25%	456.645	238.594	Sum of Wgt.	43
50%	607.8695	**Mean**	**642.2086**	
	Largest	**Std. Dev.**	**268.2078**	
75%	836.9465	1162.84		
90%	977.6825	1203	Variance	71935.45
95%	1138.14	1224.428	Skewness	.2734711
99%	1278.157	1278.157	Kurtosis	2.362903

3. Ασθενείς σε Ύφεση

Ασθενείς σε ύφεση	**U-LTE4 pg/mg_cr**			
Percentiles	Smallest			
1%	112.76	112.76		
5%	158.09	120.653		
10%	165.87	158.09	Obs	58
25%	223.32	163.47	Sum of Wgt.	58
50%	345.226	**Mean**	**399.4546**	
	Largest	**Std. Dev.**	**204.3854**	
75%	533.333	766.42		
90%	675.87	782.577	Variance	41773.41
95%	782.577	870.543	Skewness	.7307085
99%	1000	1000	Kurtosis	2.989737

4. Ατοπικοί Ασθενείς σε Έξαρση

Ατοπικοί ασθενείς σε έξαρση	**U-LTE4 pg/mg_cr**			
Percentiles	Smallest			
1%	321.39	321.39		
5%	512.122	512.122		
10%	588.63	588.63	Obs	22
25%	754.716	623.954	Sum of Wgt.	22
50%	847.2265	**Mean**	**872.1309**	
	Largest	**Std. Dev.**	**246.4775**	
75%	1028.56	1162.84		
90%	1203	1203	Variance	60751.14
95%	1224.428	1224.428	Skewness	-.2440312
99%	1278.157	1278.157	Kurtosis	2.550111

5. Ατοπικοί Ασθενείς σε Ύφεση

Ατοπικοί ασθενείς σε ύφεση	**U-LTE4 pg/mg_cr**			
Percentiles	Smallest			
1%	231.65	231.65		
5%	249.15	249.15		
10%	278.895	259.33	Obs	30
25%	321.89	298.46	Sum of Wgt.	30
50%	525.954	**Mean**	**507.593**	
	Largest	**Std. Dev.**	**182.1115**	
75%	616.235	676.684		
90%	721.552	766.42	Variance	33164.6
95%	782.577	782.577	Skewness	.4643773
99%	1000	1000	Kurtosis	3.061906

6. Μη Ατοπικοί Ασθενείς σε Έξαρση

Μη-ατοπικοί ασθενείς σε έξαρση	**U-LTE4 pg/mg_cr**			
Percentiles	Smallest			
1%	337.59	337.59		
5%	337.59	385.68		
10%	385.68	505.681	Obs	21
25%	519.97	517.24	Sum of Wgt.	21
50%	621.189	**Mean**	**604.829**	
	Largest	**Std. Dev.**	**138.1987**	
75%	672.004	689.13		
90%	760.723	737.311	Variance	19098.87
95%	891.678	760.723	Skewness	-.0338369
99%	891.678	891.678	Kurtosis	2.993105

7. Μη ατοπικοί Ασθενείς σε Ύφεση

Μη-ατοπικοί ασθενείς σε ύφεση	**U-LTE4 pg/mg_cr**			
Percentiles	Smallest			
1%	47.93	47.93		
5%	112.76	112.76		
10%	120.653	120.653	Obs	29
25%	168.89	158.09	Sum of Wgt.	29
50%	213.67	**Mean**	**275.4657**	
	Largest	**Std. Dev.**	**163.2525**	
75%	340.752	467.515		
90%	469.95	469.95	Variance	26651.38
95%	492.957	492.957	Skewness	1.771189
99%	870.543	870.543	Kurtosis	7.103391

8. Ασθενείς με ζευγάρια δείγματος, που βρίσκονταν σε έξαρση

Ασθενείς με ζευγάρια δείγματος, που βρίσκονταν σε έξαρση	**U-LTE4 pg/mg_cr**			
Percentiles	Smallest			
1%	337.59	337.59		
5%	337.59	385.68		
10%	385.68	512.122	Obs	11
25%	512.122	554.09	Sum of Wgt.	11
50%	623.954	**Mean**	**729.3619**	
	Largest	**Std. Dev.**	**321.5258**	
75%	1028.56	837.32		
90%	1224.428	1028.56	Variance	103378.9
95%	1278.157	1224.428	Skewness	.6117805
99%	1278.157	1278.157	Kurtosis	2.060155

9. Ασθενείς με ζευγάρια δείγματος, που βρίσκονταν σε ύφεση

Ασθενείς με ζευγάρια δείγματος, που βρίσκονταν σε ύφεση	**U-LTE4 pg/mg_cr**			
Percentiles	Smallest			
1%	112.76	112.76		
5%	112.76	168.89		
10%	168.89	213.67	Obs	15
25%	231.65	231.65	Sum of Wgt.	15
50%	450.454	**Mean**	**447.9053**	
	Largest	**Std. Dev.**	**227.8624**	
75%	581.084	581.084		
90%	676.684	607.13	Variance	51921.26
95%	1000	676.684	Skewness	.648218
99%	1000	1000	Kurtosis	3.431387

10. Αγόρια με ζευγάρια δείγματος, που βρίσκονταν σε έξαρση

Αγόρια με ζευγάρια δείγματος, που βρίσκονταν σε έξαρση	**U-LTE4 pg/mg_cr**			
Percentiles	Smallest			
1%	337.59	337.59		
5%	337.59	385.68		
10%	337.59	512.122	Obs	7
25%	385.68	554.09	Sum of Wgt.	7
50%	554.09	**Mean**	**611.4604**	
	Largest	**Std. Dev.**	**312.0638**	
75%	623.954	554.09		
90%	1278.157	588.63	Variance	97383.82
95%	1278.157	623.954	Skewness	1.558556
99%	1278.157	1278.157	Kurtosis	4.221595

11. Κορίτσια με ζευγάρια δείγματος, που βρίσκονταν σε έξαρση

Κορίτσια με ζευγάρια δείγματος, που βρίσκονταν σε έξαρση	**U-LTE4 pg/mg_cr**			
Percentiles	Smallest			
1%	652.45	652.45		
5%	652.45	837.32		
10%	652.45	1028.56	Obs	4
25%	744.885	1224.428	Sum of Wgt.	4
50%	932.94	**Mean**	**935.6895**	
	Largest	**Std. Dev.**	**246.2357**	
75%	1126.494	652.45		
90%	1224.428	837.32	Variance	60632
95%	1224.428	1028.56	Skewness	.0308967
99%	1224.428	1224.428	Kurtosis	1.638698

12. Αγόρια με ζευγάρια δείγματος, που βρίσκονταν σε ύφεση

Αγόρια με ζευγάρια δείγματος, που βρίσκονταν σε ύφεση	**U-LTE4 pg/mg_cr**			
Percentiles	Smallest			
1%	112.76	112.76		
5%	112.76	168.89		
10%	112.76	213.67	Obs	7
25%	168.89	231.65	Sum of Wgt.	7
50%	231.65	**Mean**	**341.2464**	
	Largest	**Std. Dev.**	**212.7364**	
75%	531.558	231.65		
90%	676.684	453.513	Variance	45256.76
95%	676.684	531.558	Skewness	.4788456
99%	676.684	676.684	Kurtosis	1.722904

13. Κορίτσια με ζευγάρια δείγματος, που βρίσκονταν σε ύφεση

Κορίτσια με ζευγάρια δείγματος, που βρίσκονταν σε ύφεση	**U-LTE4 pg/mg_cr**			
Percentiles	Smallest			
1%	321.89	321.89		
5%	321.89	408.87		
10%	321.89	415.68	Obs	8
25%	412.275	450.454	Sum of Wgt.	8
50%	497.6	**Mean**	**541.2317**	
	Largest	**Std. Dev.**	**209.0952**	
75%	594.107	544.746		
90%	1000	581.084	Variance	43720.82
95%	1000	607.13	Skewness	1.358291
99%	1000	1000	Kurtosis	4.036238

14. Μάρτυρες στη μέτρηση της Ολικής IgE

Μάρτυρες	**Tot.IgE kU/L**			
Percentiles	Smallest			
1%	5.2	5.2		
5%	7.22	7.22		
10%	16.7	13.8	Obs	35
25%	31.5	16.7	Sum of Wgt.	35
50%	80.3	**Mean**	**126.5383**	
	Largest	**Std. Dev.**	**226.8429**	
75%	112.32	213		
90%	213	267	Variance	51457.72
95%	384	384	Skewness	4.732474
99%	1353	1353	Kurtosis	25.94357

15. Ατοπικοί ασθενείς σε έξαρση – Ολική IgE

Ατοπικοί ασθενείς σε έξαρση	**Tot.IgE kU/L**			
Percentiles	Smallest			
1%	7.67	7.67		
5%	7.67	44.4		
10%	44.4	256	Obs	13
25%	345	345	Sum of Wgt.	13
50%	623	**Mean**	**551.6977**	
	Largest	**Std. Dev.**	**317.5736**	
75%	854	854		
90%	886	864	Variance	100853
95%	893	886	Skewness	-.4671613
99%	893	893	Kurtosis	1.88549

16. Ατοπικοί ασθενείς σε ύφεση – Ολική IgE

Ατοπικοί ασθενείς σε ύφεση	**Tot.IgE kU/L**			
Percentiles	Smallest			
1%	19.6	19.6		
5%	44.9	44.9		
10%	67.6	67.6	Obs	22
25%	90	69.3	Sum of Wgt.	22
50%	129.5	**Mean**	**242.3318**	
	Largest	**Std. Dev.**	**234.2141**	
75%	290	569.9		
90%	650	650	Variance	54856.23
95%	745	745	Skewness	1.250821
99%	755	755	Kurtosis	3.050046

17. Mann-Whitney Test για σύγκριση των επιπέδων των LTE4 των ασθενών που βρίσκονταν σε έξαρση σε σχέση με τα επίπεδα των λευκοτριενίων LTE_4 των μαρτύρων

```
Two-sample Wilcoxon rank-sum (Mann-Whitney) test

patient_re~e |      obs    rank sum    expected
-------------+---------------------------------
           0 |       36         941        2106
           1 |       80        5845        4680
-------------+---------------------------------
    combined |      116        6786        6786

unadjusted variance    28080.00
adjustment for ties        0.00
                     ----------
adjusted variance      28080.00

Ho: lte4_p~r(patien~e==0) = lte4_p~r(patien~e==1)
             z =  -6.952
    Prob > |z| =   0.0000

P{lte4_p~r(patien~e==0) > lte4_p~r(patien~e==1)} = 0.095
```

18. Mann-Whitney Test για σύγκριση των επιπέδων των LTE4 των ασθενών που βρίσκονταν σε ύφεση σε σχέση με τα επίπεδα των λευκοτριενίων LTE_4 των μαρτύρων

```
Two-sample Wilcoxon rank-sum (Mann-Whitney) test

patient_re~n |      obs    rank sum    expected
-------------+---------------------------------
           0 |       36        1356        1710
           1 |       58        3109        2755
-------------+---------------------------------
    combined |       94        4465        4465

unadjusted variance    16530.00
adjustment for ties        0.00
                     ----------
adjusted variance      16530.00

Ho: lte4_p~r(patien~n==0) = lte4_p~r(patien~n==1)
             z =  -2.753
    Prob > |z| =   0.0059

P{lte4_p~r(patien~n==0) > lte4_p~r(patien~n==1)} = 0.330
```

19. Mann-Whitney Test για σύγκριση των επιπέδων των LTE4 των ασθενών που βρίσκονταν σε ύφεση,σε σχέση με τα επίπεδα των λευκοτριενίων LTE_4 των ασθενών που βρίσκονταν σε έξαρση

```
Two-sample Wilcoxon rank-sum (Mann-Whitney) test

     relapse |      obs    rank sum    expected
-------------+---------------------------------
           0 |       58        2742        4031
           1 |       80        6849        5560
-------------+---------------------------------
    combined |      138        9591        9591

unadjusted variance    53746.67
adjustment for ties        0.00
                     ----------
adjusted variance      53746.67

Ho: lte4_p~r(relapse==0) = lte4_p~r(relapse==1)
             z =  -5.560
    Prob > |z| =   0.0000

P{lte4_p~r(relapse==0) > lte4_p~r(relapse==1)} = 0.222
```

20. Mann-Whitney Test για σύγκριση των επιπέδων των LTE4 των ατοπικών ασθενών που βρίσκονταν σε ύφεση(2) σε σχέση με τα επίπεδα των λευκοτριενίων LTE_4 των μαρτύρων(1).

```
Two-sample Wilcoxon rank-sum (Mann-Whitney) test

control_at~n |      obs    rank sum    expected
-------------+---------------------------------
           1 |       36         794        1206
           2 |       30        1417        1005
-------------+---------------------------------
    combined |       66        2211        2211

unadjusted variance     6030.00
adjustment for ties        0.00
                     ----------
adjusted variance       6030.00

Ho: lte4_p~r(contro~n==1) = lte4_p~r(contro~n==2)
             z =  -5.306
    Prob > |z| =   0.0000

P{lte4_p~r(contro~n==1) > lte4_p~r(contro~n==2)} = 0.119
```

21. Mann-Whitney Test για σύγκριση των επιπέδων των LTE4 των ατοπικών ασθενών που βρίσκονταν σε έξαρση σε σχέση με τα επίπεδα των λευκοτριενίων LTE_4 των μαρτύρων

```
Two-sample Wilcoxon rank-sum (Mann-Whitney) test

control_at~e |      obs    rank sum    expected
-------------+---------------------------------
           1 |       36         675        1062
           2 |       22        1036         649
-------------+---------------------------------
    combined |       58        1711        1711

unadjusted variance     3894.00
adjustment for ties        0.00
                     ----------
adjusted variance       3894.00

Ho: lte4_p~r(contro~e==1) = lte4_p~r(contro~e==2)
             z =  -6.202
    Prob > |z| =   0.0000

P{lte4_p~r(contro~e==1) > lte4_p~r(contro~e==2)} = 0.011
```

22. Mann-Whitney Test για σύγκριση των επιπέδων των LTE4 των ατοπικών ασθενών που βρίσκονταν σε έξαρση(1) σε σχέση με τα επίπεδα των λευκοτριενίων LTE_4 των ατοπικών ασθενών που βρίσκονταν σε ύφεση(2).

```
Two-sample Wilcoxon rank-sum (Mann-Whitney) test

atopia_rel~n |      obs    rank sum    expected
-------------+---------------------------------
           1 |       21         791         546
           2 |       30         535         780
-------------+---------------------------------
    combined |       51        1326        1326

unadjusted variance     2730.00
adjustment for ties        0.00
                     ----------
adjusted variance       2730.00

Ho: lte4_p~r(atopia~n==1) = lte4_p~r(atopia~n==2)
             z =   4.689
    Prob > |z| =   0.0000

P{lte4_p~r(atopia~n==1) > lte4_p~r(atopia~n==2)} = 0.889
```

23. Mann-Whitney Test για σύγκριση των επιπέδων των LTE4 των μη ατοπικών ασθενών που βρίσκονταν σε έξαρση(2) σε σχέση με τα επίπεδα των λευκοτριενίων LTE_4 των μαρτύρων(1).

```
Two-sample Wilcoxon rank-sum (Mann-Whitney) test

control_no~e |      obs    rank sum    expected
-------------+---------------------------------
           1 |       36         678         954
           2 |       16         700         424
-------------+---------------------------------
    combined |       52        1378        1378

unadjusted variance     2544.00
adjustment for ties       -0.00
                     ----------
adjusted variance       2544.00

Ho: lte4_p~r(contro~e==1) = lte4_p~r(contro~e==2)
             z =  -5.472
    Prob > |z| =   0.0000

P{lte4_p~r(contro~e==1) > lte4_p~r(contro~e==2)} = 0.021
```

24. Mann-Whitney Test για σύγκριση των επιπέδων των LTE4 των μη ατοπικών ασθενών που βρίσκονταν σε ύφεση(2) σε σχέση με τα επίπεδα των λευκοτριενίων LTE_4 των μαρτύρων(1).

```
Two-sample Wilcoxon rank-sum (Mann-Whitney) test

control_no~n |      obs    rank sum    expected
-------------+---------------------------------
           1 |       36        1228        1170
           2 |       28         852         910
-------------+---------------------------------
    combined |       64        2080        2080

unadjusted variance     5460.00
adjustment for ties        0.00
                     ----------
adjusted variance       5460.00

Ho: lte4_p~r(contro~n==1) = lte4_p~r(contro~n==2)
             z =   0.785
    Prob > |z| =   0.4325

P{lte4_p~r(contro~n==1) > lte4_p~r(contro~n==2)} = 0.558
```

25. Mann-Whitney Test για σύγκριση των επιπέδων των LTE4 των ατοπικών ασθενών που βρίσκονταν σε έξαρση σε σχέση με τα επίπεδα των λευκοτριενίων LTE_4 των μη ατοπικών ασθενών που βρίσκονταν σε έξαρση

```
Two-sample Wilcoxon rank-sum (Mann-Whitney) test

relapse_at~a |      obs    rank sum    expected
-------------+---------------------------------
           1 |       22         538         429
           2 |       16         203         312
-------------+---------------------------------
    combined |       38         741         741

unadjusted variance     1144.00
adjustment for ties        0.00
                     ----------
adjusted variance       1144.00

Ho: lte4_p~r(relaps~a==1) = lte4_p~r(relaps~a==2)
             z =   3.223
    Prob > |z| =   0.0013

P{lte4_p~r(relaps~a==1) > lte4_p~r(relaps~a==2)} = 0.810
```

26. Mann-Whitney Test για σύγκριση των επιπέδων των LTE4 των ατοπικών ασθενών που βρίσκονταν σε ύφεση σε σχέση με τα επίπεδα των λευκοτριενίων LTE_4 των μη ατοπικών ασθενών που βρίσκονταν σε ύφεση.

```
Two-sample Wilcoxon rank-sum (Mann-Whitney) test

remission_~a |      obs    rank sum    expected
-------------+---------------------------------
           1 |       30        1210         900
           2 |       29         560         870
-------------+---------------------------------
    combined |       59        1770        1770

unadjusted variance     4350.00
adjustment for ties        0.00
                     ----------
adjusted variance       4350.00

Ho: lte4_p~r(remiss~a==1) = lte4_p~r(remiss~a==2)
             z =   4.700
    Prob > |z| =   0.0000

P{lte4_p~r(remiss~a==1) > lte4_p~r(remiss~a==2)} = 0.856
```

27. Mann-Whitney Test για σύγκριση των επιπέδων των LTE4 των ασθενών με ζευγάρια δείγματος που βρίσκονταν σε έξαρση σε σχέση με τα επίπεδα των λευκοτριενίων LTE_4 των μαρτύρων.

```
Two-sample Wilcoxon rank-sum (Mann-Whitney) test

ltcon~e_pair |      obs    rank sum    expected
-------------+---------------------------------
           1 |       36         678         864
           2 |       11         450         264
-------------+---------------------------------
    combined |       47        1128        1128

unadjusted variance     1584.00
adjustment for ties        0.00
                     ----------
adjusted variance       1584.00

Ho: lte4_p~r(l~e_pair==1) = lte4_p~r(l~e_pair==2)
             z =  -4.673
    Prob > |z| =   0.0000

P{lte4_p~r(l~e_pair==1) > lte4_p~r(l~e_pair==2)} = 0.030
```

28. Mann-Whitney Test για σύγκριση των επιπέδων των LTE4 των ασθενών με ζευγάρια δείγματος που βρίσκονταν σε ύφεση σε σχέση με τα επίπεδα των λευκοτριενίων LTE_4 των μαρτύρων.

```
Two-sample Wilcoxon rank-sum (Mann-Whitney) test

ltcontrol_~r |      obs    rank sum    expected
-------------+---------------------------------
           1 |       36         799         936
           2 |       15         527         390
-------------+---------------------------------
    combined |       51        1326        1326

unadjusted variance     2340.00
adjustment for ties        0.00
                     ----------
adjusted variance       2340.00

Ho: lte4_p~r(ltcont~r==1) = lte4_p~r(ltcont~r==2)
             z =  -2.832
    Prob > |z| =   0.0046

P{lte4_p~r(ltcont~r==1) > lte4_p~r(ltcont~r==2)} = 0.246
```

29. Mann-Whitney Test για σύγκριση των επιπέδων των LTE4 των ασθενών με ζευγάρια δείγματος που βρίσκονταν σε έξαρση σε σχέση με τα επίπεδα των λευκοτριενίων LTE_4 των ασθενών με ζευγάρια δείγματος που βρίσκονταν σε ύφεση.

```
Two-sample Wilcoxon rank-sum (Mann-Whitney) test

ltrelapse_~r |      obs    rank sum    expected
-------------+---------------------------------
           1 |       11         193       148.5
           2 |       15         158       202.5
-------------+---------------------------------
    combined |       26         351         351

unadjusted variance      371.25
adjustment for ties        0.00
                     ----------
adjusted variance        371.25

Ho: lte4_p~r(ltrela~r==1) = lte4_p~r(ltrela~r==2)
             z =   2.310
    Prob > |z| =   0.0209

P{lte4_p~r(ltrela~r==1) > lte4_p~r(ltrela~r==2)} = 0.770
```

30. Mann-Whitney Test για σύγκριση των επιπέδων των LTE4 των ατοπικών ασθενών που είχαν ζεύγη δείγματος σε έξαρση και ανάλογα με το φύλο (P=0.06).

```
Two-sample Wilcoxon rank-sum (Mann-Whitney) test

         sex |      obs    rank sum    expected
-------------+---------------------------------
           1 |        7          32          42
           2 |        4          34          24
-------------+---------------------------------
    combined |       11          66          66

unadjusted variance       28.00
adjustment for ties        0.00
                     ----------
adjusted variance         28.00

Ho: lte4_p~r(sex==1) = lte4_p~r(sex==2)
             z =  -1.890
    Prob > |z| =   0.0588

P{lte4_p~r(sex==1) > lte4_p~r(sex==2)} = 0.143
```

31. Mann-Whitney Test για σύγκριση των επιπέδων των λευκοτριενίων LTE_4 των ατοπικών ασθενών που είχαν ζεύγη δείγματος σε ύφεση ανάλογα με το φύλο((P=0.13).

```
Two-sample Wilcoxon rank-sum (Mann-Whitney) test

         sex |      obs    rank sum    expected
-------------+---------------------------------
           1 |        7          43          56
           2 |        8          77          64
-------------+---------------------------------
    combined |       15         120         120

unadjusted variance       74.67
adjustment for ties        0.00
                     ----------
adjusted variance         74.67

Ho: lte4_p~r(sex==1) = lte4_p~r(sex==2)
             z =  -1.504
    Prob > |z| =   0.1325

P{lte4_p~r(sex==1) > lte4_p~r(sex==2)} = 0.268
```

32. Mann-Whitney Test για σύγκριση των επιπέδων της IgE των ατοπικών ασθενών που βρίσκονταν σε έξαρση σε σχέση με τα επίπεδα της IgE των μαρτύρων.

```
Two-sample Wilcoxon rank-sum (Mann-Whitney) test

ige_contro~e |      obs    rank sum    expected
-------------+---------------------------------
           1 |       35         703       857.5
           2 |       13         473       318.5
-------------+---------------------------------
    combined |       48        1176        1176

unadjusted variance     1857.92
adjustment for ties       -0.20
                     ----------
adjusted variance       1857.71

Ho: IgE__k~L(ige_co~e==1) = IgE__k~L(ige_co~e==2)
             z =  -3.585
    Prob > |z| =   0.0003

P{IgE__k~L(ige_co~e==1) > IgE__k~L(ige_co~e==2)} = 0.160
```

33. Mann-Whitney Test για σύγκριση των επιπέδων της IgE των ατοπικών ασθενών που βρίσκονταν σε ύφεση (2) σε σχέση με τα επίπεδα της IgE των μαρτύρων(1).

```
Two-sample Wilcoxon rank-sum (Mann-Whitney) test

ige_contro~n |      obs    rank sum    expected
-------------+---------------------------------
           1 |       35         832        1015
           2 |       22         821         638
-------------+---------------------------------
    combined |       57        1653        1653

unadjusted variance     3721.67
adjustment for ties       -0.84
                     ----------
adjusted variance       3720.82

Ho: IgE__k~L(ige_co~n==1) = IgE__k~L(ige_co~n==2)
             z =  -3.000
    Prob > |z| =   0.0027

P{IgE__k~L(ige_co~n==1) > IgE__k~L(ige_co~n==2)} = 0.262
```

34. Mann-Whitney Test για σύγκριση των επιπέδων της IgE των ατοπικών ασθενών που βρίσκονταν σε έξαρση σε σχέση με τα επίπεδα της IgE των ατοπικών ασθενών που βρίσκονταν σε ύφεση.

```
Two-sample Wilcoxon rank-sum (Mann-Whitney) test

ige_atopia~n |      obs    rank sum    expected
-------------+---------------------------------
           1 |       13         308         234
           2 |       22         322         396
-------------+---------------------------------
    combined |       35         630         630

unadjusted variance      858.00
adjustment for ties       -0.24
                     ----------
adjusted variance        857.76

Ho: IgE__k~L(ige_at~n==1) = IgE__k~L(ige_at~n==2)
             z =   2.527
    Prob > |z| =   0.0115

P{IgE__k~L(ige_at~n==1) > IgE__k~L(ige_at~n==2)} = 0.759
```

35. Μη-Ατοπικοί ασθενείς σε έξαρση – Ολική IgE

Μη - Ατοπικοί ασθενείς σε έξαρση	**Tot.IgE kU/L**			
Percentiles	Smallest			
1%	7.67	7.67		
5%	7.67	44.4		
10%	44.4	256	Obs	18
25%	345	345	Sum of Wgt.	
50%	623	**Mean**	**585.2222**	
	Largest	**Std. Dev.**	**217.633**	

36. Μη Ατοπικοί ασθενείς σε ύφεση – Ολική IgE

Μη Ατοπικοί ασθενείς σε ύφεση	**Tot.IgE kU/L**			
Percentiles	Smallest			
1%	19.6	19.6		
5%	44.9	44.9		
10%	67.6	67.6	Obs	22
25%	90	69.3	Sum of Wgt.	22
50%	129.5	**Mean**	**191.318**	
	Largest	**Std. Dev.**	**98.343**	