



**Α΄ Πανεπιστημιακή Πνευμονολογική Κλινική, ΓΝΝΘΑ «Η Σωτηρία»
Β΄ Πανεπιστημιακή Πνευμονολογική Κλινική, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο
«Αττικόν»**

**«Φλεγμονώδεις εκπνεόμενοι δείκτες σε ασθενείς με
άσθμα και φαινότυποι άσθματος»**

ΝΤΟΝΤΣΗ ΠΟΛΥΞΕΝΗ, MD
Πνευμονολόγος-Φυματιολόγος

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΑΘΗΝΑ, 2021



ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ-ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

Α΄ Πανεπιστημιακή Πνευμονολογική Κλινική, ΓΝΝΘΑ «Η Σωτηρία»

**Β΄ Πανεπιστημιακή Πνευμονολογική Κλινική, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο
«Αττικό»**

**«Φλεγμονώδεις εκπνεόμενοι δείκτες σε ασθενείς με
άσθμα και φαινότυποι άσθματος»**

ΝΤΟΝΤΣΗ ΠΟΛΥΞΕΝΗ, MD

Πνευμονολόγος-Φυματιολόγος

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΑΘΗΝΑ, 2021

Ημερομηνία ορισμού τριμελούς επιτροπής: 03/06/2015

Μέλη Τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής

Λουκίδης Στυλιανός, Καθηγητής Πνευμονολογίας Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών, Β' Πανεπιστημιακή Πνευμονολογική Κλινική, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο «Αττικόν».

Παπίρης Σπυρίδων, Καθηγητής Πνευμονολογίας Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών, Διευθυντής Β' Πανεπιστημιακής Πνευμονολογικής Κλινικής, ΓΝΝΘΑ «Η Σωτηρία».

Μπακάκος Πέτρος, Καθηγητής Πνευμονολογίας Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών, Α' Πανεπιστημιακή Πνευμονολογική Κλινική, ΓΝΝΘΑ «Η Σωτηρία».

Επιβλέπον μέλος

Λουκίδης Στυλιανός, Καθηγητής Πνευμονολογίας Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών, Β' Πανεπιστημιακή Πνευμονολογική Κλινική, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο «Αττικόν».

Πρόεδρος Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών

Σφηκάκης Π. Πέτρος, Καθηγητής Παθολογίας Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών, Διευθυντής Α' Προπαιδευτικής Παθολογικής Κλινικής, Λαϊκό Νοσοκομείο.

Μέλη Επταμελούς συμβουλευτικής επιτροπής

Λουκίδης Στυλιανός, Καθηγητής Πνευμονολογίας Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών, Β' Πανεπιστημιακή Πνευμονολογική Κλινική, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο «Αττικόν».

Παπίρης Σπυρίδων, Καθηγητής Πνευμονολογίας Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών, Διευθυντής Β' Πανεπιστημιακής Πνευμονολογικής Κλινικής, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο «Αττικόν».

Κουτσούκου Αντωνία, Καθηγήτρια Εντατικής θεραπείας και Πνευμονολογίας Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών, Διευθύντρια της Μονάδας Εντατικής Θεραπείας της Α' Πανεπιστημιακής Πνευμονολογικής Κλινικής, ΓΝΝΘΑ «Η Σωτηρία».

Τσαγκάρης Ηρακλής, Καθηγητής Εντατικής θεραπείας και Πνευμονολογίας Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών, Διευθυντής της Β'

Πανεπιστημιακής Κλινικής Εντατικής Θεραπείας, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο «Αττικόν».

Μπακάκος Πέτρος, Καθηγητής Πνευμονολογίας Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών, Α' Πανεπιστημική Πνευμονολογική Κλινική, ΓΝΝΘΑ «Η Σωτηρία».

Ροβίνα Νικολέττα, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Πνευμονολογίας -Εντατικής Θεραπείας Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών, Μονάδα Εντατικής Θεραπείας της Α Πανεπιστημιακής Πνευμονολογικής Κλινικής, ΓΝΝΘΑ «Η Σωτηρία».

Μάναλη Ευφροσύνη, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Πνευμονολογίας Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών, Β' Πανεπιστημική Πνευμονολογική Κλινική, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο «Αττικόν».

Στους δασκάλους μου....

Στην οικογένειά μου.....

ΟΡΚΟΣ ΤΟΥ ΙΠΠΟΚΡΑΤΟΥΣ

Αρχαίο Κείμενο

«Ὁμνυμι Απόλλωνα ἰητρὸν, καὶ Ἀσκληπιὸν, καὶ Ὑγίαν, καὶ Πανάκειαν, καὶ θεοὺς πάντας τε καὶ πάσας, ἴστορας ποιούμενος, ἐπιτελέα ποιήσιν κατὰ δύναμιν καὶ κρίσιν ἐμήν ὄρκον τόνδε καὶ ξυγγραφὴν τήνδε. Ἠγήσασθαι μὲν τὸν διδάξαντά με τὴν τέχνην ταύτην ἴσα γενέτησιν ἐμοῖσι, καὶ βίου κοινώσασθαι, καὶ χρεῶν χρηρίζοντι μετάδοσιν ποιήσασθαι, καὶ γένος τὸ ἐξ ωντέου ἀδελφοῖς ἴσον ἐπικρινέειν ἄρρεσι, καὶ διδάξειν τὴν τέχνην ταύτην, ἣν χρηρίζωσι μανθάνειν, ἄνευ μισθοῦ καὶ ξυγγραφῆς, παραγγελίης τε καὶ ἀκροήσιος καὶ τῆς λοιπῆς ἀπάσης μαθήσιος μετάδοσιν ποιήσασθαι υἱοῖσί τε ἐμοῖσι, καὶ τοῖσι τοῦ ἐμὲ διδάξαντος, καὶ μαθηταῖσι συγγεγραμμένοισί τε καὶ ὠρκισμένοις νόμῳ ἰητρικῷ, ἄλλω δὲ οὐδενί. Διαιτήμασί τε χρήσομαι ἐπ' ὠφελείῃ καμνόντων κατὰ δύναμιν καὶ κρίσιν ἐμήν, ἐπὶ δηλήσει δὲ καὶ ἀδικίῃ εἴρξειν. Οὐ δώσω δὲ οὐδὲ φάρμακον οὐδενὶ αἰτηθεὶς θανάσιμον, οὐδὲ ὑφηγήσομαι ξυμβουλίην τοιήνδε. Ὁμοίως δὲ οὐδὲ γυναικὶ πεσσὸν φθόριον δώσω. Ἀγνῶς δὲ καὶ ὀσίως διατηρήσω βίον τὸν ἐμὸν καὶ τέχνην τὴν ἐμήν. Οὐ τεμέω δὲ οὐδὲ μὴν λιθιῶντας, ἐκχωρήσω δὲ ἐργάτησιν ἀνδράσι πρήξιος τῆσδε. Ἐς οἰκίας δὲ ὀκόσας ἂν ἐσίω, ἐσελεύσομαι ἐπ' ὠφελείῃ καμνόντων, ἐκτὸς ἐὼν πάσης ἀδικίης ἐκουσίης καὶ φθορίης, τῆς τε ἄλλης καὶ ἀφροδισίων ἔργων ἐπὶ τε γυναικείων σωμάτων καὶ ἀνδρῶν, ἐλευθέρων τε καὶ δούλων. Ἄ δ' ἂν ἐν θεραπείῃ ἢ ἴδω, ἢ ἀκούσω, ἢ καὶ ἄνευ θεραπείης κατὰ βίον ἀνθρώπων, ἃ μὴ χρή ποτε ἐκλαλέεσθαι ἔξω, σιγήσομαι, ἄρρήτα ἠγεύμενος εἶναι τὰ τοιαῦτα. Ὅρκον μὲν οὖν μοι τόνδε ἐπιτελέα ποιέοντι, καὶ μὴ ξυγχέοντι, εἴη ἐπαύρασθαι καὶ βίου καὶ τέχνης δοξαζομένῳ παρὰ πᾶσιν ἀνθρώποις ἐς τὸν αἰεὶ χρόνον. παραβαίνοντι δὲ καὶ ἐπιορκοῦντι, τάναντία τουτέων».

Απόδοση στα Νέα Ελληνικά

«Ορκίζομαι στο θεό Απόλλωνα τον ιατρό και στο θεό Ασκληπιό και στην Υγεία και στην Πανάκεια και επικαλούμενος τη μαρτυρία όλων των θεών ότι θα εκτελέσω κατά τη δύναμη και την κρίση μου τον όρκο αυτόν και τη συμφωνία αυτή. Να θεωρώ τον διδάσκαλό μου της ιατρικής τέχνης ίσο με τους γονείς μου και την κοινωνό του βίου μου. Και όταν χρειάζεται χρήματα να μοιράζομαι μαζί του τα δικά μου. Να θεωρώ την οικογένειά του αδέρφια μου και να τους διδάσκω αυτήν την τέχνη αν θέλουν να την μάθουν χωρίς δίδακτρα ή άλλη συμφωνία. Να μεταδίδω τους κανόνες ηθικής, την προφορική διδασκαλία και όλες τις άλλες ιατρικές γνώσεις στους γιους μου, στους γιους του δασκάλου μου και στους εγγεγραμμένους μαθητές που πήραν τον ιατρικό όρκο, αλλά σε κανέναν άλλο. Θα χρησιμοποιώ τη θεραπεία για να βοηθήσω τους ασθενείς κατά τη δύναμη και την κρίση μου, αλλά ποτέ για να βλάψω ή να αδικήσω. Ούτε θα δίνω θανατηφόρο φάρμακο σε κάποιον που θα μου το ζητήσει, ούτε θα του κάνω μια τέτοια υπόδειξη. Παρομοίως, δεν θα εμπιστευτώ σε έγκυο μέσο που προκαλεί έκτρωση. Θα διατηρώ αγνή και άσπιλη και τη ζωή και την τέχνη μου. Δεν θα χρησιμοποιώ νυστέρι ούτε σε αυτούς που πάσχουν από λιθίαση, αλλά θα παραχωρώ την εργασία αυτή στους ειδικούς της τέχνης. Σε όσα σπίτια πηγαίνω, θα μπαίνω για να βοηθήσω τους ασθενείς και θα απέχω από οποιαδήποτε εσκεμμένη βλάβη και φθορά, και ιδίως από γενετήσιες πράξεις με άνδρες και γυναίκες, ελεύθερους και δούλους. Και όσα τυχόν βλέπω ή ακούω κατά τη διάρκεια της θεραπείας ή και πέρα από τις επαγγελματικές μου ασχολίες στην καθημερινή μου ζωή, αυτά που δεν πρέπει να μαθευτούν παραέξω δεν θα τα κοινοποιώ, θεωρώντας τα θέματα αυτά μυστικά. Αν τηρώ τον όρκο αυτό και δεν τον παραβώ, ας χαίρω πάντοτε υπολήψεως ανάμεσα στους ανθρώπους για τη ζωή και για την τέχνη μου. Αν όμως τον παραβώ και επιορκήσω, ας πάθω τα αντίθετα».

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η εκπόνηση της διδακτορικής αυτής διατριβής πραγματοποιήθηκε στην Α΄ Πανεπιστημιακή Πνευμονολογική Κλινική, Γ.Ν.Ν.Θ.Α. «Η Σωτηρία» και στην Β΄ Πανεπιστημιακή Πνευμονολογική Κλινική Π.Γ.Ν. «Αττικόν», υπό την επίβλεψη των μελών της τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής, κκ. Σπυρίδωνα Παπίρη, Στυλιανού Λουκίδη και Πέτρου Μπακάκου. Τους ευχαριστώ θερμά για τη στήριξη και την πολύτιμη συνεισφορά τους στην προσπάθειά μου. Θέλω να ευχαριστήσω ιδιαίτερώς τους Δασκάλους μου, τους καθηγητές κ. Στυλιανό Λουκίδη και κ. Πέτρο Μπακάκο για την εκπαίδευση που μου παρέχουν αδιάκοπα από τα φοιτητικά μου χρόνια και κυρίως για την καθοδήγησή και την ενθάρρυνση που μου προσφέρουν διαρκώς. Χωρίς τη συμβολή τους δε θα ήταν δυνατή η έναρξη και η ολοκλήρωση της ερευνητικής αυτής προσπάθειας.

Παράλληλα, ευχαριστώ θερμά τον καθήγητη και διευθυντή της Β΄ Πανεπιστημιακής Πνευμονολογικής κ. Σπυρίδωνα Παπίρη, ο οποίος στήριξε την ερευνητική αυτή προσπάθεια.

Επιπλέον θα ήθελα να ευχαριστήσω το συνάδελφο και συνεργάτη Γιώργο Χειλά για τις χρήσιμες συμβουλές του κατά τα πρώτα μου ερευνητικά βήματα, καθώς και τους λοιπούς συνεργάτες Αναστασία Παπαπορφυρίου, και Ελισάβετ Κωνσταντέλλου για τη συνεχή βοήθειά τους.

Ιδιαίτερώς θέλω να ευχαριστήσω τη συνάδελφο Ανδριάνα Παπαϊωάννου, η οποία ως ειδικευμένη της Β΄ Πανεπιστημιακής Πνευμονολογικής Κλινικής του «Αττικού» νοσοκομείου συνεισέφερε σε σημαντικό βαθμό στην καθοδήγηση και ολοκλήρωση της ερευνητικής αυτής εργασίας. Επιπρόσθετα θα ήθελα να ευχαριστήσω τον καθηγητή κ. Κωνσταντίνο Κωστίκα για την πολύτιμη καθοδήγηση που μου παρείχε και τον κ. Γεώργιο Παπαθεοδώρου για τη συνεργασία του και την πολύτιμη συνεισφορά του.

Τέλος, ευχαριστώ την οικογένειά μου και όλους τους συναδέλφους που με βοήθησαν και με στήριξαν όλον αυτό τον καιρό.

ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

ΠΡΩΣΩΠΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

ΕΠΩΝΥΜΟ: **ΝΤΟΝΤΣΗ**
ΟΝΟΜΑ: **ΠΟΛΥΞΕΝΗ**

ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ – ΣΠΟΥΔΕΣ

21/01/2021: Απόκτηση τίτλου ειδικότητας Πνευμονολογίας-Φυματιολογίας.

06/2015: Έναρξη διδακτορικής διατριβής με θέμα: «Φλεγμονώδεις εκπνεόμενοι δείκτες σε ασθενείς με άσθμα και φαινότυποι άσθματος», Ιατρική Σχολή του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών. Τριμελής επιτροπή: Σ. Παπίρης, Σ. Λουκίδης, Π. Μπακάκος.

2008-2014: Ιατρική Σχολή του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών. Απόκτηση πτυχίου Ιατρικής με βαθμό 8,61/10 , «Άριστα».

2008: Απολυτήριο Ενιαίου Λυκείου με γενικό βαθμό «Άριστα»

ΞΕΝΕΣ ΓΛΩΣΣΕΣ

Αγγλικά: Certificate of Proficiency in English, University of Cambridge
Certificate of Proficiency in English, University of Michigan

Γαλλικά: Diplome “Sorbonne 2” avec la mention ‘Bien’, Institut Francais d’ Athenes

Γερμανικά: B2 Sprachdiplom, Goethe Institut

ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ

06/2020-03/2021: Ειδικευόμενη σε παράταση στην 7^η Πνευμονολογική Κλινική του ΓΝΝΘΑ «Η ΣΩΤΗΡΙΑ».

11/2016–05/2020: Ειδικευόμενη Πνευμονολογίας-Φυματιολογίας στην 7^η Πνευμονολογική Κλινική του ΓΝΝΘΑ «Η ΣΩΤΗΡΙΑ».

06/2015-08/2016: Ειδικευόμενη Παθολογίας στην Παθολογική κλινική του Γ.Ν. Πύργου Ηλείας.

01/2015-05/2015: Επιστημονική συνεργάτης στην Β’ Πανεπιστημιακή Πνευμονολογική Κλινική του Π.Γ.Ν. «Αττικόν»

ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΟ – ΣΥΓΓΡΑΦΙΚΟ ΕΡΓΟ

1. Genetics and Epigenetics in Asthma.

Ntontsi P, Photiades A, Zervas E, Xanthou G, Samitas K. *Int J Mol Sci.* 2021 Feb 27;22(5):2412.

2. Advantages and Limitations of the Neonatal Immune System.

Tsafaras GP, Ntontsi P, Xanthou G. *Front Pediatr.* 2020 Jan 28;8:5.

3. Severe asthma: what is new in the new millennium.

Ntontsi P, Samitas K, Zervas E, Gaga M. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2020 Apr;20(2):202-207

4. Experimental and investigational phosphodiesterase inhibitors in development for asthma.

Ntontsi P, Detta A, Bakakos P, Loukides S, Hillas G. *Expert Opin Investig Drugs.* 2019 Mar;28(3):261-266.

5. EBC metabolomics for asthma severity.

Ntontsi P, Ntzoumanika V, Loukides S, Benaki D, Gkikas E, Mikros E, Bakakos P. *J Breath Res.* 2020 Jul 3;14(3):036007.

6. Highlights of thoracic oncology from the 2018 ERS International Congress.

Ntontsi P, Bostantzoglou C, Blum TG. *ERJ Open Res.* 2019 Jun 17;5(2):00222-2018.

7. Targeted anti-IL-13 therapies in asthma: current data and future perspectives.

Ntontsi P, Papathanassiou E, Loukides S, Bakakos P, Hillas G. *Expert Opin Investig Drugs.* 2018 Feb;27(2):179-186.

8. Diagnostic accuracy of T2 biomarkers for the prediction of airway eosinophilia in treated smoking asthmatic patients with loss of asthma control.

Papathanasiou E, Bakakos P, Hillas G, Ntontsi P, Blizou M, Kostikas K, Koulouris N, Papiris S, Loukides S. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2020 Jan;8(1):385-387.e2.

9. Biomarkers Guided Treatment Strategies in Adult Patients with Asthma: Ready for the Clinical Field?

Tsilogianni Z, Ntontsi P, Papaioannou AI, Bakakos P, Loukides S. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz).* 2017 Feb;65(1):1-9.

10. Exhaled breath temperature in optimally treated asthmatics: severity and underlying mechanisms.

Ntontsi P, Bakakos P, Papathanasiou E, Tsilogianni Z, Kostikas K, Hillas G, Papatheodorou G, Koulouris N, Papiris S, Loukides S. *J Breath Res.* 2018 Feb 20;12(2):026013.

11. The association between serum periostin and a type 2 helper airway composite index in optimally treated asthmatics.

Konstantellou E, Loukides S, Ntontsi P, Papathanasiou E, Kostikas K, Papatheodorou G, Hillas G, Papiris S, Koulouris NG, Bakakos P. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2017 Jul-Aug;5(4):1129-1131.

12. Clinical, functional and inflammatory characteristics in patients with paucigranulocytic stable asthma: Comparison with different sputum phenotypes. Ntontsi P, Loukides S, Bakakos P, Kostikas K, Papatheodorou G, Papathanassiou E, Hillas G, Koulouris N, Papiris S, Papaioannou AI. *Allergy*. 2017 Nov;72(11):1761-1767.

13. Predictors of response to therapy with omalizumab in patients with severe allergic asthma - a real life study.

Kallieri M, Papaioannou AI, Papathanassiou E, Ntontsi P, Papiris S, Loukides S. *Postgrad Med*. 2017 Aug;129(6):598-604.

ΔΙΑΚΡΙΣΕΙΣ-ΥΠΟΤΡΟΦΙΕΣ

1. **Πολυξένη Ντόντση**, Βαρβάρα Ντζουμανίκα, Στυλιανός Λουκίδης, Σπυρίδων Παπίρης, Πέτρος Μπακάκος, Ευάγγελος Γκίκας. EBC Metabolomics και βαρύτητα βρογχικού άσθματος. 27ο Πανελλήνιο Πνευμονολογικό Συνέδριο, Αθήνα 2018: Έπαινος καλύτερης εργασίας που παρουσιάστηκε στο συνέδριο για το Βρογχικό άσθμα.

2. **Ντόντση Πολυξένη**. Phenotypic identification of asthmatic patients using NMR and GC-MS based metabonomics of Exhaled Breath Condensate. Βραβείο ερευνητικής υποτροφίας της Ελληνικής Πνευμονολογικής Εταιρείας για το έτος 2016.

3. Καλλιέρη Μ., Παπαιωάννου Α., **Ντόντση Π.**, Παπαθανασίου Ε., Παπίρης Σ., Λουκίδης Σ. Παράγοντες ανταπόκρισης στη θεραπεία με anti-IgE σε ασθενείς με σοβαρό αλλεργικό άσθμα. 25ο Πανελλήνιο Πνευμονολογικό Συνέδριο, Αθήνα 2016: Έπαινος καλύτερης εργασίας που παρουσιάστηκε στο συνέδριο για το Βρογχικό άσθμα.

4. **Ντόντση Πολυξένη**, Λουκίδης Στυλιανός, Μπακάκος Πέτρος, Κωστίκας Κων/νος, Παπαθεοδώρου Γεώργιος, Παπαθανασίου Ευγενεία, Παπαπορφυρίου Αναστασία, Κωνσταντέλου Ελισάβετ, Κουλούρης Νικόλαος, Παπίρης Σπυρίδων, Παπαϊωάννου Ανδριάννα. *Κλινικά, λειτουργικά και φλεγμονώδη χαρακτηριστικά σε ασθενείς με ακοκκιοκυτταρικό άσθμα*. 25ο Πανελλήνιο Πνευμονολογικό Συνέδριο, Αθήνα 2016: 1ο Βραβείο Καλύτερης Προφορικής Ανακοίνωσης που παρουσιάστηκε στο Συνέδριο.

5. **Ντόντση Πολυξένη**, Μπακάκος Πέτρος, Κωστίκας Κωνσταντίνος, Κωνσταντέλλου, Ελισσάβετ, Χειλάς Γεώργιος, Πατενταλάκης Γεώργιος, Αγγελάκης Λεωνίδα, Κουλούρης Νικόλαος, Παπίρης Σπύρος, Λουκίδης Στέλιος. Εκπνεόμενη θερμοκρασία σε ασθενείς με άσθμα: βαρύτητα και υποκείμενοι μηχανισμοί. 24ο Πανελλήνιο Πνευμονολογικό Συνέδριο, Αθήνα 2015: Έπαινος καλύτερης εργασίας που παρουσιάστηκε στο συνέδριο για το Βρογχικό άσθμα.

6. **Ντόντση Πολυξένη**, Μπακάκος Πέτρος, Κουλούρης Νικόλαος, Παπίρης Σπύρος, Montuschi Paolo, Tenori Leonardo, Παπαπορφυρίου Αναστασία, Χειλάς Γεώργιος, Λουκίδης Στέλιος. Φαινοτυπική ταυτοποίηση ασθματικών ασθενών με

τη βοήθεια των metabolomics στο συμπύκνωμα εκπνοής(EBC). 24ο Πανελλήνιο Πνευμονολογικό Συνέδριο, Αθήνα 2015: 1ο Βραβείο Καλύτερης Προφορικής Ανακοίνωσης που παρουσιάστηκε στο Συνέδριο.

ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΕ ΣΥΝΕΔΡΙΑ

Διεθνή Συνέδρια

1. Pinelopi Schoini, Zervas Eleftherios, **Ntontsi Polyxeni**, Apollonatu Vasiliki, Sfika Maria, Mplizou Myrto, Tyligada Ekaterini, Kakolyri Maria, Foukas Periklis, Pouliakis Avraam, Koufopoulos Nektarios, Tsoukalas Georgios, Gaga Mina, Papiris Spyridon, Koulouris Nikolaos, Bakakos Petros, Loukides Stylianos. The role of enterotoxins in severe asthma. Annual Congress of the European Respiratory Society, 2020, e- Poster Session (PA1254).

2. Chrysikos, C. Bostantzoglou, K. Samitas, C. Kontogianni, M. Iliopoulou, **P. Ntontsi**, M. Gaga, E. Zervas. Endobronchial Ultrasound-Guided Transbronchial Needle Aspiration/Biopsy (EBUS-TBNA/B): 5-Year Experience of a Referral Center in Greece. American Thoracic Society 2019 International Conference, May 17-22, 2019 - Dallas, TX.

3. **P. Ntontsi**, S. Loukides, A. Papaioannou, P. Bakakos, G. Hillas, S. Papiris. Exhaled Breath biomarkers and asthma phenotyping. China Young Respiratory Investigators Symposium April 20-22, 2018.

4. **Polyxeni Ntontsi**, Varvara Tzoumanika, Stelios Loukides, Petros Bakakos, Evangelos G. Late Breaking Abstract – Metabolomics in Exhaled Breath Condensate (EBC) of asthmatic patients. Does severity and methodology make the difference? 27th Annual Congress of the European Respiratory Society, 2017, Thematic Poster Discussion (PA1352).

5. **Polyxeni Ntontsi**, Polyxeni Ntontsi, Petros Bakakos, Georgios Papatheodorou, Konstantinos Kostikas, Elissavet Konstantellou, Georgios Hillas, Georgios Patentlakis, Leonidas Angelakis, Nikolaos Koulouris, Spyridon Papiris, Stelios Loukides. Exhaled breath temperature (EBT) in asthmatic patients: Influence of severity and underlying mechanisms. 26th Annual Congress of the European Respiratory Society, 2016, Thematic Poster Discussion (PA1058).

6. **Polyxeni Ntontsi**, Stelios Loukides, Petros Bakakos, Konstantinos Kostikas, Georgios Papatheodorou, Evgenia Ppathanassiou, Anastasia Papaporfyriou, Elissavet Konstantellou, Hillas Georgios, Nikolaos Koulouris, Spyridon Papiris, Andriana Papaioannou. Clinical, functional and inflammatory characteristics in patients with paucigranulocytic asthma. 26th Annual Congress of the European Respiratory Society, 2016, Thematic Poster Discussion (PA4173).

Ελληνικά Συνέδρια

1. **Πολυξένη Ντόντση**, Βαρβάρα Ντζουμανίκα, Στυλιανός Λουκίδης, Σπυρίδων Παπίρης, Πέτρος Μπακάκος, Ευάγγελος Γκίκας. EBC Metabolomics και

βαρύτητα βρογχικού άσθματος. 27ο Πανελλήνιο Πνευμονολογικό Συνέδριο, Αθήνα 2018.Προφορική ανακοίνωση.

2.**Ντόντση Πολυξένη**, Ευγενία Παπαθανασίου, Τσιλογιάννη Ζωή, Λουκίδης Στυλιανός , Πέτρος Μπακάκος, Βαρβάρα Ντζουμανίκα, Ευάγγελος Γκίκας. Μεταβολισμική ανάλυση στο συμπύκνωμα εκπνοής (EBC) σε ασθματικούς ασθενείς: Κάνει τη διαφορά η μεθοδολογία και η βαρυτήτα της νόσου? 26ο Πανελλήνιο Πνευμονολογικό Συνέδριο, Αθήνα 2017.Προφορική ανακοίνωση(EA06).

3.Ευγενία Παπαθανασίου, Στέλιος Λουκίδης, Κωνσταντίνος Κωστίκας, Ζωή Τσιλογιάννη, **Πολυξένη Ντόντση**, Γεώργιος Παπαθεοδώρου , Νικόλαος Κουλούρης, Σπύρος Παπίρης , Πέτρος Μπακάκος , Γεώργιος Χειλάς. Th2 βιοδείκτες ως προβλεπτικοί δείκτες της ηωσινοφιλίας των αεραγωγών σε ασθματικούς καπνιστές υπό θεραπεία: μια μελέτη παρατήρησης. 26ο Πανελλήνιο Πνευμονολογικό Συνέδριο Αθήνα 2017.Προφορική ανακοίνωση(EA01).

4.Καλλιέρη Μ., Παπαιωάννου Α., **Ντόντση Π.**, Παπαθανασίου Ε., Παπίρης Σ., Λουκίδης Σ. Παράγοντες ανταπόκρισης στη θεραπεία με anti-IgE σε ασθενείς με σοβαρό αλλεργικό άσθμα. 25ο Πανελλήνιο Πνευμονολογικό Συνέδριο, Αθήνα 2016.Προφορική ανακοίνωση(EA02).

5.**Ντόντση Πολυξένη**, Λουκίδης Στυλιανός, Μπακάκος Πέτρος, Κωστίκας Κων/νος, Παπαθεοδώρου Γεώργιος, Παπαθανασίου Ευγενεία, Παπαπορφυρίου Αναστασία, Κωνσταντέλου Ελισάβετ, Κουλούρης Νικόλαος, Παπίρης Σπυρίδων, Παπαϊωάννου Ανδριάνα. *Κλινικά, λειτουργικά και φλεγμονώδη χαρακτηριστικά σε ασθενείς με ακοκκιοκυτταρικό άσθμα.* 25ο Πανελλήνιο Πνευμονολογικό Συνέδριο, Αθήνα 2016.Προφορική ανακοίνωση(EA01).

6.Κωνσταντέλου Ελισσάβετ, Λουκίδης Στυλιανός, Κωστίκας Κωνσταντίνος, **Ντόντση Ξένια**, Τσιλογιάννη Ζωή, Παπαθανασίου Ευγενία-Τζένη , Παπαπορφυρίου Αναστασία, Παπαθεοδώρου Γεώργιος, Παπίρης Σπυρίδων, Κουλούρης Νικόλαος, Μπακάκος Πέτρος. Η περιοστίτη προβλέπει την έκφραση Th2 απάντησης στους αεραγωγούς ασθματικών.25ο Πανελλήνιο Πνευμονολογικό Συνέδριο, Αθήνα 2016.Προφορική ανακοίνωση (EA03).

7.Τσέλιου Ε., Μίξη Ε., **Ντόντση Ξ.**, Παπαθανασίου Ε., Μπακάκος Π., Λουκίδης Σ., Χειλάς Γ. Ψυχοκοινωνικά χαρακτηριστικά και ο ρόλος τους στον έλεγχο του βρογχικού άσθματος. 25ο Πανελλήνιο Πνευμονολογικό Συνέδριο, Αθήνα 2016.Προφορική ανακοίνωση (EA05).

8.**Ντόντση Πολυξένη**, Μπακάκος Πέτρος, Κωστίκας Κωνσταντίνος, Κωνσταντέλλου, Ελισσάβετ, Χειλάς Γεώργιος, Πατενταλάκης Γεώργιος, Αγγελάκης Λεωνίδα, Κουλούρης Νικόλαος, Παπίρης Σπύρος, Λουκίδης Στέλιος. Εκπνεόμενη θερμοκρασία σε ασθενείς με άσθμα: βαρύτητα και υποκείμενοι μηχανισμοί. 24ο Πανελλήνιο Πνευμονολογικό Συνέδριο, Αθήνα 2015.Προφορική ανακοίνωση(EA002).

9.**Ντόντση Πολυξένη**, Μπακάκος Πέτρος, Κουλούρης Νικόλαος, Παπίρης Σπύρος, Montuschi Paolo, Tenori Leonardo, Παπαπορφυρίου Αναστασία, Χειλάς Γεώργιος, Λουκίδης Στέλιος. Φαινοτυπική ταυτοποίηση ασθματικών ασθενών με

τη βοήθεια των metabolomics στο συμπύκνωμα εκπνοής(EBC). 24ο Πανελλήνιο Πνευμονολογικό Συνέδριο, Αθήνα 2015.Προφορική ανακοίνωση(EA005).

10. Κωνσταντέλου Ε., Λουκίδης Σ., Κωστίκας Κ., **Ντόντση Π.**, Τσιλογιάννη Ζ., Παπαπορφυρίου Α., Παπαθεοδώρου Γ., Παπίρης Σ., Κουλούρης Ν., Μπακάκος Π. Ο ρόλος της περιοστίνης σε ασθενείς με βρογχικό άσθμα. 23^ο Πανελλήνιο Πνευμονολογικό Συνέδριο, Αθήνα 2014. Προφορική ανακοίνωση (ΠΑ 39).

11.**Ντόντση Πολυξένη**, Μπακάκος Πέτρος, Χειλάς Γεώργιος, Κωστίκας Κωνσταντίνος, Παπαπορφυρίου Αναστασία, Κωνσταντέλλου Ελισάβετ, Κουλούρης Νικόλαος, Παπίρης Σπύρος, Λουκίδης Στέλιος. Μέτρηση της εκπνεόμενης θεροκρασίας σε ασθενείς με άσθμα: Δείκτης βαρύτητας και ηωσινοφιλικής φλεγμονής?[πρόδρομη ανακοίνωση]. 23^ο Πανελλήνιο Πνευμονολογικό Συνέδριο, Αθήνα 2014. Προφορική ανακοίνωση (ΠΑ 38).

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΕΣ ΕΤΑΙΡΕΙΕΣ

Μέλος: Ιατρικού Συλλόγου Αθηνών

European Respiratory Society

Ελληνικής Πνευμονολογικής Εταιρείας

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Ενότητες	Σελίδα
1. Πρόλογος	23
2. Περιλήψεις	25
2.1 Ελληνικές περιλήψεις	
2.1.1.Θερμοκρασία Εκπνεόμενου Αέρα σε ασθενείς που λαμβάνουν βέλτιστη θεραπευτική αγωγή: Σοβαρότητα και υποκείμενοι μηχανισμοί.	
2.1.2. Μεταβολισμική ανάλυση του συμπυκνώματος εκπνοής(EBC) για τη βαρύτητα του άσθματος	
2.1.3. Κλινικά, λειτουργικά και φλεγμονώδη χαρακτηριστικά σε ασθενείς με ακοκκιοκυτταρικό άσθμα: Σύγκριση με διάφορους φαινοτύπους στα πτύελα	
2.2 Αγγλικές περιλήψεις	
2.2.1. Exhaled breath temperature in optimally treated asthmatics: severity and underlying mechanisms.	
2.2.2. EBC metabolomics for asthma severity.	
2.2.3.Clinical, functional and inflammatory characteristics in patients with paucigranulocytic stable asthma: Comparison with different sputum phenotypes.	
Γενικό μέρος	
3. Βρογχικό Άσθμα	85
3.1 Ορισμός	85
3.2 Επιδημιολογία	86
3.3 Παράγοντες που επηρεάζουν το άσθμα	88
3.3.1 Ενδογενείς Παράγοντες	88
3.3.2 Εξωγενείς παράγοντες	90
3.4 Παθογένεια- Παθοφυσιολογία του βρογχικού άσθματος	94
3.4.1 Φλεγμονώδη κύτταρα και μεσολαβητές της φλεγμονής	95
3.4.2 Δομικές αλλαγές των αεραγωγών	104
3.5 Διάγνωση της νόσου	108
3.5.1 Κλινική εικόνα- Φυσική εξέταση	108
3.5.2 Λειτουργικός – Εργαστηριακός έλεγχος	110
Διάγνωση βρογχικού άσθματος σε ειδικές περιπτώσεις	119
3.6 Αξιολόγηση του άσθματος	122
3.6.1 Έλεγχος του άσθματος	122
3.6.2. Ο λειτουργικός έλεγχος αναπνευστικού στην αξιολόγηση	

του ελέγχου του άσθματος	125
3.6.3 Αξιολόγηση της βαρύτητας της νόσου	127
3.7 Διαφορική διάγνωση	128
3.8 Θεραπεία άσθματος	129
3.8.1 Φαρμακευτική Αντιμετώπιση	130
3.8.2 Έναρξη αγωγής- Θεραπευτικά Βήματα	136
3.8.3 Ειδικές περιπτώσεις	140
3.8.4 Μη Φαρμακευτική Αντιμετώπιση	146
3.9 Παροξύνσεις Άσθματος	150
3.9.1 Ορισμός παρόξυνσης	150
3.9.2 Παράγοντες κινδύνου για δυνητικά θανατηφόρο άσθμα	150
3.9.3 Διαγνωστική προσέγγιση	151
3.9.4 Θεραπεία	153
3.10 Φαινότυποι βρογχικού άσθματος	155
3.11. Προκλητά πτύελα και κυτταρικοί φαινότυποι	171
4. Εκπνεόμενοι φλεγμονώδεις δείκτες	
4.1 Θερμοκρασία εκπνεόμενου αέρα (EBT)	
4.2 Συμπύκνωμα εκπνοής (EBC)	
4.2.1. Μεταβολομική ανάλυση στο EBC	
4.3 IL-13, IL-8 και ECP στο υπερκείμενο των πτυέλων	

Παράρτημα γενικού μέρους 173

Ειδικό μέρος 187

A. Θερμοκρασία Εκπνεόμενου Αέρα σε ασθενείς που λαμβάνουν βέλτιστη θεραπευτική αγωγή: Βαρύτητα και υποκείμενοι μηχανισμοί	189
1. Εισαγωγή	189
2. Σκοπός	190
3. Υλικά και μέθοδοι	191
3.1 Συμμετέχοντες	191
3.2 Αξιολόγηση του Ελέγχου Άσθματος	
3.3 Πρόκληση πτυέλων	
3.4. Πνευμονική Λειτουργία	
3.5. Μετρήσεις FeNO	
3.6. Παρουσία Ατοπίας	
3.7. Μέτρηση EBT	
3.8. Δοκιμασία μεσολαβητών	
3.9. Σχεδιασμός μελέτης	

- 3.10. Στατιστική ανάλυση
- 4. Αποτελέσματα
 - 4.1. Η EBT σύμφωνα με την υποκείμενη βαρύτητα
 - 4.2. Ανάλυση παλινδρόμησης
 - 4.3. Ανάλυση ROC
- 5. Συζήτηση

B. Μεταβολομική ανάλυση του EBC και βαρύτητα του άσθματος

- 1. Εισαγωγή
- 2. Σκοπός
- 3. Μέθοδοι
 - 3.1. Σχεδιασμός Μελέτης
 - 3.2. Αξιολόγηση σοβαρού άσθματος
 - 3.3. Συλλογή EBC
 - 3.4. Προετοιμασία δειγμάτων σε UHPLC-MS
 - 3.5. Προετοιμασία δειγμάτων NMR — φασματικές παράμετροι
- 4. Αποτελέσματα
 - 4.1. Συμμετέχοντες
 - 4.2. Χημειομετρική Ανάλυση των δεδομένων UHPLC- MS
 - 4.3. Χημειομετρική ανάλυση των δεδομένων NMR
- 5. Συζήτηση

Γ. Κλινικά, λειτουργικά και φλεγμονώδη χαρακτηριστικά σε ασθενείς με ακοκκιοκυτταρικό άσθμα

- 1. Εισαγωγή
- 2. Σκοπός
- 3. Μέθοδοι
 - 3.1. Σχεδιασμός μελέτης
 - 3.2. Μέτρηση Πνευμονικής Λειτουργίας, Ατοπίας και εκπνεόμενου Μονοξειδίου του Αζώτου
 - 3.3. Πρόκληση πτυέλων και επεξεργασία

3.4.Καθορισμός των φαινοτύπων του άσθματος βάσει του κυτταρικού πληθυσμού/αριθμού των κυττάρων των πτυέλων

3.5.Μέτρηση βιολογικών δεικτών στα προκλητά πτύελα

3.6.Αξιολόγηση ελέγχου Άσθματος και Σοβαρού Ανθεκτικού στη Θεραπεία Άσθματος

3.7.Στατιστική ανάλυση

4.Αποτελέσματα

4.1.Πνευμονική λειτουργία, βαρύτητα άσθματος και ανάγκες θεραπείας

4.2.Φλεγμονώδεις βιολογικοί δείκτες στους τέσσερις φαινοτύπους άσθματος

5.Συζήτηση

Παράρτημα ειδικού μέρους 209

A Θερμοκρασία Εκπνεόμενου Αέρα σε ασθενείς που λαμβάνουν βέλτιστη θεραπευτική αγωγή: Βαρύτητα και υποκείμενοι μηχανισμοί 209

B Μεταβολομική ανάλυση του EBC και βαρύτητα του άσθματος

Γ. Κλινικά, λειτουργικά και φλεγμονώδη χαρακτηριστικά σε ασθενείς με ακοκκιοκυτταρικό άσθμα 213

Βιβλιογραφία 215

1. ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Τα αποφρακτικά νοσήματα του αναπνευστικού συστήματος συνιστούν μία από τις πλέον σημαντικές και συχνές κατηγορίες παθήσεων της Πνευμονολογίας σήμερα. Η διαχείριση του βρογχικού άσθματος, ενός από τα βασικά νοσήματα της κατηγορίας αυτής, αποτελεί στοιχείο της καθημερινότητας του κλινικού ιατρού τόσο σε επίπεδο νοσοκομειακού περιβάλλοντος, όσο και σε επίπεδο εξωτερικού ιατρείου.

Το βρογχικό άσθμα αποτελεί μια χρόνια νόσο των αεραγωγών που χαρακτηρίζεται συνήθως από χρόνια φλεγμονή, εμφανίζει σημαντική ετερογένεια και αφορά στο 7-10 % του γενικού πληθυσμού σε διάφορες χώρες. Χαρακτηρίζεται από ιστορικό συμπτωμάτων όπως η συρίττουσα αναπνοή, η δύσπνοια, το συσφυκτικό αίσθημα στο στήθος και ο βήχας, που κυμαίνονται σε ένταση και συχνότητα εμφάνισης και συνοδεύονται από ποικίλης βαρύτητας απόφραξη της ροής αέρα στους αεραγωγούς, αρχικά μεταβαλλόμενη και εν συνεχεία ακόμα και μόνιμη. Αν και στον ανεπτυγμένο κόσμο έχει παρατηρηθεί μείωση στη συχνότητα των νοσηλειών και των θανάτων από παρόξυνση άσθματος, η νόσος συνεχίζει να επιφέρει σημαντικό οικονομικό και κοινωνικό κόστος παγκοσμίως.

Η φλεγμονή των αεραγωγών στο άσθμα είναι ένα απ' τα βασικότερα παθογενετικά χαρακτηριστικά της νόσου. Εκτός όμως από τη χρόνια φλεγμονώδη απάντηση, αναπτύσσονται και χαρακτηριστικές δομικές αλλαγές που συνολικά περιγράφονται ως αναδιαμόρφωση των αεραγωγών (airway remodeling). Η χρόνια φλεγμονή των αεραγωγών και η αναδιαμόρφωσή τους συνυπάρχουν με διαταραχές της πνευμονικής λειτουργίας όπως η βρογχική υπεραντιδραστικότητα και η στένωση των αεραγωγών. Η ακριβής συσχέτιση ανάμεσα στη βρογχική υπεραντιδραστικότητα, τη φλεγμονώδη απάντηση, την αναδιαμόρφωση των αεραγωγών και τη βαρύτητα του άσθματος είναι περίπλοκη και όχι επακριβώς διευκρινισμένη. Φαίνεται ότι, παρότι το βρογχικό άσθμα αποτελεί μια από τις πιο κοινές χρόνιες παθήσεις του αναπνευστικού συστήματος, οι γνώσεις μας γύρω από τους παθογενετικούς μηχανισμούς της νόσου δεν είναι πλήρεις. Τα τελευταία χρόνια υπάρχει έντονο ερευνητικό ενδιαφέρον για την φαινοτύπηση των ασθενών και την ανακάλυψη ενδοτύπων που θα οδηγήσουν σε μια πιο στοχευμένη θεραπευτική αντιμετώπιση. Βάσει μετρήσεων των κυτταρικών πληθυσμών σε

προκλητά πτύελα διακρίνονται τέσσερις διαφορετικοί φαινότυποι άσθματος (ηωσινοφιλικό, ουδετεροφιλικό, μικτό και ακοκκιοκυταρικό). Η θερμοκρασία εκπνεόμενου αέρα (EBT) αντανακλά την απώλεια θερμότητας στους αεραγωγούς και προτείνεται ως μια μη επεμβατική μέθοδος για την αναγνώριση φλεγμονωδών διεργασιών στους αεραγωγούς λόγω της αυξημένης ροής αίματος εντός των αεραγωγών ή/και της νεοαγγείωσης. Η (EBT) εμπλέκεται σε πολλές νόσους των αεραγωγών συμπεριλαμβανομένου και του άσθματος.

Το Συμπύκνωμα Εκπνεόμενου Αέρα (EBC) είναι ένα ευχερώς προσπελάσιμο βιολογικό υγρό που συλλέγεται απευθείας από τον βλεννογόνο της αναπνευστικής οδού με μη επεμβατική μέθοδο.

Ο βασικός στόχος της παρούσας μελέτης ήταν να πραγματοποιηθεί ακριβής φαινοτύπηση των ασθματικών ασθενών και να συσχετισθεί η βαρύτητα της νόσου με βάση πιθανούς εκπνεόμενους φλεγμονώδεις δείκτες όπως η EBT, οι μεταβολίτες στο EBC και οι κυτταροκίνες στο υπερκείμενο των πτυέλων.

Συγκεκριμένα, ερευνήθηκε εάν η EBT επηρεάζεται από την υποκείμενη βαρύτητα σε ασθενείς με άσθμα και εάν οι μηχανισμοί που εμπλέκονται στην αγγείωση των αεραγωγών πυροδοτούν την ανωτέρω διαδικασία. Επίσης, έγινε προσπάθεια διαχωρισμού του σοβαρού από το ήπιο-μέτριο άσθμα με την μεταβολισμική ανάλυση στο συμπύκνωμα εκπνοής(EBC) και ταυτοποίησης των λειτουργικών και κλινικών χαρακτηριστικών του ακοκκιοκυτταρικού άσθματος σε σύγκριση με τους υπόλοιπους κυτταρικούς φαινοτύπους με βάση το εκπνεόμενο μονοξείδιο του αζώτου (FeNO) και τα επίπεδα των κυτταροκινών ECP,IL-8,IL-13 στο υπερκείμενο των προκλητών πτυέλων.

2. ΠΕΡΙΛΗΨΕΙΣ

2.1 Ελληνικές περιλήψεις

2.1.1.Θερμοκρασία Εκπνεόμενου Αέρα σε ασθενείς που λαμβάνουν βέλτιστη θεραπευτική αγωγή: Βαρύτητα και υποκείμενοι μηχανισμοί.

Εισαγωγή: Αυξημένη αγγείωση ενδέχεται να προκαλέσει απώλεια θερμότητας στους αεραγωγούς και ενδέχεται να τροποποιήσει την Θερμοκρασία Εκπνεόμενου Αέρα (EBT). Η αυξημένη (EBT) πιθανά σχετίζεται με μη ελεγχόμενο άσθμα.

Σκοπός: Θέλουμε να προσδιορίσουμε εάν η μέτρηση της EBT σε ασθματικούς ασθενείς που λαμβάνουν τη βέλτιστη θεραπευτική αγωγή επηρεάζεται από την αυξημένη αγγειακή διαπερατότητα και εάν εμπλέκεται ο Αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας (VEGF) στην ανωτέρω διαδικασία. Επιπλέον, θέλουμε να αξιολογήσουμε την επίδραση της βαρύτητας του άσθματος στις τιμές EBT. Αξιολογήθηκε επίσης η διαγνωστική ικανότητα της EBT για την αναγνώριση του προφίλ της φλεγμονής στα προκλητά πτύελα.

Μέθοδοι: Μελετήθηκαν 88 σταθεροί ασθματικοί ασθενείς που ελάμβαναν βέλτιστη θεραπεία για τουλάχιστον 6 μήνες (46 με Σοβαρό Ανθιστάμενο στη Θεραπεία Άσθμα, SRA). Η EBT μετρήθηκε με το συσκευή Xhalo. Όλοι οι ασθενείς υποβλήθηκαν σε σπιρομέτρηση, πρόκληση πτυέλων για τη μέτρηση του ποσοστού % φλεγμονωδών κυττάρων και για την αξιολόγηση τόσο του VEGF όσο και της αλβουμίνης στο υπερκείμενο των πτυέλων. Ο δείκτης/τιμή της αγγειακής διαπερατότητας στους αεραγωγούς (AVP) υπολογίστηκε ως η αναλογία συγκεντρώσεων αλβουμίνης στα προκλητά πτύελα και στον ορό.

Αποτελέσματα: η EBT (°C) ήταν σημαντικά υψηλότερη σε ασθενείς με SRA σε σύγκριση με τους πάσχοντες από ήπιο έως μέτριο άσθμα [διάμεσος IQR 34.2 [32.4-34.6] έναντι 31.8 [26.3-34.1], $p=0.001$]. Η EBT σχετιζόταν σε μεγάλο βαθμό με τα επίπεδα VEGF στο υπερκείμενο των προκλητών πτυέλων, ενώ το σοβαρό άσθμα αναγνωρίστηκε ως σημαντική συμμεταβλητή. Δεν παρατηρήθηκαν άλλες σημαντικές συσχετίσεις. Τέλος, στην ανάλυση ROC η διαγνωστική απόδοση του EBT για το αμιγές ηωσινοφιλικό ή/και το ουδετεροφιλικό προφίλ δεν ξεπέρασε το όριο της στατιστικής σημαντικότητας.

Συμπέρασμα: η EBT αυξάνεται στο σοβαρό άσθμα και τροποποιείται σε σημαντικό βαθμό από τα επίπεδα VEGF. Παρά τα ανωτέρω αποτελέσματα η απόδοσή της για την πρόβλεψη κυτταρικών προφίλ έχει περιορισμένη αξία.

2.1.2.Μεταβολομική ανάλυση του συμπυκνώματος εκπνοής (EBC) για τη βαρύτητα του άσθματος

Το άσθμα είναι μια ετερογενής νόσος ποικίλης βαρύτητας και προκαλεί σημαντική επιβάρυνση σε κοινωνικο-οικονομικό επίπεδο. Το Συμπύκνωμα Εκπνεόμενου Αέρα (EBC) είναι ένα βιολογικό υγρό που συλλέγεται απευθείας από τον βλεννογόνο της αναπνευστικής οδού με μη επεμβατική μέθοδο. Σκοπός της μελέτης είναι να διαχωρίσουμε το σοβαρό από το ήπιο-μέτριο άσθμα με τη χρήση της μεταβολομικής, βασισμένης τόσο στην τεχνική φασματοσκοπίας Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR) όσο και στην υψηλής απόδοσης υγρής χρωματογραφίας-φασματομετρίας μάζας (UHPLC-MS). Συμμετείχαν 36 ασθενείς σε αυτήν τη μελέτη (15 ασθενείς με σοβαρό και 21 με ήπιο-έως-μέτριο άσθμα). Το EBC συλλέχθηκε και αναλύθηκε με τη χρήση τόσο της τεχνικής NMR όσο και της UHPLC-MS για πιθανούς μεταβολίτες. Η ανάλυση των δεδομένων UHPLC-MS με τη χρήση PLS and oPLS δεν εντόπισε κανένα μεταβολίτη επαρκή για τον διαχωρισμό της βαρύτητας του άσθματος. Ωστόσο, όταν χρησιμοποιήθηκε ένα διαφορετικό PLS-μοντέλο παλινδρόμησης εντοπίστηκαν πέντε μεταβολίτες που διαχώρισαν το σοβαρό από το ήπιο-έως-μέτριο άσθμα. Το αμινοξύ λυσίνη ήταν ο μόνος μεταβολίτης που διαχώριζε τις δύο ομάδες μελέτης με την χρήση δεδομένων NMR ($p = 0.04$, έλεγχος t μιας μεταβλητής t -test με διόρθωση Welch's, AUC 0.66). Το EBC είναι ένα ευχερώς προσπελάσιμο βιολογικό υλικό που αντιπροσωπεύει άμεσα τους κατώτερους αεραγωγούς αλλά είναι δύσχρηστο στην μεταβολομική ανάλυση. Η μελέτη μας παρουσιάζει μερικά ενθαρρυντικά ευρήματα για τον διαχωρισμό του άσθματος σε υποομάδες βαρύτητας με την χρήση της μεταβολομικής στο EBC αλλά απαιτείται η διεξαγωγή περισσότερων και καλύτερα σχεδιασμένων μελετών, με τη συμμετοχή περισσότερων ασθενών.

2.1.3. Κλινικά, λειτουργικά και φλεγμονώδη χαρακτηριστικά σε ασθενείς με ακοκκιοκυτταρικό άσθμα: Σύγκριση με διάφορους φαινότυπους στα πτύελα.

Εισαγωγή: Βάσει μετρήσεων των κυτταρικών πληθυσμών σε προκλητά πτύελα διακρίνονται τέσσερις διαφορετικοί φαινότυποι άσθματος (ηωσινοφιλικό, ουδετεροφιλικό, μικτό και ακοκκιοκυτταρικό). Σκοπός της παρούσης μελέτης είναι ο εντοπισμός των λειτουργικών και φλεγμονωδών χαρακτηριστικών των ασθενών με ακοκκιοκυτταρικό άσθμα.

Μέθοδοι: 240 ασθενείς ταξινομήθηκαν στους τέσσερις φαινότυπους, βάσει μετρήσεων των κυτταρικών πληθυσμών στα προκλητά πτύελα. Όλοι οι ασθενείς υποβλήθηκαν σε έλεγχο πνευμονικής λειτουργίας και μετρήσεις του εκπνεόμενου μονοξειδίου του αζώτου (FeNO). Επιπλέον, διεξήχθησαν μετρήσεις των επιπέδων της ιντερλευκίνης 8 (IL-8), της ιντερλευκίνης 13 (IL-13) και της ηωσινοφιλικής κατιονικής πρωτεΐνης (ECP) στο υπερκείμενο των πτυέλων. Επίσης καταγράφηκαν η θεραπεία, ο έλεγχος άσθματος και η παρουσία Σοβαρού Ανθεκτικού στη Θεραπεία Άσθματος (SRA).

Αποτελέσματα: Οι ασθενείς εντάχθηκαν στους τέσσερις φαινότυπους ως ακολούθως: ηωσινοφιλικός (40%), μικτός (6.7 %), ουδετεροφιλικός (5.4%) και ακοκκιοκυτταρικός (47.9%). Αν και τα Τεστ Ελέγχου του Άσθματος (ACT) δεν εμφάνισαν διαφορές μεταξύ των ομάδων, οι ασθενείς με ακοκκιοκυτταρικό άσθμα παρουσίασαν καλύτερη πνευμονική λειτουργία (FEV1%pred) (διάμεσος (IQR):71.5(59.0-88.75) έναντι 69.0(59.0-77.6) έναντι 68.0(60.0-85.5) έναντι 80.5(69.7-95.0), $p=0.009$] για το ηωσινοφιλικό, μικτό, ουδετεροφιλικό και ακοκκιοκυτταρικό άσθμα αντίστοιχα, $p=0.009$). Παρατηρήθηκαν περισσότερες περιπτώσεις Σοβαρού Ανθεκτικού στη Θεραπεία Άσθματος (SRA) στον ηωσινοφιλικό και στο μικτό φαινότυπο (41.6% και 43.7% αντίστοιχως) και λιγότερες στον ουδετεροφιλικό και ακοκκιοκυτταρικό (25% και 21.7% αντίστοιχα, $p=0.01$). Όλα τα επίπεδα FeNO, ECP και IL-8 ήταν χαμηλά στο ακοκκιοκυτταρικό και όπως αναμενόταν τα επίπεδα FeNO και ECP ήταν υψηλότερα στο ηωσινοφιλικό και μικτό άσθμα, ενώ τα επίπεδα IL-8 ήταν αυξημένα σε ασθενείς με ουδετεροφιλικό και μικτό

άσθμα ($p < 0.001$ σε όλες τις συγκρίσεις). Είναι αξιοσημείωτο πως 14.8% των ασθενών με ακοκκιοκυτταρικό άσθμα παρουσίασαν φτωχό έλεγχο του άσθματος.

Συμπέρασμα: Το ακοκκιοκυτταρικό άσθμα αποτελεί πιθανότατα έναν «καλοήθη» φαινότυπο άσθματος, με καλή ανταπόκριση σε θεραπεία και όχι έναν «πραγματικό» φαινότυπο άσθματος. Ωστόσο, οι ακοκκιοκυτταρικοί ασθενείς των οποίων η κατάσταση παραμένει μη ελεγχόμενη παρά τη βέλτιστη θεραπεία αποτελούν μια ομάδα ασθματικών που χρήζει περαιτέρω μελέτης για ενδεχόμενες καινοτόμες εστιασμένες παρεμβάσεις.

2.2 Αγγλικές Περιλήψεις

2.2.1. Exhaled breath temperature in optimally treated asthmatics: severity and underlying mechanisms.

Introduction: Increased vascularity may lead to loss of heat in the airways and may modulate Exhaled breath temperature (EBT). Increased EBT has been associated with uncontrolled asthma. Aim: We wanted to determine whether the measurement of EBT in optimally treated asthmatic patients is influenced by the increased vascular permeability and whether Vascular endothelial growth factor (VEGF) is implicated in the above process. Furthermore, to assess the impact of asthma severity on EBT values. The diagnostic performance of EBT for the identification of inflammatory profiles in induced sputum was also assessed.

Methods: 88 stable asthmatic patients optimally treated for at least 6 months were studied (46 with Severe Refractory Asthma, SRA). EBT was measured with the Xhalo device. All patients underwent spirometry, sputum induction for the measurement of % inflammatory cells and for the assessment of both VEGF and albumin in sputum supernatant. The airway vascular permeability (AVP) index was calculated as the ratio of albumin concentrations in induced sputum and serum.

Results: EBT (0C) was significantly higher in patients with SRA compared to those with mild to moderate asthma [median IQR 34.2 [32.4-34.6] vs 31.8 [26.3-34.1], $p=0.001$]. EBT was significantly associated with VEGF levels in sputum supernatant, while SRA was recognized as a significant co-variate. No other significant associations were observed. Finally, in ROC analysis, the diagnostic

performance of EBT for the pure eosinophilic or/and neutrophilic profile did not reach statistical significance.

Conclusion: EBT is increasing in severe asthma and is significantly modulated by VEGF levels. Despite the above results its performance for predicting cellular profiles is of limited value.

2.2.2.EBC metabolomics for asthma severity.

Asthma is a heterogeneous disease with diverse severity and represents a considerable socio-economic burden. Exhaled Breath Condensate (EBC) is a biofluid directly obtained from the airway lining fluid non-invasively. We attempted to discriminate severe from mild-to-moderate asthma using EBC metabolomics based on both NMR and UHPLC-MS techniques. 36 patients were included in this study (15 patients with severe and 21 with mild-to-moderate asthma). EBC was collected and analyzed using both NMR and UHPLC-MS techniques for possible metabolites. Using PLS and oPLS analysis for the UHPLC-MS data, no metabolite was found to be sufficient for the discrimination of asthma severity. However, when another PLS-regression model was applied five metabolites were found to discriminate severe from mild-to-moderate asthma. Amino-acid lysine was the only metabolite that discriminated the two study groups using NMR data ($p = 0.04$, t-test with Welch's correction, AUC 0.66). EBC is an easily available biofluid which directly represents the lower airways but difficult-to-use for metabolomic analysis. Our study presents some encouraging findings for the discrimination of asthma severity subgroups using EBC metabolomics but more well-designed studies with a higher number of patients need to be conducted.

2.2.3.Clinical, functional and inflammatory characteristics in patients with pauci-granulocytic stable asthma: comparison with different sputum phenotypes.

Background: According to induced sputum cell count, four different asthma phenotypes have been recognised (eosinophilic, neutrophilic, mixed and pauci-granulocytic). The aim of the present study was to detect functional and inflammatory characteristics of patients with pauci-granulocytic asthma.

Methods: 240 asthmatic patients were categorised in the four phenotypes according to cell counts in induced sputum. All patients underwent pulmonary function tests, and measurement of FeNO. The levels of IL-8, IL-13, and ECP were also measured in sputum supernatant. Treatment, asthma control and the presence of Severe Refractory Asthma(SRA) were also recorded.

Results: Patients were categorized in the four phenotypes as follows: eosinophilic (40%), mixed (6.7%), neutrophilic (5.4%) and pauci-granulocytic (47.9%). Although ACT did not differ between groups ($p=0.288$) patients with pauci-granulocytic asthma had better lung function (FEV1%pred) (median (IQR):71.5(59.0-88.75) vs 69.0(59.0-77.6) vs 68.0(60.0-85.5) vs 80.5(69.7-95.0), $p=0.009$] for eosinophilic, mixed, neutrophilic and pauci-granulocytic asthma respectively, $p=0.009$). SRA occurred more frequently in the eosinophilic and mixed phenotype (41.6% and 43.7% respectively) and less frequently in the neutrophilic and pauci-granulocytic phenotype (25% and 21.7% respectively, $p=0.01$). FeNO, ECP and IL-8 were all low in the pauci-granulocytic, whereas as expected FeNO and ECP were higher in eosinophilic and mixed asthma, while IL-8 was increased in patients with neutrophilic and mixed asthma($p<0.001$ for all comparisons). Interestingly, 14.8% of patients with pauci-granulocytic asthma had poor asthma control.

Conclusion: Pauci-granulocytic asthma most likely represents a “benign” asthma phenotype, related to a good response to treatment, rather than a “true” phenotype of asthma. However, pauci-granulocytic patients that remain not-well-controlled despite optimal treatment represent an asthmatic population that requires further study for potential novel targeted interventions.

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

3. ΒΡΟΓΧΙΚΟ ΑΣΘΜΑ

3.1 Ορισμός

Το βρογχικό άσθμα αποτελεί, σύμφωνα με τη GINA (Global Initiative for Asthma), μία ετερογενή νόσο που χαρακτηρίζεται συνήθως από χρόνια φλεγμονή των αεραγωγών. Η νόσος καθορίζεται από το συμβατό ιστορικό συμπτωμάτων όπως η συρίττουσα αναπνοή, η δύσπνοια, το συσφικτικό αίσθημα στο στήθος και ο βήχας, τα οποία ποικίλλουν στο χρόνο και στην ένταση που εμφανίζονται, σε συνδυασμό με την παρουσία μεταβαλλόμενου περιορισμού της ροής του εκπνεόμενου αέρα [1]. Αυτή η μεταβλητότητα των συμπτωμάτων και του περιορισμού της ροής του εκπνεόμενου αέρα σχετίζεται συχνά με εκλυτικούς παράγοντες, όπως η άσκηση, η έκθεση σε αλλεργιογόνα, η αλλαγή των καιρικών συνθηκών ή η παρουσία ιογενούς λοίμωξης του αναπνευστικού. Τα συμπτώματα των ασθενών και ο περιορισμός της ροής του εκπνεόμενου αέρα μπορεί να υποχωρούν αυτομάτως ή ως απάντηση σε θεραπεία και μπορούν να εκλείπουν για εβδομάδες ή και μήνες κατά την πάροδο του χρόνου, αλλά οι ασθενείς μπορεί να βιώνουν και παροξύνσεις της νόσου ενδεχομένως απειλητικές και για τη ζωή τους (status asthmaticus). Το βρογχικό άσθμα συνήθως σχετίζεται με χρόνια φλεγμονή των αεραγωγών και υπεραντιδραστικότητα αυτών σε άμεσα και έμμεσα ερεθίσματα. Αυτά τα χαρακτηριστικά της νόσου εξακολουθούν να υφίστανται ακόμη και σε απουσία συμπτωμάτων ή/και με φυσιολογική πνευμονική λειτουργία, αλλά πιθανώς παρουσιάζουν ύφεση με την κατάλληλη θεραπεία.

3.2 Επιδημιολογία

Σύμφωνα με τα στοιχεία του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (World Health Organisation, WHO) τουλάχιστον 330 εκατομμύρια άνθρωποι παγκοσμίως πάσχουν από άσθμα και υπολογίζεται ότι μέχρι το 2025 θα προστεθούν άλλοι 100 εκατομμύρια ασθενείς [4, 5]. Ο επιπολασμός του άσθματος στην Ευρωπαϊκή Ένωση υπολογίζεται σε 8,2% για τους ενήλικες και σε 9,4% για τα παιδιά [2]. Αντίστοιχα στοιχεία για τις Η.Π.Α. εκτιμούν αυξανόμενο επιπολασμό της νόσου (7,1% κατά τα έτη 2001-2002 και 9,2% κατά τα έτη 2013-2014) [3]. Ο ετήσιος αριθμός θανάτων λόγω βρογχικού άσθματος υπολογίζεται παγκοσμίως στους 400.000.

Περισσότερα δεδομένα για τον επιπολασμό του βρογχικού άσθματος μας παρέχουν τρεις μεγάλες διεθνείς πολυκεντρικές μελέτες σε ενήλικες και μία στα παιδιά: η ECRHS (European Community Respiratory Health Survey), η WHS (World Health Survey) και η GA2LEN (Global Allergy and Asthma Network of Excellence) και η ISAAC (International Study of Asthma and Allergies in Childhood) [6, 7]. Η ECRHS πραγματοποιήθηκε στις αρχές της δεκαετίας του 1990 σε αρκετές ευρωπαϊκές και εκτός Ευρώπης χώρες και περιέλαβε ενήλικες ασθενείς 20 έως 44 ετών. Ο μέσος επιπολασμός διαγνωσμένου άσθματος ήταν 5-6% στους ενήλικες της Ευρώπης, ενώ παρατηρήθηκε εκτεταμένη διακύμανση από χώρα σε χώρα που κυμαινόταν από 1,5-3% σε κάποιες περιοχές της Ισπανίας έως και 10% σε περιοχές της Γαλλίας [8]. Η WHS περιέλαβε ασθενείς από 70 χώρες και ηλικίας >18 ετών μεταξύ των ετών 2002-2003. Σε αυτή τη μελέτη ο επιπολασμός του άσθματος εκτιμήθηκε στο 4,3% [9]. Η GA2LEN συμπεριέλαβε ενήλικες ασθενείς ηλικίας 15-74 ετών από 15 ευρωπαϊκές χώρες κατά τα έτη 2008- 2009 [10]. Παρά τα στοιχεία που μας προσφέρουν οι μελέτες αυτές, η εκτίμηση του επιπολασμού του άσθματος τελικά παρουσιάζει δυσκολίες λόγω των διαφορετικών μεθόδων και ερωτηματολογίων που χρησιμοποιούνται [12]. Επιπλέον, καμιά από τις τρεις παραπάνω έρευνες δεν έχει επαναληφθεί σε παγκόσμιο επίπεδο ώστε να αξιολογηθεί ο επιπολασμός του άσθματος και μεταβολές αυτού κατά την πάροδο του χρόνου. Το πρόγραμμα της ISAAC πραγματοποιήθηκε σε 237 κέντρα 98 χωρών κατά τα έτη 1993-2003 και εκτίμησε τον επιπολασμό του παιδικού άσθματος σε 13%. Το παιδικό άσθμα είναι νόσημα συχνό τόσο στις χώρες με υψηλό εισόδημα, όσο και σε χώρες χαμηλότερου εισοδήματος, ωστόσο είναι σχετικά πιο σοβαρό και παρουσιάζει αυξανόμενο επιπολασμό σε πολλές χώρες με χαμηλό εισόδημα [11]. Η αύξηση αυτή του επιπολασμού φαίνεται να οφείλεται στην αυξανόμενη αστικοποίηση παιδιών και εφήβων σε χώρες μέσου και χαμηλού οικονομικού επιπέδου και στην αύξηση των διαγνώσεων ήπιου άσθματος [12]. Πρόσφατα δεδομένα για τον επιπολασμό του άσθματος σε παγκόσμια κλίμακα αναμένουμε το 2021 με το Global Asthma Network Phase I [13].

Τα επιδημιολογικά στοιχεία για τη νόσο στην Ελλάδα είναι περιορισμένα. Η Ομάδα Άσθματος της Ελληνικής Πνευμονολογικής Εταιρείας πραγματοποίησε την πρώτη πανελλαδική επιδημιολογική μελέτη για το άσθμα. Στη μελέτη περιελήφθησαν 2.632 άτομα και εκτιμήθηκε ότι το 8,6% του γενικού πληθυσμού

στην Ελλάδα πάσχει από βρογχικό άσθμα [14]. Πιο πρόσφατα, ο επιπολασμός της νόσου σε τηλεφωνικές έρευνες άγγιξε το 9% στους ενήλικες το 2017 και το 2019 [15, 16].

Το οικονομικό κόστος του άσθματος αντιπροσωπεύει το 1-2% του ετήσιου προϋπολογισμού για την υγεία σε όλες σχεδόν τις χώρες, ανεξάρτητα από το είδος της οικονομίας της κάθε χώρας και αφορά τόσο στο άμεσο ιατρικό κόστος (φαρμακευτική αγωγή και εισαγωγές στα νοσοκομεία), όσο και στο μη ιατρικό κόστος (ημέρες αποχής από την εργασία λόγω ασθένειας, πρόωροι θάνατοι). Σύμφωνα με πρόσφατους υπολογισμούς, στην Ευρωπαϊκή Ένωση το άμεσο κόστος του άσθματος ανέρχεται σε 20 δισεκατομμύρια ευρώ ετησίως και το έμμεσο κόστος σε 14 δισεκατομμύρια ευρώ ετησίως [17]. Στην Ελλάδα το άμεσο κόστος ανέρχεται σε 55 εκατομμύρια Ευρώ, ενώ το έμμεσο ξεπερνά τα 50 εκατομμύρια Ευρώ [14].

Παρά την πρόοδο στη θεραπευτική αντιμετώπιση και τη δυνατότητα πρόσβασης σε κατάλληλες δομές υγείας, το άσθμα συχνά υποδιαγιγνώσκεται και υποθεραπεύεται. Περίπου το 50-70% των ασθματικών σε τυχαία δείγματα του πληθυσμού διαφόρων χωρών δεν έχουν διαγνωσθεί είτε λόγω χαμηλού κοινωνικο-οικονομικού επιπέδου είτε λόγω υποεκτίμησης των συμπτωμάτων [18]. Είναι αξιοσημείωτο ότι περισσότεροι από το 50% των ασθματικών στην Ευρώπη δεν παρουσιάζουν πλήρη έλεγχο του άσθματος τους [19]. Πρόσφατα, η πολυκεντρική ευρωπαϊκή μελέτη παρατήρησης ελέγχου του άσθματος LIAISON επιβεβαιώνει τις παρατηρήσεις αυτές: Σε πληθυσμό 8.111 ασθματικών ασθενών υπό αγωγή από 12 ευρωπαϊκές χώρες, το 56,5% των ασθενών δε παρουσίαζαν το βέλτιστο έλεγχο της νόσου και είχαν χαμηλότερη ποιότητα ζωής σχετιζόμενη με το άσθμα και αυξημένο κίνδυνο παροξύνσεων [20]. Παράγοντες που συσχετίστηκαν με πτωχό έλεγχο του άσθματος ήταν πρωτίστως οι καιρικές αλλαγές, η επίμονη έκθεση σε αλλεργιογόνα και ερεθιστικές ουσίες και δευτερευόντως, προβλήματα που αφορούσαν τη φαρμακευτική αγωγή(συσκευή και δόση εισπνεόμενου φαρμάκου, συμμόρφωση με την αγωγή) [20].

3.3 Παράγοντες που επηρεάζουν το άσθμα

Το άσθμα αποτελεί μία ετερογενή νόσο. Η έκφραση, η βαρύτητα και η φυσική πορεία διαφέρουν μεταξύ των ασθενών και καθορίζονται από την αλληλεπίδραση

γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων. Φαίνεται μάλιστα πώς η αλληλεπίδραση αυτή άρχεται νωρίς μετά τη γέννηση ή ακόμη και κατά την ενδομήτριο ανάπτυξη του εμβρύου. Οι παράγοντες που επηρεάζουν το βρογχικό άσθμα μπορούν να διαχωριστούν σε ενδογενείς, στους οποίους δεν υπάρχει γενικά δυνατότητα παρέμβασης και στους εξωγενείς, που μπορούν να προληφθούν ή να τροποποιηθούν.

3.3.1 Ενδογενείς Παράγοντες

Γενετικοί

Είναι ευρέως πλέον αποδεκτό ότι το άσθμα είναι μια νόσος με κληρονομικό υπόβαθρο. Ο κίνδυνος της εμφάνισης της νόσου σε ένα παιδί όταν ο ένας γονιός πάσχει από άσθμα είναι 25%, ενώ εάν νοσούν και οι δύο γονείς, η πιθανότητα ανέρχεται στο 50%. Επίσης, σε μονοζυγωτικά δίδυμα, όταν πάσχει το ένα από βρογχικό άσθμα, η πιθανότητα νόσησης και του άλλου υπολογίζεται σε 60%, ενώ το αντίστοιχο ποσοστό στα διζυγωτικά δίδυμα εκτιμάται στο 25%. Η κληρονομική προδιάθεση που σχετίζεται με τη νόσο, αφορά όχι σε μία συγκεκριμένη μετάλλαξη, αλλά σε μια πληθώρα γονιδιακών πολυμορφισμών και στις μεταξύ τους αλληλεπιδράσεις. Περισσότερες από 100 μελέτες έχουν συσχετίσει την αυξημένη συχνότητα ή τη βαρύτητα της νόσου με πολυμορφισμούς σε μια πληθώρα γονιδίων [21, 22]. Τα γονίδια αυτά μπορεί να σχετίζονται με τη λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος, με διεργασίες και λειτουργίες του βρογχικού επιθηλίου ή με λειτουργικές παραμέτρους του αναπνευστικού [23].

Η μεγαλύτερη μελέτη για τη γενετική του άσθματος έως τώρα έλαβε χώρα το 2010 σε πάνω από 100 κέντρα παγκοσμίως (GABRIEL study) από τους *Moffatt et al* [24]. Η μελέτη αυτή συμπεριέλαβε 10,365 ασθενείς με άσθμα και 16,110 μάρτυρες με σκοπό τη συσχέτιση 582,892 πολυμορφισμών SNP (Single Nucleotide Polymorphism) με την εμφάνιση της νόσου. Σχετιζόμενα γονίδια ταυτοποιήθηκαν στα εξής χρωμοσώματα: 2 [IL1RL1 (Interleukin 1 Receptor Like 1) /IL18R1 (Interleukin 18 Receptor 1)], 6 [HLA-DQ (Human Leukocyte Antigen-DQ)], 9 [IL33], 15 [SMAD3], 17 [ORMDL3 (Orosomucoid like 3)/ GSDMB (Gasdermin B)] και 22 [IL2RB (Interleukin-2 receptor subunit beta)]. Το γονίδιο ORMDL3 στη περιοχή 17q21 συγκεκριμένα συσχετίστηκε με το άσθμα σε

παιδική ηλικία [25] , ενώ το γονίδιο HLA-DQ με το άσθμα των ενηλίκων. Το γονίδιο ORMDL3 / GSDMB συσχετίστηκε με άσθμα και σε Αμερικανούς ενώ το γονίδιο PYHIN1 σε Αφρικανούς και αυτό αποδεικνύει τη πολυπλοκότητα της γενετικής προδιάθεσης του άσθματος ανάλογα με τη φυλή[26].

Η μελέτη EVE (EVE Consortium) ανέδειξε επίσης κάποιους πολυμορφισμούς (SNPs) κοντά στα γονίδια της IL33, της IL1RL1, της TSLP και της IL13 που σχετίζονται με TH2-άσθμα [26] .

Όπως γίνεται φανερό το γενετικό υπόβαθρο του βρογχικού άσθματος αποτελεί ένα πεδίο συνεχιζόμενης έρευνας που έχει να προσφέρει πολλά στην κατανόηση της παθοφυσιολογίας της νόσου και πιθανώς και στην ανάπτυξη νέων θεραπευτικών παρεμβάσεων. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει επίσης ο τομέας της επιγενετικής του άσθματος, δηλαδή η επίκτητη τροποποίηση της έκφρασης ορισμένων γονιδίων κατά την ενδομήτριο ζωή ή νωρίς στην παιδική ηλικία, χωρίς να εντοπίζονται αλλαγές σε επίπεδο αλληλουχίας του DNA. Η μεθυλίωση του DNA, η τροποποίηση των ιστονών και η αλλαγή στην έκφραση του micro-RNA είναι οι τρεις πιο κοινοί επιγενετικοί μηχανισμοί που έχουν ρυθμιστικό ρόλο στην έκφραση των γονιδίων στο άσθμα [27]. Οι επιγενετικοί δείκτες θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για να καθοδηγήσουν τις θεραπευτικές επιλογές και να βρεθούν νέοι θεραπευτικοί στόχοι [27].

Φύλο

Κατά την παιδική ηλικία τα αγόρια παρουσιάζουν διπλάσιο κίνδυνο από τα κορίτσια να αναπτύξουν άσθμα. Κατά τη διάρκεια της εφηβείας ο επιπολασμός του άσθματος εξισώνεται στα δύο φύλα και κατά την ενήλικη ζωή πλέον παρατηρείται επικράτηση του γυναικείου φύλου (επιπολασμός 9,7% στις γυναίκες έναντι 5,7% στους άνδρες) [28,29]. Επίσης, φαίνεται ότι οι γυναίκες παρουσιάζουν υψηλότερη θνησιμότητα λόγω του άσθματος και μεγαλύτερο αριθμό επισκέψεων σε ιατρούς και νοσηλείων για τη νόσο [30,31]. Ενδεχομένως οι παρατηρήσεις αυτές να οφείλονται στο γεγονός ότι οι περιοδικές αυξομειώσεις των ορμονών του φύλου στις γυναίκες επηρεάζουν τα συμπτώματα της νόσου, με επιδείνωση αυτών κατά την ωχρινική φάση του κύκλου (υψηλή προγεστερόνη και οιστρογόνα) [32].

3.3.2 Εξωγενείς παράγοντες

Λοιμώξεις

RSV (Respiratory Syncytial Virus): Αποτελεί γνωστό και συχνό παθογόνο του κατώτερου αναπνευστικού. Υπάρχουν στοιχεία ότι σοβαρές λοιμώξεις από RSV στην πρώιμη νεογνική/βρεφική ηλικία αυξάνουν τον κίνδυνο εκδήλωσης άσθματος κατά την παιδική ηλικία. Έχει φανεί ότι το ένα τρίτο των παιδιών που θα νοσήσουν από RSV βρογχολίτιδα, θα παρουσιάζουν στη συνέχεια υποτροπιάζοντα επεισόδια συριγμού και αυτό αντανακλά αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης άσθματος[33]. Γενικότερα έχει δειχθεί θετική συσχέτιση μεταξύ των RSV βρογχολιτίδων και του συριγμού προκαλούμενου από RSV κατά το πρώτο έτος της ζωής και του κινδύνου εμφάνισης μη ατοπικού άσθματος [34, 35].

Ρινοϊοί: Οι λοιμώξεις από ρινοϊούς, όταν συνδυάζονται με την εμφάνιση συριγμού, σχετίζονται με 10πλάσιο κίνδυνο εμφάνισης άσθματος μέχρι την ηλικία των 6 ετών [36], ωστόσο παραμένει ασαφές εάν η λοίμωξη από ρινοϊό κατά την παιδική ηλικία προδιαθέτει στην εμφάνιση άσθματος ή προάγει την εκδήλωση προϋπάρχοντος άσθματος ή και τα δύο [37]. Το άσθμα που εμφανίζεται στην παιδική ηλικία μετά από συριγμό προκαλούμενο από λοίμωξη με ρινοϊό είναι κυρίως αλλεργικό και σχετίζεται συγκεκριμένα με ευαισθητοποίηση σε αλλεργιογόνα και έκζεμα[35].

Αλλεργιογόνα

Εδώ και δεκαετίες είναι γνωστή η συσχέτιση του βρογχικού άσθματος με διάφορα αλλεργιογόνα, χωρίς βέβαια οι ακριβείς παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί και κυρίως οι χρονικές συσχετίσεις μεταξύ έκθεσης σε αυτά και εκδήλωσης συμπτωμάτων να έχουν πλήρως αποσαφηνιστεί. Τα αλλεργιογόνα διακρίνονται σε εσωτερικού χώρου (ακάρεα οικιακής σκόνης, κατσαρίδες και αρθρόποδα εν γένει, μύκητες, αλλεργιογόνα οικόσιτων ζώων όπως τρίχωμα γάτας, σκύλου, πτηνών, ποντικιών) και σε εξωτερικού χώρου που περιλαμβάνουν τις γύρεις και διάφορους μύκητες (κυρίως *Alternaria alternata*).

Η έκθεση σε ακάρεα της οικιακής σκόνης έχει συσχετιστεί με τη βαρύτητα αλλά και με την ίδια την παθογένεια της νόσου, ανάλογα βέβαια και με το βαθμό έκθεσης, σε έδαφος γενετικής προδιάθεσης [38]. Τα δύο βασικά είδη ακάρεων οικιακής σκόνης που συνδέονται με τη νόσο του άσθματος είναι τα

Dermatophagoides farinae (American house dust mite) και *Dermatophagoides pteronyssinus* (European house dust mite).

Η ευαισθητοποίηση σε αλλεργιογόνα κατοικίδιων ζώων κατά την παιδική ηλικία έχει συσχετιστεί με την εμφάνιση αυξημένης βρογχικής υπεραντιδραστικότητας στην εφηβική ηλικία [39]. Παρόλα αυτά δεν έχει αποσαφηνιστεί εάν η έκθεση στα αντιγόνα αυτά σε νεαρή ηλικία έχει προστατευτική ή παθογενετική δράση στην αλλεργική ευαισθητοποίηση [40].

Η ευαισθητοποίηση σε αλλεργιογόνα της κατσαρίδας θεωρείται ένας από τους κυριότερους παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση βρογχικού άσθματος, βασικά σε αστικούς πληθυσμούς με χαμηλό εισόδημα [41, 42]. Δεδομένα από πρόσφατη μετα-ανάλυση μελετών για οικιακά αλλεργιογόνα και παροξύνσεις άσθματος, υποστηρίζουν μια σαφή συσχέτιση της έκθεσης σε αλλεργιογόνα της κατσαρίδας και των παροξύνσεων της νόσου, ειδικά σε ενήλικες που ήταν ήδη ευαισθητοποιημένοι στα εν λόγω αντιγόνα [43].

Η «υπόθεση της υγιεινής»

Πρόκειται για μια θεωρία που διατυπώθηκε από τον Strachan το 1989 και αναφέρει ότι το αυστηρά καθαρό και αποστειρωμένο περιβάλλον του σύγχρονου τρόπου ζωής προάγει την εμφάνιση πολλών νόσων, συμπεριλαμβανομένου και του βρογχικού άσθματος [44]. Θεωρείται ότι η μειωμένη έκθεση σε βακτήρια και ιούς οφείλεται εν μέρει στην αυξημένη καθαριότητα και στη συρρίκνωση του μεγέθους της οικογένειας στις σύγχρονες κοινωνίες. Μεταξύ των στοιχείων που στηρίζουν την "υπόθεση της υγιεινής" συμπεριλαμβάνεται το γεγονός ότι τα ποσοστά ατοπικού άσθματος είναι χαμηλότερα σε εκείνους που διαμένουν σε αγροτικές περιοχές και σε νοικοκυριά με κατοικίδια, λόγω της έκθεσης στην ενδοτοξίνη, σε βακτήρια και μύκητες του περιβάλλοντος. [45,46,47, 48]. Από την άλλη πλευρά υπάρχουν μελέτες στις οποίες δεν παρατηρείται καμία συσχέτιση μεταξύ άσθματος (κυρίως μη ατοπικού) και έκθεσης σε ποικιλία μικροβίων [49], συνεπώς ο ρόλος της έκθεσης σε διάφορα μικρόβια στην παθογένεια του βρογχικού άσθματος χρήζει περαιτέρω διερεύνησης [50, 48].

Ευαισθητοποίηση στον επαγγελματικό χώρο

Το επαγγελματικό άσθμα μπορεί να αναπτυχθεί μέσω δύο διακριτών μηχανισμών: ευαισθητοποίηση σε αλλεργιογόνα που υπάρχουν στο χώρο της εργασίας και έκθεση σε ερεθιστικές ουσίες. Η ευαισθητοποίηση σε αλλεργιογόνα (π.χ ζώων, φυτών και μικροοργανισμούς) σχετίζεται συνήθως με IgE μεσολαβούμενο μηχανισμό [51]. Αντίθετα, χαμηλού μοριακού βάρους χημικές ουσίες, που μπορεί να εντοπίζονται στο εργασιακό περιβάλλον σε υψηλή συγκέντρωση (π.χ. καπνός, αερολύματα, τολουόλη, διαλύτες κ.α.), συνδέονται με την εμφάνιση άσθματος, χωρίς να υπάρχει λανθάνουσα περίοδος, μέσω άλλων ανοσολογικών μηχανισμών [52].

Κάπνισμα

Το κάπνισμα κατά την εγκυμοσύνη, είτε ενεργητικό είτε παθητικό, έχει συσχετιστεί με αυξημένη επίπτωση άσθματος του παιδιού κατά την παιδική και εφηβική ηλικία [53, 54]. Επίσης, η πρόληψη της έκθεσης στον καπνό του τσιγάρου κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης, έχει αποδειχθεί ότι μειώνει τον κίνδυνο εμφάνισης άσθματος [55]. Όσον αφορά στους ενήλικες, το κάπνισμα (ενεργητικό ή παθητικό) αποτελεί αναγνωρισμένο παράγοντα κινδύνου για την εμφάνιση άσθματος [56]. Επιπλέον, οι ασθενείς με άσθμα που καπνίζουν εμφανίζουν βαρύτερη νόσο, πτωχότερο έλεγχο των συμπτωμάτων τους, μειωμένη αποτελεσματικότητα της θεραπείας με εισπνεόμενα στεροειδή και αυξημένο κίνδυνο για ανάπτυξη μόνιμης απόφραξης των αεραγωγών [57,58,59,60].

Ατμοσφαιρική ρύπανση

Η ατμοσφαιρική ρύπανση αφορά είτε τους εξωτερικούς χώρους όπου τα διάφορα μικρο-σωματίδια(PM2.5), τα καυσαέρια των αυτοκινήτων και το όζον αποτελούν τους σημαντικότερους ρύπους, είτε τους εσωτερικούς χώρους όπου συγκαταλέγονται ο καπνός του τσιγάρου, το NO₂ και διάφορες πτητικές ουσίες. Η ρύπανση της ατμόσφαιρας έχει συσχετιστεί με την επίπτωση του άσθματος, καθώς και με τις παροξύνσεις της νόσου, αλλά όχι με τον επιπολασμό της [61] και ο κυριότερος παθοφυσιολογικός μηχανισμός που φαίνεται να εμπλέκεται είναι το οξειδωτικό stress. Ενδεικτικά, η έκθεση σε όζον επιφέρει δομικές αλλαγές στους αεραγωγούς και έτσι ενοχοποιείται για εμφάνιση βαρύτερης συμπτωματολογίας και αυξημένες νοσηλείες και θανάτους λόγω της νόσου. Ακόμη, η έκθεση σε

καυσαέρια αυτοκινήτων σε σύγχρονες αστικές πόλεις με αυξημένη κίνηση φαίνεται πως συσχετίζεται με την εμφάνιση αναπνευστικών συμπτωμάτων στα παιδιά [62, 63].

Διατροφή

Υπάρχουν πολλά δεδομένα για τη συσχέτιση μεταξύ διατροφής και άσθματος, από την ενδομήτριο ακόμη ζωή (όπου παίζει ρόλο η διατροφή της εγκύου) έως την ενήλικη ζωή.

Η συμμετοχή της διατροφής της μητέρας στην ανάπτυξη παιδικού άσθματος είναι αδιαμφισβήτητη, όχι βέβαια πλήρως αποσαφηνισμένη [64, 65]. Για παράδειγμα η αυξημένη κατανάλωση συμπληρωμάτων φολικού οξέος κατά την εγκυμοσύνη έχει συσχετιστεί με αυξημένη εμφάνιση παιδικού άσθματος [66], ενώ τα στοιχεία για άλλα διατροφικά συστατικά όπως η βιταμίνη D είναι αντικρουόμενα. Αμφιλεγόμενα είναι επίσης και τα στοιχεία για το ρόλο του μητρικού θηλασμού. Υπάρχουν δεδομένα από μελέτες που υποστηρίζουν ότι ο αποκλειστικός θηλασμός τους πρώτους μήνες της ζωής σχετίζεται με μείωση του κινδύνου εμφάνισης άσθματος μέχρι την ηλικία των 6 ετών [67, 68], αλλά αυτά έρχονται σε αντίθεση με αποτελέσματα άλλων μελετών που αναφέρουν ότι ο μητρικός θηλασμός για πάνω από 4 εβδομάδες συνδέεται με αύξηση στην εμφάνιση άσθματος στην ηλικία των 9 ετών [69]. Ενδεχομένως οι διαφορές αυτές να αντανακλούν διαφορετικές περιβαλλοντικές συνθήκες και περιγεννητικές διατροφικές συνήθειες.

Μετά τη γέννηση και κατά την παιδική ηλικία, η αυξημένη κατανάλωση βιταμίνης D, φρούτων, λαχανικών και γενικά η εφαρμογή Μεσογειακής διατροφής συσχετίζεται με αντιοξειδωτική και αντιφλεγμονώδη δράση και μειωμένη πιθανότητα μετέπειτα εμφάνισης επεισοδίων συριγμού [70, 71]. Αντιθέτως, η δυτική διατροφή με αυξημένη πρόσληψη κορεσμένων λιπαρών οξέων, ζάχαρης και επεξεργασμένων τροφίμων προωθεί μια προφλεγμονώδη κατάσταση και αυξάνει τον κίνδυνο για την εκδήλωση άσθματος [71].

Κατά την ενήλικη ζωή, η παχυσαρκία αποτελεί παράγοντα κινδύνου για εμφάνιση άσθματος, ιδιαίτερα στις γυναίκες και στα μη αλλεργικά άτομα αυξάνοντας την πιθανότητα εμφάνισης της νόσου κατά περίπου 50% [72, 73]. Πέρα από αυτό, από την ανάλυση των αποτελεσμάτων του Severe Asthma Research Program (SARP) προέκυψε ότι οι παχύσαρκοι ασθενείς με άσθμα είναι συνήθως μεγαλύτερης

ηλικίας και εμφανίζουν φτωχότερο έλεγχο της νόσου, αυξημένη χρήση στεροειδών και περισσότερες επισκέψεις σε τμήματα επειγόντων περιστατικών ή/και νοσηλείες [74]. Συνήθως, το άσθμα που σχετίζεται με την παχυσαρκία είναι ουδετεροφιλικό, δεν ανταποκρίνεται στη χρήση στεροειδών και παρουσιάζει χαμηλότερη αναπνευστική λειτουργία [75]. Τέλος, κατά την ενήλικη ζωή, φαίνεται ότι και η κατανάλωση αλκοόλ συνδέεται με το βρογχικό άσθμα. Συγκεκριμένα, μέτρια καθημερινή κατανάλωση συσχετίζεται με χαμηλότερο κίνδυνο άσθματος συγκριτικά με την σπάνια έως μηδενική κατανάλωση, ενώ αυξημένη κατανάλωση αλκοόλ συνδέεται με αυξημένη επίπτωση της νόσου [76].

3.4 Παθογένεια- Παθοφυσιολογία του βρογχικού άσθματος

Το βρογχικό άσθμα μέχρι πρόσφατα αναγνωριζόταν ως αλλεργικού τύπου νόσημα όπου κεντρικό ρόλο έπαιζαν τα λεμφοκύτταρα Th2 τύπου (T-helper cell type 2, Th2), η IgE (Immunoglobulin E), τα μαστοκύτταρα, τα ηωσινόφιλα, τα μακροφάγα και διάφορες άλλες κυτταροκίνες. Με την πάροδο των ετών και χάρη στη συνεχή επιστημονική έρευνα στο πεδίο του βρογχικού άσθματος, ανεδείχθη η πολυπλοκότητα της παθογένειας της νόσου. Στους παθοφυσιολογικούς μηχανισμούς συμμετέχει ένα πλήθος κυττάρων και άλλων παραγόντων (επιθηλιακής, μεσεγχυματικής, αγγειακής και νευρικής ακόμη προέλευσης), που συμμετέχουν τόσο στη ρύθμιση της Th2 φλεγμονής όσο και στην αναδιαμόρφωση του τοιχώματος των αεραγωγών μέσω σύνθετων μηχανισμών βλάβης και επιδιόρθωσης [εικόνα 1, παράρτημα γενικού μέρους], [77]. Το μονοπάτι της Th2 φλεγμονής στη παθογένεια του άσθματος είναι το καλύτερα μελετημένο και κατανοητό ως τώρα.

Το βασικό παθοφυσιολογικό χαρακτηριστικό του βρογχικού άσθματος είναι η χρόνια φλεγμονή των αεραγωγών που χαρακτηρίζεται από μετανάστευση μαστοκυττάρων, ηωσινοφίλων και T-βοηθητικών κυττάρων τύπου 2 CD4+ στο τοίχωμα των αεραγωγών [78]. Κατά την αρχική έκθεση σε έναν αλλεργιογόνο παράγοντα (αλλεργική ευαισθητοποίηση) τα δενδριτικά κύτταρα που βρίσκονται στο επιθήλιο των αεραγωγών, αναγνωρίζουν και συνδέονται με αυτό με αποτέλεσμα την έναρξη Th2 φλεγμονώδους απάντησης. Η σύνδεση αυτή του αλλεργιογόνου με τα δενδριτικά κύτταρα ενισχύεται από τη σύνδεση με υψηλής συγγένειας IgE υποδοχείς. Ακολούθως διενεργείται επεξεργασία του

αλλεργιογόνου παράγοντα από την Cathepsin S, επιλογή πεπτιδίων και αντιγονοπαρουσίαση από το σύμπλεγμα HLA (MHC II, Major histocompatibility complex τάξεως II) στα T λεμφοκύτταρα [77]. Η ανοσολογική απάντηση που πυροδοτείται τροποποιείται και από την ταυτόχρονη σύνδεση ενεργοποιητικών παραγόντων όπως τα CD80 (B7.1) ή CD86 (B7.2) στα δενδριτικά κύτταρα ταυτόχρονα με τα CD28 T λεμφοκύτταρα [79]. Το τελικό, πάντως, αποτέλεσμα είναι η επαγωγή των CD4 βοηθητικών (Th2) κυττάρων, που με τη σειρά τους θα εκκρίνουν ιντερλευκίνες όπως οι IL-4 και IL-5, οι οποίες προκαλούν την παραγωγή IgE από τα B λεμφοκύτταρα, δρουν ως αυξητικοί παράγοντες των μαστοκυττάρων (IL-4) και ενεργοποιούν τα ηωσινόφιλα (IL-5) [77]. Τα IgE αντισώματα που παράγονται, συνδέονται στη συνέχεια σε κατάλληλους υποδοχείς στην επιφάνεια των μαστοκυττάρων και βασεόφιλων. Στην περίπτωση που ο ασθενής επανεκτεθεί στο ίδιο αλλεργιογόνο, η σύνδεσή του με την IgE στην επιφάνεια των μαστοκυττάρων πυροδοτεί σειρά αντιδράσεων στην επιφάνεια του βλεννογόνου που περιλαμβάνουν την αποκοκκίωση των μαστοκυττάρων και την απελευθέρωση ισταμίνης και άλλων μεσολαβητών όπως τα λευκοτριένια C4, D4, E4 (Leukotrien C4, D4, E4, LTC4, LTD4, LTE4) και η προσταγλανδίνη D2 (Prostaglandin D2, PGD2) που επάγουν βρογχόσπασμο, οίδημα και υπερέκκριση βλέννης τα οποία παρατηρούνται στην πρώιμη φάση φλεγμονής της ασθματικής κρίσης [80]. Η όψιμη φάση της φλεγμονής χαρακτηρίζεται από τη συγκέντρωση λευκοκυττάρων (βασεόφιλων, ουδετερόφιλων και ηωσινόφιλων) στο σημείο της φλεγμονής, μέσω της δράσης διάφορων κυτταροκινών όπως η IL-4, ο TNF-α (Tumor Necrosis Factor α), το LTB4, η εοταξίνη και άλλες, που εξακολουθούν να εκκρίνονται για διάστημα έως και 72 ωρών από την αρχική έκθεση [77].

3.4.1 Φλεγμονώδη κύτταρα και μεσολαβητές της φλεγμονής

Φλεγμονώδη κύτταρα

Μαστοκύτταρα: Τα μαστοκύτταρα παίζουν σημαντικό ρόλο στην έναρξη της βρογχοσυσπαστικής αντίδρασης των λείων μυϊκών ινών των αεραγωγών στα αλλεργιογόνα και πιθανώς και σε άλλα έμμεσα ερεθίσματα, όπως η άσκηση και ο υπεραερισμός (μέσω ωσμωτικότητας ή θερμικών αλλαγών). Παράγονται στο μυελό των οστών, εισέρχονται στην κυκλοφορία ως CD34+ μονοκύτταρα με

υποδοχείς υψηλής συγγένειας για την IgE και μεταναστεύουν στον βλεννογόνο και τον υποβλεννογόνο χιτώνα των αεραγωγών, όπου και υφίστανται διαδικασίες ωρίμανσης. Τα ενεργοποιημένα μαστοκύτταρα απελευθερώνουν βρογχοσυσπαστικούς και αγγειοδραστικούς παράγοντες, που συμμετέχουν στην πρώιμη αλλεργική αντίδραση, όπως η ισταμίνη, ο παράγοντας που ενεργοποιεί τα αιμοπετάλια (PAF), οι θρομβοξάνες, η προσταγλανδίνη D₂, διάφορα λευκοτριένια (B₄,C₄,D₄,E₄) και κυτταροκίνες με φλεγμονώδη δράση (IL-3, IL-4, TNF- α , IL-6, και IL-10) καθώς και χυμοκίνες (εοταξίνες, IL-5, IL-8, TNF- α , GM-CSF) [81]. Μέσω αυτών των παραγόντων προάγεται ο βρογχόσπασμος, το οίδημα του βλεννογόνου και η έκκριση βλέννης στα πρώτα 10 λεπτά από την έναρξη της αντίδρασης. Εκτός από τις δράσεις αυτές, τα μαστοκύτταρα αλληλεπιδρούν με τα λεία μυϊκά κύτταρα μέσω αυτοκρινών μεσολαβητών όπως οι LTD₄, PGD₂ και η ισταμίνη, με τελικό αποτέλεσμα την αύξηση των λείων μυϊκών ινών και του ινώδους δικτύου που είναι στοιχεία της αναδιαμόρφωσης των αεραγωγών (remodeling) που συντελείται στο βρογχικό άσθμα [82]. Επιπλέον, τα μαστοκύτταρα έχουν τη δυνατότητα να εκφράζουν αγγειογενετικούς παράγοντες όπως ο FGF (Fibroblast Growth Factor), ο VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor), η IL-6 και ο CXCL8 (chemokine (C-X-C motif) ligand 8, ή IL-8) και να συμβάλουν στη μεταπλαση των επιθηλιακών καλυκκοειδών κυττάρων και στην υπερέκκριση βλέννης στο άσθμα μέσω της έκφρασης της amphiregulin (μέλος της ομάδας του EGF, Epidermal Growth Factor) [83, 84].

Μακροφάγα: Τα μακροφάγα διαφοροποιούνται από τα μονοκύτταρα του αίματος, ενεργοποιούνται από τα αλλεργιογόνα μέσω υποδοχέων χαμηλής συγγένειας με την IgE και απελευθερώνουν φλεγμονώδεις μεσολαβητές και ένζυμα, ελεύθερες ρίζες οξυγόνου και κυτταροκίνες, τα οποία ενισχύουν την φλεγμονώδη αντίδραση. Ωστόσο, ανάλογα με το ερέθισμα, τα μακροφάγα μπορούν να έχουν και αντιφλεγμονώδη ρόλο. Πιο συγκεκριμένα, τα κυψελιδικά μακροφάγα διακρίνονται σε τύπου 1 (M1) και τύπου 2 (M2). Τα M1 εκφράζουν υψηλά επίπεδα προφλεγμονωδών κυτταροκινών όπως η iNOS (inducible Nitric Oxide Synthase), η IL1 β και ο TNF- α . Τα M2 έχουν διαφορετικό τρόπο ενεργοποίησης και διακρίνονται περαιτέρω σε υποτύπους (M2a,b,c,d) ανάλογα με τις δράσεις τους. Τα M2 μακροφάγα χαρακτηρίζονται από αυξημένη έκφραση διαφόρων πρωτεϊνών όπως οι arginase-1 family proteins chitinase-like Ym1/2 και

Fizz1/RELM- α (Found in inflammatory zone 1), χυμοκινών όπως οι CCL17, CCL18, CCL22 και η εοταξίνη-2 (CCL24) και κυτταροκινών όπως η IL-13, οι οποίες προάγουν την T_H2 φλεγμονή στους αεραγωγούς και τη μετανάστευση των ηωσινοφίλων και συμμετέχουν με διάφορους μηχανισμούς στην αναδιαμόρφωση των αεραγωγών [85, 86].

Δενδριτικά κύτταρα: Τα δενδριτικά κύτταρα διαδραματίζουν κεντρικό ρόλο στις διαδικασίες φλεγμονής που συντελούνται στους αεραγωγούς. Πρόκειται για εξειδικευμένα κύτταρα, παρόμοια με τα μακροφάγα, που βρίσκονται αυξημένα στους βρόγχους των ασθματικών ασθενών και έχουν την ικανότητα, δρώντας ως αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα, να επάγουν την T-λεμφοκυτταρική ανοσοαπάντηση [87]. Βέβαια, αναγνωρίζονται δύο τύποι δενδριτικών κυττάρων με διαφορετικά αντιγόνα επιφανείας τους και διαφορετικές δράσεις: τα μυελοειδή (mDCs, myeloid Dendritic Cells) και τα πλασματοκυτταρικά (pDCs, plasmacytoid Dendritic Cells) δενδριτικά κύτταρα. Τα mDCs φαίνεται ότι προάγουν την T_H2 κυτταρική ευαισθητοποίηση σε εισπνεόμενα αλλεργιογόνα: παραλαμβάνουν το αλλεργιογόνο από το αναπνευστικό επιθήλιο και μεταναστεύουν στους τοπικούς λεμφαδένες, όπου αντιδρούν με τα ρυθμιστικά T-λεμφοκύτταρα και τελικά ενεργοποιούν την διαφοροποίηση των T_H2 κυττάρων από τα naïve T-λεμφοκύτταρα. Τα pDCs φαίνεται να έχουν αντίθετη δράση, καταστέλλοντας την αλλεργική ευαισθητοποίηση [88].

Ηωσινόφιλα: Η παραγωγή των ηωσινοφίλων γίνεται στον μυελό των οστών και ρυθμίζεται από την IL-5, την IL-3 και τον GM-CSF. Η μετακίνησή τους από την κυκλοφορία του αίματος στην επιφάνεια των βρόγχων γίνεται μέσω διάφορων μεσολαβητών όπως ο RANTES (Regulated on Activation T-cell Expressed and Secreted), η εοταξίνη, κυρίως η IL-5 (που εκκρίνεται μεταξύ άλλων και από τα ενεργοποιημένα μαστοκύτταρα και διαφοροποιεί το ανώριμο ηωσινόφιλο) και η χημειοτακτική πρωτεΐνη των μακροφάγων (MCP-4), που απελευθερώνονται από τα επιθηλιακά κύτταρα. Η μετανάστευσή τους στους ιστούς πραγματοποιείται με τη βοήθεια ειδικών μορίων προσκόλλησης: ICAM-1, P-selectin και VCAM-1 (Vascular Cell Adhesion Molecule) [89]. Το ώριμο ηωσινόφιλο έχει πυκνά ενδοκυττάρια κοκκία, τα οποία απελευθερώνουν φλεγμονώδεις μεσολαβητές, όπως η μεγάλη βασική πρωτεΐνη (MBP), η ηωσινοφιλική κατιονική πρωτεΐνη

(ECP), η ηωσινοφιλική περοξειδάση (EPO), η εκκρινόμενη από τα ηωσινόφιλα περοξειδάση (EDN) και ελεύθερες ρίζες οξυγόνου. Η MBP πιθανόν καταστρέφει τα επιθηλιακά κύτταρα των αεραγωγών, εντείνει την βρογχική υπεραντιδραστικότητα και προκαλεί αποκοκκίωση των βασεόφιλων και των μαστοκυττάρων. Επίσης τα ηωσινόφιλα αποτελούν μία πλούσια πηγή λευκοτριενίων και κυρίως κυστεϊνικών λευκοτριενίων C₄, που προκαλούν σύσπαση των λείων μυών των αεραγωγών, αύξηση της αγγειακής διαπερατότητας και ίσως προσελκύουν περισσότερα ηωσινόφιλα στους αεραγωγούς [89]. Ακόμη, ενισχύοντας την παραγωγή του TGF-β₁, προάγουν τον πολλαπλασιασμό των ινοβλαστών, τη σύνθεση κολλαγόνου και την ωρίμανση των μυοϊνοβλαστών συμβάλλοντας στην αναδιαμόρφωση των αεραγωγών [89].

T-Λεμφοκύτταρα: Τα T-λεμφοκύτταρα, τα οποία βρίσκονται επίσης σε αυξημένο αριθμό στους αεραγωγούς των ασθματικών, παίζουν σημαντικό ρόλο στον συντονισμό της φλεγμονώδους απάντησης στο άσθμα. Διάφορα γεγονότα στο αναπνευστικό επιθήλιο κινητοποιούν ρυθμιστικές κυτταροκίνες όπως η IL-33, η IL-25 και η TSLP (Thymic Stromal Lymphopoietin), οι οποίες προάγουν την ωρίμανση των CD4⁺ T λεμφοκυττάρων σε Th2 κύτταρα που υπερπαραγάγουν τύπου 2 κυτταροκίνες (IL-4, IL-5 και IL-13). Οι κυτταροκίνες αυτές οδηγούν τελικά στην ενεργοποίηση των επιθηλιακών κυττάρων, στην χημειοταξία των μαστοκυττάρων, ηωσινοφίλων και βασεοφίλων, στην παραγωγή IgE από το B-λεμφοκύτταρα και τελικά στην αναδιαμόρφωση του βρογχικού επιθηλίου και της υποεπιθηλιακής θεμέλιας ουσίας [90].

Τα T ρυθμιστικά λεμφοκύτταρα (Treg) έχουν ένα προστατευτικό ρόλο στην ανοσιακή απάντηση έναντι των αλλεργιογόνων. Εκφράζουν τον συνυποδοχέα CD4, τον υποδοχέα CD25, υψηλά επίπεδα του υποδοχέα υψηλής συγγένειας για την IL2 και φέρουν το μεταγραφικό παράγοντα FoxP3 [91]. Η ισορροπία μεταξύ των κυττάρων Th1 και Th2 πιστεύεται ότι καθορίζεται από κυτταροκίνες που απελευθερώνονται τοπικά, όπως η IL - 12, η οποία αυξάνει τα Th1 κύτταρα, ενώ οι IL- 4 και IL- 13 ευνοούν την εμφάνιση των Th2 κυττάρων. Τα ρυθμιστικά T-λεμφοκύτταρα καταστέλλουν την ανοσολογική απάντηση μέσω έκκρισης ανασταλτικών κυτταροκινών, όπως η IL- 10 και ο TGF-β και διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην καταστολή της Th2 απάντησης [92].

Τα λεμφοκύτταρα μη ειδικής ανοσίας (Innate Lymphoid Cells, ILCs) δε φέρουν τους υποδοχείς των T και B λεμφοκυττάρων και φαίνεται ότι συμβάλουν στην άμυνα και την ομοιόσταση των επιθηλιακών ιστών [93]. Παράγουν κυτταροκίνες όπως οι IL-25, IL-33, TSLP και IL-1β ως απάντηση σε διάφορα ερεθίσματα. Διακρίνονται σε 3 υποκατηγορίες: ILC1s, ILC2s και ILC3s που αντικατοπτρίζουν τους γνωστούς υποτύπους T-λεμφοκυττάρων: τύπου 1 (Th1), τύπου 2 (Th2), και τύπου 3 (Th17 και Th22) αντίστοιχα [94]. Τα ILC2s έχουν περισσότερο ενδιαφέρον στο άσθμα και εκφράζουν κυτταροκίνες που πυροδοτούν την Th2 φλεγμονή, όπως η IL-5, η IL-9 και η IL-13 [95].

Β-Λεμφοκύτταρα: Ο ρόλος των Β-λεμφοκυττάρων στο άσθμα είναι η απελευθέρωση της IgE, μέσω ενεργοποίησής τους από την IL-4 και IL-13.

Ουδετερόφιλα: Παρά το γεγονός ότι τα ουδετερόφιλα δεν είναι ο κυρίαρχος τύπος κυττάρων στο ήπιο έως μέτριο άσθμα, φαίνεται ότι αυξάνονται στους αεραγωγούς και στα προκλητά πτύελα ασθενών με πιο σοβαρό άσθμα. Το ίδιο συμβαίνει και με την IL-8. Ο ρόλος τους στην παθογένεια του άσθματος είναι ακόμη αβέβαιος, φαίνεται όμως ότι τα ουδετερόφιλα μπορούν να πυροδοτήσουν την αλλεργική φλεγμονή των αεραγωγών. Επίσης είναι βασική πηγή οξειδωτικού στρες μέσω της αναπνευστικής αλύσου [85] και συμβάλλουν στη φλεγμονή τόσο μέσω της αύξησης της διαπερατότητας των αγγείων [96] και της παραγωγής προφλεγμονωδών κυτταροκινών όπως η IL-33, όσο και μέσω έκκρισης MMP-9 και MUC5AC που σχετίζονται με υπερέκκριση βλέννης [97,98].

Βασεόφιλα: Τα βασεόφιλα φέρουν υποδοχείς επιφανείας, οι οποίοι μετά από κατάλληλη σύνδεση, οδηγούν σε ενεργοποίηση των βασεοφίλων και παραγωγή κυτταροκινών (IL-4, IL-13) που προάγουν τις Th2 ανοσολογικές απαντήσεις [99].

Αιμοπετάλια: Υπάρχουν στοιχεία για συμμετοχή αιμοπεταλίων στην παθοφυσιολογία του άσθματος δεδομένου ότι παρατηρείται ενεργοποίηση και συγκέντρωσή τους στο τοίχωμα των βρόγχων ασθματικών ασθενών. Μετά από πρόκληση με αλλεργιογόνα υπάρχει σημαντική πτώση των κυκλοφορούντων αιμοπεταλίων στο αίμα, αλλά και τα κυκλοφορούντα αιμοπετάλια ασθματικών

ασθενών παρουσιάζουν ενδείξεις αυξημένης ενεργοποίησης και έκκρισης RANTES [100].

Δομικά κύτταρα

Τα δομικά κύτταρα που εμπλέκονται στους παθογενετικούς μηχανισμούς του άσθματος περιλαμβάνουν τα επιθηλιακά και ενδοθηλιακά κύτταρα, τους ινοβλάστες και μυοϊνοβλάστες, τα νευρικά κύτταρα και των λεία μυϊκά κύτταρα των αεραγωγών. Τα δομικά κύτταρα αποτελούν και αυτά μια σημαντική πηγή φλεγμονωδών μεσολαβητών στο άσθμα.

Επιθηλιακά κύτταρα: Το επιθήλιο των αεραγωγών έχει τη δυνατότητα να παράγει μια πληθώρα μεσαλαβητών της φλεγμονής όπως οι CCL17 και CCL22 (επιδρώντας στα ILC2s, τα βασεόφιλα και τα T ρυθμιστικά κύτταρα), εοταξίνες όπως οι CCL11, 24, και 26 (επιδρώντας στα ηωσινόφιλα και τα Th2 κύτταρα) και άλλες κυτταροκίνες όπως η PGD2 (προσελκύοντας βασεόφιλα, μαστοκύτταρα και Th2 κύτταρα), καθώς και GM-CSF (προάγοντας τον πολλαπλασιασμό και τη μετανάστευση των δενδριτικών κυττάρων και των μακροφάγων) [101]. Επιπλέον τα επιθηλιακά κύτταρα είναι σε θέση να ρυθμίζουν την Th2 απάντηση μέσω της παραγωγής ενδογενών μορίων (endogenous danger-associated molecular patterns, DAMPs) όπως το ATP καθώς και μέσω διάφορων κυτταροκινών όπως οι HMGB1 (High Mobility Group Box 1), S100, IL33 και IL1a. [102, 103]. Τέλος τα επιθηλιακά κύτταρα, στο πλαίσιο της συνεχούς απάντησης σε «βλαπτικά» ερεθίσματα, εκκρίνουν αυξητικούς παράγοντες όπως ο EGF, ο PDGF (Platelet-Derived Growth Factor), ο FGF-1 (Fibroblast growth factor 1), ο FGF-2 (Fibroblast growth factor 2) και ο TGF-β, καθώς και κυτταροκίνες όπως οι IL-4, IL-9 και IL-13. Οι αυξητικοί παράγοντες προάγουν την υποεπιθηλιακή συγκέντρωση ινοβλαστών, τη διαφοροποίηση τους σε μυοϊνοβλάστες καθώς και την ενεργοποίηση και τον πολλαπλασιασμό των λείων μυϊκών ινών, γεγονότα που εμπλέκονται στην αναδιαμόρφωση των αεραγωγών (remodeling) [77]. Οι κυτταροκίνες προκαλούν αύξηση των βλεννοπαραγωγών κυττάρων στους περιφερικούς αεραγωγούς [104,105].

Ενδοθηλιακά κύτταρα και αγγειακό δίκτυο: Το αγγειακό δίκτυο εμπλέκεται στην παθοφυσιολογία του άσθματος μέσω μηχανισμών υπεραιμίας, αγγειοδιαστολής, αύξησης της αγγειακής διαπερατότητας και αγγειογένεσης. Η αυξημένη αγγειακή διαπερατότητα προκύπτει από μια πληθώρα δομικών αλλαγών και επιδράσεων διαφόρων μεσολαβητών φλεγμονής. Η αγγειοδιαστολή είναι το αποτέλεσμα της δράσης νευροπεπτιδίων όπως η ουσία P και οι νευροκινίνες, που παράγονται από τα νευρικά κύτταρα του συμπαθητικού συστήματος, μετά από επίδραση φλεγμονωδών μεσολαβητών [106]. Η αυξημένη αγγειογένεση που παρατηρείται, ευοδώνεται κυρίως από τον VEGF. Ο VEGF προάγει τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των ενδοθηλιακών κυττάρων και εμπλέκεται γενικότερα στην Th2 φλεγμονώδη απάντηση [107].

Ινοβλάστες και μυοϊνοβλάστες: Οι ινοβλάστες είναι κύτταρα του συνδετικού ιστού τα οποία μπορούν να διαφοροποιηθούν σε μυοϊνοβλάστες υπό την επίδραση διαφόρων παραγόντων όπως η ED-A φιβρονεκτίνη (alternatively spliced fibronectin) και ο PDGF. Οι μυοϊνοβλάστες με τη σειρά τους παράγουν πρωτεΐνες της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας όπως το κολλαγόνο τύπου I, III και V, η φιβρονεκτίνη, η τενασκίνη κ.α [108]. Οι αλλαγές που συντελούνται στην εξωκυττάρια θεμέλια ουσία αποτελούν βασικό χαρακτηριστικό του remodeling που παρατηρείται στους βρόγχους των ασθματικών ασθενών.

Λεία μυϊκά κύτταρα: Τα λεία μυϊκά κύτταρα των αεραγωγών στους ασθματικούς ασθενείς παρουσιάζουν αύξηση στο μέγεθος και τον αριθμό (υπερτροφία και υπερπλασία αντιστοίχως) και επιπλέον παρατηρείται εντονότερη σύσπαση των λείων μυϊκών ινών. Η υπερτροφία των λείων μυϊκών κυττάρων έχει συσχετιστεί με διάφορους παράγοντες όπως οι p38 και p42/44 MAP κινάσες, ο NF-κB (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells), και η σχετιζόμενη με τον TGF-β κινάση τύπου 1 [109]. Οι λείες μυϊκές ίνες στους βρόγχους των ασθματικών ασθενών συσπώνται ως απάντηση στα ίδια ερεθίσματα με τους υγιείς (ακετυλοχολίνη, ισταμίνη, κυστεϊνικά λευκοτριένια), ωστόσο φαίνεται ότι στο άσθμα, αν και παράγονται οι ίδιες ποσότητες αυτών των διαβιβαστών, σημειώνεται εντονότερη σύσπαση των λείων μυϊκών ινών [110]. Τέλος, τα λεία μυϊκά κύτταρα εκφράζουν στην επιφάνειά τους μόρια του μείζονος συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας MHC class II, κυτταροκίνες (IL13, IL6 και TSLP) και

χημοκίνες (RANTES, εοταξίνες και CXCL10) [111], συμμετέχοντας έτσι στη διαδικασία της φλεγμονής.

Νευρικά κύτταρα: Ορισμένοι από τους παράγοντες που εκκρίνουν τα επιθηλιακά κύτταρα, τα λεία μυϊκά κύτταρα, τα μαστοκύτταρα και τα ηωσινόφιλα [77] στους αεραγωγούς των ασθματικών ασθενών έχουν νευροτροφική δράση (NGF - Nerve Growth Factor, BDNF- Brain-Derived Neurotrophic Factor). Οι παράγοντες αυτοί προάγουν την ανάπτυξη του δικτύου των νευρικών ιών στους αεραγωγούς αλλά και την ανάπτυξη των μαστοκυττάρων και την μακρότερη επιβίωση των ηωσινοφίλων [112]. Η αλληλεπίδραση των νευρικών και των κυττάρων του ανοσοποιητικού, κυρίως των ηωσινοφίλων, οδηγεί σε βρογχοσύσπαση μέσω παρασυμπαθητικών ιών[113].

Μεσολαβητές της φλεγμονής

Συνοψίζονται οι βασικότεροι παράγοντες όπως αναφέρθηκαν παραπάνω.

Λιπιδιακοί μεσολαβητές

Α.Λευκοτριένια: Τα λευκοτριένια είναι ενεργοί μεταβολίτες της 5-λιποοξυγενάσης του αραχιδονικού οξέος και διακρίνονται σε δύο ομάδες: τα λευκοτριένια A₄ (LTA₄), τα οποία περαιτέρω μετατρέπονται σε λευκοτριένια τύπου B₄ (LTB₄) και στα λευκοτριένια που περιέχουν κυστεΐνη και ονομάζονται κυστεϊνικά λευκοτριένια (Cyst-LTs), C₄ (LTC₄), D₄ (LTD₄) και E₄ (LTE₄) [114, 115]. Τα Cyst-LTs παράγονται από πλήθος φλεγμονωδών κυττάρων, όπως τα ηωσινόφιλα, τα βασεόφιλα, τα κυψελιδικά μακροφάγα, τα μονοκύτταρα και τα μαστοκύτταρα και ανευρίσκονται δύο διαφορετικοί υποδοχείς για αυτά, οι Cyst-LT₁ και Cyst-LT₂. Ο βρογχόσπασμος φαίνεται να προκαλείται από επιλεκτική δράση στους Cyst-LT₁ υποδοχείς. Τα λευκοτριένια διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην παθογένεια του βρογχικού άσθματος και της αλλεργικής ρινίτιδας [114]. Οι δράσεις τους περιλαμβάνουν τη σύσπαση των λείων μυϊκών ιών, τη συμμετοχή στη διαδικασία της βλεννοκροσσωτής κάθαρσης, την προσέλκυση ηωσινοφίλων στους αεραγωγούς και την αύξηση την αγγειακής διαπερατότητας με αποτέλεσμα οίδημα του βλεννογόνου. Η χορήγηση αναστολέων της 5-λιποοξυγενάσης (5-LO) ή ειδικών ανταγωνιστών των υποδοχέων των

λευκοτριενίων έχουν θεραπευτικό ρόλο στη αντιμετώπιση του άσθματος και της αλλεργικής ρινίτιδας, καθώς τα φάρμακα αυτά αναστέλλουν την πρόιμη και την όψιμη φάση της αλλεργικής απάντησης [116,117]. Χρήση των ανταγωνιστών των Cyst-LTs απέφερε έως και 50% προστασία από τον βρογχόσπασμο μετά από άσκηση ή έκθεση σε αλλεργιογόνα.

B. Platelet Activating Factor (PAF): Ο PAF είναι ένας ισχυρός φλεγμονώδης μεσολαβητής που παράγεται από μια πληθώρα κυττάρων (ουδετερόφιλα, αιμοπετάλια, μονοκύτταρα, μακροφάγα, ενδοθηλιακά κύτταρα) και έχει πολλαπλές δράσεις (αιμοστατική, φλεγμονώδη, αποπτωτική κ.α.). Στους αεραγωγούς συμβάλλει στην προσέλκυση και ενεργοποίηση των ηωσινοφίλων και την επαγωγή της βρογχικής υπεραντιδραστικότητας, ενώ αποτελεί και ισχυρό βρογχοσυσπαστικό παράγοντα [77].

Γ. Προσταγλανδίνες: Οι προσταγλανδίνες παράγονται από το αραχιδονικό οξύ μέσω της δράσης της κυκλοοξυγενάσης και έχουν σημαντικές επιδράσεις στη λειτουργία των αεραγωγών. Χαρακτηριστικό παράδειγμα ένα βασικό μέλος της οικογένειας αυτής, η προσταγλανδίνη D₂, που παράγεται από τα μαστοκύτταρα, έχει βρογχοσυσπαστική δράση και εμπλέκεται στην ενεργοποίηση των Th₂ λεμφοκυττάρων στους αεραγωγούς [115].

Κυτταροκίνες

Ο ρόλος των κυτταροκινών αφορά γενικά στην οργάνωση της φλεγμονώδους απάντησης στο άσθμα και στον καθορισμό της βαρύτητάς του. Ενώ φλεγμονώδεις μεσολαβητές όπως η ισταμίνη και τα λευκοτριένια είναι σημαντικοί κατά την οξεία και υποξεία φάση της φλεγμονής, φαίνεται ότι οι κυτταροκίνες παίζουν έναν ουσιώδη ρόλο στη διατήρηση της χρόνιας φλεγμονής στις αλλεργικές παθήσεις [118]. Σχεδόν κάθε κύτταρο είναι ικανό να παράγει κυτταροκίνες υπό ορισμένες προϋποθέσεις: φλεγμονώδη κύτταρα (μακροφάγα, ιστιοκύτταρα, ηωσινόφιλα και λεμφοκύτταρα), δομικά κύτταρα (επιθηλιακά, ενδοθηλιακά, λεία μυϊκά κύτταρα) και άλλα. Οι κυτταροκίνες που συμμετέχουν ενεργά στην παθογένεια του βρογχικού άσθματος περιλαμβάνουν κατ' αρχάς αυτές που εκκρίνονται από T-λεμφοκύτταρα: IL-3 (εμπλέκεται στην επιβίωση των μαστοκυττάρων στους ιστούς), IL-4 (προάγει την παραγωγή IgE από τα B-λεμφοκύτταρα και την

έκφραση του VCAM-1 στα ενδοθηλιακά κύτταρα), IL-13 (συμμετέχει στη βρογχική υπεραντιδραστικότητα, στην υπερέκκριση βλέννης και στην αναδιαμόρφωση των αεραγωγών) και IL-5 (συμμετέχει στη διαφοροποίηση, επιβίωση και προσέλκυση των ηωσινοφίλων). Άλλες κυτταροκίνες όπως η IL- 1β, η IL- 6, ο TNF-α και ο GM-CSF απελευθερώνονται από διάφορα κύτταρα, συμπεριλαμβανομένων των μακροφάγων και των επιθηλιακών κυττάρων και ενισχύουν σημαντικά τη φλεγμονώδη διαδικασία. Τέλος, κυτταροκίνες όπως η ιντερφερόνη IFN -γ, η IL- 10, η IL- 12 και η IL- 18, έχουν προστατευτικό ρόλο και αναστέλλουν την αλλεργική φλεγμονώδη απάντηση [118,119,120].

Χυμοκίνες

Οι χυμοκίνες είναι κυτταροκίνες με χημειοτακτική δράση, συνεπώς ο κυρίαρχος ρόλος τους είναι η προσέλκυση φλεγμονωδών κυττάρων. Περισσότερες από 50 διαφορετικές χυμοκίνες έχουν αναγνωριστεί έως σήμερα και ενεργοποιούν πάνω από 20 διαφορετικούς υποδοχείς επιφανείας. Διακρίνονται σε τέσσερις υποκατηγορίες: CXC, CC, CX3C και XC. Στους αεραγωγούς των ασθματικών ασθενών ανευρίσκεται αυξημένη έκφραση κυρίως των: εοταξίνη, εοταξίνη -2, MCP -3, MCP -4 και CCR3, που συμμετέχουν στη διαδικασία της φλεγμονής όπως αναφέρθηκε και παραπάνω και συσχετίζονται με αυξημένη βρογχική υπεραντιδραστικότητα [121].

Μονοξείδιο του αζώτου (NO)/ Ενδοθηλίνες: Το NO παράγεται στα επιθηλιακά κύτταρα των μεγάλων αεραγωγών μέσω της δράσης της NO-συνθετάσης και έχει αγγειοδιασταλτική δράση. Αντίθετα, οι ενδοθηλίνες, που παράγονται κυρίως από τα κύτταρα του αγγειακού ενδοθηλίου, είναι ισχυρά αγγειοσυσταλτικά και βρογχοσυσπαστικά πεπτίδια [77].

3.4.2 Δομικές αλλαγές των αεραγωγών

Στους αεραγωγούς των ασθματικών ασθενών παρατηρείται ένα σύνολο χαρακτηριστικών δομικών αλλαγών (απόπτωση του επιθηλίου των αεραγωγών, υπερπλασία των λείων μυικών ινών και πάχυνση της λείας μυικής στιβάδας, πάχυνση της βασικής μεμβράνης, υπερπλασία των καλκοειδών κυττάρων με

υπερέκκριση βλέννης και νεοαγγειογένεση), οι οποίες αναφέρονται ως «αναδιαμόρφωση» των αεραγωγών (airway remodeling). Γενετικές επιδράσεις, έκθεση σε διάφορους παράγοντες κατά την εμβρυϊκή και νεογνική περίοδο καθώς και το μακροχρόνιο αποτέλεσμα της μη ελεγχόμενης φλεγμονής των αεραγωγών, συμβάλλουν στη διαδικασία της αναδιαμόρφωσης. Επιπλέον, οι ενεργοποιημένοι ινοβλάστες και τα λεία μυϊκά κύτταρα πιθανόν απελευθερώνουν προφλεγμονώδεις παράγοντες που ενισχύουν τις δομικές αυτές αλλαγές [122].

Η απόπτωση του επιθηλίου των αεραγωγών (αποκόλληση του επιθηλίου, Epithelial Detachment) είναι ένα χαρακτηριστικό γνώρισμα του remodeling που συντελείται στο άσθμα και συμβάλλει ουσιαστικά στην ανάπτυξη βρογχικής υπεραντιδραστικότητας. Εξηγείται με αυτόν τον τρόπο πώς διαφορετικοί μηχανισμοί που προκαλούν απόπτωση του επιθηλίου, όπως η έκθεση στο όζον, οι ιογενείς λοιμώξεις, διάφοροι χημικοί παράγοντες, η έκθεση σε αλλεργιογόνα, αλλά και η επίδραση φλεγμονωδών μεσολαβητών (ελεύθερες ρίζες οξυγόνου, πρωτεάσες, ηωσινοφιλικής προέλευσης παράγοντες) μπορεί να οδηγήσουν στην ανάπτυξη βρογχικής υπεραντιδραστικότητας. Η βλάβη του επιθηλίου συμβάλλει στην ανάπτυξη βρογχικής υπεραντιδραστικότητας με διαφορετικούς τρόπους, συμπεριλαμβανομένης της απώλειας της λειτουργίας του επιθηλιακού φραγμού, επιτρέποντας έτσι την ευκολότερη διείσδυση αλλεργιογόνων, την απώλεια ενζύμων (όπως η ουδέτερη ενδοπεπτιδάση) τα οποία χρησιμεύουν στην αποικοδόμηση μεσολαβητών φλεγμονής, καθώς και μέσω της άμεσης έκθεσης αισθητήριων νεύρων των αεραγωγών [122].

Η πάχυνση της βασικής μεμβράνης των κυττάρων οφείλεται ουσιαστικά σε υποεπιθηλιακή ίνωση, αποτέλεσμα της εναπόθεσης εξωκυττάρων συστατικών όπως είναι το κολλαγόνο τύπου I, III και V, διάφορες γλυκοπρωτεΐνες και πρωτεογλυκάνες κάτω από τη βασική μεμβράνη [123]. Κατά κύριο λόγο, Th2 κυτταροκίνες και κυρίως η IL-13 παράγονται από τα επιθηλιακά κύτταρα ή τα μακροφάγα κατά τη φλεγμονή των αεραγωγών και μέσω διάφορων μονοπατιών καταλήγουν στην ενεργοποίηση του TGFβ που έχει κυρίαρχη συμμετοχή στην αναδιαμόρφωση των αεραγωγών [124,125]. Ο ρόλος της ίνωσης στο άσθμα είναι ασαφής, καθώς υποεπιθηλιακή ίνωση έχει παρατηρηθεί ακόμη και στο ήπιο άσθμα στα αρχικά στάδια της νόσου, ακόμη και πριν την έναρξη συμπτωμάτων. Αποτέλεσμα της πάχυνσης της βασικής μεμβράνης είναι και η παγίδευση μορίων όπως οι αυξητικοί παράγοντες, η οποία οδηγεί σε αύξηση της ωσμωτικής πίεσης,

προκαλώντας περαιτέρω πάχυνση της μεμβράνης μέσω προσροφήσεως νερού και αύξησης του όγκου της και τελικά καταστολής του προστατευτικού ρόλου της που αφορά τη μετακίνηση φλεγμονωδών κυττάρων [126].

Η υπερτροφία και η υπερπλασία των λείων μυικών κυττάρων των βρόγχων αποτελεί επίσης γνώριμο στοιχείο της αναδιαμόρφωσης των αεραγωγών. Η αύξηση του όγκου των λείων μυικών ινών σε ασθματικούς είναι 3- 4 φορές μεγαλύτερη σε σύγκριση με τα φυσιολογικά άτομα και είναι περισσότερο έκδηλη στους μεγάλους αεραγωγούς. Το αποτέλεσμα αυτό οφείλεται στη δράση φλεγμονωδών μεσολαβητών, κυτταροκινών και αυξητικών παραγόντων όπως TGF- β , ο RANTES (Regulated on Activation, Normal T Cell Expressed Secreted), η CCL5, η Pro MMP-9 (Matrix Metalloproteinases 9), ο PDGF και η ενδοθηλίνη-1 [277]. Συνέπειες της αύξησης της μάζας των λείων μυικών ινών είναι η πάχυνση του τοιχώματος των βρόγχων, η επακόλουθη ελάττωση της διαμέτρου του αυλού των αεραγωγών και, στην περίπτωση της παρουσίας βρογχόσπασμου, η αύξηση των αντιστάσεων των αεραγωγών [127].

Η φλεγμονή των βρόγχων προκαλεί αγγειοδιαστολή, εξοίδηση πλάσματος και αύξηση της αγγειακής κυκλοφορίας στην περιοχή των βρόγχων. Παρατηρείται επίσης εκσεσημασμένη νέο-αγγειογένεση, η οποία οφείλεται στην απελευθέρωση, ιδιαίτερα από τα ηωσινόφιλα και τα μακροφάγα, αυξητικών παραγόντων όπως ο VEGF, ο TNF α , οι αγγειοποιητίνες-1 και 2 και ο PAF, που προάγουν επίσης την πάχυνση του τοιχώματος των αεραγωγών [122]. Ένα ακόμη στοιχείο των αγγειακών διαταραχών στο βρογχικό άσθμα είναι η «μικροαγγειακή διαρροή» [128]. Προκαλείται από μια πληθώρα φλεγμονωδών μεσολαβητών και συνεισφέρει στην παρουσία αυξημένων εκκρίσεων στις αναπνευστικές οδούς, στη μειωμένη βλεννοκροσσωτή κάθαρση, στο σχηματισμό νέων μεσολαβητών από το πλάσμα (π.χ. κινίνες) αλλά και στο οίδημα του βλεννογόνου, το οποίο συμβάλλει στη στένωση των αεραγωγών και στη βρογχική υπεραντιδραστικότητα. Η υπερέκκριση βλέννης οφείλεται στην αύξηση των καλκοειδών κυττάρων του αναπνευστικού επιθηλίου και των υποβλεννογόνιων αδένων και επιβαρύνεται από τη μείωση της αποτελεσματικότητας της βλεννοκροσσωτής κάθαρσης λόγω του αυξημένου ιξώδους της εκλούμενης βλέννης και της αδυναμίας πρόκλησης ικανοποιητικού βήχα λόγω πιθανής μεγάλης απόφραξης [129]. Συχνά, σε ασθματικές παροξύνσεις, αποβάλλονται ιξώδη πτύελα που περιέχουν σπειροειδείς σχηματισμούς αποτελούμενους από συμπυκνωμένη βλέννη (Curschmann's

spirals), σωρούς επιθηλιακών κυττάρων (Creola bodies) και κρυστάλλους Charcot-Leyden και τα οποία συμβάλλουν ουσιαστικά στον περιορισμό του εύρους των αεραγωγών [131]. Ο μηχανισμός αύξησης των καλυκοειδών κυττάρων είναι πιθανό να συμβαίνει με τη μετατροπή των μη κοκκιοποιητικών εκκριτικών κυττάρων σε καλυκοειδή κύτταρα μέσω της ενεργοποίησης ή/και της έκφρασης γονιδιακών στελεχών που εντοπίζονται στο χρωμόσωμα 11 και κωδικοποιούν την διαδικασία έκκρισης βλέννης [130]. Επίσης οι Th2 κυτοκίνες IL- 4, IL- 13 και IL- 9, φαίνεται ότι επάγουν την υπερέκκριση βλέννης.

Όλες οι παραπάνω δομικές αλλαγές, που συναποτελούν το remodeling των αεραγωγών, σχετίζονται με την ανάπτυξη βρογχικής υπεραντιδραστικότητας, που αποτελεί βασικό παθοφυσιολογικό χαρακτηριστικό του βρογχικού άσθματος. Η βρογχική υπεραντιδραστικότητα (Bronchial Hyperresponsiveness, BHR) που αναφέρεται και ως υπεραντιδραστικότητα των αεραγωγών είναι η εκδήλωση εκσεσημασμένου βρογχόσπασμου ως απάντηση σε μια ποικιλία εισπνεόμενων παραγόντων, τόσο χημικών όσο και φυσικών. Ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι η εμμένουσα παρουσία των στοιχείων αναδιαμόρφωσης των αεραγωγών σχετίζεται με εμμένουσα βρογχική υπεραντιδραστικότητα, ανεξαρτήτως της παρουσίας χρόνιας φλεγμονής [132]. Η βρογχική υπεραντιδραστικότητα φαίνεται ότι σχετίζεται επίσης με την αυξημένη δραστηριότητα των χολινεργικών νευρώνων των αεραγωγών και με την απελευθέρωση νευροτροφικών παραγόντων που, όπως προαναφέρθηκε, προάγουν την υπερπλασία και υπερδραστηριότητα των νευρικών ιών και την υπερτροφία των λείων μυϊκών ιών, οδηγώντας σε στένωση των αεραγωγών [133, 134].

3.5 Διάγνωση της νόσου

Η διάγνωση του βρογχικού άσθματος θα πρέπει να βασίζεται τόσο στην εκδήλωση συμβατών με τη νόσο συμπτωμάτων όσο και στην παρουσία μεταβαλλόμενης απόφραξης της ροής του αέρα στους αεραγωγούς.

3.5.1 Κλινική εικόνα- Φυσική εξέταση

Η κλινική εικόνα περιλαμβάνει ως κυριότερα συμπτώματα τη δύσπνοια, το συριγμό (wheezing), το βήχα και το συσφικτικό αίσθημα στην περιοχή του στήθους. Τα συμπτώματα αυτά συχνά εμφανίζουν ένα διαλείποντα και μεταβαλλόμενο σε ένταση χαρακτήρα και εκλύονται μετά από έκθεση σε διάφορα ερεθίσματα όπως τα εισπνεόμενα αλλεργιογόνα, ο καπνός του τσιγάρου, οι έντονες οσμές, το ψύχος οι ρύποι της ατμόσφαιρας και άλλοι βλαπτικοί παράγοντες, μετά από ιογενείς λοιμώξεις του αναπνευστικού ή ακόμη και μετά από φυσική δραστηριότητα. Ιδιαίτερο χαρακτηριστικό του βρογχικού άσθματος είναι η επιδείνωση των συμπτωμάτων κατά τη διάρκεια της νύχτας, πιθανώς λόγω ορμονικών και νευρικών μηχανισμών (κιρκάδιος ρυθμός έκκρισης ορμονών, χολινεργική δραστηριότητα κατά τη διάρκεια του 24ώρου) ή λόγω μειωμένης ενδογενούς αντιφλεγμονώδους αντίδρασης κατά τις ώρες αυτές [135]. Συνοψίζοντας λοιπόν, τα βασικά στοιχεία του ιστορικού και της κλινικής εικόνας του ασθενούς που κατευθύνουν υπέρ της διάγνωσης του βρογχικού άσθματος είναι τα εξής [1]:

- Παρουσία περισσότερων του ενός συμπτωμάτων (συριγμός, δύσπνοια, βήχας, αίσθημα βάρους στο θώρακα), ειδικά σε ενήλικες
- Επιδείνωση των συμπτωμάτων τη νύχτα ή νωρίς το πρωί
- Μεταβλητότητα των συμπτωμάτων τόσο κατά την πάροδο του χρόνου (ακόμη και κατά τη διάρκεια της ίδιας ημέρας) όσο και σε ένταση
- Πυροδότηση των συμπτωμάτων από ιογενείς λοιμώξεις, άσκηση, έκθεση σε αλλεργιογόνα, ρύπους, καπνό τσιγάρου ή μυρωδιές, αλλαγές στον καιρό ή ακόμη και μετά από γέλιο

Ιδανικά ο ασθενής θα πρέπει να ελέγχεται για την παρουσία των συμπτωμάτων αυτών από την πρώτη κιόλας εκτίμησή του, καθώς αυτά μπορεί να μεταβάλλονται αυτόματα ή μετά από θεραπευτική αγωγή.

Σημαντικό ρόλο στη διάγνωση της νόσου κατέχει και η παρουσία αλλεργικών διαταραχών (αλλεργική ρινίτιδα, ατοπική δερματίτιδα), καθώς και το οικογενειακό ιστορικό άσθματος ή άλλων αλλεργικών εκδηλώσεων. Στις περιπτώσεις αυτές αυξάνεται σημαντικά η πιθανότητα να οφείλεται σε άσθμα η συμπτωματολογία του ασθενούς.

Ένα απλό ερωτηματολόγιο αναγνώρισης της νόσου, το Asthma Screening Questionnaire (ASQ), που αποτελείται από 6 ερωτήσεις, έχει αναπτυχθεί για να βοηθήσει στη διάγνωση του άσθματος. Ένα όριο συνολικής βαθμολογίας ≥ 4 συνδυάζει την υψηλότερη ευαισθησία (96%) και ειδικότητα (100%) [146].

Σημαντικές ερωτήσεις για τη διαπίστωση ύπαρξης άσθματος είναι οι ακόλουθες :

- Έχει ή είχε ο ασθενής επεισόδια συρίττουσας αναπνοής;
- Έχει ο ασθενής έντονο βήχα κατά τη διάρκεια της νύχτας;
- Έχει ο ασθενής συριγμό ή βήχα μετά από άσκηση;
- Έχει ο ασθενής επεισόδια συριγμού, αίσθημα σύσφιξης στο στήθος ή βήχα μετά από έκθεση σε αεροαλλεργιογόνα ή/και ατμοσφαιρικούς ρύπους;
- Ένα κοινό κρυολόγημα « προσβάλλει συχνά τους πνεύμονες» και κρατάει συνήθως περισσότερο από 10 μέρες;
- Βελτιώνονται τα συμπτώματα με την κατάλληλη αντιασθματική θεραπεία;

Φυσική Εξέταση

Η κλινική εξέταση σε ασθενείς με άσθμα δεν παρουσιάζει συνήθως ιδιαίτερα ευρήματα. Το πιο συχνό σημείο είναι ο εκπνευστικός συριγμός αλλά είναι δυνατό να απουσιάζει ή να είναι ακουστός μόνο στην έντονη εκπνοή. Σημειώνεται επίσης ότι ο εκπνευστικός συριγμός μπορεί να είναι απών κατά τη διάρκεια σοβαρών παροξύνσεων της νόσου λόγω έντονου βρογχόσπασμου και σημαντικής μείωσης της ροής του αέρα («σιωπηλός πνεύμων»). Βέβαια στην περίπτωση αυτή ανευρίσκονται άλλα κλινικά σημεία όπως για παράδειγμα η ταχύπνοια, η δυσκολία στην ομιλία, η κυάνωση και η χρήση επικουρικών αναπνευστικών μυών. Ακόμη, ο συριγμός θα πρέπει να διαφοραδιαγνωστεί από άλλες παθολογικές καταστάσεις όπως η ΧΑΠ, οι λοιμώξεις του αναπνευστικού, η τραχειομαλακία ή η εισρόφηση ξένου σώματος. Κατά την κλινική εξέταση δε θα πρέπει να παραλείπεται και το ανώτερο αναπνευστικό καθώς μπορεί να αναδειχθεί η παρουσία αλλεργικής ρινίτιδας ή ρινικών πολυπόδων.

4.5.2 Λειτουργικός – Εργαστηριακός Έλεγχος

Ο λειτουργικός έλεγχος του αναπνευστικού αποτελεί, μετά την κλινική εικόνα, το δεύτερο στοιχείο που θα πρέπει να ελέγχεται σε έναν ασθενή με υποψία

βρογχικού άσθματος. Εκτός του ότι είναι απαραίτητος για τη διάγνωση της νόσου, προσφέρει πληροφορίες για τη βαρύτητα αλλά και την αναστρεψιμότητα του περιορισμού της ροής αέρα στους αεραγωγούς. Πάντως είναι συχνό φαινόμενο η βαρύτητα της απόφραξης των αεραγωγών να μη συμβαδίζει με τη βαρύτητα των συμπτωμάτων του ασθενούς και το αντίστροφο. Φυσικά ο έλεγχος της πνευμονικής λειτουργίας θα πρέπει να διενεργείται από επαρκώς εκπαιδευμένο προσωπικό.

Λειτουργικός έλεγχος αναπνευστικού

Όπως προαναφέρθηκε, οι ασθενείς με άσθμα παρουσιάζουν διακύμανση στη βαρύτητα του περιορισμού της εκπνεόμενης ροής του αέρα κατά την πάροδο του χρόνου, από πολύ σοβαρή μέχρι ήπια ή και απύσχα (φυσιολογικός λειτουργικός έλεγχος). Το πτωχά ελεγχόμενο άσθμα συσχετίζεται με μεγαλύτερη μεταβλητότητα στην πνευμονική λειτουργία από ότι η καλά ελεγχόμενη νόσος [136].

Κατά τη διάγνωση του βρογχικού άσθματος ελέγχονται δύο παράμετροι βάσει της σπιρομέτρησης: η απόφραξη της ροής του εκπνεόμενου αέρα και η μεταβλητότητα-αναστρεψιμότητα αυτής. Η διάγνωση της απόφραξης των αεραγωγών τίθεται βάσει της σπιρομέτρησης με ανεύρεση του λόγου FEV1/FVC (FEV1: Forced expiratory volume in 1 second, Βίαια εκπνεόμενος όγκος το πρώτο δευτερόλεπτο- FVC: Forced Vital Capacity, Βίαια εκπνεόμενη ζωτική χωρητικότητα) μικρότερου του 0,75-0,80 για τους ενήλικες και μικρότερου του 0,90 στα παιδιά. Τα όρια αυτά έχουν καθοριστεί βάσει δημογραφικών δεδομένων και πλέον τα περισσότερα σπιρόμετρα περιέχουν προβλεπόμενες τιμές των λειτουργικών παραμέτρων με βάση την ηλικία, το φύλο, το ύψος και το βάρος.

Εφόσον επιβεβαιωθεί αποφρακτικό σύνδρομο στη σπιρομέτρηση, ελέγχεται η «αναστρεψιμότητα» του περιορισμού στην εκπνεόμενη ροή του αέρα μέσω του FEV1 ή της μέγιστης εκπνεόμενης ροής αέρα (peak expiratory flow, PEF). Στην περίπτωση που τίθεται κλινικά υποψία βρογχικού άσθματος σε έναν ασθενή, ο έλεγχος της αναστρεψιμότητας είναι απαραίτητος για την επιβεβαίωση της διάγνωσης. Ο όρος «αναστρεψιμότητα» αφορά γενικά στη βελτίωση τόσο των συμπτωμάτων όσο και της αναπνευστικής λειτουργίας και η διακύμανση αυτή μπορεί να παρατηρείται είτε εντός της ίδιας ημέρας, είτε από μέρα σε μέρα, είτε από επίσκεψη σε επίσκεψη, είτε εποχιακά, είτε κατά τη διενέργεια της δοκιμασίας

αναστρεψιμότητας. Όσον αφορά στο λειτουργικό έλεγχο του αναπνευστικού η «αναστρεψιμότητα» αναφέρεται στη ταχεία βελτίωση του FEV₁ (ή και της PEF) που υπολογίζεται μετά από μερικά λεπτά από την εισπνοή ενός ταχέως δρώντος βρογχοδιασταλτικού φαρμάκου. Μπορεί ακόμη να αναφέρεται σε πιο μακρόχρονη βελτίωση, ύστερα από μέρες ή εβδομάδες από την έναρξη κατάλληλης ρυθμιστικής αγωγής. Η αναστρεψιμότητα της απόφραξης των αεραγωγών μπορεί να δειχθεί με έναν από τους παρακάτω τρόπους [1]:

- Αύξηση στον FEV₁ >12% και >200 mL κατά απόλυτη τιμή, 10-15 λεπτά μετά τη χορήγηση βρογχοδιασταλτικού βραχείας δράσης (200-400mcg εισπνεόμενης σαλβουταμόλης), εφόσον ο ασθενής δεν έχει λάβει άλλο βρογχοδιασταλτικό βραχείας δράσης για τουλάχιστον 4 ώρες και μακράς δράσης για τουλάχιστον 15 ώρες πριν τη δοκιμασία) [137]
- Αύξηση στον FEV₁ >12% και >200 mL κατά απόλυτη τιμή (ή στην PEF >20%) από την αρχική τιμή, ύστερα από 4 εβδομάδες θεραπείας, σε περίοδο χωρίς συμπτώματα αναπνευστικής λοίμωξης.
- Θετική δοκιμασία πρόκλησης: Πτώση στον FEV₁ ≥20% από την αρχική τιμή ύστερα από τη χορήγηση σταθερών δόσεων μεταχολίνης ή ισταμίνης, ή ≥15% ύστερα από τυποποιημένες δοκιμασίες υπεραερισμού, χορήγησης υπέρτονου χλωριούχου νατρίου ή μαννιτόλης.
- Θετική δοκιμασία άσκησης: Πτώση στον FEV₁ >10% και >200 mL κατά απόλυτη τιμή από την αρχική τιμή.
- Διακύμανση των παραμέτρων του λειτουργικού ελέγχου πέραν του φυσιολογικού, όταν επαναλαμβάνεται χρονικά είτε σε διαφορετικές επισκέψεις στο ιατρείο είτε σε τακτικούς ελέγχους στο σπίτι για τουλάχιστον 2 εβδομάδες [για τις τιμές της PEF που μετρούνται πρωί και βράδυ καθημερινά, υπολογίζεται η διακύμανση ως: {(μέγιστη τιμή) – (ελάχιστη τιμή) / μέσος όρος των τιμών της ημέρας} x100 να είναι >10% για τουλάχιστον 2 εβδομάδες].

Ο FEV₁ θεωρείται πιο αξιόπιστος δείκτης πνευμονικής λειτουργίας από την PEF, ωστόσο, εάν χρησιμοποιείται η PEF, θα πρέπει να εκτιμάται με την ίδια συσκευή μέτρησης κάθε φορά διότι οι μετρήσεις ενδέχεται να διαφέρουν έως και 20% από συσκευή σε συσκευή [138]. Στην περίπτωση που ο FEV₁ βρίσκεται εντός του ορίου των προβλεπόμενων τιμών όταν ο ασθενής βιώνει συμπτώματα που συμβαδίζουν με τη νόσο του άσθματος, τότε μειώνεται η πιθανότητα τα

συμπτώματα να αφορούν στη νόσο. Ωστόσο, σε ασθενείς που έχουν ως αρχική τιμή $FEV_1 > 80\%$ του προβλεπόμενου μπορεί να παρατηρηθεί σημαντική αύξηση των λειτουργικών παραμέτρων του αναπνευστικού ($> 100\%$ των προβλεπόμενων τιμών) μετά τη χορήγηση είτε βρογχοδιασταλτικού φαρμάκου βραχείας δράσης είτε θεραπείας ελέγχου του άσθματος. Οι προβλεπόμενες τιμές (ειδικά για την PEF) έχουν κάποιους περιορισμούς, ώστε για τον κάθε ασθενή να πρέπει να εξατομικεύεται η καλύτερη τιμή του λειτουργικού ελέγχου (καλύτερη ατομική) και να μην χρησιμοποιείται αυτή που θεωρείται «φυσιολογική» βάσει της προβλεπόμενης τιμής.

Άλλη παράμετρος που χρησιμοποιείται για την εκτίμηση της απόφραξης των αεραγωγών είναι η ροή στο μέσο της εκπνοής που υπολογίζεται μεταξύ του 25% και 75% της τιμής της FVC και καλείται $FEF_{25\%-75\%}$ (Forced Expiratory Flow 25%-75%). Ο δείκτης αυτός θεωρείται μεν πιο ευαίσθητος από τον FEV_1 στην ανάδειξη της απόφραξης των μικρών αεραγωγών και είναι χρήσιμος στην πρόβλεψη της βρογχικής υπεραντιδραστικότητας [139], αλλά έχει περιορισμένη κλινική σημασία λόγω έλλειψης αποδεκτών τιμών αναφοράς.

Όσον αφορά στους στατικούς όγκους του λειτουργικού ελέγχου, ο RV, η FRC και η TLC πιθανόν να ανευρίσκονται αυξημένοι λόγω της υπερδιάτασης και της παγίδευσης αέρα που παρατηρούνται στο άσθμα. Η μέθοδος εκλογής για τον υπολογισμό τους είναι η πληθυσμογραφία καθώς ο έλεγχος με χρήση αερίου επηρεάζεται από την ανομοιογένεια της κατανομής του αερισμού που παρατηρείται στη νόσο και έτσι πιθανόν να τους υπερεκτιμά. Η διαχυτική ικανότητα στο άσθμα είναι συνήθως φυσιολογική ή ελαφρώς αυξημένη και αυτό οφείλεται κυρίως στις καλά αεριζόμενες ανώτερες πνευμονικές ζώνες και στους αυξημένους πνευμονικούς όγκους. Συνεπώς, η ανεύρεση μειωμένης διαχυτικής ικανότητας σε έναν ασθενή που διερευνάται για άσθμα θα πρέπει να εγείρει την υποψία εναλλακτικών διαγνώσεων ή συνυπάρχουσας πνευμονικής νόσου [140].

Τέλος, η μείωση των παραμέτρων του λειτουργικού ελέγχου κατά τη διάρκεια μιας λοίμωξης του αναπνευστικού παρατηρείται σε υγιή άτομα και σε ασθενείς με διάφορα νοσήματα του αναπνευστικού και συνεπώς δεν αποτελεί κατ' ανάγκη ενδεικτικό κριτήριο ότι το άτομο αυτό πάσχει από άσθμα.

Άλλες διαγνωστικές δοκιμασίες

Δοκιμασίες πρόκλησης

Όπως προαναφέρθηκε, είναι πιθανό κάποιοι ασθενείς, κατά την αρχική τους εκτίμηση, να παρουσιάζουν φυσιολογική σπιρομέτρηση. Οι δοκιμασίες βρογχικής πρόκλησης είναι ένας τρόπος να δειχθεί στους ασθενείς αυτούς η μεταβλητότητα της απόφραξης των αεραγωγών. Οι δοκιμασίες διακρίνονται σε άμεσες και έμμεσες. Κατά την άμεση πρόκληση χρησιμοποιείται ένας παράγοντας (μεταχολίνη ή ισταμίνη) που προκαλεί βρογχόσπασμο μέσω άμεσης δράσης επί των λείων μυϊκών ινών. Η χρήση της μεταχολίνης έχει επικρατήσει έναντι της ισταμίνης και υπάρχουν δύο μέθοδοι για τη χορήγηση. Η πρώτη περιλαμβάνει την εισπνοή επί 2 λεπτά νεφελοποιούμενης μεταχολίνης στον σταθερό αναπνεόμενο όγκο αέρα του ασθενούς και η δεύτερη πραγματοποιείται με 5 βαθιές εισπνοές από ένα σταθερό δοσομετρητή, ακολουθούμενες από κράτημα της αναπνοής επί 5 δευτερόλεπτα. Γενικά προτιμάται η πρώτη μέθοδος γιατί αποφεύγεται το φαινόμενο της βρογχοδιαστολής που είναι γνωστό ότι προκαλείται από τις βαθιές εισπνοές και μπορεί να καλύψει έως ένα βαθμό τη βρογχοσυσπαστική δράση της μεταχολίνης [141]. Η χορηγούμενη δόση μεταχολίνης αυξάνεται διαρκώς κάθε 5 λεπτά έως ότου ο FEV₁ να μειωθεί περισσότερο από 20% της αρχικής του τιμής. Η συγκέντρωση της νεφελοποιούμενης μεταχολίνης που προκαλεί αυτή την πτώση στον FEV₁ ονομάζεται PC₂₀ (provocative concentration) στην πρώτη μέθοδο, ενώ στη δεύτερη υπολογίζεται η αθροιστική δόση PD₂₀ (provocative cumulative dose) που προκάλεσε την ίδια πτώση στον FEV₁. Τιμές της PC₂₀ < 16mg/ml είναι συμβατές με οριακή βρογχική υπεραντιδραστικότητα, ενώ μικρότερες από 4mg/ml με ήπια και μικρότερες από 1mg/ml με μέτρια προς σοβαρή βρογχική υπεραντιδραστικότητα [142]. Βέβαια, χρειάζεται ιδιαίτερη προσοχή η κλινική ερμηνεία του αποτελέσματος της δοκιμασίας πρόκλησης με μεταχολίνη καθώς πρόκειται για μια δοκιμασία με υψηλή ευαισθησία αλλά χαμηλή ειδικότητα [143]. Αρνητική δοκιμασία σε έναν ασθενή, που δε λαμβάνει θεραπεία, μπορεί να αποκλείσει την παρουσία άσθματος. Αντίθετα, θετική δοκιμασία δεν ισοδυναμεί με διάγνωση άσθματος καθώς υπάρχουν ασθματικοί ασθενείς με αρνητική δοκιμασία πρόκλησης και επίσης θετική δοκιμασία πρόκλησης μπορεί να παρατηρηθεί και σε άλλες διαταραχές όπως η ΧΑΠ, η αλλεργική ρινίτιδα και η κυστική ίνωση.

Οι δοκιμασίες έμμεσης πρόκλησης αφορούν στην άσκηση, στον ισοκαπνικό υπεραερισμό με ξηρό ισοκαπνικό αέρα και στην εισπνοή υπέρτονου χλωριούχου νατρίου, μαννιτόλης και μονοφωσφορικής αδενοσίνης (AMP). Ο μηχανισμός πρόκλησης βρογχόσπασμου συνίσταται στην επαγωγή φλεγμονωδών μεσολαβητών που προκαλούν τελικά σύσπαση των λείων μυικών ινών.

Η άσκηση προκαλεί στένωση των αεραγωγών λόγω απώλειας νερού με εξάτμιση από την επιφάνεια των αεραγωγών διεγείροντας την απελευθέρωση μεσολαβητών. Η δοκιμασία πρόκλησης με άσκηση γίνεται είτε σε εργαστήριο εργοσπιρομετρίας με άσκηση σταθερού έργου σε τάπητα ή εργομετρικό ποδήλατο, είτε με ελεύθερη άσκηση σε πραγματικές συνθήκες άθλησης. Στο γενικό πληθυσμό το επίπεδο της άσκησης καθορίζεται έτσι ώστε να επιτυγχάνεται στα πρώτα 2–4 λεπτά της άσκησης καρδιακή συχνότητα >80–90% της προβλεπόμενης μέγιστης τιμής, αλλά στους αθλητές υψηλών επιδόσεων καλό είναι να επιδιώκεται καρδιακή συχνότητα >95% της προβλεπόμενης μέγιστης τιμής καθώς με αυξανόμενη ένταση άσκησης αυξάνει πολύ η ευαισθησία της δοκιμασίας. Ο FEV1 μετριέται πριν και σε 5, 10, 15 και 30 λεπτά μετά την άσκηση. Με πτώση στον FEV1 $\geq 10\%$ η δοκιμασία θεωρείται θετική [148].

Στην πρόκληση με μαννιτόλη ή με εισπνοή υπέρτονου χλωριονατριούχου ορού δημιουργείται υπέρτονο περιβάλλον στην επιφάνεια των αεραγωγών, αναπαράγοντας έτσι το βασικό μηχανισμό πρόκλησης βρογχόσπασμου κατά την άσκηση. Τον ίδιο μηχανισμό αναπαράγει και ο εκούσιος ισοκαπνικός υπεραερισμός. Η εισπνοή μαννιτόλης σε σκόνη δρα με τον ίδιο τρόπο όπως ο υπέρτονος φυσιολογικός ορός. Η αρχική δόση είναι 5 mg και προοδευτικά διπλασιάζεται έως τα 160mg. Ένα λεπτό μετά από κάθε εισπνοή ακολουθεί σπιρομέτρηση και η δοκιμασία θεωρείται θετική όταν επιτυγχάνεται πτώση στον FEV1 κατά 15% (ή 10% πτώση μεταξύ δύο διαδοχικών δόσεων), ή όταν έχει χορηγηθεί αθροιστική δόση 635mg [149]. Εισπνοή υπέρτονου νατριοχλωριούχου ορού από νεφελοποιητή προκαλεί βρογχόσπασμο σε ευαίσθητα άτομα αυξάνοντας επίσης την ωσμωτικότητα στην επιφάνεια των αεραγωγών. Αρχικά ο εξεταζόμενος εισπνέει εκνέφωμα διαλύματος υπέρτονου χλωριονατριούχου ορού 4.5% για 30 δευτερόλεπτα και μετά από ένα λεπτό ακολουθεί σπιρομέτρηση. Η διαδικασία επαναλαμβάνεται με προοδευτική αύξηση της διάρκειας έκθεσης (1, 2, 4, 8 λεπτά) μέχρι πτώσης του FEV1 $\geq 15\%$ ή έως 15,5 λεπτά συνολικής έκθεσης

(συνολικά 22.5 mL υπέρτονου διαλύματος) χωρίς σημαντική μείωση του FEV1 [149].

Στον εκούσιο ισοκαπνικό υπεραερισμό (eucapnic voluntary hyperpnea) εισπνέεται ξηρός αέρας για 6 λεπτά με περιεκτικότητα 4,5–5% σε CO₂, με ορισμένο κατά λεπτό αερισμό ο οποίος υπολογίζεται από τον προ της δοκιμασίας FEV1 (35×FEV1). Το CO₂ στο μείγμα προστίθεται για την αποφυγή υποκαπνίας, που μπορεί επίσης να ευνοήσει την εμφάνιση βρογχόσπασμου. Σπιρομέτρηση εκτελείται πριν από την πρόκληση και στα 3, 5, και 10 λεπτά μετά το τέλος της πρόκλησης. Η απάντηση υπολογίζεται από τον FEV1 μετά την πρόκληση διαιρούμενο με αυτόν προ της δοκιμασίας και εκφράζεται ως ποσοστό. Το όριο για μια θετική απάντηση ορίζεται ως πτώση του FEV1 κατά 10..% [149].

Το AMP εισπνεόμενο μετατρέπεται σε αδενοσίνη. Χορηγείται σε προοδευτικά διπλασιαζόμενες δόσεις σε ένα εύρος συγκεντρώσεων από 0,09 έως 800 mg/mL. Η δοκιμασία θεωρείται θετική όταν υπάρχει πτώση του FEV1 κατά 20%. Τέλος για την διάγνωση του επαγγελματικού άσθματος μπορεί να βοηθήσει η πρόκληση με εισπνοή του ύποπτου παράγοντα, σπανίως όμως χρησιμοποιείται, διότι απαιτεί εξειδικευμένο προσωπικό και μπορεί να προκαλέσει επικίνδυνο για τη ζωή βρογχόσπασμο.

Απόλυτες αντενδείξεις των δοκιμασιών πρόκλησης είναι οι εξής:

- Σοβαρή απόφραξη των αεραγωγών με FEV₁ <60% τις προβλεπόμενης τιμής
- Σοβαρή αρτηριακή υπέρταση με ΣΑΠ>200mmHg ή/και ΔΑΠ>100mmHg
- Οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου ή αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο το τελευταίο τρίμηνο
- Γνωστό αορτικό ανεύρυσμα (>4,5cm).

Σχετικές αντενδείξεις θεωρούνται η αδυναμία εκτέλεσης σπιρομέτρησης, ο θηλασμός και η εγκυμοσύνη.

Μη επεμβατικές μέθοδοι προσδιορισμού φλεγμονωδών δεικτών

Οι μη επεμβατικές μέθοδοι περιλαμβάνουν τη μέτρηση των φλεγμονωδών κυττάρων στα προκλητά πτύελα των ασθματικών ασθενών με σκοπό τον

καθορισμό του είδους της φλεγμονής (ηωσινοφιλικής ή ουδετεροφιλικής) [144], τον έλεγχο του συμπυκνώματος του εκνεόμενου αέρα και τη μέτρηση του μονοξειδίου του αζώτου (FeNO) στον εκπνεόμενο αέρα [145].

Η προκλητή απόχρεμψη αντανακλά τη φλεγμονή των κατωτέρων αεραγωγών καλύτερα από οποιοδήποτε άλλο υγρό του σώματος και θεωρείται καλή εναλλακτική λύση της βρογχοσκόπησης. Η μέτρηση κυττάρων, όπως είναι τα ηωσινόφιλα, είναι άμεση στα πτύελα και έχει καλή συσχέτιση με δεδομένα από βρογχικές βιοψίες και BAL [150]. Σύμφωνα με την BTS αυξημένο ποσοστό ηωσινοφίλων στα πτύελα >2% έχει βρεθεί στο 70-80% των ασθενών με άσθμα που δε λαμβάνουν θεραπεία, αν και αυτό δεν είναι ειδικό για το άσθμα, αλλά μάλλον ενδεικτικό [151]. Γενικά η χρήση των προκλητών πτυέλων ως ρουτίνα στη διαγνωστική προσέγγιση του άσθματος δε συνιστάται.

Το FeNO έχει αποδειχθεί ότι σχετίζεται πολύ καλά με τον αριθμό των ηωσινοφίλων στα πτύελα, στο BAL και στις βρογχικές βιοψίες. Αποτελεί μέτρηση με υψηλή επαναληψιμότητα και χωρίς ιδιαίτερη ημερήσια διακύμανση, σε φυσιολογικά και ασθματικά άτομα [152]. Το FeNO προέρχεται από την L-αργινίνη μετά τη δράση της NO συνθετάσης, της οποίας τρεις τύποι εκφράζονται κυρίως στους νευρώνες, στα μακροφάγα, ηωσινόφιλα, επιθηλιακά και ενδοθηλιακά κύτταρα του ανθρώπου: NOS1 νευρωνική, NOS2 επαγωγίμη, NOS3 ενδοθηλιακή. Είναι αυξημένο σε ασθματικούς ασθενείς που δεν λαμβάνουν θεραπεία με κορτικοστεροειδή, ενώ μειώνεται γρήγορα και με δοσοεξαρτώμενο τρόπο μετά τη χορήγηση κορτικοστεροειδών [153]. Παρόλα αυτά, υψηλές τιμές FeNO ανευρίσκονται και σε άλλες διαταραχές όπως η αλλεργική ρινίτιδα, η ηωσινοφιλική βρογχίτιδα και η ατοπία. Επίσης, ορισμένοι φαινότυποι άσθματος (για παράδειγμα ο ουδετεροφιλικός) παρουσιάζουν μειωμένες τιμές FeNO. Ακόμη, τα επίπεδά του επηρεάζονται από διάφορους παράγοντες όπως το κάπνισμα (μείωση), ο βρογχόσπασμος και η πρόιμη αλλεργική αντίδραση (μείωση), καθώς και οι ιογενείς λοιμώξεις του αναπνευστικού (μείωση ή αύξηση). Σε ασθματικούς ασθενείς (μη καπνιστές), χωρίς ειδικά συμπτώματα από το αναπνευστικό, τιμές FeNO>50 ppb συσχετίστηκαν με καλή ανταπόκριση στα εισπνεόμενα στεροειδή. Ωστόσο δεν υπάρχουν μακροχρόνιες μελέτες για την αξιολόγηση της απόσυρσης των εισπνεόμενων στεροειδών σε ασθενείς με χαμηλές τιμές FeNO. Συμπερασματικά το FeNO παρέχει ενδείξεις για τη φλεγμονή των αεραγωγών, ωστόσο δε μπορεί να διαγνώσει ή να αποκλείσει το βρογχικό άσθμα και πολύ

περισσότερο να καθορίσει τη χρήση εισπνεόμενων στεροειδών σε διαγνωσμένους ασθματικούς ασθενείς [145].

Το συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα (EBC) είναι το αποτέλεσμα της ψύξης και συμπύκνωσης σταγονιδίων που προέρχονται από το υδάτινο στρώμα που επαλείφει τους αεραγωγούς και συλλέγονται μέσω του εκπνεόμενου αέρα στην κατάλληλη συσκευή, περιέχει δε πτητικά μόρια και μόρια που μεταφέρονται με τα συμπαρασυρόμενα σταγονίδια [154]. Διάφοροι φλεγμονώδεις παράγοντες του άσθματος έχουν αξιολογηθεί στο EBC και έχουν ανευρεθεί αυξημένοι, όπως τα κυστεϊνικά λευκοτριένια (LTC4, LTD4, LTE4), τα προϊόντα μεταβολισμού του NO, η IL-4 και η αδενοσίνη. Παρ' όλα αυτά δε μπορούν να εφαρμοστούν στη κλινική πράξη [155]. Η μέτρηση του pH στο EBC πλεονεκτεί στο ότι είναι χρονικά άμεση και έχει βρεθεί ότι είναι μειωμένο σε ασθενείς με άσθμα. Φαίνεται μάλιστα ότι εξαρτάται από την υποκείμενη ηωσινοφιλική φλεγμονή και τα προϊόντα μεταβολισμού του NO. Παρά την αρχική θετική κατεύθυνση πρόσφατες μελέτες αμφισβητούν την χρησιμότητά του στη καθημερινή κλινική πράξη [156, 157].

Ακτινολογικός έλεγχος

Η απλή ακτινογραφία θώρακος συνήθως είναι φυσιολογική σε ασθενείς με άσθμα σε σταθερή κατάσταση και έχει νόημα για τον αποκλεισμό άλλων νοσημάτων. Σε φάση παρόξυνσης της νόσου μπορεί να παρατηρηθεί εικόνα υπερδιάτασης με επιπέδωση των ημιδιαφραγμάτων και αύξηση των μεσοπλεύριων διαστημάτων.

Η αξονική τομογραφία θώρακος υψηλής ευκρίνειας (HRCT) ενδείκνυται επίσης στη διαφοροδιάγνωση του άσθματος από άλλες διαταραχές. Συνήθη ακτινολογικά ευρήματα στην περίπτωση του άσθματος αποτελούν η πάχυνση του τοιχώματος των βρόγχων, η απόφραξη των βρόγχων από παχύρευστες εκκρίσεις και η απεικόνιση του παρεγχύματος δίκην μωσαϊκού ως αποτέλεσμα της παγίδευσης αέρα.

Αιματολογικές εξετάσεις

Ο εργαστηριακός έλεγχος συνήθως χρησιμοποιείται για τον αποκλεισμό άλλων νοσημάτων όπως οι αγγειϊτιδες (αξιολόγηση των ANCA αντισωμάτων για τον αποκλεισμό Churg-Strauss) ή οι λοιμώξεις αναπνευστικού, αλλά και για την λήψη θεραπευτικών αποφάσεων, όπως η αξιολόγηση των επιπέδων της ολικής IgE για

την έναρξη anti-IgE αγωγής. Πιθανό εύρημα στη γενική εξέταση αίματος σε κάποιους ασθενείς είναι η ηωσινοφιλία, η οποία σε κάποιες περιπτώσεις συσχετίζεται με την ηωσινοφιλία των αεραγωγών.

Ατοπία και Δερματικές αλλεργικές δοκιμασίες

Η παρουσία ατοπίας σε ασθενή με κλινική υποψία άσθματος ενισχύει την πιθανότητα τα συμπτώματά του να οφείλονται στη νόσο αυτή, αλλά η ατοπία δεν αποτελεί ειδικό χαρακτηριστικό του άσθματος. Η παρουσία ατοπίας μπορεί να εκτιμηθεί είτε με τις ειδικές δερματικές αλλεργικές δοκιμασίες είτε με τη μέτρηση των επιπέδων των ειδικών IgE αντισωμάτων στον ορό. Οι δερματικές αλλεργικές δοκιμασίες σε κοινά περιβαλλοντικά αλλεργιογόνα, όταν διενεργούνται από καταρτισμένο προσωπικό και με τυποποιημένα αντιγόνα, είναι απλή, εύκολη και οικονομική μέθοδος με μεγάλη ευαισθησία. Η μέτρηση των ειδικών IgE είναι πιο ακριβή μέθοδος, χωρίς μεγαλύτερη αξιοπιστία από τις δερματικές δοκιμασίες. Ενδείκνυται σε ασθενείς μη συνεργάσιμους για τις δερματικές δοκιμασίες, σε περίπτωση διάχυτης δερματικής νόσου και σε περιπτώσεις ιστορικού αναφυλαξίας [146]. Βέβαια, μια θετική δερματική δοκιμασία ή η ανεύρεση υψηλών τίτλων ειδικού αντισώματος IgE για κάποιο αλλεργιογόνο δε συνεπάγεται ότι το αντιγόνο αυτό είναι υπεύθυνο για τα συμπτώματα του ασθενούς και θα πρέπει πάντα να συσχετίζεται με τις πληροφορίες του ιστορικού που αυτός αναφέρει.

Αέρια αίματος

Η εξέταση αερίων αίματος έχει απόλυτη ένδειξη στις σοβαρές παροξύνσεις της νόσου και όχι τόσο στη σταθερή κατάσταση. Η PaO₂ μειώνεται όσο βαρύτερη είναι η παρόξυνση και αρχικά μειώνεται και η PaCO₂ λόγω υπεραερισμού. Ωστόσο, όσο επιδεινώνεται η παρόξυνση και επέρχεται κόπωση των αναπνευστικών μυών, η PaCO₂ αυξάνεται, αρχικά σε φυσιολογικά επίπεδα και στη συνέχεια σε επίπεδα υπερκαπνίας (PaCO₂>44mmHg). Μάλιστα, η παρουσία υπερκαπνίας σε μία παρόξυνση άσθματος είναι δυσμενές προγνωστικό σημείο και αποτελεί σχετική ένδειξη ενδοτραχειακής διασωλήνωσης και εφαρμογής μηχανικού αερισμού.

Διάγνωση βρογχικού άσθματος σε ειδικές περιπτώσεις [1]

Βήχας ισοδύναμος άσθματος (cough variant asthma)

Πρόκειται για την περίπτωση που οι ασθενείς έχουν ως κύριο ή και μοναδικό σύμπτωμα το βήχα, συχνά χωρίς διαταραχές της αναπνευστικής λειτουργίας αλλά με παρουσία βρογχικής υπεραντιδραστικότητας. Η διαφορική διάγνωση θα πρέπει να περιλαμβάνει την επίδραση φαρμακευτικών παραγόντων όπως οι αναστολείς του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτενσίνης(ACE), τη γαστροοισοφαγική παλινδρόμηση, το σύνδρομο χρόνιου βήχα των ανώτερων αεραγωγών από οπισθορρινικές εκκρίσεις ('postnasal drip'), τη χρόνια παραρινοκολπίτιδα, τη δυσλειτουργία των φωνητικών χορδών, καθώς και την αποκαλούμενη ηωσινοφιλική βρογχίτιδα που χαρακτηρίζεται από βήχα και ηωσινοφιλία πτυέλων με φυσιολογική όμως αναπνευστική λειτουργία και απουσία βρογχικής υπεραντιδραστικότητας.

Επαγγελματικό άσθμα

Το 5-20% των νέων διαγνώσεων άσθματος ενηλίκων μπορεί να αποδοθεί σε επαγγελματική έκθεση [158]. Η έκθεση σε ερεθιστικούς ή αλλεργιογόνους παράγοντες στον εργασιακό χώρο μπορεί να αποτελεί αίτιο ή συχνότερα παράγοντα επιδείνωσης του άσθματος. Επίσης η επαγγελματική ρινίτιδα μπορεί να προηγηθεί της εκδήλωσης του άσθματος μέχρι και ένα χρόνο και η έγκαιρη διάγνωση είναι απαραίτητη, καθώς η συνεχιζόμενη έκθεση συνδέεται με χειρότερη πρόγνωση. Η λήψη ενός ενδελεχούς ιστορικού για την εμφάνιση συμπτωμάτων σε σχέση με πιθανή έκθεση σε επαγγελματικές ουσίες, η ύφεσή τους σε περιόδους απομάκρυνσης από την εργασία και η υποτροπή τους με την επιστροφή στον εργασιακό χώρο, συμβάλλουν κατά πολύ στη διάγνωση. Βέβαια, η διάγνωση επιβεβαιώνεται με καταγραφή της PEF 4 φορές την ημέρα επί 2 εβδομάδες εργασίας και σε αντίστοιχο χρόνο απομάκρυνσης από αυτή, καθώς επίσης και με δοκιμασία πρόκλησης σε επαγγελματικά αντιγόνα σε εξειδικευμένα κέντρα. Η διάγνωση του επαγγελματικού άσθματος είναι ιδιαίτερα κρίσιμη τόσο για την υγεία των ασθενών όσο και για κοινωνικοοικονομικούς λόγους διότι επιβάλλεται η αλλαγή της εργασίας τους και η αποφυγή του εκλυτικού παράγοντα.

Άσθμα στην εγκυμοσύνη

Οι έγκυες γυναίκες και οι γυναίκες που προγραμματίζουν μια εγκυμοσύνη θα πρέπει να ερωτώνται εάν έχουν άσθμα ώστε να γίνει η βέλτιστη διαχείριση της νόσου. Σε περίπτωση που η αντικειμενική επιβεβαίωση της διάγνωσης είναι απαραίτητη, δε συνιστάται η πραγματοποίηση δοκιμασίας πρόκλησης ή η μείωση της αγωγής ελέγχου κατά την κύηση παρά μόνο μετά τον τοκετό.

Ασθενείς μεγάλης ηλικίας

Σε προχωρημένη ηλικία το βρογχικό άσθμα υποδιαγιγνώσκεται πολύ συχνά καθώς οι ηλικιωμένοι ασθενείς υποεκτιμούν τα συμπτώματά τους ή θεωρούν αποδεκτή την παρουσία τους λόγω του προχωρημένου της ηλικίας. Επίσης, ασθενείς της ηλικιακής αυτής ομάδας συνήθως πάσχουν από αρκετές συννοσηρότητες, κυρίως καρδιολογικά προβλήματα, που θα μπορούσαν να ερμηνεύσουν τα συμπτώματα και επιπλέκουν τη διάγνωση του άσθματος. Η λήψη προσεκτικού ιστορικού και η διενέργεια διαγνωστικού ελέγχου που περιλαμβάνει για παράδειγμα ηλεκτροκαρδιογράφημα, NT-pro-BNP ή u/s καρδιάς είναι απαραίτητα στοιχεία για τη διαφορική διάγνωση στην κατάσταση αυτή.

Ενεργοί καπνιστές και πρώην καπνιστές

Το άσθμα και η χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια (ΧΑΠ) μπορεί να είναι δύσκολο να διακριθούν στην κλινική πράξη, ιδιαίτερα σε μεγαλύτερους ασθενείς που είναι ενεργοί ή πρώην καπνιστές, καθώς ο βαθμός αλληλεπικάλυψης μεταξύ των δύο μπορεί να είναι σημαντικός (αλληλοεπικάλυψη άσθματος και ΧΑΠ, Asthma COPD overlap- ACO). Η Παγκόσμια Στρατηγική για τη Διάγνωση, αντιμετώπιση και πρόληψη της ΧΑΠ (Global Strategy for Diagnosis, Management and Prevention of COPD, GOLD), ορίζει τη ΧΑΠ βάσει των χρόνιων αναπνευστικών συμπτωμάτων, την έκθεση σε παράγοντες κινδύνου, όπως το κάπνισμα, και το μειωμένο λόγο FEV1 / FVC μετά από βρογχοδιαστολή, $FEV1 / FVC < 0,7$. Κλινικά σημαντική αναστρεψιμότητα ($> 12\%$ και $> 200\text{ ml}$) βρίσκεται όμως αρκετά συχνά και στη ΧΑΠ. Η μειωμένη διαχυτική ικανότητα είναι πιο συχνό εύρημα στη ΧΑΠ από ότι στο άσθμα. Το ιστορικό, η περιοδικότητα των συμπτωμάτων και τυχόν παλαιότερες καταγραφές της πνευμονικής λειτουργίας μπορούν να βοηθήσουν στη διάκριση μεταξύ αυτών των ασθενών από άτομα με μακροχρόνιο άσθμα, οι οποίοι έχουν αναπτύξει σταθερό περιορισμό της ροής του αέρα. Εφόσον η διάγνωση είναι αμφίβολη, ο ασθενής θα

πρέπει να παραπέμπεται σε εξειδικευμένα κέντρα, καθώς οι ασθενείς με ACO έχουν χειρότερη πρόγνωση από ότι τα άτομα με άσθμα ή ΧΑΠ μεμονωμένα [159].

Παχυσαρκία

Το άσθμα είναι πιο κοινό σε παχύσαρκα από ότι σε μη παχύσαρκα άτομα, ωστόσο αναπνευστικά συμπτώματα που σχετίζονται με την παχυσαρκία μπορεί να μιμούνται το άσθμα. Σε παχύσαρκους ασθενείς με δύσπνοια κατά την κόπωση είναι σημαντικό να επιβεβαιωθεί η διάγνωση του άσθματος με αντικειμενική απόδειξη της μεταβλητότητας του περιορισμού της ροής του αέρα.

3.6 Αξιολόγηση του άσθματος

Η αξιολόγηση της νόσου σε κάθε ασθενή θα πρέπει να περιλαμβάνει τον έλεγχο του άσθματος (τόσο των συμπτωμάτων όσο και των παραγόντων κινδύνου για παροξύνσεις), των διάφορων θεραπευτικών ζητημάτων, κυρίως τη σωστή τεχνική χρήσης εισπνεόμενων και τη συμμόρφωση με την αγωγή, καθώς και την εκτίμηση των συννοσηροτήτων που ενδεχομένως επιβαρύνουν τη συμπτωματολογία των ασθενών και υποβαθμίζουν την ποιότητα ζωής τους.

3.6.1 Έλεγχος του άσθματος

Ο όρος «έλεγχος του άσθματος» περιλαμβάνει δύο συνιστώσες: την εκτίμηση των συμπτωμάτων του ασθενούς και την αξιολόγηση των παραγόντων μελλοντικού κινδύνου για δυσμενή έκβαση (για παράδειγμα παρόξυνση της νόσου) [1]. Ο έλεγχος του άσθματος καθορίζεται από την επίδραση πολλών παραγόντων: του γενετικού υπόβαθρου του ασθενούς, της εξέλιξης της νόσου, της θεραπευτικής αγωγής, του περιβάλλοντος και διάφορων ψυχολογικών παραγόντων [160]. Ο έλεγχος της λειτουργικότητας του αναπνευστικού με τη χρήση κυρίως του FEV₁ είναι ουσιώδες συστατικό της αξιολόγησης των παραγόντων κινδύνου και πρέπει να εκτιμάται τόσο στην αρχή της θεραπείας, όσο και 3-6 μήνες αργότερα αλλά και περιοδικά στην πορεία της εκτίμησης της νόσου.

Αξιολόγηση των συμπτωμάτων

Ο έλεγχος των συμπτωμάτων της νόσου θα πρέπει να γίνεται σε κάθε ευκαιρία, ακόμη και κατά τη διάρκεια μιας προγραμματισμένης επίσκεψης για συνταγογράφηση. Οι ερωτήσεις που θα τίθενται στους ασθενείς θα πρέπει να είναι πολύ συγκεκριμένες και να κατευθύνουν τις απαντήσεις όσο το δυνατόν περισσότερο, καθώς η συχνότητα και η βαρύτητα των συμπτωμάτων που οι ασθενείς θεωρούν μη αποδεκτές ή ενοχλητικές βασίζονται σε υποκειμενική εκτίμηση, ποικίλλουν από ασθενή σε ασθενή και διαφέρουν από τις γενικές συστάσεις για τους στόχους της θεραπείας της νόσου.

Η αξιολόγηση του ελέγχου των συμπτωμάτων της νόσου γίνεται με τη βοήθεια ερωτηματολογίων που ταξινομούνται σε διαφορετικές κατηγορίες:

Απλά ερωτηματολόγια screening: Χρησιμοποιούνται στην πρωτοβάθμια φροντίδα για να εντοπιστούν γρήγορα οι ασθενείς που χρειάζονται πιο εκτεταμένη αξιολόγηση. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί το ερωτηματολόγιο ελέγχου συμπτωμάτων της GINA [161], [πίνακας 1, παράρτημα γενικού μέρους]. Συνήθως χρησιμοποιείται μαζί με την αξιολόγηση των κινδύνων για μη καλή έκβαση της νόσου προκειμένου να ληφθούν θεραπευτικές αποφάσεις. Άλλα ερωτηματολόγια τέτοιου τύπου είναι το Primary Care Asthma Control Screening Tool (PACS) [162] και το 30-second Asthma Test, που εκτιμά μεταξύ άλλων το χαμένο χρόνο από την εργασία ή το σχολείο [163].

Ερωτηματολόγια κατηγοριοποίησης των συμπτωμάτων: Παράδειγμα αυτής της κατηγορίας αποτελεί το «Royal College of Physicians (RCP) Three Questions» tool [164], που εκτιμά τη δυσκολία στον ύπνο, τα ημερήσια συμπτώματα και τον περιορισμό της φυσικής δραστηριότητας εξαιτίας του άσθματος κατά τη διάρκεια του τελευταίου μήνα.

Βαθμονομημένα ερωτηματολόγια για τον έλεγχο του άσθματος: Τα ερωτηματολόγια αυτού του τύπου χρησιμοποιούν αριθμητικό score για να διαβαθμίσουν τον έλεγχο της νόσου. Έχουν υψηλότερη ευαισθησία στην ανάδειξη της αλλαγής του ελέγχου των συμπτωμάτων από ότι τα ερωτηματολόγια κατηγοριοποίησης των συμπτωμάτων [161]. Χαρακτηριστικά παραδείγματα αποτελούν το ερωτηματολόγιο ελέγχου του άσθματος (Asthma Control Questionnaire, ACQ) και το τεστ ελέγχου του άσθματος (Asthma Control Test, ACT). Το ACQ έχει βαθμολόγηση από 0 έως 6 και όσο υψηλότερη είναι η τιμή τόσο ελλιπέστερος είναι ο έλεγχος. Βαθμολόγηση 0-0,75 θεωρείται ως καλά

ελεγχόμενο άσθμα, από 0,7 έως και 1,5 αξιολογείται ως «γκρίζα ζώνη» και άνω του 1,5 ως πλημμελώς ελεγχόμενο άσθμα [165]. Το ACQ score υπολογίζεται ως το άθροισμα 5 ερωτήσεων επί συμπτωμάτων. Ανάλογα με τις εκδόσεις του, μπορεί να περιλαμβάνει και περισσότερες ερωτήσεις, δηλαδή το ACQ-6 περιλαμβάνει επιπλέον ερώτημα σχετικά με τη χρήση ανακουφιστικού φαρμάκου, το οποίο υπολογίζεται σε συνάρτηση με την παρουσία ή όχι συμπτωμάτων. Η μικρότερη κλινικά σημαντική διαφορά μεταξύ των εκτιμήσεων είναι το 0,5 [166]. Από την άλλη μεριά, το ACT έχει βαθμολόγηση από 5 έως 25 και όσο υψηλότερη είναι η τιμή τόσο καλύτερος θεωρείται ο έλεγχος [167], [πίνακας 2, παράρτημα γενικού μέρους]. Score από 20 έως 25 θεωρείται ως καλά ελεγχόμενο άσθμα, μεταξύ 16 και 19 ως μερικώς ελεγχόμενο άσθμα και από 5 έως 15 μη ελεγχόμενο άσθμα. Το ACT συνίσταται σε τέσσερις ερωτήσεις σχετικά με την παρουσία συμπτωμάτων σε συνδυασμό με το επίπεδο ελέγχου που αξιολογείται από τον ίδιο τον ασθενή. Η μικρότερη κλινικά σημαντική διαφορά μεταξύ των εκτιμήσεων είναι 3 βαθμοί [168].

Αξιολόγηση μελλοντικού κινδύνου για δυσμενή έκβαση της νόσου

Η μη καλή έκβαση του άσθματος αφορά κυρίως στην εμφάνιση παροξύνσεων, στην εγκατάσταση σταθερής απόφραξης των αεραγωγών και στην εμφάνιση παρενεργειών της φαρμακευτικής αγωγής. Τα συμπτώματα του ασθενούς δεν επαρκούν για την αξιολόγηση της νόσου για αρκετούς λόγους:

- Μπορούν να βελτιωθούν τόσο με τη χρήση εικονικού φαρμάκου όσο και με ακατάλληλη χρήση μόνο μακράς ή βραχείας δράσης β2 αγωνιστών (Long/Short Acting Beta2 Agonist, LABA/SABA), που στην πραγματικότητα δεν ελέγχουν την φλεγμονή των αεραγωγών.
- Μπορεί να οφείλονται και σε άλλες καταστάσεις (έλλειψη καλής φυσικής κατάστασης) ή συννοσηρότητες, όπως η δυσλειτουργία του ανώτερου αεραγωγού (π.χ. υπερτροφία αδενοειδών εκβλαστήσεων).
- Η έντασή τους διαμορφώνεται ως ένα βαθμό από καταστάσεις όπως το άγχος και η κατάθλιψη
- Δε συνάδουν απαραίτητα με την κατάσταση της αναπνευστικής λειτουργίας

Ο έλεγχος των συμπτωμάτων του άσθματος και ο κίνδυνος των παροξύνσεων δεν πρέπει να συνδυάζονται αθροιστικά διότι πιθανόν να έχουν διαφορετικές αιτίες και ίσως να χρειάζονται διαφορετική θεραπευτική αντιμετώπιση.

Παροξύνσεις

Σύμφωνα με τη GINA αρκετοί είναι οι τροποποιήσιμοι παράγοντες που αυξάνουν τον κίνδυνο μελλοντικών παροξύνσεων της νόσου [1]:

- Πτωχός έλεγχος των συμπτωμάτων του άσθματος
- Αυξημένη χρήση βραχείας δράσης β2 διεγέρτη (Short Acting Beta2 Agonist, SABA)
- Μη ορθή χρήση ή δόση εισπνεόμενων στεροειδών (Inhaler Corticosteroids, ICS) ή μη συμμόρφωση στην αγωγή
- Χαμηλός FEV₁ (ειδικά <60% της προβλεπόμενης τιμής) ή αυξημένη βρογχική αναστρεψιμότητα
- Ψυχολογικά και κοινωνικοοικονομικά προβλήματα
- Έκθεση στον καπνό του τσιγάρου και σε αλλεργιογόνα
- Συννοσηρότητες όπως η παχυσαρκία, η χρόνια παραρρινοκολπίτιδα, η γαστροοισοφαγική παλινδρόμηση
- Ηωσινοφιλία στο περιφερικό αίμα ή αυξημένο FeNO
- Εγκυμοσύνη

Ανεξάρτητοι παράγοντες κινδύνου για νέα παρόξυνση άσθματος είναι:

- Διασωλήνωση ή εισαγωγή στη Μονάδα Εντατικής Θεραπείας για παρόξυνση άσθματος
- Μία ή περισσότερες σοβαρές παροξύνσεις του τελευταίου 12 μήνες

Σταθερή απόφραξη των αεραγωγών

Ο μέσος όρος μείωσης του FEV₁ σε υγιείς ενήλικες είναι 15–20 mL/έτος [169]. Οι ασθενείς με άσθμα μπορεί να παρουσιάσουν επιταχυνόμενη έκπτωση της αναπνευστικής τους λειτουργίας και ανάπτυξη απόφραξης των αεραγωγών που δεν είναι πλήρως αναστρέψιμη. Η κατάσταση αυτή συσχετίζεται και με πιο επίμονη δύσπνοια. Μεταξύ των παραγόντων κινδύνου για ανάπτυξη σταθερής απόφραξης των αεραγωγών είναι η έκθεση στον καπνό του τσιγάρου ή οξειδωτικούς παράγοντες, η χρόνια υπερέκκριση βλέννης, ο αρχικός χαμηλός FEV₁ και οι παροξύνσεις της νόσου σε ασθενείς που δεν λαμβάνουν συστηματικά ICS [170].

Παρενέργειες φαρμακευτικής αγωγής

Η επιλογή της εκάστοτε φαρμακευτικής αγωγής στηρίζεται στην αξιολόγηση της ισορροπίας οφέλους-κινδύνου για τους ασθενείς. Οι περισσότεροι συνήθως δεν αντιμετωπίζουν παρενέργειες από τη χρήση αντι-ασθματικής αγωγής. Γενικά ο κίνδυνος εμφάνισης παρενεργειών αυξάνεται με τη μεγάλη αύξηση της δόσης της χορηγούμενης αγωγής. Η μακροπρόθεσμη χρήση υψηλών δόσεων ICS μπορεί να επιφέρει ορισμένες συστηματικές παρενέργειες όπως εκχυμώσεις του δέρματος, αυξημένο κίνδυνο οστεοπόρωσης, οφθαλμικό καταρράκτη, γλαύκωμα και καταστολή του άξονα υπόφυσης-επινεφριδίων [171]. Τα ICS έχουν και τοπικές παρενέργειες όπως η μυκητίαση της στοματικής κοιλότητας και η δυσφωνία, συνήθως λόγω κακής τεχνικής εισπνοής του φαρμάκου [172].

3.6.2. Ο λειτουργικός έλεγχος αναπνευστικού στην αξιολόγηση του ελέγχου του άσθματος

Λειτουργικός έλεγχος του αναπνευστικού θα πρέπει να διενεργείται τόσο κατά τη διάγνωση ή κατά την έναρξη θεραπείας, 3-6 μήνες μετά την έναρξη της ρυθμιστικής αγωγής για τον καθορισμό της καλύτερης δυνατής τιμής του FEV₁ του ασθενούς και στη συνέχεια περιοδικά στην πορεία της παρακολούθησης. Μια χαμηλή τιμή του FEV₁ αποτελεί κατ' αρχάς ισχυρό ανεξάρτητο παράγοντα για τον κίνδυνο παρόξυνσης, ακόμα και μετά από προσαρμογή για τη συχνότητα των συμπτωμάτων της νόσου [173]. Επίσης είναι ενδεικτικός επιταχυνόμενης έκπτωσης της αναπνευστικής λειτουργίας ανεξαρτήτως των συμπτωμάτων του ασθενούς. Τέλος, στην περίπτωση που συνδυάζεται με αμβληγρά συμπτώματα, μεταφράζεται ως περιορισμός της φυσικής δραστηριότητας ή μειωμένη αντίληψη της απόφραξης των αεραγωγών λόγω εξελισσόμενης φλεγμονής αυτών [174]. Όταν σημειώνονται φυσιολογικές ή υψηλές τιμές του FEV₁ σε ασθενείς με συχνά συμπτώματα άσθματος, θα πρέπει να διερευνάται η παρουσία άλλων υποκείμενων διαταραχών όπως τα καρδιολογικά νοσήματα ή/και η γαστροοισοφαγική παλινδρόμηση.

Η βελτίωση του FEV₁ με τη χρήση ICS διαφαίνεται ήδη εντός μερικών ημερών και φτάνει την καλύτερη τιμή του περίπου στους 2 μήνες κατάλληλης αγωγής [175]. Η ανεύρεση σημαντικής αναστρεψιμότητας μετά τη βρογχοδιαστολή σε ασθενή που λαμβάνει θεραπεία ελέγχου ή έχει λάβει SABA τις προηγούμενες 4

ώρες ή LABA τις προηγούμενες 12 ώρες, αντανακλά πιθανότατα μη ελεγχόμενη νόσο. Η μεταβλητότητα στις τιμές του FEV1 μεταξύ των αξιολογήσεων του ασθενούς, που φυσιολογικά είναι $\leq 12\%$ από εβδομάδα σε εβδομάδα και $\leq 15\%$ από έτος σε έτος, χρησιμοποιείται για τη ρύθμιση της αγωγής του άσθματος. Στην περίπτωση που σημειώνεται ταχύτερη από το μέσο όρο έκπτωση της αναπνευστικής λειτουργίας και ανάπτυξη σταθερής απόφραξης των αεραγωγών, ενδείκνυται θεραπευτική δοκιμή με αυξημένες δόσεις ICS/LABA ή συστηματικά χορηγούμενα κορτικοειδή, ωστόσο αν δεν προκύψει βελτίωση η αγωγή θα πρέπει να διακοπεί.

Η PEF μπορεί να χρησιμοποιηθεί τόσο στη διάγνωση της νόσου όσο και στον έλεγχο της ανταπόκρισης στη θεραπεία (ιδιαίτερα σε ασθενείς με σοβαρό άσθμα) ή και στην ανεύρεση παραγόντων επιδείνωσης των συμπτωμάτων (για παράδειγμα του εργασιακού περιβάλλοντος). Μετά την έναρξη θεραπείας με ICS η μέγιστη τιμή της PEF επιτυγχάνεται σε περίπου 2 εβδομάδες, ενώ η ημερήσια διακύμανσή της μειώνεται σταδιακά σε διάστημα περίπου 3 μηνών [176]. Ακραίες διακυμάνσεις των τιμών της PEF μεταφράζονται σε απώλεια ελέγχου του άσθματος και αυξάνουν τον κίνδυνο παρόξυνσης [177].

3.6.3 Αξιολόγηση της βαρύτητας της νόσου

Η βαρύτητα του άσθματος αξιολογείται βάσει της αγωγής που απαιτείται για τον έλεγχο των συμπτωμάτων του ασθενούς και την αποφυγή των παροξύνσεων της νόσου [1]. Η αξιολόγηση της βαρύτητας είναι δυνατό να γίνει εφόσον ο ασθενής έχει λάβει ρυθμιστική αγωγή για ένα διάστημα μηνών και έχει εφαρμοστεί το χαμηλότερο επίπεδο θεραπευτικής αγωγής που είναι κατάλληλο για τον ασθενή. Με βάση τις διεθνείς οδηγίες της GINA [1] οι βαθμοί βαρύτητας του άσθματος διακρίνονται σε:

- Ήπιο: καλά ελεγχόμενο με αγωγή βήματος 1 ή 2 (βλέπε κεφάλαιο 3.8)
- Μέτριο άσθμα: καλά ελεγχόμενο με αγωγή βήματος 3
- Σοβαρό άσθμα: χρήζει αγωγής βήματος 4 ή 5 προκειμένου να αποφευχθεί η μετατροπή του σε «μη ελεγχόμενο» ή παραμένει «μη ελεγχόμενο» παρά τη αγωγή βήματος 4 ή 5.

Σε ορισμένους ασθενείς δεν επιτυγχάνεται καλός έλεγχος της νόσου ακόμη και με τη χορήγηση των μέγιστων δόσεων αγωγής. Αυτό μπορεί να οφείλεται στην παρουσία σοβαρού άσθματος, στην παρουσία συννοσηροτήτων, στη συνεχιζόμενη

έκθεση σε βλαπτικούς περιβαλλοντικούς παράγοντες ή ακόμη και σε ψυχολογικούς παράγοντες που έχουν ως αποτέλεσμα «μη ελεγχόμενο άσθμα». Η διάκριση μεταξύ σοβαρού και μη ελεγχόμενου άσθματος είναι κρίσιμη καθώς στη δεύτερη περίπτωση είναι ευκολότερη η μείωση των συμπτωμάτων και των παροξύνσεων με την παρούσα αγωγή.

3.7 Διαφορική διάγνωση

Η διαφορική διάγνωση του άσθματος περιλαμβάνει παθήσεις που παρουσιάζουν είτε ανάλογα συμπτώματα, όπως ο συριγμός, είτε παρόμοια διαταραχή στο λειτουργικό έλεγχο του αναπνευστικού, δηλαδή αποφρακτικό πρότυπο.

Διαφορική διάγνωση διάχυτου συριγμού	Διαφορική διάγνωση εντοπισμένου συριγμού
<ul style="list-style-type: none"> • Χρόνια Αποφρακτική Πνευμονοπάθεια (ΧΑΠ) • Συμφορητική Καρδιακή Ανεπάρκεια • Αποφρακτική Βρογχιολίτιδα • Κυστική Ίνωση • Βρογχεκτασίες • Αγγειΐτιδα Churg-Strauss • Αλλεργική βρογχοπνευμονική ασπεργίλλωση (ABPA) • Χρόνια ηωσινοφιλική πνευμονία 	<ul style="list-style-type: none"> • Ca λάρυγγα - μεγάλων αεραγωγών • Ξένο σώμα • Πάρεση φωνητικών χορδών • Δυσλειτουργία φωνητικών χορδών • Συγγενείς δυσπλασίες με στένωση μεγάλων αεραγωγών

Το Άσθμα και η ΧΑΠ συχνά είναι δύσκολο να διακριθούν στην κλινική πράξη, ιδιαίτερα σε πιο ηλικιωμένους ασθενείς και ενεργούς ή πρώην καπνιστές, όπως προαναφέρθηκε και στο κεφάλαιο 3.5. Ορισμένοι ασθενείς εμφανίζουν χαρακτηριστικά και των δύο νοσημάτων και θεωρείται ότι παρουσιάζουν «αλληλεπικάλυψη άσθματος-ΧΑΠ» (Asthma- COPD overlap). Η χρήση του παλαιότερου όρου που είχε προταθεί για την ιδιαίτερη αυτή κατηγορία ασθενών, «σύνδρομο αλληλεπικάλυψης» (asthma-COPD overlap syndrome, or ACOS), δε συνιστάται πλέον από τις οδηγίες της GINA, καθώς παραπέμπει σε διακριτή νόσο, ενώ στην πραγματικότητα πρόκειται για μια ομάδα πολλών διαφορετικών φαινοτύπων. Η διάκριση των ασθενών με αλληλεπικάλυψη άσθματος-ΧΑΠ

μπορεί να γίνει βάσει της παρουσίας ή όχι ορισμένων χαρακτηριστικών [εικόνα 2, παράρτημα γενικού μέρους] και είναι ιδιαίτερα σημαντική διότι οι ασθενείς αυτοί έχουν χειρότερη πρόγνωση από εκείνους που έχουν μόνο άσθμα ή ΧΑΠ [159].

3.8 Θεραπεία άσθματος

Οι στόχοι της θεραπείας ενός ασθενούς με άσθμα είναι η επίτευξη καλού ελέγχου των συμπτωμάτων του, η διασφάλιση ενός καλού επιπέδου καθημερινής δραστηριότητας και η ελαχιστοποίηση του κινδύνου μη καλής έκβασης δηλαδή εμφάνισης παρόξυνσης, σταθερής απόφραξης των αεραγωγών ή παρενεργειών από τη θεραπεία. Καθορίζοντας τους στόχους της θεραπείας είναι σημαντικό να προσδιοριστούν και οι στόχοι του ίδιου του ασθενούς σχετικά με τη νόσο του, καθώς αυτοί μπορεί να διαφέρουν και να ληφθεί υπ' όψιν η ποικιλομορφία των συστημάτων υγείας, των διαθέσιμων θεραπειών και των ατομικών και πολιτισμικών χαρακτηριστικών των ασθενών. Επιπλέον, η ικανότερη και ευχερέστερη διαχείριση του άσθματος επιβάλλει την ανάπτυξη συνεργασίας μεταξύ ασθενούς και θεράποντος ιατρού. Ο ασθενής πρέπει να αποκτήσει γνώσεις σχετικά με την πάθησή του και ικανότητες διαχείρισης των συμπτωμάτων και της αγωγής του, ώστε να συμμετέχει ενεργά στη θεραπευτική διαδικασία. Για το λόγο αυτό ο ιατρός πρέπει να αναπτύξει επικοινωνιακές ικανότητες ώστε να γίνεται κατανοητός και να εκπαιδεύει τους ασθενείς στη διαχείριση της νόσου και στη παροχή σαφών πληροφοριών σχετικά με τα συμπτώματά τους και το ιστορικό τους. Αυτός ο τρόπος προσέγγισης έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της νοσηρότητας από άσθμα και την καλύτερη διαχείριση της νόσου [178, 179].

Γενικά πάντως μπορούμε να πούμε ότι οι στόχοι της θεραπείας του άσθματος διαμορφώνονται τόσο για τη συγκεκριμένη ομάδα πληθυσμού σα σύνολο όσο και προσωπικά για τον κάθε ασθενή. Οι στόχοι θεραπείας σε επίπεδο πληθυσμού πρέπει να καθορίζονται βάσει των αποτελεσμάτων τυχαιοποιημένων μελετών και μελετών παρατήρησης [184]. Σε επίπεδο προσωπικό η θεραπευτική αγωγή πρέπει να είναι εξατομικευμένη και να λαμβάνεται υπ' όψιν ο ιδιαίτερος φαινότυπος άσθματος, οι επιθυμίες του ασθενούς και πρακτικά ζητήματα όπως η τεχνική της συσκευής του εισπνεόμενου φαρμάκου, η διαθεσιμότητά του, η δυνατότητα συμμόρφωσης στη θεραπεία και το κόστος [185].

Συνήθως η θεραπευτική προσέγγιση του άσθματος γίνεται με βάση τον έλεγχο των συμπτωμάτων και έχει αποδειχθεί ικανοποιητική για τη μείωση του κινδύνου των παροξύνσεων [180]. Εναλλακτικές μέθοδοι διαχείρισης της θεραπείας του άσθματος, οι οποίες αφορούν κυρίως στην αξιολόγηση της φλεγμονής της νόσου, είναι η αξιολόγηση του αριθμού των ηωσινοφίλων στα προκλητά πτύελα και η παρακολούθηση του FeNO.

Η παρακολούθηση της φλεγμονής στα προκλητά πτύελα, συγκριτικά με την κλασική διαχείριση της θεραπείας του άσθματος βάσει των διεθνών οδηγιών, έδειξε υπεροχή στον έλεγχο των παροξύνσεων, στον έλεγχο των συμπτωμάτων και στη βελτίωση του λειτουργικού ελέγχου του αναπνευστικού [181]. Ωστόσο, πρόκειται για μια ημι-επεμβατική εξέταση που διενεργείται ως ρουτίνα σε μικρό αριθμό κέντρων και τα πλεονεκτήματά της ως μεθόδου παρακολούθησης έχουν εκτιμηθεί σε ασθενείς της δευτεροβάθμιας περίθαλψης [180]. Η τροποποίηση της θεραπευτικής αγωγής με βάση τα επίπεδα του FeNO δεν θεωρείται τόσο αποτελεσματική καθώς σε αρκετές μελέτες υπήρχαν προβλήματα στο σχεδιασμό αλγορίθμων παρέμβασης ή ελέγχου που έκαναν δύσκολη την εξαγωγή συμπερασμάτων [182]. Συνοψίζοντας, η GINA δε συνιστά τη χρήση των μεθόδων αυτών στο γενικό πληθυσμό ασθενών με άσθμα, παρά μόνο την παρακολούθηση με προκλητά πτύελα ασθενών με νόσο μέτριας ή σοβαρής βαρύτητας που παρακολουθούνται σε κέντρα αναγνωρισμένα για τη συγκεκριμένη μέθοδο [183].

3.8.1 Φαρμακευτική Αντιμετώπιση

Η φαρμακευτική αντιμετώπιση του άσθματος περιλαμβάνει τρεις κατηγορίες αγωγής: τα φάρμακα ελέγχου, τα ανακουφιστικά φάρμακα και τα φάρμακα που χορηγούνται ως επιπρόσθετη αγωγή (add-on) σε ασθενείς με σοβαρή νόσο.

Φάρμακα ελέγχου

Χορηγούνται ως σταθερή αγωγή με στόχο τη μείωση της φλεγμονής των αεραγωγών, τον έλεγχο των συμπτωμάτων και την ελαχιστοποίηση του κινδύνου παροξύνσεων και έκπτωσης της αναπνευστικής λειτουργίας. Περιλαμβάνουν τα εισπνεόμενα στεροειδή μόνα ή σε συνδυασμό με τους β₂ διεγέρτες μακράς δράσης

(LABA) και κατά δεύτερο λόγο, τα συστηματικά στεροειδή. Δε συστήνεται πλέον η χρήση SABA κατ' επίκληση στο ήπιο άσθμα χωρίς τη λήψη ρυθμιστικής αγωγής με ICS συστηματικά ή κατ' επίκληση που οδηγεί στη μείωση των παροξύνσεων και των νοσηλειών καθώς και σε έλεγχο των συμπτωμάτων.

Τα εισπνεόμενα στεροειδή (inhaled corticosteroids, ICS) θεωρούνται ο ακρογωνιαίος λίθος της θεραπείας ελέγχου του άσθματος. Εκτός από τα εισπνεόμενα, χρησιμοποιούνται σε συγκεκριμένες περιπτώσεις και συστηματικά κορτικοστεροειδή σε χαμηλή δόση(συνήθως από του στόματος ή ενδοφλέβια σε περίπτωση νοσηλείας). Οι δράσεις τους περιλαμβάνουν την καταστολή της φλεγμονής των αεραγωγών στους ασθματικούς ασθενείς μέσω ελέγχου έκφρασης γονιδίων και μετάδοσης ενδοκυττάρων σημάτων. Συγκεκριμένα, συνδέονται με έναν ειδικό κυτταροπλασματικό υποδοχέα, ο οποίος μετακινείται στον πυρήνα, όπου ρυθμίζει την έκφραση γονιδίων που σχετίζονται με τη φλεγμονή μέσω αναστολής των ακετυλο-τρανσφερασών των ιστονών και κινητοποίησης των απο-ακετυλασών των ιστονών [186].

Οι συνηθέστερες ανεπιθύμητες ενέργειες των συστηματικά χορηγούμενων στεροειδών περιλαμβάνουν: οστεοπόρωση, αρτηριακή υπέρταση, σακχαρώδη διαβήτη ή γενικότερα σύνδρομο Cushing, καταστολή του άξονα υποθαλάμου-υπόφυσης-φλοιού των επινεφριδίων, παχυσαρκία, καταρράκτη, γλαύκωμα, εκχυμώσεις, δερματικά έλκη και μυϊκή αδυναμία. Επίσης ιδιαίτερη προσοχή στην χορήγηση CS πρέπει να δίνεται σε ασθενείς με άσθμα οι οποίοι πάσχουν από ενεργό φυματίωση ή άλλες χρόνιες λοιμώξεις, οστεοπόρωση, γλαύκωμα, σακχαρώδη διαβήτη, σοβαρή κατάθλιψη ή πεπτικό έλκος.

Οι ανεπιθύμητες ενέργειες των εισπνεόμενων κορτικοστεροειδών περιλαμβάνουν την στοματοφαρυγγική καντιντίαση λόγω μακροχρόνιας εναπόθεσης του φαρμάκου στην περιοχή αυτή, τη δυσφωνία και περιστασιακό βήχα από ερεθισμό του ανωτέρου αναπνευστικού συστήματος. Το ξέπλυμα της στοματικής κοιλότητας μετά την εισπνοή μπορεί να μειώσει τον κίνδυνο για καντιντίαση. Η χρήση προφαρμάκων που ενεργοποιούνται στους πνεύμονες και όχι στον φάρυγγα (π.χ. σικλεσονίδη και μπεκλομεθαζόνη), καθώς και η χρήση νέων συσκευών ICS που μειώνουν τη στοματοφαρυγγική εναπόθεση του κορτικοστεροειδούς υπόσχονται να μειώσουν τέτοιες ανεπιθύμητες ενέργειες. Συστηματικές ανεπιθύμητες ενέργειες από τη χρήση ICS είναι πιο σπάνιες και εξαρτώνται από την δόση και την ισχύ του κορτικοστεροειδούς, τη βιοδιαθεσιμότητα του

φαρμάκου, τον μεταβολισμό στο ήπαρ και τον χρόνο ημίσειας ζωής του απορροφούμενου στην συστηματική κυκλοφορία φαρμάκου. Γι' αυτό το λόγο υπάρχουν διαφορές στις ανεπιθύμητες ενέργειες ανάμεσα στα διάφορα ICS. Μελέτες ανέδειξαν ότι η σικλεσονίδη, η βουδεσονίδη και η προπιονιοκή φλουτικαζόνη σε ισοδύναμες δόσεις έχουν μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης συστηματικών παρενεργειών συγκριτικά με τα άλλα κορτικοστεροειδή. Στις ανεπιθύμητες αυτές ενέργειες από μακροχρόνια θεραπεία με υψηλές δόσεις ICS περιλαμβάνονται οι εύκολες εκχυμώσεις, η καταστολή του άξονα των επινεφριδίων, η οστεοπόρωση, τα γλαύκωμα, ο καταρράκτης και οι συχνές λοιμώξεις αναπνευστικού.

Στον πίνακα 3 (βλ. παράρτημα γενικού μέρους) παρατίθενται όλα τα διαθέσιμα εισπνεόμενα στεροειδή καθώς και η διαβάθμιση στη δοσολογία τους.

Οι β_2 διεγέρτες μακράς δράσης (long acting beta2 agonists, LABA) χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό με τα ICS τόσο γιατί ενισχύουν την αποτελεσματικότητα των δευτέρων, όσο και γιατί βελτιώνουν μακροχρόνια τα συμπτώματα του άσθματος. Έχουν μικρή δράση στην άμεση ανακούφιση των οξέων συμπτωμάτων. Οι πιο γνωστοί και ευρέως χρησιμοποιούμενοι LABA είναι η φορμοτερόλη και η σαλμετερόλη. Η φορμοτερόλη έχει πιο ταχεία έναρξη δράσης, ενώ η σαλμετερόλη πιο μακρά διάρκεια δράσης, αλλά και οι δύο βελτιώνουν την αναπνευστική λειτουργία και συνεισφέρουν στην ελάττωση των παροξύνσεων και στον καλύτερο έλεγχο των συμπτωμάτων της νόσου. Πρόσφατα εγκρίθηκε η κυκλοφορία νεότερων LABA με 24ωρη δράση όπως η βιλαντερόλη και η ολοδατερόλη. Οι κυριότερες ανεπιθύμητες ενέργειές τους περιλαμβάνουν την εμφάνιση ταχυκαρδίας και αρρυθμιών (λόγω σύνδεσης με β_2 υποδοχείς και σε άλλους ιστούς), τρόμου, κεφαλαλγίας, μυϊκών κραμπών και ηλεκτρολυτικών διαταραχών όπως η υποκαλιαιμία, βέβαια σε μικρότερο βαθμό απ' ότι οι SABA.

Ανακουφιστικά φάρμακα (rescue treatment)

Ο ρόλος των φαρμάκων αυτών είναι η άμεση ανακούφιση οξέων και σοβαρών συμπτωμάτων, ειδικά σε φάση επιδείνωσης της νόσου ή παρόξυνσης. Επίσης, έχουν ένδειξη για πρόληψη του βρογχόσπασμου που προκαλείται με την άσκηση. Όσο μειώνεται η ανάγκη χρησιμοποίησης ανακουφιστικών φαρμάκων, τόσο

καλύτερη θεωρείται και η διαχείριση του άσθματος. Η κατηγορία αυτή φαρμάκων περιλαμβάνει τους β₂ διεγέρτες ταχείας δράσης και τα αντιχολινεργικά ταχείας δράσης. Από το 2019, σύμφωνα με τις οδηγίες της GINA, δε συστήνεται πλέον η χρήση SABA ως ανακουφιστική αγωγή καθώς έχει βρεθεί ότι η χρήση τους, αν και ανακουφίζει από τα συμπτώματα, δε μειώνει τον κίνδυνο σοβαρής παρόξυνσης και τη θνητότητα που σχετίζεται με τη νόσο. Αντιθέτως, προτείνεται η χρήση σκευάσματος ICS-φορμοτερόλης είτε ως ρυθμιστική είτε ως ανακουφιστική αγωγή σε ενήλικες και εφήβους. Η φορμοτερόλη είναι ένας LABA με ταχεία έναρξη δράσης που προσφέρει ανακούφιση από τα συμπτώματα, αλλά πρέπει να συγχωρηγείται με ICS.

Οι β₂ διεγέρτες βραχείας δράσης (short acting beta₂ agonists, SABA) συνδέονται σε G-διαμεμβρανικούς υποδοχείς των λείων μυϊκών ινών, προκαλώντας έτσι αύξηση του ενδοκυττάριου κυκλικού AMP και μυοχάλαση. Ένα φαινόμενο, που παρατηρείται μετά από παρατεταμένη χρήση β₂-διεγέρτη, είναι η απευαισθητοποίηση του υποδοχέα και ονομάζεται «φαινόμενο της ταχυφυλαξίας». Άλλες ανεπιθύμητες ενέργειες των β₂ διεγερτών είναι αυτές που προαναφέρθηκαν και για τους LABA και απορρέουν από τη μη εκλεκτικότητά τους.

Τα **αντιχολινεργικά ταχείας δράσης** δρουν βρογχοδιασταλτικά μέσω ανταγωνισμού για τη σύνδεση της ακετυλοχολίνης στους μουσκαρινικούς υποδοχείς των νευρομυϊκών συνάψεων. Γενικά δε χρησιμοποιούνται ευρέως στο άσθμα διότι ο χολινεργικός τόνος δεν χαρακτηρίζει τον βρογχόσπασμο της νόσου και είναι λιγότερο αποτελεσματικοί από τους SABA ως ανακουφιστικό φάρμακο σε μακροχρόνια χορήγηση. Το εισπνεόμενο ιπρατρόπιο όμως χρησιμοποιείται σε σοβαρή παρόξυνση άσθματος σε συνδιασμό με SABA και μειώνει τον κίνδυνο νοσηλείας[187]. Επίσης, έχουν ένδειξη σε ειδικές περιπτώσεις όπως η σταθερή απόφραξη των αεραγωγών, η μεγαλύτερη διάρκεια της νόσου και η παρουσία πολυμορφισμών του υποδοχέα των β-αγωνιστών (Arg/Arg B16) [188]. Ανεπιθύμητες ενέργειες είναι η ξηροστομία και η πικρή γεύση.

Επιπρόσθετες θεραπείες (add-on)

Τα φάρμακα αυτά χορηγούνται σε ασθενείς που συνεχίζουν να έχουν συμπτώματα ή και παροξύνσεις, παρά τη λήψη κατάλληλης αγωγής με μέγιστη δόση των ρυθμιστικών φαρμάκων (συνήθως συνδυασμός υψηλής δόσης ICS με έναν LABA)

και παρά την αντιμετώπιση των πιθανών παραγόντων κινδύνου ή των συννοσηροτήτων. Περιλαμβάνουν τα μακράς δράσης αντιχολινεργικά, τους ανταγωνιστές των λευκοτριενίων, τους βιολογικούς παράγοντες, τις μακρολίδες και τη μικρή δόση συστηματικών στεροειδών (περιγράφεται ανωτέρω).

Από τα μακράς δράσης αντιχολινεργικά, το μόνο που έχει λάβει έγκριση για χρήση στο άσθμα είναι το **τιοτρόπιο**. Έχει δειχθεί ότι η προσθήκη του στο συνδυασμό LABA/ICS μειώνει την ανάγκη για χρήση συστηματικών στεροειδών σε ασθενείς με σοβαρό άσθμα και επιφέρει μικρή βελτίωση της αναπνευστικής λειτουργίας και του ελέγχου του άσθματος. Ωστόσο η χρήση του τιοτροπίου έναντι κάποιου LABA σε συνδυασμό με στεροειδή ως ρυθμιστική θεραπεία δεν έχει μελετηθεί επαρκώς και επίσης η σαλμετερόλη υπερέχει σαφώς έναντι του τιοτροπίου στη βελτίωση της αναπνευστικής λειτουργίας και της ποιότητας ζωής.

Τα **αντιλευκοτριένια** αναστέλλουν τις δράσεις των λευκοτριενίων που συμμετέχουν ποικιλοτρόπως στην παθοφυσιολογία του άσθματος, όπως αναπτύχθηκε παραπάνω. Το Zileuton εμποδίζει τη δραστηριότητα της 5-λιποξυγενάσης, του ενζύμου που μετατρέπει το αραχιδονικό οξύ σε λευκοτριένιο A4 και η μοντελουκάστη, η ζαφιλουκάστη και η πρανλουκάστη είναι ανταγωνιστές του υποδοχέα των λευκοτριενίων (Leukotrien 1 Receptor Antagonists, LTRA). Όλα τα φάρμακα της κατηγορίας αυτής έχουν μέτρια βρογχοδιασταλτική δράση, αλλά βελτιώνουν τα συμπτώματα και ελαττώνουν τις παροξύνσεις [189]. Από τη χρήση αντιλευκοτριενίων φαίνεται να ωφελούνται ιδιαίτερα οι ασθενείς με ευαισθησία στην ασπιρίνη, που αποτελούν έναν ιδιαίτερο φαινότυπο [190]. Πλεονεκτήματα των φαρμάκων αυτών είναι ότι λαμβάνονται από το στόμα μία (montelukast) ή δύο (zafirlukast) φορές την ημέρα, δεν δημιουργούν ανοχή ούτε φαινόμενα rebound και είναι γενικά καλά ανεκτά. Η βασικότερη ανεπιθύμητη ενέργεια που είχε συσχετιστεί με αυτήν την κατηγορία φαρμάκων είναι η εμφάνιση του συνδρόμου Churg Strauss. Φαίνεται όμως ότι η συσχέτιση αυτή είναι πλασματική καθώς οφείλεται πιθανώς στη μειωμένη χρήση συστηματικών στεροειδών λόγω της λήψης αντιλευκοτριενίων και άρα στη συμπτωματική εκδήλωση προϋπάρχοντος συνδρόμου σε ορισμένους ασθενείς [191]. Επίσης, οι αναστολείς της 5-λιποξυγενάσης συσχετίζονται με ηπατοτοξικότητα και γι'αυτό θα πρέπει να γίνεται τακτικός έλεγχος της ηπατικής λειτουργίας κατά τη διάρκεια της θεραπείας. Πρόσφατα, ο FDA προειδοποίησε

για ψυχοσυναισθηματικές αλλαγές που περιλαμβάνουν και αυτοκτονικές τάσεις σχετιζόμενες με τη λήψη μοντελουκάστης.

Οι **Χρωμόνες** περιλαμβάνουν το χρωμογλυκονικό νάτριο και το νεδοκρομλικό νάτριο. Ο ρόλος τους στη μακροχρόνια θεραπεία του άσθματος είναι περιορισμένος. Είναι αποτελεσματικά σε ασθενείς με ήπιο επίμονο άσθμα και με άσθμα στην άσκηση. Έχουν μικρή αντιφλεγμονώδη δράση και είναι λιγότερο δραστικά από ότι η χρήση εισπνεόμενων κορτικοστεροειδών σε χαμηλή δόση. Θεωρούνται ασφαλή φάρμακα και οι ανεπιθύμητες ενέργειες δεν είναι συχνές και περιλαμβάνουν κυρίως βήχα μετά από την εισπνοή και φαρυγγαλγία.

Οι **βιολογικοί παράγοντες** είναι επιπρόσθετες θεραπείες με υψηλό κόστος που ενδείκνυνται σε συγκεκριμένους φαινότυπους ασθενών με σοβαρό, μη ελεγχόμενο άσθμα που λαμβάνουν όμως αγωγή βήματος 4 ή 5 κατά GINA. Τα μονοκλωνικά αντισώματα που έχουν λάβει έγκριση για τη θεραπεία του άσθματος είναι το omalizumab(anti-IgE), το mepolizumab(anti-IL5), το benralizumab(anti-IL5R), το reslizumab(anti-IL5) και το dupilumab(anti-IL4Ra). Το omalizumab είναι μονοκλωνικό αντίσωμα έναντι της IgE που έχει ένδειξη σε ασθενείς με σοβαρό αλλεργικό άσθμα και συγκεκριμένο όριο τιμών στα επίπεδα IgE. Δρα συνδεόμενο στον ειδικό υποδοχέα αυτής, τον FcεRI, μειώνοντας έτσι τα ελεύθερα επίπεδα IgE και περιορίζοντας την ηωσινοφιλική φλεγμονή, τόσο των αεραγωγών όσο και τη συστηματική [192]. Επιπλέον φαίνεται ότι δρα ανασταλτικά σε χαρακτηριστικά αναδιαμόρφωσης των αεραγωγών, όπως το πάχος της βασικής μεμβράνης του επιθηλίου και των λείων μυϊκών ινών [193]. Η χρήση του omalizumab βελτιώνει το λειτουργικό έλεγχο του αναπνευστικού, συνεισφέρει σε καλύτερο έλεγχο της νόσου και μειώνει τις παροξύνσεις [194, 195]. Χορηγείται με υποδόρια έγχυση κάθε 2-4 εβδομάδες σε δόσεις που προσδιορίζονται βάσει του σωματικού βάρους και των επιπέδων της ολικής IgE ορού του ασθενούς. Κυριότερες ανεπιθύμητες ενέργειες είναι η αναφυλαξία (0,14%) και πόνος-ερεθισμός στο σημείο έγχυσης του φαρμάκου [196].

Τα μονοκλωνικά αντισώματα έναντι της IL5 και του IL5Ra έχουν ένδειξη στο σοβαρό ηωσινοφιλικό άσθμα. Το mepolizumab είναι ένα εξανθρωποποιημένο μονοκλωνικό αντίσωμα έναντι της IL-5, που είναι γνωστό ότι προάγει τη διαφοροποίηση, ωρίμανση και μετανάστευση των ηωσινοφίλων στην κυκλοφορία και αυξάνει την επιβίωσή τους στους ιστούς. Η χορήγησή του καταστέλλει σε κυτταρικό επίπεδο την ηωσινοφιλική φλεγμονή και σε κλινικό επίπεδο μειώνει τη

συχνότητα των παροξύνσεων και περιορίζει την ανάγκη χρήσης συστηματικών στεροειδών. Ο φαινότυπος των ασθενών που ωφελείται ιδιαίτερα είναι όσοι έχουν ηωσινοφιλία ορού και πτυέλων, συχνές παροξύνσεις και κορτικοεξαρτώμενο άσθμα [197]. Χορηγείται υποδορίως μία φορά το μήνα σε σταθερή δόση των 100mg σε ασθενείς άνω των 12 ετών και στη δόση των 40mg σε παιδιά 6-12 ετών. Συχνές ανεπιθύμητες ενέργειες είναι η αλλεργική αντίδραση, η κεφαλαλγία, η πυρεξία και ο πόνος στο σημείο της ένεσης.

Το benralizumab δρα έναντι του υποδοχέα της IL-5 (IL5Ra) που εκφράζεται στην επιφάνεια των ηωσινοφίλων και των βασεόφιλων και η σύνδεση με τον υποδοχέα οδηγεί στον θάνατο των κυττάρων αυτών. Το benralizumab χορηγείται υποδορίως στη δόση των 30 mg κάθε μήνα για τους πρώτους τρεις μήνες και έπειτα κάθε δίμηνο σε ασθενείς άνω των 12 ετών [198]. Το reslizumab χορηγείται ενδοφλεβίως σε δόση 3mg/kg κάθε μήνα σε ασθενείς άνω των 18ετών. Ανεπιθύμητες ενέργειες είναι η αναφυλαξία(0,3%), οι μυαλγίες και η παροδική αύξηση της CPK.

Το dupilumab μπλοκάρει τον υποδοχέα της IL4 και μ αυτόν τον τρόπο, αναστέλλει τη δράση δύο κυτοκινών, της IL13 και της IL4. Χορηγείται υποδορίως αρχικά 600mg και έπειτα 300mg κάθε 15 ημέρες. Ανεπιθύμητες ενέργειες είναι ο πόνος στο σημείο της έγχυσης και η παροδική ηωσινοφιλία.

Τέλος, οι **μακρολίδες** έχουν γνωστές ανοσοτροποποιητικές ιδιότητες και για το λόγο αυτό έχουν ερευνηθεί τα αποτελέσματά της χορήγησής τους στο άσθμα. Παρά το ότι η χρήση τους έχει συσχετιστεί με τη μείωση των παροξύσεων σε ουδετεροφιλικό άσθμα δεν έχουν προκύψει σταθερά κλινικά σημαντικά αποτελέσματα. Για το λόγο αυτό, βάσει των οδηγιών της GINA [1], η χρήση τους περιορίζεται ως αντιμικροβιακός παράγοντας στη φάση των παροξύνσεων [199].

3.8.2 Έναρξη αγωγής- Θεραπευτικά Βήματα

Έναρξη αγωγής

Η έναρξη αγωγής ελέγχου θα πρέπει να γίνεται το συντομότερο δυνατό μετά τη διάγνωση της νόσου. Αποτελέσματα μελετών δείχνουν ότι:

- Η πρώιμη έναρξη χαμηλής δόσης ICS σε ασθματικούς ασθενείς έχει ως αποτέλεσμα μεγαλύτερη βελτίωση της αναπνευστικής τους λειτουργίας

συγκριτικά με την έναρξη αγωγής 2-4 έτη μετά την πρώτη εμφάνιση των συμπτωμάτων [201].

- Οι ασθενείς με άσθμα που δε χρησιμοποιούν ICS και παρουσιάζουν μια σοβαρή παρόξυνση της νόσου, εκδηλώνουν μακροπρόθεσμα μεγαλύτερη έκπτωση της αναπνευστικής τους λειτουργίας συγκριτικά με ασθενείς που λαμβάνουν ήδη ICS [200].

- Σε ασθενείς με επαγγελματικό άσθμα η πρόιμη απομάκρυνση από τον εκλυτικό παράγοντα και η πρόιμη έναρξη θεραπείας αυξάνει την πιθανότητα πλήρους ανάκαμψης [202].

Μετά την αρχική έναρξη της αγωγής ο ασθενής επανεκτιμάται περιοδικά με σκοπό να αποφασίζεται η συνέχιση της θεραπείας του και να τροποποιείται το είδος και η δοσολογία της αγωγής του. Τελικά διαμορφώνεται ένας «κύκλος» θεραπευτικής προσέγγισης: αξιολόγηση, προσαρμογή της θεραπείας, εκτίμηση της απάντησης στη θεραπεία, αξιολόγηση κ.ο.κ. (βλ. εικόνα 3, παράρτημα γενικού μέρους). Η αγωγή προσαρμόζεται με βάση τα θεραπευτικά βήματα που έχουν καθοριστεί και αναλύονται παρακάτω, ώστε να επιτευχθεί έλεγχος των συμπτωμάτων και μείωση του κινδύνου παροξύνσεων, εμφάνισης σταθερής απόφραξης των αεραγωγών και εκδήλωσης φαρμακευτικών παρενεργειών. Εφόσον διατηρείται καλός έλεγχος του άσθματος για 2-3 μήνες η αγωγή μπορεί να μειωθεί (step-down), ώστε ο ασθενής να λαμβάνει την ελάχιστη δυνατή αγωγή που του εξασφαλίζει έλεγχο της νόσου του. Στην περίπτωση όμως που ο ασθενής σε αυτό το διάστημα των 2-3 μηνών έχει εμμένοντα συμπτώματα ή/και παροξύνσεις θα πρέπει να γίνει αναβάθμιση (step-up) στη θεραπεία. Ωστόσο, πριν την αναβάθμιση της θεραπευτικής αγωγής θα πρέπει να ελεγχθούν οι εξής παράμετροι:

- Τεχνική χρήσης της συσκευής του εισπνεόμενου φαρμάκου
- Συμμόρφωση με την αγωγή
- Συνεχιζόμενη έκθεση σε παράγοντες όπως τα αλλεργιογόνα, ο καπνός του τσιγάρου ή συνεχιζόμενη χρήση φαρμάκων όπως οι β-αποκλειστές και τα μη Στεροειδή Αντιφλεγμονώδη (ΜΣΑΦ)
- Παρουσία συννοσηροτήτων όπως η παχυσαρκία και τα καρδιαγγειακά νοσήματα που επιδεινώνουν τα συμπτώματα του αναπνευστικού
- Λανθασμένη διάγνωση του άσθματος- Πιθανή εναλλακτική διάγνωση

Σύμφωνα με τις οδηγίες της GINA τα θεραπευτικά βήματα στο άσθμα διαμορφώνονται ως εξής [1], (εικόνα 3):

Βήμα 1: Ρυθμιστική αγωγή κατ' επίκληση για ανακούφιση συμπτωμάτων ή προ της άσκησης.

Προτεινόμενη αγωγή: κατ' επίκληση ICS -φορμοτερόλη

Η αγωγή βήματος 1 προτείνεται μόνο σε ασθενείς με πολύ περιστασιακά συμπτώματα (π.χ. λιγότερο από 2 φορές το μήνα) και μικρής διάρκειας (για λίγες ώρες), χωρίς νυχτερινές αφυπνίσεις, με φυσιολογική αναπνευστική λειτουργία ($FEV_1 > 80\%$ της προβλεπόμενης τιμής) και χωρίς παρουσία παραγόντων κινδύνου, όπως επεισόδιο παρόξυνσης το προηγούμενο έτος.

Όπως περιγράφηκε σε προηγούμενη ενότητα, η GINA δε συστήνει πλέον τη χρήση SABA ως ανακουφιστική αγωγή, λόγω του αυξημένου κινδύνου παροξύνσεων. Πλέον, ο συνδιασμός ICS-φορμοτερόλης συστήνεται από δεδομένα που προκύπτουν έμμεσα από μία μεγάλη, διπλά τυφλή μελέτη που συγκρίνει τον συνδιασμό αυτό με τον SABA σε ασθενείς με αγωγή βήματος 2 και παρουσίασε 64% μείωση των σοβαρών παροξύνσεων στην ομάδα ασθενών που ελάμβαναν τον συνδιασμό (Evidence B).

Τα ICS που χρησιμοποιούνται κατ' επίκληση είναι πρωτίστως η βουδεσονίδη αλλά πιθανά και η μπεκλομεθαζόνη είναι κατάλληλη. Η μέγιστη δόση φορμοτερόλης που μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε μία μέρα είναι 72mcg. Ακόμα δεν υπάρχουν επαρκείς μελέτες για τη χρήση ICS-φορμοτερόλης κατ' επίκληση στα παιδιά και συνεχίζεται η χρήση SABA.

Ως εναλλακτική αγωγή προτείνεται η χαμηλή δόση εισπνεόμενων στεροειδών κατ' επίκληση σε συνδιασμό με SABA ώστε να μειωθεί ο κίνδυνος παροξύνσεων καθώς είναι δύσκολη η συμμόρφωση με την καθημερινή λήψη ICS από έναν ασθενή που δεν έχει συχνά συμπτώματα.

Βήμα 2: Χαμηλή δόση ρυθμιστικού φαρμάκου ICS καθημερινά με επιπρόσθετη χρήση κατ' επίκληση ανακουφιστικής αγωγής SABA όταν χρειάζεται(σε παιδιά, εφήβους, ενήλικες) ή κατ' επίκληση ICS-φορμοτερόλη.

Η θεραπεία με ICS σε χαμηλές δόσεις βελτιώνει τα συμπτώματα του άσθματος, το λειτουργικό έλεγχο του αναπνευστικού καθώς και την ποιότητα ζωής και μειώνει τον κίνδυνο των παροξύνσεων, τις νοσηλείες και τους θανάτους λόγω της νόσου

[203]. Ωστόσο, λόγω της χαμηλής συμμόρφωσης στη συστηματική λήψη των ICS που παρατηρείται σε ασθενείς με ήπιο άσθμα και του κινδύνου έκθεσης μόνο σε SABA, συστήνεται πλέον η κατ' επίκληση χρήση ICS-φορμοτερόλης πριν την άσκηση και για την ανακούφιση των συμπτωμάτων, ώστε να αποφευχθούν οι σοβαρές παροξύνσεις. Επίσης, είναι δυνατή η λήψη ICS κατ' επίκληση κάθε φορά που χορηγείται SABA ως δεύτερη επιλογή αν δεν είναι διαθέσιμος ο συνδυασμός ICS-φορμοτερόλης.

Εναλλακτική αγωγή είναι οι ανταγωνιστές του υποδοχέα των λευκοτριενίων (Leukotriene receptor antagonists, LTRA), που είναι βέβαια λιγότερο αποτελεσματικοί από την αγωγή με ICS (Evidence A), αλλά ενδείκνυνται στις περιπτώσεις που ο ασθενής δεν επιθυμεί να λάβει ICS ή εμφανίζει σοβαρές παρενέργειες από τη χρήση τους ή έχει συνοδό αλλεργική ρινίτιδα (Evidence B).

Βήμα 3: Ένα ή δύο ρυθμιστικά φάρμακα σε συνδυασμό με ανακουφιστική αγωγή
Προτεινόμενη αγωγή: συνδυασμός χαμηλής δόσης ICS/LABA ως θεραπεία συντήρησης σε συνδυασμό με SABA ή συνδυασμός χαμηλής δόσης ICS/φορμοτερόλης ταυτόχρονα ως συνδυασμός σταθερής όσο και ανακουφιστικής αγωγής. Σε ασθενείς με παράγοντες κινδύνου για μη καλή έκβαση, ο συνδυασμός ICS/φορμοτερόλης ως θεραπεία συντήρησης αλλά και ως ανακουφιστική αγωγή μειώνει τις παροξύνσεις και έχει παρόμοια αποτελέσματα στον έλεγχο του άσθματος με τη σταθερή δόση ICS/LABA σε συνδυασμό με κατ' επίκληση SABA (Evidence A). Εναλλακτικές αγωγές είναι η αύξηση των ICS σε μέτρια δόση, που όμως θεωρείται λιγότερο αποτελεσματική από την προσθήκη LABA ή η προσθήκη LTRA.

Βήμα 4: Δύο ή περισσότερα ρυθμιστικά φάρμακα (ICS/LABA) σε συνδυασμό με ανακουφιστική αγωγή (ICS/LABA ή SABA).

Προτεινόμενη αγωγή: συνδυασμός χαμηλής δόσης ICS/φορμοτερόλης ταυτόχρονα ως σταθερή αγωγή και ανακουφιστικό φάρμακο ή ο συνδυασμός μέτριας δόσης ICS/LABA σε συνδυασμό με κατ' επίκληση SABA. Όταν ο ασθενής έχει στο ιστορικό του μία ή περισσότερες παροξύνσεις τον προηγούμενο χρόνο, ο συνδυασμός χαμηλής δόσης ICS/φορμοτερόλης ως σταθερής και ανακουφιστικής αγωγής είναι πιο αποτελεσματικός στη μείωση των παροξύνσεων

από το συνδυασμό ίδιας δόσης ICS/LABA ως ρυθμιστικής αγωγής ή υψηλότερες δόσεις ICS (Evidence A).

Εναλλακτικές αγωγές αποτελούν η προσθήκη τιτροπίου σε ενήλικες με ιστορικό παροξύνσεων (Evidence A) και ο συνδυασμός υψηλής δόσης ICS/LABA (η υψηλή δόση ICS παρέχει μικρό επιπρόσθετο όφελος, ενώ υπάρχει αυξημένος κίνδυνος παρενεργειών). Η χορήγηση υψηλής δόσης ICS προτείνεται για διάρκεια 3-6 μηνών όταν δεν επιτυγχάνεται έλεγχος του άσθματος με μέτρια δόση ICS σε συνδυασμό με LABA ή/και ένα τρίτο ρυθμιστικό φάρμακο (π.χ. LTRA) (Evidence B). Σε μέτρια ή υψηλή δόση ICS μπορεί να προστεθεί LTRA αλλά είναι φυσικά λιγότερο αποτελεσματικά από την προσθήκη LABA (Evidence A).

Βήμα 5: Υψηλού επιπέδου φροντίδα- Χορήγηση επιπρόσθετων θεραπειών

Προτεινόμενη διαχείριση: παραπομπή σε ειδικό κέντρο διαχείρισης σοβαρού ή ανθιστάμενου στη θεραπεία άσθματος. Οι ασθενείς που εξακολουθούν να έχουν συμπτώματα ή να εκδηλώνουν παροξύνσεις, παρά τη λήψη βέλτιστης αγωγής του βήματος 4 (με δοκιμή όλων των εναλλακτικών σχημάτων ρυθμιστικών φαρμάκων), με καλή συμμόρφωση σε αυτή και σωστή τεχνική στη χρήση των συσκευών εισπνεόμενων πρέπει να παραπέμπονται σε ειδικά κέντρα διαχείρισης σοβαρού άσθματος (Evidence D). Στο βήμα 5 οι θεραπευτικές επιλογές είναι οι εξής:

- Προσθήκη τιτροπίου σε ασθενείς με ιστορικό παροξύνσεων [ενδεχόμενη βελτίωση της αναπνευστικής λειτουργίας και αύξηση του χρόνου μέχρι την εμφάνιση νέας σοβαρής παρόξυνσης (Evidence B)].
- Προσθήκη omalizumab (anti-IgE) σε ασθενείς >6 ετών με μέτριο ή σοβαρό αλλεργικό άσθμα (Evidence A).
- Προσθήκη anti-IL5/5R σε ασθενείς με σοβαρό ηωσινοφιλικό άσθμα (Evidence A).
- Προσθήκη anti-IL4Rα σε ασθενείς με σοβαρό T_H2 άσθμα (Evidence A).
- Προσθήκη αζιθρομυκίνης (τρεις φορές την εβδομάδα) σε ασθενείς με επίμονα συμπτώματα άσθματος παρά τη λήψη υψηλής δόσης ICS/LABA μείωσε τον αριθμό των παροξύνσεων σε ηωσινοφιλικό και μη ηωσινοφιλικό άσθμα και βελτίωσε την ποιότητα ζωής των ασθενών (Evidence B).
- Καθοδήγηση της θεραπείας βάσει του προφίλ της φλεγμονής στα προκλητά πτύελα (Evidence A).

- Θερμοπλαστική των βρόγχων σε επιλεγμένη ομάδα ασθενών με σοβαρό άσθμα (Evidence B). Διενεργείται σε ειδικά κέντρα και πρόκειται ουσιαστικά για συνεδρίες με βρογχοσκόπιο όπου γίνεται εφαρμογή ενδοβρογχικά ρεύματος με σκοπό τη διαστολή και τη μείωση της λείας μυικής μάζας. Αναφέρονται θετικά αποτελέσματα αλλά με βραχύ χρόνο ανταπόκρισης ως προς την διατήρηση του θεραπευτικού αποτελέσματος [183].
- Προσθήκη χαμηλής δόσης στεροειδών από του στόματος (≤ 7.5 mg predνιζολόνης ημερησίως ή ισοδύναμη δόση άλλου συστηματικού στεροειδούς). Λόγω σοβαρών συστηματικών παρενεργειών, θα πρέπει να χορηγείται προσεκτικά και εφόσον έχουν αποκλειστεί άλλοι αναστρέψιμοι παράγοντες κινδύνου για τον έλεγχο του άσθματος και έχουν δοκιμαστεί άλλες εναλλακτικές θεραπείες. Οι ασθενείς θα πρέπει να ενημερώνονται για τις πιθανές ανεπιθύμητες ενέργειες και όσοι λαμβάνουν θεραπεία για πάνω από 3 μήνες πρέπει να παρακολουθούνται για οστεοπόρωση και άλλες παρενέργειες και να λαμβάνουν προληπτική αγωγή όπου αυτή ενδείκνυται.

3.8.3 Ειδικές περιπτώσεις [1]

Επαγγελματικό άσθμα

Όπως προαναφέρθηκε διάφορες, μη ειδικές, ερεθιστικές ουσίες στον χώρο εργασίας μπορεί να επηρεάσουν τον έλεγχο των συμπτωμάτων σε ήδη προϋπάρχουσα νόσο (work- exacerbated asthma) ή η ίδια η νόσος να προκαλείται από το χώρο εργασίας (επαγγελματικό άσθμα), όπου συνήθως έχει αλλεργικό υπόβαθρο, μεσολαβούμενη από IgE. Ποσοστό 10-25% των ασθενών με άσθμα πάσχουν από επαγγελματικό και work exacerbated asthma στην Ευρώπη και το επαγγελματικό άσθμα είναι η πιο συχνή μορφή επαγγελματικής νόσου εκ του αναπνευστικού στις περισσότερες βιομηχανικές χώρες [204]. Όταν τεθεί με βεβαιότητα η διάγνωση του επαγγελματικού άσθματος, η καλή έκβαση της νόσου θα εξαρτηθεί κυρίως από την αλλαγή του τόπου εργασίας προς αποφυγή του εκλυτικού παράγοντα και λιγότερο από τη φαρμακευτική αντιμετώπιση, η οποία όμως είναι απαραίτητη και είναι ίδια, όπως σε όλες τις μορφές του άσθματος. Το επαγγελματικό άσθμα μπορεί να επιμένει για πολλά χρόνια, παρά την απομάκρυνση από τον τόπο εργασίας, κυρίως σε ασθενείς που

ήταν συμπτωματικοί για πολλά χρόνια πριν την διακοπή της έκθεσης. Συνεχιζόμενη έκθεση μπορεί να επιδεινώσει την βαρύτητα του άσθματος και να οδηγήσει σε θανατηφόρες παροξύνσεις άσθματος, καθώς και σε συνεχή έκπτωση της αναπνευστικής λειτουργίας [205,206].

Νοσήματα του ανωτέρου αναπνευστικού και άσθμα

A. Ρινίτιδα: Πολλοί από τους ασθενείς με άσθμα έχουν ιστορικό ρινίτιδας και έως 30% των ασθενών με επίμονη ρινίτιδα έχουν ή αναπτύσσουν άσθμα. Η ρινίτιδα συνήθως προηγείται του άσθματος και σχετίζεται με αυξημένη βαρύτητα της νόσου. Η πιθανότητα του άσθματος θα πρέπει να διερευνάται σε όλους τους ασθενείς με ρινίτιδα και η σωστή θεραπεία της ρινίτιδας φαίνεται ότι βελτιώνει τα συμπτώματα του ασθενούς με άσθμα, όχι όμως και τον έλεγχο της νόσου. Τα τοπικά κορτικοστεροειδή είναι η ενδεικνυόμενη θεραπεία στην περίπτωση αυτή.

B. Παραρρινοκολπίτιδα: Η παραρρινοκολπίτιδα μπορεί να είναι οξεία (διάρκεια συμπτωμάτων < 12 εβδομάδες και πλήρης ύφεση αυτών) ή χρόνια (παρουσία συμπτωμάτων τις περισσότερες μέρες σε διάστημα > 12 εβδομάδων, χωρίς πλήρη ύφεση αυτών). Και οι δύο μορφές μπορεί να επιδεινώσουν τα συμπτώματα του άσθματος. Για την διάγνωσή της απαραίτητη είναι η διενέργεια αξονικής τομογραφίας παραρρινίων και η αντιμετώπισή της περιλαμβάνει τοπικά αποσυμφορητικά ρινός, ενδορρινικά κορτικοστεροειδή ή και συστηματικά κορτικοστεροειδή καθώς και αντιμικροβιακή αγωγή. Η χρόνια παραρρινοκολπίτιδα περιλαμβάνει δύο διακριτά σύνδρομα, ανάλογα με το εάν συνδυάζεται με την παρουσία ρινικών πολυπόδων. Γενικά η χρόνια παραρρινοκολπίτιδα συσχετίζεται με σοβαρότερες μορφές άσθματος, ειδικά εάν συνυπάρχουν πολύποδες.

Γ. Ρινικοί πολύποδες: Οι ρινικοί πολύποδες αποτελούν φλεγμονώδεις διογκώσεις του βλεννογόνου των παραρρινίων κόλπων. Τα κύρια συμπτώματά τους είναι οπισθορρινική έκκριση, ρινική συμφόρηση και ανοσμία ή υποσμία. Οι ρινικοί πολύποδες πολύ συχνά σχετίζονται με επίμονο άσθμα, ρινίτιδα καθώς και με ευαισθησία στην ασπιρίνη, κυρίως σε ασθενείς άνω των 40 ετών. Το 36-96% των ασθενών με δυσανεξία στην ασπιρίνη έχουν πολύποδες και το 30-70% των

ασθενών με πολύποδες έχουν άσθμα. Παιδιά με ρινικούς πολύποδες θα πρέπει επίσης να ελέγχονται για κυστική ίνωση και το σύνδρομο δυσκινησίας κροσσών. Η θεραπεία εκλογής είναι η χορήγηση ενδορρινικών κορτικοστεροειδών, τα οποία μειώνουν το μέγεθος του πολύποδα, τη ρινική συμφόρηση, τη ρινόρροια και βελτιώνουν τη ροή του αέρα από την μύτη. Χειρουργική αντιμετώπιση γίνεται σε περίπτωση που ο πολύποδας προκαλεί σοβαρή απόφραξη, υποτροπιάζουσες παραρινοκολπίτιδες, ή όταν έχει αποτύχει η φαρμακευτική αγωγή, ωστόσο αναφέρεται υψηλό ποσοστό υποτροπής μετεγχειρητικά.

Άσθμα και εγκυμοσύνη

Το άσθμα αφορά περίπου το 3-14% των εγκύων γυναικών. Κατά την διάρκεια της εγκυμοσύνης, η βαρύτητα του άσθματος αλλάζει και οι ασθενείς χρειάζονται στενή παρακολούθηση και πιθανόν τροποποίηση της αγωγής τους. Το 1/3 των εγκύων ασθενών με άσθμα κατά την κύηση επιδεινώνονται, το 1/3 παρουσιάζουν βελτίωση των συμπτωμάτων τους και το 1/3 παραμένει σε σταθερή κατάσταση [207]. Παροξύνσεις άσθματος εκδηλώνονται συχνότερα κατά το δεύτερο τρίμηνο κύησης και οι λόγοι που σημειώνονται παροξύνσεις και φτωχός έλεγχος της νόσου σε ορισμένες γυναίκες σχετίζονται πιθανώς με ορμονικές ή μηχανικές αλλαγές, με αυτόβουλη διακοπή της ρυθμιστικής αγωγής και με αυξημένη ευαισθησία των εγκύων σε λοιμώξεις, ιδιαίτερα από τον ιό της γρίπης. Παρότι υπάρχει γενική ανησυχία για την χρήση φαρμάκων κατά την διάρκεια της εγκυμοσύνης, ο μη καλός έλεγχος του άσθματος σε αυτή την περίοδο θα μπορούσε να έχει αρνητικές συνέπειες για το έμβρυο όπως αυξημένη περιγεννητική θνησιμότητα, αυξημένη πιθανότητα για πρόωρο τοκετό και μειωμένο βάρος γέννησης [208]. Η περιγεννητική πρόγνωση των παιδιών που γεννιούνται από ασθματικές γυναίκες που ελέγχονται καλά κατά την κύηση είναι παρόμοια με των παιδιών που γεννιούνται από φυσιολογικές γυναίκες. Για τον λόγο αυτό, η χρήση φαρμάκων για τον έλεγχο του άσθματος είναι απαραίτητη, ακόμα και εάν δεν έχει αποδειχθεί απόλυτα η ασφάλειά τους στη εγκυμοσύνη. Τα ICS, οι β2 αγωνιστές και οι αναστολείς των λευκοτριενίων, κυρίως η μοντελουκάστη, δεν σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο για εμβρυικές ανωμαλίες. Τα εισπνεόμενα κορτικοστεροειδή έχει αποδειχθεί ότι προφυλάσσουν από παροξύνσεις κατά την διάρκεια της εγκυμοσύνης (Evidence B). Οι παροξύνσεις θα πρέπει να αντιμετωπίζονται επιθετικά για αποφυγή

υποξίας του εμβρύου (χορήγηση ταχείας δράσης β2 αγωνιστών, οξυγονοθεραπείας, συστηματικών κορτικοστεροειδών, όταν παραστεί ανάγκη) [209]. Συμπερασματικά, οι πιθανές συνέπειες από το μη καλό έλεγχο του άσθματος κατά την εγκυμοσύνη είναι πιο σοβαρές από ότι οι πιθανές παρενέργειες από τη χρήση της αντι-ασθματικής αγωγής, για αυτό το λόγο συστήνεται η χρήση όσο το δυνατόν χαμηλότερων δόσεων των φαρμάκων για τον καλύτερο έλεγχο του άσθματος.

Γαστροοισοφαγική παλινδρόμηση

Η ΓΟΠ εκδηλώνεται με συμπτώματα όπως οπισθοστερνικό ή επιγαστρικό άλγος και είναι αίτιο ξηρού βήχα. ΓΟΠ διαγιγνώσκεται πολύ συχνότερα σε ασθενείς με άσθμα από ότι στο γενικό πληθυσμό και αυτό μπορεί να οφείλεται στην παρουσία βήχα που αποδίδεται στο άσθμα ή ακόμη και στη χορήγηση φαρμάκων για τον έλεγχο του άσθματος, όπως οι β2 αγωνιστές και η θεοφυλλίνη, που προκαλούν χαλάρωση του κατώτερου οισοφαγικού σφιγκτήρα. Σε ασθενείς με επιβεβαιωμένο άσθμα και συμπτώματα ΓΟΠ συνιστάται η χορήγηση εμπειρικής αγωγής που εφαρμόζεται και στο λοιπό πληθυσμό (π.χ. PPIs). Σε ασθενείς με μη ελεγχόμενο άσθμα και χωρίς συμπτώματα ΓΟΠ δε συνιστάται έλεγχος ή θεραπεία για ΓΟΠ ως ρουτίνα καθώς η θεραπεία με αναστολείς αντλίας πρωτονίων δε βελτιώνει τον έλεγχο του άσθματος. Συμπερασματικά φαίνεται ότι η χορήγηση αγωγής για ΓΟΠ έχει νόημα σε διαγνωσμένους ασθματικούς με συμπτώματα παλινδρόμησης και κυρίως πιο έντονα συμπτώματα από το αναπνευστικό κατά τη διάρκεια της νύχτας.

Χειρουργικές επεμβάσεις

Η βρογχική υπεραντιδραστικότητα, ο περιορισμός της ροής του αέρα και η υπερέκκριση βλέννης, προδιαθέτουν τους ασθενείς με άσθμα για περιεγχειρητικές και μετεγχειρητικές επιπλοκές από το αναπνευστικό. Η πιθανότητα για αυτές τις επιπλοκές εξαρτάται από την βαρύτητα του άσθματος, την περιοχή του χειρουργείου (θώρακος και άνω κοιλίας διατρέχουν υψηλότερο κίνδυνο) και τον τύπο της αναισθησίας (η γενική αναισθησία με ενδοτραχειακή διασωλήνωση είναι υψηλότερου κινδύνου). Αυτές οι μεταβλητές καθώς και η λειτουργική ικανότητα των πνευμόνων πρέπει να αξιολογηθούν πριν το χειρουργείο και εάν είναι δυνατόν μέρες πριν, έτσι ώστε να υπάρχει το χρονικό

περιθώριο για κατάλληλη θεραπεία, εάν είναι αναγκαία. Οι ασθενείς που έχουν λάβει συστηματικά κορτικοστεροειδή για πάνω από 2 εβδομάδες εντός των τελευταίων 6 μηνών ή που λαμβάνουν μακροχρόνια υψηλές δόσεις ICS, θα πρέπει να καλυφθούν κατά την διάρκεια του χειρουργείου με υδροκορτιζόνη ενδοφλεβίως καθώς διατρέχουν κίνδυνο για κρίση επινεφριδιακής ανεπάρκειας.

Άσθμα και ασπιρίνη (aspirin exacerbated respiratory disease - AERD)

Το AERD αποτελεί μία οντότητα με σαφή κλινική εικόνα και εξέλιξη. Ξεκινά συνήθως με ρινική συμφόρηση και ανοσμία που προοδευτικά εξελίσσονται σε χρόνια παραρρινοκολπίτιδα και ανάπτυξη ρινικών πολυπόδων που υποτροπιάζουν μετά από χειρουργική αφαίρεση. Ακολούθως αναπτύσσεται άσθμα και υπερευαισθησία στην ασπιρίνη. Οι ασθενείς που πάσχουν από AERD εμφανίζουν 1-2 ώρες μετά τη χρήση ασπιρίνης ή άλλων μη στεροειδών αντιφλεγμονωδών (NSAID), που αναστέλλουν την κυκλοοξυγενάση-1 (COX-1), βαριά παρόξυνση άσθματος (που μπορεί να φτάσει ως το αναπνευστικό arrest), συμπτώματα ρινίτιδας με ρινόρροια, συμφόρηση και δακρύρροια, flushing (υπεραιμία προσώπου) και συμπτώματα από το ΓΕΣ. Σε εμφάνιση τέτοιας αντίδρασης μετά από λήψη ασπιρίνης και NSAIDs, η αντιμετώπιση είναι αυτή της σοβαρής παρόξυνσης και απαιτείται οπωσδήποτε χορήγηση κορτικοειδών. Γενικά το AERD έχει συσχετιστεί με πτωχή αναπνευστική λειτουργία και σοβαρό άσθμα. Περίπου το 7% του γενικού πληθυσμού με άσθμα και το 15% του πληθυσμού με σοβαρό άσθμα πάσχουν από AERD.

Η διάγνωση επιβεβαιώνεται με δοκιμασία πρόκλησης που έχει σοβαρούς κινδύνους και δεν πρέπει να επιχειρείται εκτός χώρων που υπάρχει δυνατότητα καρδιοαναπνευστικής ανάνηψης και ποτέ σε ασθενείς με FEV1<70% της προβλεπόμενης.

Η θεραπεία συνίσταται στην αποφυγή τόσο της ασπιρίνης και όλων των παραγώγων της, όσο και των μη στεροειδών αντιφλεγμονωδών, τα οποία αναστέλλουν την COX- 1, όπου παρατηρείται διασταυρούμενη αντίδραση, χωρίς βέβαια αυτό να σημαίνει ότι σταματά η πρόοδος της νόσου. Εφόσον είναι απαραίτητη η λήψη NSAIDs, οι ασθενείς μπορούν να λάβουν εκλεκτικούς αναστολείς της COX- 2 ή παρακεταμόλη. Η παρακεταμόλη (ακεταμινοφαίνη) είναι ασθενής αναστολέας της COX- 1 και 2 και αναστέλλει κυρίως την COX- 3. Αναστέλλει την COX- 1 μόνο σε υψηλές συγκεντρώσεις και επομένως μια

χαμηλή δόση παρακεταμόλης θεωρείται ασφαλής. Πέραν της αποφυγής των επικίνδυνων παραγόντων, η βασική θεραπεία του AERD περιλαμβάνει τα ICS, ενώ είναι συχνά απαραίτητα και τα συστηματικά στεροειδή. Αποτελεσματικά επίσης μπορεί να είναι τα LTRA. Σε ασθενείς με ευαισθησία στην ασπιρίνη και στα NSAIDs που πρέπει να παίρνουν αντιφλεγμονώδη έχει ένδειξη και η απευαισθητοποίηση που γίνεται με σταδιακή χορήγηση ασπιρίνης και συνήθως έχει σαν αποτέλεσμα τη βελτίωση των συμπτωμάτων, ειδικά της ρινίτιδας.

Αναφυλακτικές αντιδράσεις

Οι αναφυλακτικές αντιδράσεις είναι καταστάσεις απειλητικές για τη ζωή των ασθενών, που μπορεί να μιμούνται σοβαρό άσθμα ή να επιβαρύνουν ήδη διαγνωσμένο άσθμα. Αναφυλακτική αντίδραση μπορεί να εμφανιστεί μετά από χορήγηση κάποιας φαρμακευτικής ή βιολογικής ουσίας, αλλεργιογόνων συστατικών στα πλαίσια της ανοσοθεραπείας, τροφίμων (ξηροί καρποί, οστρακοειδή, ψάρι, αυγά, γάλα), μετά από διενέργεια εμβολιασμών, μετά από δήγματα εντόμων και μετά από άσκηση. Οι τροφικές αλλεργίες σπάνια πυροδοτούν συμπτώματα άσθματος (<2%), αλλά οι ασθενείς που πάσχουν από τροφικές αλλεργίες παρουσιάζουν αυξημένη επίπτωση άσθματος και θα πρέπει να παραπέμπονται εκτός από αλλεργιολογική και για πνευμονολογική εκτίμηση. Στις εκδηλώσεις της αναφυλαξίας περιλαμβάνονται το flushing, ο κνησμός και η κνίδωση, το αγγειοοίδημα, η εμφάνιση συρίπτουσας αναπνοής, ζάλης ή ακόμη και συγκοπτικού επεισοδίου με ή χωρίς υπόταση και γαστρεντερικά συμπτώματα, όπως ναυτία, έμετος και διάρροια.

Η πρόληψη επανεμφάνισης αναφυλακτικής αντίδρασης γίνεται με την αποφυγή των εκλυτικών παραγόντων και με την προμήθεια προγεμισμένης σύριγγας επινεφρίνης για περίπτωση ανάγκης. Γενικά οι ασθενείς αυτοί θα πρέπει να εκπαιδεύονται ώστε να μπορούν να διαχωρίσουν τα συμπτώματα παρόξυνσης του άσθματος από τα συμπτώματα της αναφυλαξίας και να έχουν γραπτό πλάνο δράσης σε περίπτωση αναφυλακτικής αντίδρασης.

3.8.4 Μη Φαρμακευτική Αντιμετώπιση

Μέθοδοι αυτοδιαχείρισης του άσθματος

Το άσθμα αποτελεί μια χρόνια νόσο στην οποία έχει ιδιαίτερα βασικό ρόλο η ενημέρωση, η εκπαίδευση και η ανάπτυξη της ικανότητας αυτοδιαχείρισης της νόσου από τους ασθενείς. Αυτό φυσικά επιτυγχάνεται μέσα από μια στενή συνεργασία ασθενούς και ιατρού. Οι ασθενείς, πέραν της εκπαίδευσης για την πρόληψη, την αναγνώριση και τη διαχείριση των συμπτωμάτων τους, θα πρέπει να έχουν γραπτό σχεδιάγραμμα δράσης σε περίπτωση επιδείνωσης της συμπτωματολογίας τους ή της καθημερινής PEF. Με αυτόν τον τρόπο μπορούν οι ίδιοι να κάνουν βραχυπρόθεσμες αλλαγές στη θεραπεία τους και να αντιλαμβάνονται τότε είναι απαραίτητη η παροχή ιατρικής φροντίδας [210]. Συνοψίζοντας, η αυτοδιαχείριση της νόσου περιλαμβάνει τρεις βασικές παραμέτρους: 1) παρακολούθηση (ή/και καταγραφή) των καθημερινών συμπτωμάτων ή/και της PEF, 2) γραπτό σχεδιάγραμμα που να περιγράφει σαφώς και με απλό τρόπο πως αναγνωρίζεται και αντιμετωπίζεται η επιδείνωση της νόσου [εικόνα 4, παράρτημα γενικού μέρους] και 3) τακτική επανεκτίμηση τους επαγγελματίες υγείας [211].

Αποφυγή παραγόντων κινδύνου

Χαρακτηριστικά παραδείγματα παραγόντων κινδύνου αποτελούν οι ρύποι εσωτερικού και εξωτερικού χώρου που αναλύθηκαν σε προηγούμενο κεφάλαιο. Οι οδηγίες της GINA συνιστούν αποφυγή πιθανών αλλεργιογόνων, αν και προς το παρόν τα δεδομένα σχετικά με την επίδραση της ελάττωσης της έκθεσης σε αλλεργιογόνα στη βελτίωση του λειτουργικού ελέγχου του αναπνευστικού και στη μείωση της φλεγμονής των αεραγωγών και της βρογχικής υπεραντιδραστικότητας είναι περιορισμένα. Η επιτυχής αποφυγή των αλλεργιογόνων βασίζεται τόσο στην ενημέρωση και συμμόρφωση των ασθενών όσο και σε τακτικούς καθαρισμούς ή λήψη άλλων απαραίτητων μέτρων [212].

Ανοσοθεραπεία

Η ανοσοθεραπεία έναντι ειδικών αλλεργιογόνων έχει ενδεχομένως θεραπευτικό ρόλο σε περιπτώσεις όπου η παρουσία αλλεργίας επηρεάζει σημαντικά τη νόσο, αλλά θα πρέπει σε κάθε περίπτωση να ζυγίζεται το πιθανό όφελος αυτής έναντι

του αυξημένου κόστους και της παρατεταμένης διάρκειά της (Evidence D). Διακρίνονται δύο μέθοδοι ανοσοθεραπείας: η υποδόρια (subcutaneous immunotherapy, SCIT) και η υπογλώσσια (sublingual immunotherapy, SLIT). Οι περισσότερες διαθέσιμες μελέτες περιλαμβάνουν ασθενείς με ήπιο άσθμα, ενώ υπάρχουν λίγα δεδομένα για τη σύγκριση μεταξύ ανοσοθεραπείας και κλασικής φαρμακευτικής θεραπείας του άσθματος. Η SCIT έχει συσχετιστεί με καλύτερο έλεγχο των συμπτωμάτων, μείωση των αναγκών για φαρμακευτική αγωγή και ελάττωση της βρογχικής υπεραντιδραστικότητας (ειδικής ως προς το αλλεργιογόνο και μη ειδικής) σε ασθενείς με άσθμα και αλλεργική ευαισθητοποίηση. Συνηθέστερη ανεπιθύμητη ενέργειά της αποτελεί το αναφυλακτικό shock και για το λόγο αυτό η χρήση της απαιτεί αυξημένη προσοχή [213]. Η SLIT από την άλλη μεριά θεωρείται λιγότερο αποτελεσματική, αλλά έχει ως συνηθέστερες ανεπιθύμητες ενέργειες ήπια στοματικά και γαστρεντερικά ενοχλήματα [214].

Υγιεινός τρόπος ζωής

Μεταξύ των παραγόντων που επηρεάζουν τον επιπολασμό και την επίπτωση του βρογχικού άσθματος περιλαμβάνονται η διατροφή, η σωματική δραστηριότητα, το ψυχολογικό stress κ.α. Η σωματική δραστηριότητα έχει συσχετιστεί ποικιλοτρόπως με το άσθμα. Από τη μία μεριά, η μειωμένη σωματική δραστηριότητα σε συνδυασμό με την παχυσαρκία συμβάλλει στην αύξηση των φλεγμονωδών μεσολαβητών που απελευθερώνονται από το λιπώδη ιστό αλλά και στη μείωση της ενδοτικότητας των πνευμόνων και της διαμέτρου των περιφερικών αεραγωγών, που ενοχοποιούνται για την επιδείνωση του άσθματος. Από την άλλη μεριά, σε επαγγελματίες αθλητές η έντονη άσκηση, όπως το τρέξιμο μεγάλων αποστάσεων ή οι αγώνες κολύμβησης, φαίνεται ότι συσχετίζεται με βρογχική υπεραντιδραστικότητα [215]. Παρόλα αυτά, η συχνή μέτριας έντασης αερόβια άσκηση ωφελεί του ασθματικούς ασθενείς, ιδιαίτερα αν έχουν αλλεργικό φαινότυπο [216]. Όσον αφορά στο ζήτημα της διατροφής, φαίνεται ότι μια ισορροπημένη διατροφή βασισμένη στη μεσογειακή δίαιτα και γενικά η κατανάλωση φρέσκων φρούτων και ω-3 λιπαρών οξέων, αυξάνουν την πιθανότητα καλού ελέγχου της νόσου [217].

Εμβολιασμοί

Οι εμβολιασμοί έναντι της γρίπης και του πνευμονιόκοκκου αποτελούν ουσιώδες μέτρο για τον περιορισμό των λοιμώξεων που συχνά πυροδοτούν παροξύνσεις άσθματος. Σε ασθενείς με μέτριας βαρύτητας και σοβαρό άσθμα συνιστάται ετήσιος αντιγριπικός εμβολιασμός (Evidence C), χωρίς βέβαια το μέτρο αυτό να φαίνεται ότι μειώνει τη βαρύτητα των παροξύνσεων της νόσου [218] (Evidence A). Επίσης οι ασθματικοί ασθενείς της παιδικής ή της τρίτης ηλικίας, παρ' ότι έχουν υψηλότερο κίνδυνο πνευμονιοκοκκικής νόσου, δεν έχουν σαφή ένδειξη για τακτικό αντιπνευμονιοκοκκικό εμβολιασμό [219] (Evidence D).

Θερμοπλαστική των βρόγχων

Η θερμοπλαστική των βρόγχων συμπεριλαμβάνεται ως θεραπευτική επιλογή στο Βήμα 5 κατά GINA. Όπως προαναφέρθηκε, πραγματοποιείται σε εξειδικευμένα κέντρα και συνιστάται στη διενέργεια επαναλαμβανόμενων (συνήθως 3) βρογχοσκοπήσεων, όπου εφαρμόζεται εκπομπή ραδιοκυμάτων στους βρόγχους με στόχο την παραγωγή θερμότητας και τη μείωση των λείων μυϊκών ινών. Σε μία τυχαιοποιημένη μελέτη ασθενών με άσθμα που ελάμβαναν αγωγή με υψηλή δόση ICS/LABA, η θερμοπλαστική των βρόγχων φάνηκε να σχετίζεται με αύξηση των παροξύνσεων κατά την περίοδο διενέργειας των βρογχοσκοπήσεων (3 μήνες) και στη συνέχεια σημειώθηκε μείωση και παραμονή αυτών σε μικρότερη συχνότητα συγκριτικά με την προ-θεραπείας περίοδο. Βέβαια δεν παρατηρήθηκε άλλο θετικό αποτέλεσμα επί του λειτουργικού ελέγχου του αναπνευστικού ή των συμπτωμάτων του άσθματος [220]. Η έλλειψη μεγάλων μελετών που να αξιολογούν μακροπρόθεσμα τα αποτελέσματα της θερμοπλαστικής περιορίζει τη χρήση της. Γενικά η μέθοδος αυτή συσχετίζεται και με αυξημένη επίπτωση φαινομένου placebo. Το ERS/ATS Task Force για το Σοβαρό Άσθμα το 2014 προτείνει τη διενέργεια θερμοπλαστικής των βρόγχων σε ασθενείς με σοβαρό άσθμα μόνο στα πλαίσια ειδικού πρωτοκόλλου ή κλινικής μελέτης προκειμένου να προκύψουν περισσότερα στοιχεία για την αποτελεσματικότητα και την ασφάλειά της.

3.9 Παροξύνσεις Ασθματος

3.9.1 Ορισμός παρόξυνσης

Οι παροξύνσεις του άσθματος χαρακτηρίζονται από προοδευτική αύξηση της βαρύτητας των συμπτωμάτων όπως η δύσπνοια, ο βήχας, ο συριγμός ή το συσφικτικό αίσθημα στο στήθος και από προοδευτική έκπτωση της λειτουργικότητας του αναπνευστικού. Στην πραγματικότητα αντιπροσωπεύουν μια αλλαγή από τη σταθερή κατάσταση του ασθενούς που απαιτεί τροποποίηση της σταθερής αγωγής του [1]. Οι παροξύνσεις μπορεί να εκδηλώνονται σε ήδη διαγνωσμένους ασθματικούς αλλά και να αποτελούν την πρώτη εκδήλωση της νόσου. Συχνά πυροδοτούνται από εκλυτικούς παράγοντες (αλλεργιογόνα, ρύποι, ιογενείς λοιμώξεις κ.α.) ή/και σχετίζονται με πτωχή συμμόρφωση στην αγωγή, αλλά μπορεί να εκδηλωθούν και ξαφνικά χωρίς σαφή αιτιολογικό παράγοντα [1]. Σοβαρές παροξύνσεις μπορεί να παρουσιάσουν και ασθενείς με ήπια ή καλά ελεγχόμενη νόσο.

3.9.2 Παράγοντες κινδύνου για δυνητικά θανατηφόρο άσθμα

Εκτός από τους παράγοντες που αυξάνουν τον κίνδυνο παρόξυνσης στους ασθματικούς ασθενείς, υπάρχει και μια ομάδα παραγόντων που σχετίζονται με δυνητικά θανατηφόρο άσθμα:

1. Ιστορικό παρόξυνσης για το οποίο απαιτήθηκε εφαρμογή μηχανικού αερισμού
2. Νοσηλεία ή επίσκεψη στο Τμήμα Επειγόντων Περιστατικών λόγω παρόξυνσης κατά τον τελευταίο χρόνο
3. Πρόσφατη διακοπή ή λήψη συστηματικών στεροειδών
4. Μη λήψη ICS
5. Κατάχρηση β2-διεγερτών βραχείας δράσης (περισσότερο από μια συσκευή σαλβουταμόλης μηνιαίως)
6. Ιστορικό ψυχιατρικού νοσήματος με χρήση ηρεμιστικών
7. Μη συμμόρφωση στις ιατρικές οδηγίες και μειωμένη αντίληψη της σοβαρότητας της νόσου
8. Συνυπάρχουσα τροφική αλλεργία

3.9.3 Διαγνωστική προσέγγιση

Η προοδευτική έκπτωση της αναπνευστικής λειτουργίας και συγκεκριμένα της εκπνευστικής ροής, που χαρακτηρίζει τις παροξύνσεις μπορεί να ποσοτικοποιηθεί μέσω της μέτρησης της PEF ή του FEV₁, συγκριτικά με τις τιμές που έχουν οι ασθενείς στη σταθερή τους κατάσταση ή τις προβλεπόμενες τιμές. Στην οξεία φάση της παρόξυνσης οι μετρήσεις αυτές θεωρούνται καλύτεροι δείκτες βαρύτητας από τα συμπτώματα που αναφέρουν οι ασθενείς. Βέβαια, η συμπτωματολογία είναι χρήσιμη στον καθορισμό της χρονικής στιγμής έναρξης της παρόξυνσης [221].

Όπως προαναφέρθηκε, οι ασθενείς με άσθμα πρέπει να προμηθεύονται ένα γραπτό πλάνο δράσης που να τους βοηθάει να αναγνωρίσουν έγκαιρα μια πιθανή επιδείνωση της νόσου τους και να ανταποκριθούν κατάλληλα μέσω συγκεκριμένων οδηγιών για την τροποποίηση της ρυθμιστικής ή της ανακουφιστικής αγωγής τους. Επίσης θα πρέπει να τους κατευθύνει στην αναζήτηση ιατρικής βοήθειας όταν αυτό είναι απαραίτητο [εικόνα 4, παράρτημα γενικού μέρους].

Παρόξυνση αντιμετωπιζόμενη σε μονάδες υγείας

Όταν προσέρχεται στο νοσοκομείο ένας ασθματικός ασθενής με συμπτώματα παρόξυνσης θα πρέπει να γίνεται φυσική εξέταση και λήψη ιατρικού ιστορικού ταυτόχρονα με την άμεση χορήγηση αγωγής (SABA, συστηματικά στεροειδή, οξυγονοθεραπεία).

Ιστορικό

Ένας ασθενής με άσθμα που προσέρχεται με συμπτώματα παρόξυνσης θα πρέπει να ερωτάται για τα εξής:

- Χρόνο έναρξης και πιθανό εκλυτικό παράγοντα της παρούσας παρόξυνσης
- Ένταση των συμπτωμάτων, πιθανό περιορισμό της φυσικής δραστηριότητας ή αφυπνίσεις κατά τη διάρκεια της νύχτας
- Συμπτώματα αναφυλαξίας

- Παράγοντες κινδύνου για δυνητικά θανατηφόρο άσθμα όπως αυτοί προαναφέρθηκαν
- Αγωγή που έχει ληφθεί πρόσφατα (ανακουφιστικά-ρυθμιστικά φάρμακα, δοσολογίες και πιθανές τροποποιήσεις αυτών, τύπος συσκευών εισπνεόμενων)
- Συμμόρφωση στην αγωγή και έλεγχος της νόσου με βάση την πρόσφατη θεραπεία

Φυσική Εξέταση

Κατά την κλινική εξέταση του ασθενούς δίνεται βάρος στα εξής:

- Σημεία βαρύτητας της παρόξυνσης: ζωτικά σημεία (αρτηριακή πίεση, σφύξεις, κορεσμός οξυγόνου, αναπνευστική συχνότητα, θερμοκρασία), επίπεδο επικοινωνίας, ικανότητα ομιλίας με ολοκληρωμένες προτάσεις, φράσεις ή λέξεις, χρήση επικουρικών αναπνευστικών μυών
- Παρουσία καταστάσεων που μπορεί να επιπλέξουν την παρόξυνση (λόγου χάρι αναφυλαξία, πνευμοθώρακας)
- Στοιχεία υπέρ εναλλακτικών διαγνώσεων (καρδιακή ανεπάρκεια, εισρόφηση ξένου σώματος, πνευμονική εμβολή κ.ο.κ.)

Παρακλινικός έλεγχος

Προσφέρει συμπληρωματικά στοιχεία μαζί με το ιστορικό και την κλινική εξέταση:

- Ακτινογραφία θώρακος: έχει ρόλο στον αποκλεισμό εναλλακτικών διαγνώσεων, στη διάγνωση επιπλοκών (π.χ. πνευμοθώρακας) ή όταν δεν υπάρχει ανταπόκριση στην αρχική αγωγή.
- Εκτίμηση της αναπνευστικής λειτουργίας, εφόσον μπορεί να πραγματοποιηθεί και φυσικά χωρίς καθυστέρηση της έναρξης θεραπείας. Η PEF ή ο FEV₁ υπολογίζονται πριν την έναρξη της θεραπείας και επανεκτιμώνται στη μία ώρα και εν συνεχεία έως ότου παρατηρηθεί ανταπόκριση στη θεραπεία και επιτευχθεί ένα plateau των τιμών τους.
- Κορεσμός του οξυγόνου στο αρτηριακό αίμα με οξυμετρία. SpO₂ <90% χρήζει άμεσης και επιθετικής αγωγής. Η μέτρηση αερίων του αρτηριακού αίματος δεν είναι απαραίτητη και συνιστάται συνήθως όταν η PEF ή ο FEV₁ είναι <50% της προβλεπόμενης τιμής ή όταν σημειώνεται

επιδείνωση ή μη ανταπόκριση στην αρχική θεραπεία. Τιμές $PaO_2 < 60$ mmHg και φυσιολογική τιμή ή αυξημένη $PaCO_2$ (ειδικά > 45 mmHg) είναι ενδείξεις αναπνευστικής ανεπάρκειας- ειδικά η αυξημένη τιμή $PaCO_2$ υποδηλώνει κόπωση των αναπνευστικών μυών και πιθανή ανάγκη μηχανικής υποστήριξης της αναπνοής.

3.9.4 Θεραπεία

Σύμφωνα με τις οδηγίες της GINA [1], η αντιμετώπιση του ασθματικού ασθενούς στο τμήμα επειγόντων περιστατικών πρέπει να περιλαμβάνει:

- Οξυγονοθεραπεία με στόχο SpO_2 : 93–95%.
- Χορήγηση SABA. Είναι απαραίτητη η συχνή χορήγηση SABA στους ασθενείς με παρόξυνση άσθματος και προτιμάται η pMDI συσκευή με αεροθάλαμο παρά ο νεφελοποιητής (Evidence A). Σε νοσηλευόμενους ασθενείς η κατ' επίκλησιν αγωγή με SABA συσχετίστηκε με μείωση των ημερών νοσηλείας, λιγότερες νεφελοποιήσεις και περιορισμό στον τρόπο όταν συγκρίθηκε με τη σταθερή χορήγηση (ανά 4 ώρες). Οπότε στους νοσηλευόμενους ασθενείς συνιστάται αρχικά μια χορήγηση ανά τακτά χρονικά διαστήματα και στη συνέχεια κατ' επίκλησιν. Χρήση ενδοφλέβιων β_2 -αγωνιστών στις σοβαρές παροξύνσεις άσθματος δε συνιστάται λόγω έλλειψης δεδομένων (Evidence A).
- Ενδομυϊκή χορήγηση αδρεναλίνης σε σοβαρές παροξύνσεις που συνδυάζονται με αναφυλαξία ή αγγειοοίδημα.
- Συστηματικά στεροειδή μέσα στην πρώτη μία ώρα από την προσέλευση του ασθενούς. Η χορήγηση μπορεί να είναι από του στόματος σε ασθενείς που δεν εμφανίζουν σημαντική δύσπνοια και θεωρείται εξίσου αποτελεσματική με την ενδοφλέβια χορήγηση. Η προτεινόμενη δόση σε ενήλικες είναι 50mg πρεδνιζολόνης ημερησίως για διάστημα 5-7 ημερών χωρίς ανάγκη tapering (Evidence B).
- ICS: η χορήγηση υψηλών δόσεων μέσα στην πρώτη ώρα από την προσέλευση σε ασθενείς που δεν έλαβαν συστηματικά στεροειδή, μειώνει την ανάγκη νοσηλείας. Όταν, όμως, χορηγούνται συστηματικά στεροειδή η προσθήκη τους δεν φαίνεται να παρουσιάζει επιπρόσθετο όφελος (Evidence B).

- **Ιπρατρόπιο:** Φαίνεται ότι, σε συνδυασμό με SABA, σχετίζεται με λιγότερες νοσηλείες και μεγαλύτερη βελτίωση στην PEF και στον FEV₁ σε σχέση με την χορήγηση μόνο SABA σε μέτριες και σοβαρές παροξύνσεις [222].
- **Μαγνήσιο:** Ενδοφλέβια άπαξ χορήγηση 2g για 20 λεπτά φαίνεται ότι μειώνει την ανάγκη για νοσηλεία σε ορισμένους ασθενείς, ιδίως όσους έχουν FEV₁ <25–30% της προβλεπόμενης τιμής στην αρχική εκτίμηση και δεν ανταποκρίνονται στην αρχική αγωγή ή παρουσιάζουν εμμένουσα υποξαιμία (Evidence A).
- **Μη επεμβατικός μηχανικός αερισμός:** έχει ένδειξη μόνο σε ασθενείς που είναι υποψήφιοι για διασωλήνωση και πρέπει να γίνεται υπό στενή επιτήρηση (περιβάλλον ΜΑΦ ή ΜΕΘ) (Evidence D).

Η χρήση Αμινοφυλλίνης και Θεοφυλλίνης δε συνιστάται λόγω μειωμένης αποτελεσματικότητας και αυξημένου κινδύνου παρενεργειών. Τα LTRA, χορηγούμενα από του στόματος ή ενδοφλεβίως, ίσως σχετίζονται με μια μικρή βελτίωση των παραμέτρων του λειτουργικού ελέγχου, αλλά δεν επιφέρουν κλινική βελτίωση και τα δεδομένα σχετικά με το ρόλο τους στις παροξύνσεις είναι περιορισμένα και ασαφή. Επίσης ασαφή είναι τα δεδομένα για τη χρήση συνδυασμού ICS/LABA. Η χορήγηση αντιβιοτικών δε συνιστάται, εκτός εάν υπάρχει ισχυρή ένδειξη υποκείμενης λοίμωξης (π.χ. πυώδη πτύελα ή ακτινολογικά ευρήματα πνευμονίας). Η χορήγηση κατασταλτικών φαρμάκων αντενδείκνυται αυστηρά.

3.10 Φαινότυποι βρογχικού άσθματος

Φαινότυπος ορίζεται ως το σύνολο των παρατηρούμενων μορφολογικών χαρακτηριστικών ενός οργανισμού που προκύπτει ως αποτέλεσμα της αλληλεπίδρασης του γενετικού υποβάθρου και των περιβαλλοντικών παραγόντων. Τα χαρακτηριστικά αυτά είναι σχετικά σταθερά αλλά και ποικιλόμορφα μέσα στο χρόνο. Ο προσδιορισμός φαινοτύπων βασίζεται σε βιολογικούς (μοριακούς-κυτταρικούς) και κλινικούς (μορφολογικούς-λειτουργικούς) παράγοντες. Από την άλλη μεριά, οι ενδοτύποι συνδυάζουν κλινικά χαρακτηριστικά των διαφόρων φαινοτύπων με συγκεκριμένα παθογενετικά μονοπάτια της νόσου. Ο απώτερος

στόχος της κατηγοριοποίησης των ασθενών σε φαινότυπους είναι η ανάπτυξη στοχευμένων και εξατομικευμένων θεραπειών.

Μερικοί από τους πλέον αναγνωρισμένους φαινότυπους είναι οι εξής:

- **Αλλεργικό άσθμα:** Αυτός είναι ο ευκολότερα αναγνωρίσιμος φαινότυπος άσθματος. Συχνά ξεκινά στην παιδική ηλικία και συνδέεται συνήθως με ύπαρξη αλλεργικής νόσου όπως το έκζεμα, η αλλεργική ρινίτιδα ή με ύπαρξη αλλεργίας σε τροφές ή φάρμακα ή/και με οικογενειακό ιστορικό αλλεργικών παθήσεων. Η εξέταση των προκλητών πτυέλων των ασθενών αυτών πριν από τη θεραπεία, συχνά αποκαλύπτει ηωσινοφιλική φλεγμονή των αεραγωγών. Οι ασθενείς με αλλεργικό άσθμα συνήθως ανταποκρίνονται καλά στη θεραπεία με εισπνεόμενα κορτικοστεροειδή (ICS).
- **Μη αλλεργικό άσθμα:** Ορισμένοι ενήλικες έχουν άσθμα που δεν σχετίζεται με αλλεργία. Το κυτταρικό προφίλ των πτυέλων των ασθενών αυτών μπορεί να είναι ουδετεροφιλικό, ηωσινοφιλικό ή να περιέχει μόνο λίγα φλεγμονώδη κύτταρα (ακοκκιοκυτταρικό). Οι ασθενείς αυτού του φαινότυπου συχνά ανταποκρίνονται λιγότερο καλά στα ICS.
- **Άσθμα όψιμης έναρξης:** Ορισμένοι ενήλικες (κυρίως γυναίκες) εμφανίζουν άσθμα για πρώτη φορά στην ενήλικη ζωή. Αυτοί οι ασθενείς τείνουν να μην είναι αλλεργικοί, συχνά απαιτούν υψηλότερες δόσεις κορτικοστεροειδών για τον έλεγχο των συμπτωμάτων τους και είναι σχετικά ανθεκτικοί στη θεραπεία με αυτά.
- **Άσθμα με σταθερό περιορισμό της ροής του αέρα:** Ορισμένοι ασθενείς με μεγάλη διάρκεια νόσου αναπτύσσουν σταθερό περιορισμό της ροής του αέρα, που αποδίδεται στην αναδιαμόρφωση του τοιχώματος των αεραγωγών.
- **Άσθμα με παχυσαρκία:** Ορισμένοι παχύσαρκοι ασθενείς με άσθμα έχουν επίμονα συμπτώματα από τα αναπνευστικό και μόνο ήπια ηωσινοφιλική φλεγμονή των αεραγωγών.

Σοβαρό άσθμα χαρακτηρίζεται το άσθμα που απαιτεί αγωγή βήματος 4 ή 5 κατά GINA, προκειμένου να αποφευχθεί η μετατροπή του σε «μη ελεγχόμενο» ή το άσθμα που παραμένει «μη ελεγχόμενο» παρά την αγωγή βήματος 4 ή 5. Οι ασθενείς με σοβαρό άσθμα έχουν σχεδόν καθημερινά συμπτώματα, συχνές παροξύνσεις και συχνές νοσηλείες που έχουν ως αποτέλεσμα χαμηλή ποιότητα ζωής και αυξημένη θνητότητα και επιφέρουν σημαντικό κόστος στο σύστημα υγείας [183]. Το σοβαρό άσθμα θα πρέπει να διαχωρίζεται από το «δύσκολο στη

θεραπεία άσθμα» που αφορά ασθενείς με αδυναμία ελέγχου της νόσου λόγω παραγόντων όπως η κακή συμμόρφωση στην αγωγή, η παρουσία μη θεραπευόμενων συννοσηροτήτων και η συνεχιζόμενη έκθεση σε αλλεργιογόνα.

Η διάγνωση του σοβαρού άσθματος γίνεται βάσει των κριτηρίων που όρισε η ATS για το σοβαρό άσθμα το 2000 [223]:

Μείζονα κριτήρια

- Συνεχής ή σχεδόν συνεχής ($\geq 50\%$ του έτους) θεραπεία με κορτικοειδή από του στόματος
- Ανάγκη θεραπείας με υψηλές δόσεις εισπνεόμενων κορτικοειδών

Ελάσσονα κριτήρια

- Ανάγκη καθημερινής επιπρόσθετης ρυθμιστικής αγωγής
- Χρήση βραχείας δράσης β2-αγωνιστών καθημερινά ή σχεδόν καθημερινά
- Εμμένουσα απόφραξη αεραγωγών ($FEV_1 < 80\%$, καθημερινή διακύμανση PEF $> 20\%$).
- Μία ή περισσότερες επείγουσες επισκέψεις στο νοσοκομείο ανά έτος
- Ανάγκη για χορήγηση στεροειδών από το στόμα τρεις ή περισσότερες φορές ανά έτος
- Άμεση επιδείνωση σε περίπτωση μείωσης $\leq 25\%$ των ICS ή των από του στόματος κορτικοστεροειδών.
- Τουλάχιστον ένα άμεσα απειλητικό για τη ζωή επεισόδιο άσθματος στο παρελθόν

Για τη διάγνωση του σοβαρού άσθματος απαιτούνται το ένα ή και τα δύο μείζονα κριτήρια και τουλάχιστον τρία ελάσσονα κριτήρια. Επίσης θα πρέπει οι ασθενείς να έχουν παρακολουθηθεί για ένα διάστημα τουλάχιστον 6 μηνών προτού τεθεί η διάγνωση του σοβαρού άσθματος. Τέλος, θα πρέπει να έχουν ελεγχθεί τα εξής:

- Λάθος τεχνική στη χρήση της εισπνεόμενης αγωγής
- Κακή συμμόρφωση με την θεραπευτική αγωγή
- Λανθασμένη διάγνωση άσθματος (παρουσία εναλλακτικής πάθησης π.χ. δυσλειτουργία των φωνητικών χορδών, καρδιακή ανεπάρκεια κ.α.)
- Συννοσηρότητες (παραρινοκολπίτιδα, γαστροοισοφαγική παλινδρόμηση, παχυσαρκία, σύνδρομο απνοιών στον ύπνο κ.α.)
- Συνεχιζόμενη έκθεση σε αλλεργιογόνα και ερεθιστικούς παράγοντες

Φαινότυποι σοβαρού άσθματος έχουν προσδιοριστεί από αρκετές μελέτες. Το Severe Asthma Research Program (SARP) διέκρινε πέντε ομάδες άσθματος μεταξύ ενηλίκων ασθενών με νόσο ποκίλης βαρύτητας: τρεις ομάδες ήπιου, μέτριου και σοβαρού πρώιμης έναρξης ατοπικού άσθματος, μια ομάδα πιο σοβαρού άσθματος όψιμης έναρξης με παχύσαρκες γυναίκες μεγαλύτερης ηλικίας, με μέτριες πτώσεις στις τιμές του FEV₁ και συχνή χρήση στεροειδών από του στόματος και μια τελευταία ομάδα όψιμης έναρξης αλλά μεγάλης διάρκειας σοβαρού άσθματος, με λιγότερα ποσοστά ατοπίας και πιο συχνή σταθερή απόφραξη των αεραγωγών [224]. Σε άλλη μελέτη, που βασίστηκε στην ηωσινοφιλία των προκλητών πτυέλων, προσδιορίστηκαν τέσσερις φαινότυποι: πρώιμης έναρξης ατοπικό άσθμα, παχύσαρκοι ασθενείς με μη ηωσινοφιλικό άσθμα, πρώιμης έναρξης άσθμα με προεξάρχον χαρακτηριστικό τα συμπτώματα και όψιμης έναρξης άσθμα με προεξάρχον χαρακτηριστικό τη φλεγμονή [180]. Βάσει των μελετών αυτών διακρίνονται τρεις βασικοί φαινότυποι σοβαρού άσθματος: πρώιμης έναρξης σχετιζόμενος με αλλεργία, όψιμης έναρξης σχετιζόμενος με παχυσαρκία και γυναικείο φύλο και όψιμης έναρξης σχετιζόμενος με ηωσινοφιλία.

3.11. Προκλητά πτύελα και κυτταρικοί φαινότυποι

Η ανάδειξη των δράσεων των διαφόρων δομικών και φλεγμονωδών κυττάρων και μεσολαβητών στο βρογχικό άσθμα έχει συμβάλει σημαντικά στην κατανόηση των παθοφυσιολογικών και παθογενετικών μηχανισμών της νόσου. Μέχρι πρόσφατα η ανίχνευση και η αξιολόγηση αυτών των μεσολαβητών και κυττάρων γινόταν σε υλικά όπως οι βρογχικές βιοψίες και το BAL, που ήταν διαθέσιμα με επεμβατικές μεθόδους και, όπως είναι φανερό, δε θα μπορούσαν να διενεργούνται στην καθημερινή κλινική πράξη και κατά τη διάρκεια της μακροχρόνιας παρακολούθησης των ασθενών. Για το λόγο αυτό έχουν αναπτυχθεί τα τελευταία χρόνια λιγότερο επεμβατικές τεχνικές απόκτησης βιολογικών δειγμάτων για αξιολόγηση διαφόρων παραγόντων, όπως η πρόκληση πτυέλων. Η τεχνική αυτή είναι ασφαλής και καλά ανεκτή και εξασφαλίζει εκτίμηση του τύπου του κυτταρικού πληθυσμού των πτυέλων, αξιολόγηση διάφορων βιολογικών δεικτών

(στο υπερκείμενο των πτυέλων), καθώς και μικροβιολογικό έλεγχο. Τα στοιχεία αυτά μπορούν στη συνέχεια να χρησιμοποιηθούν ως δείκτες της βαρύτητας του άσθματος, των παροξύνσεων ή της εξέλιξης της νόσου [228,150,229].

Βάσει του επικρατούντος κυτταρικού πληθυσμού στα προκλητά πτύελα μπορούν να καθοριστούν τέσσερις υποκατηγορίες άσθματος: το ηωσινοφιλικό άσθμα (>3% ηωσινόφιλα), το ουδετεροφιλικό άσθμα (>60% ουδετερόφιλα), το μικτό κοκκιοκυτταρικό άσθμα (>3% ηωσινόφιλα και >60% ουδετερόφιλα) και το άσθμα με απουσία αύξησης κοκκιοκυττάρων (<3% ηωσινόφιλα και <60% ουδετερόφιλα) [230].

Ηωσινοφιλική φλεγμονή: Πάνω από το 80% των ασθματικών που δεν έχουν λάβει ποτέ θεραπεία με εισπνεόμενα ή από του στόματος κορτικοστεροειδή και πάνω από το 50% εκείνων που έχουν λάβει τέτοια θεραπεία, παρουσιάζουν ηωσινοφιλική φλεγμονή στα πτύελα τους [230]. Ακόμη, ηωσινοφιλική φλεγμονή στα πτύελα μπορεί να ανιχνευθεί κατά τη διάρκεια σοβαρών παροξύνσεων άσθματος, αν και ορισμένοι ασθενείς που λαμβάνουν ήδη αγωγή με κορτικοστεροειδή, ίσως να εμφανίζουν ουδετεροφιλικό τύπο [231]. Γενικά η παρακολούθηση της ηωσινοφιλίας στα προκλητά πτύελα των ασθματικών ασθενών έχει ιδιαίτερη σημασία καθώς σε συμπτωματικούς ασθενείς που λαμβάνουν θεραπεία με εισπνεόμενα κορτικοστεροειδή, οι επιπρόσθετες θεραπείες (LABA, υψηλότερη δόση εισπνεόμενων κορτικοστεροειδών, ανταγωνιστές υποδοχέων λευκοτριενίων και θεοφυλλίνη) έχουν διαφορετική επίδραση σε αυτή. Επιπλέον, η εμμένουσα ηωσινοφιλία πτυέλων σε ασθενείς με σοβαρό άσθμα ενδεχομένως να υποδεικνύει κακή συμμόρφωση στην αγωγή με κορτικοστεροειδή ή υπο-θεραπεία της νόσου [232]. Η ηωσινοφιλία των πτυέλων (αντανακλώντας την ηωσινοφιλία των αεραγωγών) έχει προταθεί ως δείκτης της δραστηριότητας της νόσου [233] και ως οδηγός για τη διαχείριση του σοβαρού άσθματος [234]. Υπάρχουν βέβαια και αντικρουόμενα δεδομένα από μελέτη όπου δεν παρατηρήθηκε συσχέτιση της ηωσινοφιλίας στα πτύελα με την παρουσία σοβαρού μη ελεγχόμενου ή σοβαρού ελεγχόμενου άσθματος [235].

Ουδετεροφιλική φλεγμονή: Η ουδετεροφιλική φλεγμονή φαίνεται ότι συνδέεται με πιο σοβαρές μορφές της νόσου. Συγκεκριμένα, τα αυξημένα ουδετερόφιλα, τόσο σε ποσοστό όσο και σε απόλυτο αριθμό, έχουν συσχετιστεί με χαμηλές τιμές του FEV1 μετά βρογχοδιαστολής και με την ανάπτυξη σταθερής απόφραξης στη ροή των αεραγωγών [236].

Απουσία αύξησης κοκκιοκυττάρων: Οι ασθενείς αυτοί έχουν νόσο με μάλλον καλοήγη συμπεριφορά και καλή ανταπόκριση στην αγωγή, αν και σε ποσοστό έως 15% μπορεί να έχουν πτωχό έλεγχο της νόσου [237]. Η κατηγορία αυτή των ασθενών δεν έχει μελετηθεί ιδιαίτερα και δεν υπάρχουν και προτεινόμενες θεραπευτικές παρεμβάσεις με αποδεδειγμένη αποτελεσματικότητα.

4. Εκπνεόμενοι φλεγμονώδεις δείκτες

4.1 Θερμοκρασία εκπνεόμενου αέρα (EBT)

Η θερμοκρασία εκπνεόμενου αέρα (EBT) αντανακλά την απώλεια θερμότητας στους αεραγωγούς και προτείνεται ως μια μη επεμβατική μέθοδος για τον εντοπισμό φλεγμονωδών διεργασιών στους αεραγωγούς λόγω της αυξημένης ροής αίματος εντός των αεραγωγών[238] Ο υποκείμενος μηχανισμός αύξησης της EBT παραμένει αμφιλεγόμενος λόγω της υπόδειξης διάφορων μηχανισμών. Ο Paredi και συνεργάτες υποστήριζαν πως η EBT αυξάνεται λόγω αυξημένης κυκλοφορίας/ροής αίματος και αγγείωσης [239] ενώ αντίθετα άλλες μελέτες υποστηρίζουν πως η EBT δημιουργείται τόσο από τη διαδικασία φλεγμονής των αεραγωγών όσο και από την αναδόμηση [240].

Η αγγειοδιαστολή είναι προεξάρχον χαρακτηριστικό της φλεγμονής των αεραγωγών που χαρακτηρίζει νοσήματα όπως το βρογχικό άσθμα και πυροδοτείται από μεσολαβητές όπως η βραδυκινίνη, το μονοξειδίο του αζώτου και η ισταμίνη [241,242] Ωστόσο, η αυξημένη αγγείωση στους αεραγωγούς στο βρογχικό άσθμα προκύπτει λόγω αγγειοδιαστολής αλλά και νεοαγγειογένεσης και οδηγεί σε αύξηση της EBT. Αντιθέτως, στη Χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια (ΧΑΠ) υπάρχει μειωμένη αιματική ροή κοντά στις κυψελίδες είτε λόγω μείωσης του αριθμού των μικρών αγγείων είτε λόγω πάχυνσης της έσω στιβάδας των αγγείων λόγω των δομικών αλλαγών κατά την πρόοδο της νόσου. Για το λόγο αυτό, οι ασθενείς με ΧΑΠ παρουσιάζουν χαμηλή EBT σε σχέση με τους υγιείς, εκτός και αν είναι σε παρόξυνση της νόσου[243,244].

Είναι αξιοσημείωτο πως σε μια πρόσφατα δημοσιευμένη μελέτη στην οποία συμμετείχαν ασθενείς με καρκίνο του πνεύμονα, η νεοαγγειογένεση όπως αξιολογήθηκε από τα αυξημένα επίπεδα του αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού

παράγοντα (VEGF) σε συμπύκνωμα εκπνεόμενου αέρα, ήταν ο βασικός καθοριστικός παράγοντας της αύξησης EBT που παρατηρείται στους ασθενείς αυτούς[245].

Υπάρχουν πολλοί συγγυτικοί παράγοντες που δυνητικά θα μπορούσαν να επηρεάσουν την τιμή της EBT και είναι υπό μελέτη. Αρχικά, παρουσιάζει κικκάδιο ρυθμό σε ενήλικες μη καπνιστές με ανώτερη τιμή το απόγευμα (στις 19:00)[246]. Επιπλέον, η μέτρηση της επηρεάζεται για μία ώρα από την άσκηση και την πρόσληψη τροφής [247, 246]. Σε μία άλλη μελέτη στην οποία συμμετείχαν 143 άνδρες και 155 γυναίκες ανευρέθη σημαντική συσχέτιση της EBT με το φύλο, με τους άνδρες να παρουσιάζουν υψηλότερη EBT κατά 1 °C από τις γυναίκες[248]. Ωστόσο, η EBT δεν επηρεάζεται από το ύψος ή το βάρος του εξεταζόμενου[238].

Σε ανάλυση που πραγματοποιήθηκε με εξαρτημένη μεταβλητή την EBT και ανεξάρτητες μεταβλητές την θερμοκρασία περιβάλλοντος(18-25°C), την ατμοσφαιρική πίεση(954-982mbar) και την υγρασία(διακύμανση 22-72%), δεν αναδείχθηκε κάποια στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ της EBT και των ατμοσφαιρικών συνθηκών, εφόσον βέβαια οι μετρήσεις της γίνονται σε ελεγχόμενο περιβάλλον και εντός των ορίων διακύμανσης[238].

4.2 Συμπύκνωμα εκπνοής (EBC)

Το συμπύκνωμα Εκπνεόμενου Αέρα (EBC) είναι ο εκπνεόμενος αέρας που συμπυκνώνεται και υδροποιείται μέσω ψύξης με τη χρήση ειδικής συσκευής συλλογής. Το EBC αποτελείται από υδρατμούς και σωματίδια αερολύματος προερχόμενα κυρίως από την υγρή στιβάδα πάνω από το βλεννογόνο των αεραγωγών (ALF). Είναι βιολογικό υλικό που απεικονίζει κυρίως τη σύσταση της υγρής στιβάδας, παρέχοντας έτσι εικόνα της φλεγμονώδους κατάστασης των αεραγωγών [249]. Λόγω της ευκολίας και της μη επεμβατικής μεθόδου συλλογής του, το EBC χρησιμοποιείται συχνά για την ανίχνευση βιομορίων, αντιπροσωπευτικών της παθοφυσιολογίας αναπνευστικών νόσων όπως το άσθμα. Αρχικά, αναπτύχθηκε η στοχευμένη προσέγγιση του EBT με τη μέτρηση συγκεκριμένων δεικτών φλεγμονής και οξειδωτικού στρες από την οποία προέκυψαν σημαντικές πληροφορίες. Αναλυτικά, έχει μελετηθεί ότι το pH του EBC είναι σημαντικά χαμηλότερο στο σοβαρό άσθμα ή σε παρόξυνση άσθματος σε σχέση με το ήπιο και το ελεγχόμενο άσθμα αντίστοιχα[250,251,252]. Επιπλέον,

τα λευκοτριένια ((LTC₄, LTD₄, and LTE₄) που είναι φλεγμονώδεις μεσολαβητές καθώς και το 8-ισοπροστάνιο και το υπεροξειδίο του υδρογόνου που είναι δείκτες οξειδωτικού στρες είναι αυξημένα στο άσθμα και ειδικά στο σοβαρό άσθμα[253,254,255,256]. Ωστόσο, η μελέτη συγκεκριμένων μορίων δε μπορεί να εξηγήσει πλήρως όλα τα παθογενετικά μονοπάτια του άσθματος και το ερευνητικό ενδιαφέρον στράφηκε στις στην τεχνολογία των «omics».

4.2.1 Μεταβολομική ανάλυση στο EBC

Η μεταβολομική είναι ένας αναδυόμενος τομέας της τεχνολογίας των «omics» στη βιολογία συστημάτων [257] που εστιάζει στη δυναμική, πολύ-παραμετρική μεταβολομική απάντηση του οργανισμού σε παθοφυσιολογικά ερεθίσματα ή γενετικές τροποποιήσεις λόγω οποιασδήποτε έκθεσης συμπεριλαμβανομένων της χορήγησης φαρμάκων, του τρόπου ζωής και περιβαλλοντικών κινδύνων [258,259]. Είναι η επιστήμη των «omics» που οδηγεί στην καλύτερη κατανόηση των φαινοτύπων της νόσου που προκύπτουν από την αλληλεπίδραση γενετικού υποβάθρου-περιβάλλοντος[260]. Χρησιμοποιούνται φασματοσκοπικές τεχνικές για την ανάλυση των μεταβολιτών όπως η φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR) όσο και η υψηλής απόδοσης υγρή χρωματογραφία-φασματομετρία μάζας (UHPLC-MS).

Την τελευταία δεκαετία, το ενδιαφέρον για την εφαρμογή μεταβολομικών στις νόσους του αναπνευστικού και κυρίως στο άσθμα αυξάνεται. Η εφαρμογή της μεταβολομικής στο EBC έχει οδηγήσει στο διαχωρισμό των ασθματικών παιδιών από τα υγιή καθώς και στην περαιτέρω φαινοτύπηση αυτών[261,262].

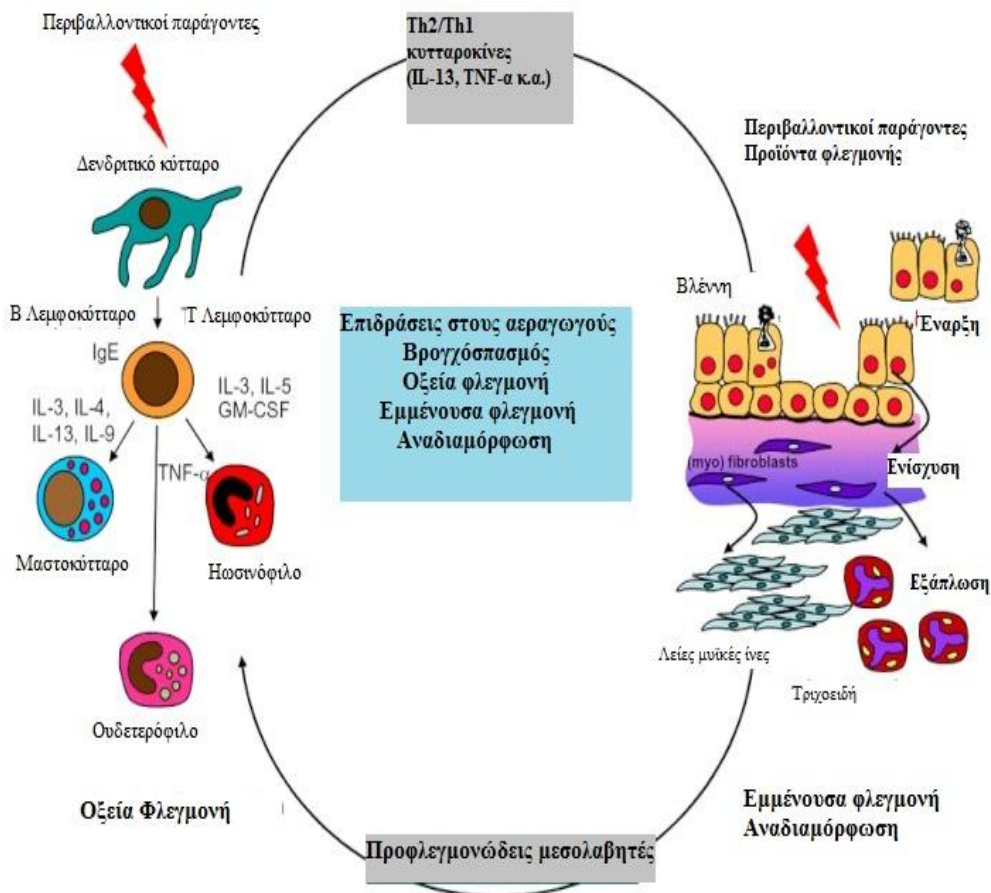
4.3 IL-13, IL-8 και ECP στο υπερκείμενο των πτυέλων

Η IL-13 είναι μια Th₂ κυτταροκίνη που εμπλέκεται στην ηωσινοφιλική φλεγμονή, στην βρογχική υπεραντιδραστικότητα και στην αναδιαμόρφωση των αεραγωγών (remodeling) μέσω άμεσης δράσης επί των επιθηλιακών κυττάρων και μέσω αύξησης της μεσολαβούμενης από τον TGF-β των επιθηλιακών κυττάρων-έκκρισης κολλαγόνου τύπου I από τους ινοβλάστες [225]. Αυξημένα επίπεδα IL-

13 έχουν ανευρεθεί στο υπερκείμενο προκλητών πτυέλων σε ασθενείς με σοβαρό άσθμα, ενώ αυξημένα επίπεδα του υποδοχέα της στα προκλητά πτύελα έχουν συσχετιστεί με μειωμένη αναπνευστική λειτουργία, με αυξημένη έκφραση γονιδίων χαρακτηριστικών της Th2 φλεγμονής και με απόφραξη των αεραγωγών [226]. Επίσης, η αυξημένη έκφραση IL-13 στους αεραγωγούς των ασθματικών ασθενών έχει συσχετιστεί με παρουσία ηωσινοφιλίας στα πτύελα [227]. Η ηωσινοφιλική κατιονική πρωτεΐνη (ECP) είναι δείκτης της αποκοκκίωσης των ηωσινοφίλων και τα επίπεδά της στο υπερκείμενο των πτυέλων σχετίζονται με την απόφραξη των αεραγωγών, γεγονός που ανέδειξε εδώ και χρόνια τον ρόλο των ηωσινοφίλων στη παθογένεια του άσθματος [263]. Η IL-8 είναι μεσολαβητής φλεγμονής που ανευρίσκεται αυξημένη στο ουδετεροφιλικό άσθμα και σχετίζεται με την ενεργοποίηση των ουδετεροφίλων [264].

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΓΕΝΙΚΟΥ ΜΕΡΟΥΣ

Εικόνα 1. Παθοφυσιολογία άσθματος (προσαρμοσμένο από Bethesda (MD): National Asthma Education and Prevention Program, Third Expert Panel on the Diagnosis and Management of Asthma. National Heart, Lung, and Blood Institute (US); 2007 Aug)



GM-CSF, granulocyte-macrophage colony-stimulating factor; IgE, immunoglobulin E; IL-3, interleukin 3 (and similar); TNF-α, tumor necrosis factor-alpha

Πίνακας 1. Ερωτηματολόγιο ελέγχου συμπτωμάτων (GINA)

Ερωτηματολόγιο ελέγχου άσθματος	Επίπεδο ελέγχου άσθματος		
Τις τελευταίες τέσσερις εβδομάδες	Καλά	Μερικώς	Μη

ο ασθενής παρουσιάζει:	ελεγχόμενο	ελεγχόμενο	ελεγχόμενο
<ul style="list-style-type: none"> • Ημερήσια συμπτώματα άσθματος περισσότερο από 2 φορές/εβδομάδα; 			
<ul style="list-style-type: none"> • Νυχτερινή αφύπνιση λόγω συμπτωμάτων άσθματος; 	Κανένα σύμπτωμα	1-2 συμπτώματα	3-4 συμπτώματα
<ul style="list-style-type: none"> • Χρήση ανακουφιστικής αγωγής λόγω συμπτωμάτων για περισσότερο από 2 φορές/εβδομάδα; 			
<ul style="list-style-type: none"> • Περιορισμός φυσικής δραστηριότητας λόγω συμπτωμάτων άσθματος; 			

Πίνακας 2. ACT test

ΕΡΩΤΗΣΗ 1	Τις τελευταίες 4 εβδομάδες, πόσο χρόνο σε περιόρισε το άσθμα από τη δουλειά, το σχολείο, το σπίτι ;
-----------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------

	Συνεχώς 1	Πολύ συχνά 2	Συχνά 3	Σπάνια 4	Ποτέ 5	
ΕΡΩΤΗΣΗ 2	Τις τελευταίες 4 εβδομάδες πόσο συχνά ένωσες δύσπνοια;					
	>1/ημέρα 1	1/ημέρα 2	3-6/εβδομ. 3	1-2/εβδομ. 4	Ποτέ 5	
ΕΡΩΤΗΣΗ 3	Τις τελευταίες 4 εβδομάδες πόσο συχνά τα συμπτώματα του άσθματος (συριγμός, βήχας, δύσπνοια,σφίξιμο στο στήθος) σε ξύπνησαν κατά τη διάρκεια της νύχτας ή νωρίτερα από το κανονικό το πρωί;					
	≥4/εβδομάδ α 1	2-3/εβδομ. 2	1/εβδομ. 3	1-2 φορές 4	Ποτέ 5	
ΕΡΩΤΗΣΗ 4	Τις τελευταίες 4 εβδομάδες πόσο συχνά χρησιμοποίησες το ανακουφιστικό σου φάρμακο ή το νεφελοποιητή σου;					
	≥3/ημέρα 1	1-2/ημέρα 2	2-3/εβδομ. 3	≤1/εβδομ. 4	Ποτέ 5	
ΕΡΩΤΗΣΗ 5	Θεωρείς ότι τις 4 τελευταίες εβδομάδες το άσθμα σου ήταν υπό έλεγχο...					
	Καθόλου 1	Ελάχιστα 2	Κάπως 3	Ικανοποιητικά 4	Απόλυτα 5	
ΣΥΝΟΛΙΚΗ ΒΑΘΜΟΛΟΓΙΑ- ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΚΑΤΑ GINA						
<i>Βαθμολογία 25: πλήρης έλεγχος της νόσου</i>						
<i>Βαθμολογία 20-24: καλός έλεγχος ή μερικώς ελεγχόμενο άσθμα</i>						
<i>Βαθμολογία <19: μη ελεγχόμενο άσθμα</i>						

Εικόνα 2. Διαφορική διάγνωση άσθματος-ΧΑΠ (GINA)

«Τρία ή περισσότερα χαρακτηριστικά υποδηλώνουν την αντίστοιχη νόσο. Αν παρατηρείται παρόμοιος αριθμός χαρακτηριστικών από κάθε νόσο τότε ο ασθενής μπορεί να χαρακτηριστεί ως πάσχων από ACO»

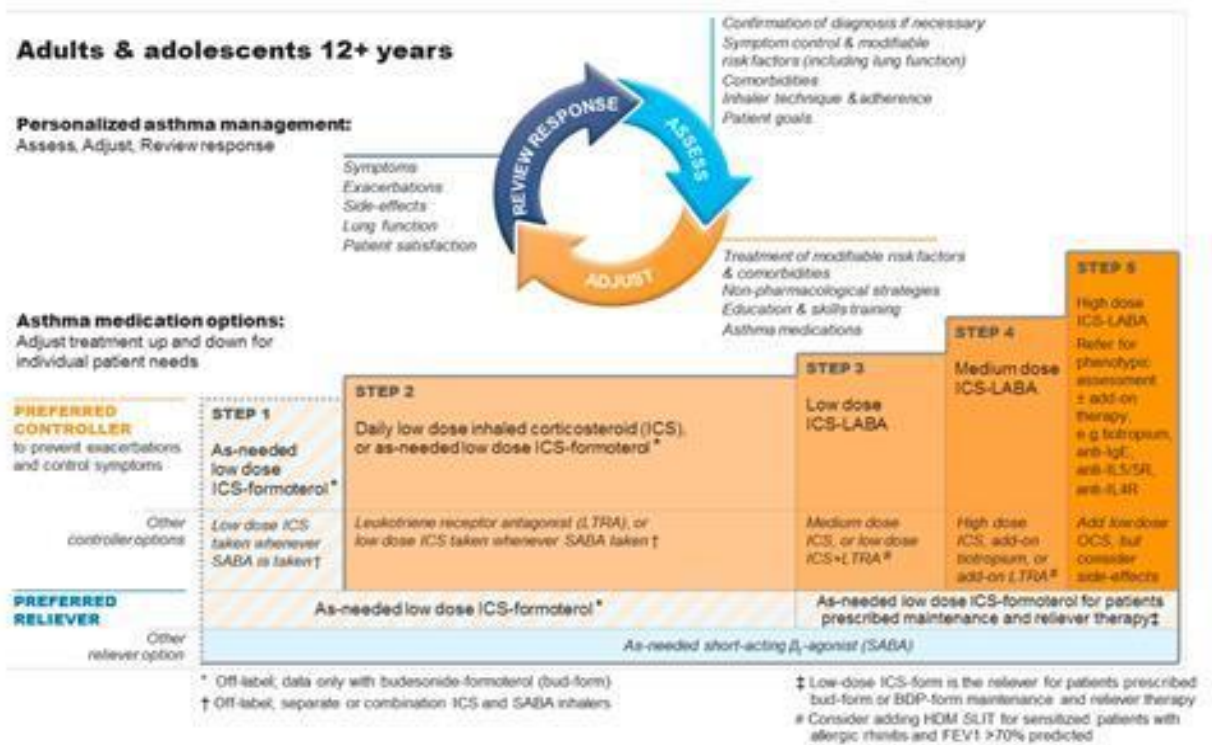
Χαρακτηριστικά	Άσθμα	ΧΑΠ
----------------	-------	-----

Ηλικία έναρξης συμπτωμάτων	<ul style="list-style-type: none"> ○ Πριν τα 20 έτη 	<ul style="list-style-type: none"> ○ Μετά τα 40 έτη
Τύπος συμπτωμάτων	<ul style="list-style-type: none"> ○ Χρονική διακύμανση ○ Επιδείνωση κατά τη διάρκεια της νύχτας ή νωρίς το πρωί ○ Εκλυτικοί παράγοντες: άσκηση, συναισθηματική φόρτιση, σκόνη, έκθεση σε αλλεργιογόνα 	<ul style="list-style-type: none"> ○ Εμμένουσα εμφάνιση παρά τη θεραπεία ○ “Καλές και κακές” ημέρες αλλά συνεχή ημερήσια συμπτώματα και δύσπνοια προσπαθείας ○ Χρόνιος βήχας παραγωγικός που οδηγεί σε δύσπνοια ανεξαρτήτως εκλυτικών παραγόντων
Αναπνευστική λειτουργία	<ul style="list-style-type: none"> ○ Κυμαινόμενη απόφραξη αεραγωγών 	<ul style="list-style-type: none"> ○ Μόνιμη απόφραξη αεραγωγών (FEV₁/FVC<0,7, μετά βρογχοδιαστολής)
Αναπνευστική λειτουργία σε απουσία συμπτωμάτων	<ul style="list-style-type: none"> ○ Φυσιολογική 	<ul style="list-style-type: none"> ○ Παθολογική
Ατομικό αναμνηστικό και οικογενειακό ιστορικό	<ul style="list-style-type: none"> ○ Διάγνωση άσθματος σε μικρότερη ηλικία. ○ Οικογενειακό ιστορικό άσθματος ή αλλεργικής νόσου (ρινίτιδα, έκζεμα). 	<ul style="list-style-type: none"> ○ Πρόσφατη διάγνωση ΧΑΠ, χρόνιας βρογχίτιδας ή εμφυσήματος. ○ Εκσεσημασμένη έκθεση σε καπνό τσιγάρου ή/και καύση βιομάζας.
Χρονική εξέλιξη συμπτωμάτων	<ul style="list-style-type: none"> ○ Διακύμανση ανά εποχή ή ανά έτος. ○ Αυτόματη ύφεση ή άμεση ανακούφιση μετά τη χορήγηση βρογχοδιασταλτικών, ή ύφεση μετά από εβδομάδες χρήσης ICS 	<ul style="list-style-type: none"> ○ Σταθερή επιδείνωση συμπτωμάτων από έτος σε έτος. ○ Περιορισμένη ανακούφιση ύστερα από χρήση βρογχοδιασταλτικών βραχείας δράσης
Ακτινογραφία θώρακος	<ul style="list-style-type: none"> ○ Φυσιολογική 	<ul style="list-style-type: none"> ○ Υπερδιάταση

Πίνακας 3. Εισπνεόμενα στεροειδή και διαβάθμιση ημερήσιας δοσολογίας (GINA updated 2020)

Εισπνεόμενα στεροειδή	ΧΑΜΗΛΗ ΔΟΣΗ (μg)	ΜΕΣΗ ΔΟΣΗ (μg)	ΥΨΗΛΗ ΔΟΣΗ (μg)
Μπεκλομεθαζόνη διπροπιονική (CFC)	200 – 500	500 - 1000	>1000
Μπεκλομεθαζόνη διπροπιονική (HFA)	100-200	200-400	>400
Βουδεσονίδη (DPI)	200-400	>400-800	>800
Σικλεσονίδη (HFA)	80-160	>160-320	>320
Φλουτικαζόνη φουρεϊκή (DPI)	100	-	200
Φλουτικαζόνη προπιονική (DPI)	100-250	>250-500	>500
Φλουτικαζόνη προπιονική (HFA)	100-250	>250-500	>500
Μομεταζόνη φουρεϊκή	110-220	220-440	>440
Triamcinolone acetone	400-1000	>1000-2000	>2000
CFC: chlorofluorocarbon propellant DPI: dry powder inhaler HFA: hydrofluoroalkane propellant			

Εικόνα 3. Θεραπευτικά βήματα στη σταθερή θεραπεία του άσθματος (GINA 2020)



Εικόνα 4. Παράδειγμα γραπτού σχεδίου δράσης (GINA)

Η κανονική σας θεραπεία:

1. Καθημερινά λαμβάνετε _____
2. Πριν την άσκηση λαμβάνετε _____

ΠΟΤΕ ΘΑ ΑΥΞΗΣΕΤΕ ΤΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ

Εκτιμήστε το βαθμό ελέγχου του άσθματος σας

Την προηγούμενη εβδομάδα είχατε:

- | | |
|----------------------------------------------------------------------------|---------|
| Πρωινά συμπτώματα άσθματος περισσότερο από 2 φορές; | Όχι Ναι |
| Δραστηριότητα ή άσκηση η οποία περιορίστηκε από το άσθμα; | Όχι Ναι |
| Αφύπνιση τη νύχτα εξαιτίας του άσθματος; | Όχι Ναι |
| Ανάγκη για χρήση «θεραπείας διάσωσης» περισσότερο από 2 φορές | Όχι Ναι |
| Εάν παρακολουθείτε τη μέγιστη ροή, είναι η μέγιστη ροή λιγότερο από _____; | Όχι Ναι |

Εάν απαντήσατε ΝΑΙ σε τρεις ή περισσότερες από αυτές τις ερωτήσεις, το άσθμα σας είναι μη ελεγχόμενο και μπορεί να χρειαστεί να αναβαθμίσετε τη θεραπεία σας.

ΠΩΣ ΘΑ ΑΥΞΗΣΕΤΕ ΤΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ

ΑΝΑΒΑΘΜΙΣΤΕ τη θεραπεία σας ως ακολούθως και εκτιμήστε τη βελτίωση καθημερινά:

_____ [Επόμενο θεραπευτικό βήμα]

Διατηρείστε τη θεραπεία για _____ ημέρες [ορίσατε αριθμό]

ΠΟΤΕ ΝΑ ΤΗΛΕΦΩΝΗΣΕΤΕ ΣΤΟΝ ΙΑΤΡΟ ΣΑΣ / ΚΛΙΝΙΚΗ

Τηλεφωνείτε στον ιατρό σας/κλινική: _____ [Αριθμός τηλεφώνου]

Εάν δεν ανταποκριθείτε στη θεραπεία σε _____ ημέρες [ορίσατε αριθμό]

_____ [Πιθανές επιπλέον οδηγίες]

ΕΠΕΙΓΟΝ / ΣΟΒΑΡΗ ΑΠΩΛΕΙΑ ΕΛΕΓΧΟΥ

Εάν έχετε σοβαρή δύσπνοια και μπορείτε να μιλήσετε μόνο με μικρές προτάσεις,

Εάν έχετε σοβαρή κρίση άσθματος και φοβηθήκατε,

Εάν χρειάζεστε ανακουφιστική θεραπεία πιο συχνά από κάθε 4 ώρες και δεν βελτιώνεστε.

1. Λάβετε 2 με 4 εισπνοές _____ [ανακουφιστική θεραπεία]
2. Λάβετε _____ mg _____ [από του στόματος γλυκοκορτικοστεροειδή]
3. Αναζητήστε ιατρική βοήθεια: Πηγαίστε στο _____, Διεύθυνση: _____ Τηλέφωνο: _____
4. Συνεχίστε να χρησιμοποιείτε _____ [ανακουφιστική θεραπεία] μέχρι να καταφέρετε να λάβετε ιατρική βοήθεια.

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

A. Θερμοκρασία Εκπνεόμενου Αέρα σε ασθενείς που λαμβάνουν βέλτιστη θεραπευτική αγωγή: Βαρύτητα και υποκείμενοι μηχανισμοί

1. Εισαγωγή

Η (EBT) εμπλέκεται σε πολλά νοσήματα του αναπνευστικού συμπεριλαμβανομένου και του άσθματος. Αρκετές μελέτες απέδειξαν πως η EBT αυξάνεται σε ασθενείς με μη ελεγχόμενο άσθμα σε σύγκριση με ασθενείς με ελεγχόμενο άσθμα ή υγιή υποκείμενα [265,266]. Επίσης, έχει παρατηρηθεί σημαντική αύξηση της EBT σε παιδιά με παρόξυνση άσθματος και θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί με μεγάλη ακρίβεια ως δείκτης επικείμενης παρόξυνσης άσθματος στα παιδιά ανεξάρτητα από τον ενδότυπο της νόσου [265].

Παρά τα ανωτέρω, δεν υπάρχουν δεδομένα για αυτό που αποκαλείται επιβεβαιωμένο Σοβαρό Ανθιστάμενο Άσθμα (SRA) [267].

2. Σκοπός

Η παρούσα μελέτη είναι μια προοπτική μελέτη που είχε ως σκοπό να προσδιορίσει εάν η EBT σε ασθενείς με άσθμα επηρεάζεται από την υποκείμενη βαρύτητα και εάν οι μηχανισμοί όπου εμπλέκεται η αγγείωση των αεραγωγών πυροδοτούν την ανωτέρω διαδικασία. Αξιολογήθηκαν επίσης πολλές άλλες παράμετροι ως βασικές συμμεταβλητές στην ανωτέρω διαδικασία.

3.Υλικά και Μέθοδοι

3.1 Συμμετέχοντες

Συμπεριλήφθηκαν ασθενείς με άσθμα που παρακολουθούνταν τακτικά σε δύο πανεπιστημιακές κλινικές άσθματος: Α' και Β' Πνευμονολογική Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών. Η διάγνωση του άσθματος έγινε βάσει των κατευθυντηρίων οδηγιών GINA [1] ενώ η διάγνωση του Σοβαρού Ανθιστάμενου Άσθματος (SRA) έγινε βάσει των οδηγιών ERS/ATS [183] Όλοι οι ασθενείς που συμπεριλήφθηκαν παρακολουθούνταν από δύο ειδικούς πνευμονολόγους στο άσθμα (ΣΛ και ΠΜ) για την επίτευξη του καλύτερου επιπέδου ελέγχου άσθματος. Τέθηκαν σε

παρακολούθηση για τουλάχιστον 6 μήνες και ακολούθησαν πιστά τη θεραπευτική αγωγή. Αποκλείστηκαν από τη μελέτη ασθενείς κάτω των 18 ή άνω των 70 ετών, έγκυες, ασθενείς με άλλες αναπνευστικές νόσους, με οποιαδήποτε συνυπάρχουσα κακοήθεια, καρδιακή, νεφρική, ηπατική νόσο ή νόσου κολλαγόνου. Αποκλείστηκαν επίσης ασθενείς με λοίμωξη του αναπνευστικού συστήματος ή παρόξυνση άσθματος κατά τη διάρκεια 8 εβδομάδων πριν την συμμετοχή τους στην μελέτη. Η μελέτη έχει λάβει έγκριση από τις επιτροπές δεοντολογίας και των δύο νοσοκομείων και όλοι οι συμμετέχοντες έχουν υπογράψει έντυπο συγκατάθεσης.

3.2.Αξιολόγηση του Ελέγχου Άσθματος

Ο έλεγχος άσθματος αξιολογήθηκε με το ερωτηματολόγιο: Τεστ Ελέγχου του Άσθματος (ACT) [267].

3.3.Πρόκληση πτυέλων

Η πρόκληση και η επεξεργασία πτυέλων πραγματοποιήθηκε όπως έχει ήδη περιγραφεί αφού έγιναν όλες οι απαραίτητες τροποποιήσεις για ασφαλείς μετρήσεις βάσει της υποκείμενης βαρύτητας του άσθματος[268,269]. Ο συνολικός αριθμός κυττάρων υπολογίστηκε με αιμοκυτταρόμετρο με χρήση χρωστικής trypan blue. Τα πλακίδια ετοιμάστηκαν με κυτταροφυγόκεντρο cytospin (Shandon, Runcorn, UK) και η χρώση πραγματοποιήθηκε με May-Grunwald και Giemsa για τις διάφορες μετρήσεις κυτταρικών πληθυσμών. Οι μετρήσεις των κυτταρικών πληθυσμών έγινε από ανεξάρτητο παρατηρητή που δεν γνώριζε τις επιμέρους κλινικές πληροφορίες των ασθενών. Μετρήθηκαν τουλάχιστον 500 φλεγμονώδη κύτταρα σε κάθε δείγμα. Τα δείγματα των πτυέλων θεωρήθηκαν επαρκή εφόσον ο ασθενής μπορούσε να αποχρέμψει τουλάχιστον 2 ml προκλητών πτυέλων και τα πλακίδια περιείχαν <10% επιθηλιακών κυττάρων στη διαφορική μέτρηση κυτταρικών πληθυσμών. Ο συνολικός κυτταρικός πληθυσμός εκφράστηκε ως ο αριθμός των κυττάρων $\times 10^6$ και το ποσοστό (%) των φλεγμονωδών κυττάρων των προκλητών πτυέλων χρησιμοποιήθηκε για περαιτέρω ανάλυση. Τα υπερκείμενα των πτυέλων αποθηκεύτηκαν στους -70°C για τη μέτρηση του VEGF.

3.4.Πνευμονική Λειτουργία

Ο βιαίως εκπνεόμενος όγκος σε 1 δευτερόλεπτο (FEV1) και η βιαίως εκπνεόμενη ζωτική χωρητικότητα (FVC) υπολογίστηκαν με τη χρήση του σπιρομέτρου Master

Screen Body (Viasys Healthcare, Jaeger, Hoechberg, Germany) βάσει των οδηγιών της Αμερικανικής Εταιρείας Θώρακα-ATS [270].

3.5. Μετρήσεις FeNO

Η τιμή του εκπνεόμενου μονοξειδίου του αζώτου (FeNO) υπολογίστηκε με φορητό αναλυτή NO (NIOX MINO, Aerocrine; Sweden), όπως έχει ήδη περιγραφεί στη βιβλιογραφία [271].

3.6. Παρουσία Ατοπίας

Για την επιβεβαίωση της ατοπίας χρησιμοποιήθηκε η παρουσία θετικού δερματικού τεστ (μέση διάμετρος 3mm ή περισσότερο) σε οποιοδήποτε από τα 20 κοινά αεροαλλεργιογόνα (συμπεριλαμβανομένων ακάρεων, αγρωστωδών, δέντρων, μυκήτων, κατοικίδιων).

3.7. Μέτρηση EBT

Η EBT μετρήθηκε όπως έχει ήδη περιγραφεί με τη χρήση της διαθέσιμης στο εμπόριο φορητής συσκευής, X-Halo® (Delmedica, Singapore)[238]. Ζητήθηκε από τους ασθενείς να εισπνέουν από τη μύτη και να εκπνεύσουν από το στόμα στην συσκευή X-Halo ήρεμα και σταθερά (στον αναπνεόμενο όγκο). Οι ασθενείς εξέπνεαν στο θερμικό θάλαμο της συσκευής και κάθε εκπνοή αύξανε τη θερμοκρασία εντός του θερμικού θαλάμου έως ότου επιτευχθεί/φτάσει θερμοκρασία ισορροπίας. Λήφθηκαν όλα τα προληπτικά μέτρα για την αποφυγή οποιασδήποτε επίδρασης συγχυτικών παραγόντων [246].

3.8. Δοκιμασία μεσολαβητών

Ο VEGF μετρήθηκε με τη χρήση ενός ELISA κιτ (ELISA, R&D systems, Minneapolis, Minnesota, USA με όριο ανίχνευσης 9 pg/ml). Η μεταβλητότητα εντός του κιτ και μεταξύ διαφορετικών κιτ αξιολογήθηκε σύμφωνα με τις προδιαγραφές του κατασκευαστή και ο απορρέων συντελεστής διακύμανσης (4.5%) βρισκόταν εντός του καθορισμένου εύρους. Η ανάκτηση και η γραμμικότητα της δοκιμής κατόπιν κατάλληλων πειραμάτων απέδωσαν δείγματα με τιμές εντός του δυναμικού εύρους της δοκιμής. Συλλέχθηκε αίμα για τον καθορισμό της αλβουμίνης στον ορό. Ο δείκτης της αγγειακής διαπερατότητας στους αεραγωγούς (AVP) υπολογίστηκε ως η αναλογία συγκεντρώσεων αλβουμίνης στα προκλητά πτύελα και στον ορό [272].

3.9.Σχεδιασμός μελέτης

Όλες οι διαδικασίες πραγματοποιήθηκαν για κάθε συμμετέχοντα την ίδια μέρα με την ακόλουθη σειρά: Ιατρικό ιστορικό, αξιολόγηση δημογραφικών στοιχείων, αξιολόγηση ACT, τεστ πνευμονικής λειτουργίας, αιματολογικές εξετάσεις, μέτρηση FeNO, μέτρηση EBT και τέλος πρόκληση πτυέλων.

3.10.Στατιστική ανάλυση

Τα κανονικά κατανεμημένα δεδομένα παρουσιάζονται ως μέση τιμή \pm σταθερή απόκλιση (SD) ενώ τα μη κανονικά κατανεμημένα ως διάμεση τιμή (ενδοτεταρτημοριακό εύρος [IR]). Η κανονική κατανομή των δεδομένων ελέγχθηκε με το τεστ του Kolmogorov-Smirnov. Οι συγκρίσεις μεταξύ των διαφορετικών ομάδων της μελέτης έγιναν με τη One-way ANOVA για κανονικά και Kruskal-Wallis test για μη κανονικά κατανεμημένα ποσοτικά δεδομένα, συνοδευόμενα από κατάλληλα post-hoc tests για πολλαπλές συγκρίσεις (Bonferroni και Dunn's, αντίστοιχα). Διαφορές σε αριθμητικές μεταβλητές αξιολογήθηκαν με t-test που δεν πραγματοποιήθηκαν σε ζεύγη (unpaired) και Mann-Whitney U-tests για κανονικά κατανεμημένα και μη κανονικά κατανεμημένα δεδομένα αντίστοιχα, ενώ οι συγκρίσεις των ποσοστών έγιναν με τη χρήση chi-square tests. Η εξέταση των συσχετισμών μεταξύ EBT, των κυττάρων των πτυέλων, του VEGF, του δείκτη AVP, της πνευμονικής λειτουργίας και ACT πραγματοποιήθηκε με την πολυπαραγοντική ανάλυση γραμμικής παλινδρόμησης σε ένα μοντέλο συμπεριλαμβανομένων όλων των ασθματικών ασθενών, και με τη χρήση της EBT ως εξαρτημένης μεταβλητής. Η γραμμική παλινδρόμηση πραγματοποιήθηκε λαμβάνοντας ως συμμεταβλητές την ηλικία, το γένος, τον δείκτη μάζας σώματος, την ατοπία, τη διάρκεια της νόσου, την παρουσία SRA και την θεραπευτική αγωγή. Τα δεδομένα ερμηνεύτηκαν ως σταθεροί/τυποποιημένοι συντελεστές. Για την αξιολόγηση της απόδοσης της EBT ως παράγοντα πρόβλεψης φλεγμονωδών προφίλ στα προκλητά πτύελα, δημιουργήθηκαν καμπύλες Λειτουργικού Χαρακτηριστικού Δέκτη (ROC). Υπολογίστηκαν οι περιοχές κάτω από την καμπύλη ROC (AUC) με διάστημα εμπιστοσύνης (CI) 95% και οι διαφορές τους από 0.5. Υπολογίστηκαν η ευαισθησία, η ειδικότητα, η θετική προγνωστική αξία (PPV) και η αρνητική προγνωστική αξία (NPV) για βέλτιστα σημεία ανάλυσης. Τιμή $p < 0.05$ θεωρήθηκε σημαντική. Τα δεδομένα αναλύθηκαν με

GraphPad Prism 5 (GraphPad Software Inc, La Jolla, CA, USA) και MedCalc 9 (MedCalcSoftware, Mariakerke, Belgium)

4.Αποτελέσματα

Σε αυτήν τη μελέτη συμμετείχαν ογδόντα-οχτώ ασθενείς με άσθμα (46 με σοβαρό άσθμα). Τα δημογραφικά χαρακτηριστικά των συμμετεχόντων παρατίθενται στον Πίνακα 1. Στον Πίνακα 1 παρατίθενται επίσης χαρακτηριστικά των υποομάδων με ήπιο έως μέτριο άσθμα και SRA.

4.1.Η EBT σύμφωνα με την υποκείμενη βαρύτητα

Η EBT (°C) ήταν σημαντικά υψηλότερη σε ασθενείς με SRA σε σύγκριση με ασθενείς με ήπιο έως μέτριο άσθμα [διάμεσος IQR 34.2 [32.4-34.6] έναντι 31.8 [26.3-34.1], $p=0.001$, Διάγραμμα 1].

4.2.Ανάλυση παλινδρόμησης

Τα κύρια αποτελέσματα της ανάλυσης παλινδρόμησης παρατίθενται στον Πίνακα 2. Η συσχέτιση της EBT με τα επίπεδα VEGF στο υπερκείμενο των προκλητών πτυέλων ήταν σημαντική ενώ το SRA αναγνωρίστηκε ως σημαντική συμμεταβλητή. Δεν παρατηρήθηκαν άλλες σημαντικές συσχετίσεις με το ACT ή τη πνευμονική λειτουργία.

4.3.Ανάλυση ROC

Η διαγνωστική απόδοση της EBT σε φλεγμονώδη προφίλ πτυέλων στο σύνολο των ομάδων μελέτης και στις υποομάδες ανά βαρύτητα της νόσου

Τριάντα τέσσερις ασθενείς εμφάνιζαν καθαρά ηωσινοφιλικό προφίλ ενώ έντεκα έπασχαν από καθαρά ουδετεροφιλικό άσθμα. Τριάντα από τους υπόλοιπους ασθενείς εμφάνιζαν ακκοκιοκυτταρικό προφίλ και πέντε από αυτούς μεικτό ηωσινοφιλικό και ουδετεροφιλικό προφίλ. Στην ανάλυση ROC, η διαγνωστική απόδοση της EBT για το καθαρά ηωσινοφιλικό προφίλ δεν ξεπέρασε το όριο στατιστικής σημαντικότητας [AUC 0.502 CI 0.39-0.61, $p=0.971$, Διάγραμμα 2A]. Παρόμοια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν στο καθαρά ουδετεροφιλικό προφίλ [AUC 0.59 CI 0.48-0.72, $p=0.320$, Διάγραμμα 2B]. Η κατανομή των ασθενών σε ομάδες βάσει της

υποκείμενης βαρύτητας δεν επέφερε αλλαγές στις ανωτέρω αντίστοιχες καμπύλες ROC για την EBT (δεν απεικονίζονται τα δεδομένα).

5.Συζήτηση

Σε αυτή τη προοπτική μελέτη δείξαμε ότι η μέτρηση της EBT σε ασθενείς με άσθμα επηρεάστηκε σε βαθμό στατιστικά σημαντικό από την υποκείμενη βαρύτητα της νόσου. Ο παράγοντας VEGF αποδείχθηκε να είναι καθοριστικός παράγοντας στην υποκείμενη διεργασία. Επιπροσθέτως, οι τιμές της EBT απέτυχαν να προβλέψουν το κυτταρικό προφίλ στα προκλητά πτύελα. Ένα από τα σημαντικά ευρήματα αυτής της μελέτης ήταν η αυξημένη τιμή της EBT σε ασθενείς με σοβαρό άσθμα σε σύγκριση με εκείνους με ήπιο-μέτριο άσθμα. Αρκετές μελέτες έχουν αναφέρει ότι η EBT αυξάνεται σε ασθματικούς ασθενείς σε σχέση με υγιείς μάρτυρες [273, 266, 274]. Μία δημοσιευμένη εργασία παλαιότερα αξιολόγησε αν η παρουσία μη ελεγχόμενου άσθματος επηρεάζει τα επίπεδα της EBT[266]. Οι συγγραφείς τελικά κατέληξαν ότι η EBT είναι αυξημένη σε ασθενείς με μη ελεγχόμενο άσθμα με βάση το ACT, αν και ο πληθυσμός της μελέτης ήταν αρκετά ετερογενής ως προς τις θεραπευτικές παρεμβάσεις.

Απ' όσα γνωρίζουμε, η μελέτη αυτή είναι η πρώτη που δείχνει ξεκάθαρα ότι το σοβαρό ανθιστάμενο στη θεραπεία άσθμα αντιπροσωπεύει έναν καθοριστικό παράγοντα στην εκτίμηση της EBT σε ασθενείς με άσθμα σε σταθερή κατάσταση. Στη μελέτη μας οι ασθενείς με SRA επιλέχθηκαν με βάση κάποια κριτήρια [183] και συγκρίθηκαν με ασθενείς με ήπια νόσο υπό βέλτιστη αγωγή ώστε να εξουδετερωθεί η επίδραση των θεραπευτικών παρεμβάσεων στην ερμηνεία των αποτελεσμάτων.

Η αγωγή και ιδιαίτερα τα εισπνεόμενα στεροειδή είναι ζωτικής σημασίας στην ερμηνεία της EBT στο άσθμα καθώς καλά σχεδιασμένες μελέτες έχουν ξεκάθαρα δείξει ότι επηρεάζουν σημαντικά τις μετρήσεις[275,276].

Σε μία μελέτη με ασθματικά παιδιά που ελάμβαναν αγωγή με στεροειδή, η EBT απέτυχε να προβλέψει αλλαγές στον έλεγχο της νόσου [275] αποδεικνύοντας ότι θεραπευτικές παρεμβάσεις ή/και ετερογένεια του πληθυσμού ως προς τη λαμβανόμενη θεραπεία μπορούν να εξουδετερώσουν την εγκυρότητα και τη χρησιμότητα της EBT στο άσθμα.

Αναλογιζόμενοι τους ασθενείς αυτής της μελέτης και τα αποτελέσματα που παρουσιάστηκαν θα περίμενε κανείς ότι οι ασθενείς που λαμβάνουν εισπνεόμενα στεροειδή σε υψηλές δόσεις θα είχαν χαμηλότερα επίπεδα EBT. Ωστόσο γνωρίζουμε ότι οι ασθενείς με σοβαρό άσθμα χαρακτηρίζονται συχνά από εμμένουσα φλεγμονή που δεν ελέγχεται επαρκώς με τα ICS. Επομένως, θεωρούμε ότι η βαρύτητα της νόσου έχει σημαντικότερο αντίκτυπο απ' ό,τι η λαμβανόμενη θεραπεία στη διαμόρφωση της EBT και αυτό υποστηρίζεται από δύο κρίσιμες παραμέτρους. Πρώτον, όλοι οι ασθενείς ήταν υπό τη βέλτιστη αγωγή και δεύτερον, δεν υπήρχε συσχέτιση μεταξύ της EBT και της δόσης των ICS στην ανάλυση παλινδρόμησης.

Σκεπτόμενοι τα υψηλά επίπεδα της EBT στο σοβαρό άσθμα μπορούμε να υποθέσουμε ότι διαμορφώνονται από δύο παράγοντες. Ο βασικότερος παράγοντας είναι η αυξημένη αγγείωση και ο δεύτερος, είναι η ένταση της φλεγμονώδους διεργασίας. Η αγγειοδιαστολή είναι κύριο γνώρισμα της φλεγμονής και η αγγειογένεση με τη συνοδό αγγειακή αναδιαμόρφωση στα πλαίσια αναδιαμόρφωσης των αεραγωγών (remodeling) είναι τυπικά χαρακτηριστικά της χρόνιας φλεγμονής, όπως συμβαίνει στο άσθμα [277]. Η σχέση μεταξύ της EBT και της παρουσίας αυξημένης αιματικής ροής έχει παρατηρηθεί είτε άμεσα είτε έμμεσα. Μία αιτιώδης σχέση μεταξύ τιμών EBT και αιματικής ροής στους αεραγωγούς έχει παρουσιασθεί [276], ενώ αυξημένα επίπεδα NO που υπάρχουν σε ασθματικούς ασθενείς λόγω της φλεγμονής μπορεί να προκαλέσουν αγγειοδιαστολή στην αιματική κυκλοφορία των αεραγωγών, συμβάλλοντας με αυτόν τον τρόπο σε αυξημένη ανταλλαγή θερμότητας [276,278].

Στην παρούσα μελέτη, αναγνωρίστηκε μία ισχυρή συσχέτιση μεταξύ του VEGF που μετρήθηκε στο υπερκείμενο των πτυέλων και της EBT. Η ανωτέρω συσχέτιση ισχυροποιεί την υπόθεση ότι η αυξημένη αιματική ροή ενισχύει την ανταλλαγή θερμότητας στους αεραγωγούς. Ωστόσο, ο δείκτης αγγειακής διαπερατότητας (AVP index) απέτυχε να συσχετισθεί με την τιμή της EBT. Αυτό μπορεί να αντανακλά την έμμεση σχέση του AVP με την αγγείωση σε σύγκριση με την άμεση του VEGF. Ο VEGF είναι ο πιο σημαντικός αγγειογενετικός παράγοντας που προκαλεί τον πολλαπλασιασμό του αγγειακού ενδοθηλίου, τον σχηματισμό των αγγείων και αυξάνει την αγγειακή διαπερατότητα [247]. Η αγγειακή διαπερατότητα είναι ένα κοινό χαρακτηριστικό της αναδιαμόρφωσης των αγγείων στο άσθμα και τροποποιείται από την έκλυση διαφόρων φλεγμονωδών παραγόντων, κυτταροκινών, πρωτεασών και αυξητικών παραγόντων. Το σοβαρό άσθμα χαρακτηρίζεται από

έντονη αγγειογένεση η οποία σε συνδιασμό με άλλα στοιχεία ιστικής επιδιόρθωσης και φλεγμονής των αεραγωγών, ευθύνεται για τη πτωχή ανταπόκριση στα στεροειδή. Ο VEGF είναι ένας καθοριστικός παράγοντας στις ανωτέρω διαδικασίες. Συνυπολογίζοντας όλα τα δεδομένα θεωρούμε ότι η αυξημένη EBT που παρατηρείται στο σοβαρό άσθμα επηρεάζεται κυρίως από την εκτεταμένη αγγειογένεση που ελέγχεται μόνο μερικώς με την αντιασθματική αγωγή. Η υπόθεση αυτή υποστηρίζεται από τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής καθώς η μέτρηση της EBT επηρεάζεται σημαντικά από την ύπαρξη σοβαρού άσθματος. Χρησιμοποιώντας την ανάλυση παλινδρόμησης και την πολυπαραγοντική ανάλυση προσπαθήσαμε να εξαλείψουμε κάθε συγχυτικό παράγοντα όπως η ηλικία, το φύλο και η αγωγή που μπορεί να επηρεάσει τις μετρήσεις. Αφού λοιπόν, ο VEGF εμπλέκεται στην αναδιαμόρφωση των αγγείων μπορούμε να υποθέσουμε ότι το remodeling έχει σημαντική επίδραση στην EBT. Ανατρέχοντας στα δεδομένα από άλλες μελέτες όπου αξιολογήθηκαν οι βιοδείκτες που εμπλέκονται στην αναδιαμόρφωση των αεραγωγών, παρατηρήθηκαν παρόμοια αποτελέσματα[240,279]. Ωστόσο, αν συμπεριλάβουμε υποθέσεις και από άλλες μελέτες, εκτιμάται ότι οι αλλαγές στους ιστούς που προκύπτουν από την αναδιαμόρφωση αποτελούν μία διαδικασία που οδηγεί σε μείωση της EBT[280,281]. Επομένως, χρειάζεται να αξιολογήσουμε την αναδιαμόρφωση των αεραγωγών χρησιμοποιώντας ακριβείς μετρήσεις που προκύπτουν από βιοψίες. Στην παρούσα μελέτη η EBT απέτυχε να προβλέψει τον κυτταρικό φαινότυπο στα προκλητά πτύελα στο σύνολο του ασθματικού πληθυσμού της μελέτης αλλά/και σε υπο-πληθυσμούς με βάση τη βαρύτητα. Σε μία προηγούμενη μελέτη, όπου αξιολογήθηκε η απώλεια υγρασίας και θερμότητας από τους αεραγωγούς, ανευρέθη σημαντική συσχέτιση με τα ηωσινόφιλα των πτυέλων[282]. Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε για την εκτίμηση της EBT μπορεί να αντανakλούσε με ακρίβεια το βαθμό της αιματικής ροής αλλά ήταν λιγότερο ευαίσθητη να εντοπίσει τη συμβολή των διαφόρων φλεγμονωδών κυττάρων στην περιφέρεια των αεραγωγών.

Υπάρχουν μικροί περιορισμοί στην παρούσα μελέτη. Ο πρώτος αφορά το μέγεθος του δείγματος και την απουσία μίας ανάλυσης ισχύος. Ωστόσο, αυτή είναι μία διερευνητική μελέτη πάνω στη διαγνωστική επίδοση ενός νέου βιοδείκτη και για αυτό το λόγο, μία αυστηρή ανάλυση ισχύος δεν πραγματοποιήθηκε, και το μέγεθος του δείγματος βασίστηκε στη δυνατότητα επίτευξης. Ωστόσο, η σωστή διαχείριση και η ακριβής κατηγοριοποίηση των συμμετεχόντων μας επέτρεψε να πραγματοποιήσουμε μία κατάλληλη ερμηνεία των αποτελεσμάτων. Ο δεύτερος

περιορισμός αφορά τους διαφορετικούς τρόπους μέτρησης της EBT. Η συσκευή X-Halo υπολογίζει το συνολικό ποσό θερμότητας που απελευθερώνεται κατά τη διάρκεια της δοκιμασίας και δέχεται ως αποτέλεσμα τη θερμοκρασία που επιτυγχάνεται και σταθεροποιείται μετά από έναν αριθμό αναπνοών. Ωστόσο, άλλες μέθοδοι λαμβάνουν υπόψιν είτε την κλίση του πρώτου τμήματος μίας μονής αναπνοής[239] είτε/και το τελευταίο μέρος της εκπνοής[279]. Λαμβάνοντας υπόψιν όλα τα ανωτέρω οι διαφορετικές μέθοδοι αντανακλούν διαφορετικά μονοπάτια της παθογένειας του άσθματος.

B. Μεταβολομική ανάλυση του EBC και βαρύτητα του άσθματος

1.Εισαγωγή

Το ενδιαφέρον για την εφαρμογή μεταβολομικών στις νόσους του αναπνευστικού και κυρίως στο άσθμα αυξάνεται. Τα μεταβολομικά χαρακτηριστικά των ασθματικών ασθενών θα μπορούσαν είτε να χρησιμεύσουν ως διαγνωστικό εργαλείο είτε να οδηγήσουν στην ανακάλυψη νέων βιολογικών δεικτών συναφών με τη σοβαρότητα, τον έλεγχο της νόσου ή την απάντηση στην θεραπεία. Μέχρι τώρα, υπάρχει μικρός αριθμός μελετών αναφορικά με το διαχωρισμό των ασθματικών ασθενών από ομάδες ελέγχου υγιών με τη μέθοδο υγρής χρωματογραφίας -φασματομετρίας μάζας, Αέρια Χρωματογραφία-Φασματογραφία Μάζας (LC-MS ή GC-MS) και μεταβολομικής βάσει πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR) σε αρκετά βιολογικά υγρά όπως ορός [283,284] ούρα [285,286] και EBC [287,261,288,289].

2.Σκοπός

Σκοπός της παρούσης μελέτης είναι η ανίχνευση διαφορών μεταξύ των μεταβολομικών χαρακτηριστικών του ήπιου-έως-μέτριου άσθματος με εκείνα του σοβαρού με την αξιοποίηση της υγρής χρωματογραφίας -φασματομετρίας μάζας υπερυψηλής απόδοσης LC-MS (UHPLC-MS) και μεταβολομικής ανάλυσης της EBC βασισμένης σε NMR καθώς και η αναγνώριση των μεταβολιτών που οδηγούν στον διαχωρισμό αυτών των ομάδων.

3. Μέθοδοι

3.1. Σχεδιασμός Μελέτης

Στη μελέτη συμμετείχαν 36 ασθενείς με διάγνωση άσθματος (15 ασθενείς με σοβαρό άσθμα και 21 με ήπιο-έως-μέτριο) που παρακολουθούνταν στις κλινικές άσθματος τριτοβάθμιας περίθαλψης (Α' Πνευμονολογική Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών, Νοσοκομείο Σωτηρία, Αθήνα, Ελλάδα και Β' Πανεπιστημιακή Πνευμονολογική Κλινική Αθηνών, Νοσοκομείο «Αττικόν», Χαϊδάρι, Ελλάδα). Ασθενείς που έπασχαν από άλλες αναπνευστικές νόσους (π.χ. ΧΑΠ, βρογχεκτασίες), πρόσφατη λοίμωξη του αναπνευστικού εντός των δύο προηγούμενων μηνών ή από άλλα σημαντικά συνοδά νοσήματα (κακοήθειες, διαταραχές του μεταβολισμού, νεφρική/ηπατική ανεπάρκεια) αποκλείστηκαν από τη μελέτη. Όλοι οι ασθενείς είχαν ακολουθήσει βέλτιστη θεραπευτική αγωγή για τουλάχιστον 6 μήνες. Όλοι οι ασθενείς λάμβαναν εισπνεόμενα κορτικοστεροειδή (ICS). Πέντε ασθενείς με σοβαρό άσθμα λάμβαναν κορτικοστεροειδή από του στόματος (OCS) ενώ κανείς δεν λάμβανε βιολογική θεραπεία. Καταγράφηκαν τα δημογραφικά και λειτουργικά χαρακτηριστικά τους, συμπεριλαμβανομένων του καπνίσματος, του δείκτη μάζας σώματος (BMI), τις μετρήσεις εκπνεόμενου μονοξειδίου του αζώτου (FeNO) και την τρέχουσα φαρμακευτική αγωγή. Το συμπύκνωμα εκπνεόμενου αέρα (EBC) συλλέχθηκε με Ecoscreen (Jaeger, Germany) και η περαιτέρω μεταβολομική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με UHPLC-MS (UHPLC- OrbitrapMS) και NMR (Bruker Avance III 600 MHz). Το πρωτόκολλο της μελέτης εγκρίθηκε από τις επιτροπές δεοντολογίας και των δυο νοσοκομείων και όλοι οι συμμετέχοντες έχουν υπογράψει έντυπο συγκατάθεσης.

3.2. Αξιολόγηση σοβαρού άσθματος

Η διάγνωση του σοβαρού άσθματος έγινε σύμφωνα με τις νέες κατευθυντήριες οδηγίες GINA 2019 για το σοβαρό άσθμα [1], επιβεβαιώθηκε από δύο ειδικούς στο άσθμα (SL and PB) και ορίστηκε ως «άσθμα που είναι μη ελεγχόμενο παρά τη συμμόρφωση με τη βελτιστοποιημένη θεραπευτική αγωγή και τη θεραπεία συννοσηροτήτων ή άσθμα που επιδεινώνεται όταν μειώνεται η χορήγηση υψηλών δόσεων στεροειδών».

3.3. Συλλογή EBC

Η συλλογή EBC πραγματοποιήθηκε με τη χρήση μίας συσκευής με συμπτυκνωτή Ecoscreen (Jaeger, Germany) διαθέσιμη στο εμπόριο. Οι συμμετέχοντες αναπνέουν μέσα σε ένα επιστόμιο και μια βαλβίδα διπλής κατεύθυνσης μη επανεισπνοής με φυσιολογική αναπνευστική συχνότητα και σε αναπνεόμενο όγκο για 10 λεπτά, ενώ κάθονται αναπαυτικά και με τη μύτη κλειστή με ένα ρινικό πίεστρο. Το EBC συλλέγεται το πρωί μεταξύ 9 και 10 π.μ. σε σταθερή θερμοκρασία περιβάλλοντος και υγρασία. Όλοι οι ασθενείς έλαβαν την φαρμακευτική τους αγωγή το πρωί και απέιχαν του καπνίσματος και τροφής δυο ώρες πριν τη συλλογή EBC. Το EBC καταψύχθηκε άμεσα σε σωλήνα στους -70°C για περαιτέρω ανάλυση [290].

3.4. Προετοιμασία δειγμάτων σε UHPLC-MS

Προστέθηκαν 60 μl διαλύματος εσωτερικού πρότυπου που αποτελούνταν από 2-αμινοφαινόλη, ρεζερπίνη, νοχιμπίνη, μυρμηκικό οξύ σε 440 μl EBC σε φιαλίδια. Προετοιμάστηκε ένα δείγμα ποιοτικού ελέγχου (QC) για την περιοδική αξιολόγηση της επαναληψιμότητας των μετρήσεων. Η ανάλυση των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε με Accela UHPLC (Thermo Scientific, Germany) εξοπλισμένο με Fortis UPLC C18 column (2.1 mm \times 100 mm, 1.7 μm , Fortis Technologies Ltd.). Η κινητή φάση ήταν 0.1% μυρμηκικό οξύ σε νερό (διαλύτης A) και 0.1% μυρμηκικό οξύ σε LC-MS grade ακετονιτριλίου. (διαλύτης B). Ο χρόνος ανάλυσης ήταν 30 λεπτά, και η ταχύτητα ροής 400 $\mu\text{l min}^{-1}$. Ο όγκος έγχυσης ορίστηκε στα 5 μl . Η προγραμματισμένη κλίση προχώρησε με την παρακάτω σειρά για τον διαλύτη B: 5% στα 0 min, 5% στα 3 min, 95% στα 24 min, 95% στα 26 min, 5% στα 28 min, 5% στα 30 min. Για την παραγωγή ιόντων, χρησιμοποιήθηκε η τεχνική Ιοντισμού με Ηλεκτροψεκασμό (ESI). Χρησιμοποιήθηκε αναλυτής Orbitrap με φασματοόμετρο μάζας μετασχηματισμού Fourier (FTMS) για την ανάλυση των ιόντων τόσο του θετικού όσο και του αρνητικού ιοντισμού. Η φασματοσκοπία μαζών αρνητικών και θετικών ιόντων λήφθηκε σε λειτουργία/τιμές πλήρους σάρωσης ιόντων (100 000–1 000 000 amu).

3.5. Προετοιμασία δειγμάτων NMR — φασματικές παράμετροι

258 μl διάλυμα οξειδίου του δευτερίου (D₂O) συν 62 μl ρυθμιστικού διαλύματος φωσφορικού νατρίου (pH 7.40; 1 M KH₂PO₄/D₂O, 2 mM NaN₃ και 0.1% TSP) προστέθηκαν σε 300 μl EBC, αποδίδοντας έτσι συνολικό όγκο 620 μl. 550 μl του τελικού διαλύματος μεταφέρθηκαν σε σωληνάρια NMR διαμέτρου 5 mm. Καταγράφηκαν φάσματα ¹H NMR σε Φασματόμετρο Bruker Avance III 600 MHz (Karlsruhe, Germany) εξοπλισμένο με ανιχνευτή Z-gradient 5 mm BBI (Bruker BioSpin GmbH) και αυτόματο δειγματολήπτη 60 θέσεων (B-ACS 60) ελεγχόμενο με το λογισμικό ICONNMR program suite (TOPSPIN v. 3.5 version, Bruker BioSpin GmbH). Η θερμοκρασία των δειγμάτων διατηρήθηκε σταθερή στους 27 °C. Φάσματα ¹H 1D (noesygpr1d; Bruker library) αποκτήθηκαν με 350 ελεύθερες επαγωγικές αποσβέσεις (FIDs), 64 k σημεία δεδομένων σε φασματικό εύρος 12 335.5 Hz, χρόνος λήψης 2.66 sec καθυστέρηση χαλάρωσης 20 s and μίξη 0.01 sec.

4. Αποτελέσματα

4.1. Συμμετέχοντες

Τα δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών παρατίθενται στον πίνακα 1. Οι ομάδες μελέτης δεν παρουσίαζαν διαφορές όσον αφορά την ηλικία, το φύλο, τις συνήθειες καπνίσματος και τα επίπεδα FeNO. Οι ασθενείς με σοβαρό άσθμα έλαβαν υψηλότερες δόσεις ICS και είχαν χαμηλότερο FEV₁%pred σε σύγκριση με τους ασθενείς με ήπιο-μέτριο άσθμα.

4.2. Χημειομετρική Ανάλυση των δεδομένων UHPLC- MS

Έγινε επεξεργασία των συλλεχθέντων δεδομένων από MS με ένα σύνολο προσαρμοσμένων παραμέτρων που χρησιμοποιείται στην πλατφόρμα XCMS Online. Χρησιμοποιήθηκαν αρκετές μεθοδολογίες πολυπαραγοντικής ανάλυσης έτσι ώστε να διερευνηθεί ο δειγματικός χώρος. Αρχικά χρησιμοποιήθηκε Ανάλυση Βασικών Συνιστωσών (PCA) για τη διερεύνηση ενδεχόμενων τάσεων καθώς και για την ύπαρξη σημαντικά ακραίων τιμών. Η εφαρμογή αυτής της μεθοδολογίας δεν κατέληξε ούτε σε κάποιο σημαντικό διαχωρισμό μεταξύ των ήπιων-έως-μέτριων ομάδων και των ομάδων ασθενών με σοβαρό άσθμα ούτε κατέδειξε σημαντικές ακραίες τιμές (συμπληρωματικό διάγραμμα 1). Με σκοπό την ενίσχυση της ικανότητας διάκρισης της στατιστικής ανάλυσης χρησιμοποιήθηκαν οι επιβλέπουσες

μεθοδολογίες της ανάλυσης μερικών ελαχίστων τετραγώνων σε συνδυασμό με την διαχωριστική ανάλυση (PLS-DA) (συμπληρωματικό διάγραμμα 2) και η αντίστοιχη μέθοδος ορθογώνιας προβολής ανάλυση μερικών ελαχίστων τετραγώνων σε συνδυασμό με την διαχωριστική ανάλυση oPLS-DA (συμπληρωματικό διάγραμμα 3). Τα αποτελέσματα και των δυο μεθοδολογιών κατέδειξαν ατελή διαχωρισμό των υπό εξέταση ομάδων και μέτρια διαγνωστική αξία (συμπληρωματικός πίνακας Α). Το τελευταίο ζήτημα (φτωχή διαγνωστική ικανότητα) σε συνδυασμό με την έλλειψη θετικής επικύρωσης (τεστ μετάθεσης—100τυχαιοποιημένες μεταθέσεις υπαγωγής στην κατάλληλη ομάδα) κατέστησαν αδύνατη την ανάπτυξη ενός αξιόπιστου στατιστικού μοντέλου (συμπληρωματικά διαγράμματα 4–5). Σε μια προσπάθεια εξάλειψης της μεταβλητότητας που δημιουργείται από βιολογικές, κοινωνικο-δημογραφικές και συμπεριφορικές συμμεταβλητές (ήτοι γένος, ηλικία, διαφορές του Δείκτη Μάζας Σώματος (BMI) και συνήθειες καπνίσματος των ασθενών) χρησιμοποιήθηκε μια περιορισμένη πολυεπίπεδη προσέγγιση όπως εφαρμόστηκε στη δέσμη R MixOmics v 6.0.2 ικανή να αποδομήσει και να αφαιρέσει μια στοχευμένη συμμεταβλητή (π.χ. ηλικία κλπ) ενώ διατηρεί τον βασικό παράγοντα διάκρισης στην αρχική του κατάσταση (ήτοι ήπιο-έως-μέτριο έναντι σοβαρού άσθματος). Και οι τέσσερις προαναφερόμενες συμμεταβλητές αφαιρέθηκαν, μία κάθε φορά, χωρίς να αναγνωριστεί ουσιώδης διαφοροποίηση αναφορικά με τη διάκριση μεταξύ των δύο ομάδων. Συνεπώς, είτε οι μελετώμενες συμμεταβλητές ουσιαστικά δεν παίζουν κύριο ρόλο στην διαδικασία του άσθματος είτε η συμβολή τους είναι περίπλοκη και δεν δύναται να γίνει αντιληπτή υπό τις παρούσες συνθήκες. Καθώς οι κλασικές πολυπαραγοντικές μεθοδολογίες αδυνατούσαν να διαφοροποιήσουν την υποκείμενη σοβαρότητα των ασθματικών ασθενών, δημιουργήθηκε μια συνδυαστική προσέγγιση. Οι πλέον σημαντικές μεταβλητές, ήτοι εκείνες με τιμές VIP >1 από το μοντέλο oPLSDA σύμφωνα με την κλίμακα Pareto διερευνήθηκαν περαιτέρω για την στατιστική τους ισχύ μέσω ελέγχων με t -test, q value, και fold-change (>1.4). Οι επιλεγμένες μεταβλητές επικυρώθηκαν περαιτέρω από την κατασκευή των καμπυλών ROC με τη χρήση Metaboanalyst 3.0 webplatform [291]. Οι επιλεγμένες μεταβλητές που πληρούν τις προϋποθέσεις μέσω των προαναφερθέντων διαδικασιών συσχετίστηκαν με 3 μεταβλητές που αφορούν την αναπνευστική λειτουργία ήτοι FEV1 (Βιαίως Εκπνεόμενος Όγκος σε 1 δευτερόλεπτο), ο λόγος FEV1/FVC και τα επίπεδα FeNO. Το μοντέλο PLS-R (παλινδρόμηση) επιλέχτηκε καθώς δύναται να επιτρέπει συγγραμικά δεδομένα με μεγάλα ποσοστά μη διαθέσιμων τιμών [292-295].

Το σκεπτικό είναι πως οι πιθανές λανθάνουσες μεταβλητές (LV's) βιοχημικής προέλευσης σχετιζόμενες με τα αποτελέσματα μιας ανεξάρτητης και απλής μέτρησης όπως η σπιρομέτρηση θα μπορούσαν δυνητικά να συμπράξουν στη δημιουργία ενός στατιστικού μοντέλου. Συνεπώς, δημιουργήθηκε ένα μοντέλο PLS-R με τη χρήση όλων των μεταβλητών με $VIP > 1$ ενός μοντέλου θετικού Pareto τυποποιημένου oPLS-DA (εικόνα 1A). Αν και τα αποτελέσματα συνέτειναν σε ένα μοντέλο με σημαντική ισχύ διάκρισης, το τεστ μετάθεσης έδειξε πως το μοντέλο δεν είναι αξιόπιστο (εικόνα 1 B). Συνεπώς επιλέχθηκαν οι έξι σημαντικότεροι συντελεστές (εικόνα 1C) από το διάγραμμα, δημιουργώντας ένα νέο «μειωμένο» μοντέλο PLS-r (εικόνα 1D). Το τεστ μετάθεσης του τελευταίου δείχνει πως το μοντέλο είναι ιδιαίτερα αξιόπιστο με περιγραφική και προγνωστική ικανότητα (εικόνα 1E). Η ίδια διαδικασία επαναλήφθηκε για τον λόγο FEV1/FVC και για τα FeNO αλλά τα αποτελέσματα ήταν συγκεκριμένα ενώ αντίθετα κανένα μοντέλο στον θετικό ιοντισμό δεν ήταν ικανό να διακρίνει τις δυο ομάδες. Το μοντέλο έδειξε ρυθμό/συντελεστή ταξινόμησης 85.7% για την ήπια-έως-μέτρια και 80% για την ομάδα σοβαρού άσθματος. Η αναγνώριση των μεταβολιτών έγινε με xMSannotator R. Η Εγκυκλοπαίδεια του Κιότο για τα γονίδια και τα γονιδιώματα (KEGG), η Βάση Δεδομένων του Ανθρώπινου Μεταβολώματος (HMDB) και τα LipidMaps ερευνήθηκαν για τον ακριβή όγκο των μεταβλητών και η αναγνώριση βασίστηκε επίσης σε επιπρόσθετα δεδομένα, ήτοι τα προφίλ της έντασης των χαρακτηριστικών, χρόνου κατακράτησης, έλλειμμα μάζας, πρότυπα ισοτόπων/συμπλόκων και συσχετισμός με σήματα μεταβολικών προδρόμων και προϊόντων [296]. Τα αποτελέσματα συνοψίζονται στον πίνακα 2.

4.3. Χημειομετρική ανάλυση των δεδομένων NMR

Οι μέθοδοι Πολυπαραγοντικής Ανάλυσης Δεδομένων (MVDA) που χρησιμοποιήθηκαν ήταν Ανάλυση μερικών Ελαχίστων Τετραγώνων (PLS), και μέθοδος διαχωριστικής ανάλυσης με ορθογώνια προβολή (O-PLS) [297,298]. Χρησιμοποιήθηκαν οι παράμετροι για την ταξινόμηση των λογισμικών, R^2Y and Q^2Y , για την αξιολόγηση της περιγραφικής και προγνωστικής αξίας αντιστοίχως. Για την επιπλέον επικύρωση του μοντέλου, πραγματοποιήθηκε το τεστ μεταθέσεων ($n = 100$). Χρησιμοποιήθηκαν οι κλίμακες Pareto και Διακύμανσης Μονάδας (UV). Οι ενδεχόμενοι διαφορετικοί μεταβολίτες μεταξύ των δυο ομάδων μελέτης που προέκυψαν από τα διαγράμματα (VIP, διάγραμμα διασποράς) αξιολογήθηκαν στη

συνέχεια με δοκιμή του t-test (Student t) ($P < 0.05$), και απορρίφθηκαν οι μεταβλητές χωρίς σημαντική αλλαγή μεταξύ των δυο ομάδων σύγκρισης. Οι διαφοροποιημένοι μεταβολίτες που εντοπίστηκαν διερευνήθηκαν περαιτέρω στην διαδικτυακή βάση δεδομένων και ταυτοποιήθηκαν τα βασικά μεταβαλλόμενα μεταβολικά μονοπάτια με ανάλυση τοπολογίας μονοπατιών, ανάλυση εμπλουτισμού με χρήση MetaboAnalyst 3.0 [299]. Οι προκύπτοντες μεταβολίτες ταυτοποιήθηκαν με την διαδικτυακή βάση δεδομένων HMDB (www.hmdb.ca), και το λογισμικό Chenomx NMR Suite v. 8.43 (Chenomx Inc.). Ένα αντιπροσωπευτικό φάσμα ^1H 1D NMR ενός δείγματος EBC ήπιου-έως-μέτριου άσθματος απεικονίζεται στο συμπληρωματικό γράφημα 6. Αναλυτικός κατάλογος των 33 μεταβολιτών παρατίθεται στον συμπληρωματικό πίνακα Β. Τα φασματοσκοπικά δεδομένα αναλύθηκαν τόσο με πολυπαραγοντικές όσο και με μονοπαραγοντικές στατιστικές μεθόδους για την ανίχνευση των μεταβολικών χαρακτηριστικών της σοβαρότητας του άσθματος. Για την πολυπαραγοντική ανάλυση των φασματοσκοπικών δεδομένων απαιτήθηκαν επιτηρούμενες μέθοδοι για το διαχωρισμό των δειγμάτων EBC σε ήπιο-έως-μέτριο και σοβαρό άσθμα. Τα διαγράμματα των μοντέλων παραγόμενων από την OPLS-DA απεικονίζονται στην εικόνα 2Α. Το μοντέλο επικυρώνεται μέσω 100 τυχαίων μεταθέσεων (εικόνα 2Β). Ο έλεγχος καλής προσαρμογής του μοντέλου χαρακτηρίζεται από περιγραφική δυνατότητα 0.46 (R^2_{cum}), ενώ η προβλεπτική δυνατότητα ήταν 0.18 (Q^2_{cum}). Βάσει της σημαντικότητας των τιμών στην προβολή (VIP), οι υπεύθυνοι μεταβολίτες για τον διαχωρισμό των δυο ομάδων είναι τα αμινοξέα λυσίνη, τυροσίνη, ασπαρτικό οξύ. Οι ανωτέρω μεταβολίτες υπέστησαν μονοπαραγοντική ανάλυση και μόνο στην περίπτωση της λυσίνης η αλλαγή που παρατηρήθηκε μεταξύ των δειγμάτων ήπιου-έως-μέτριου και σοβαρού άσθματος βρέθηκε στατιστικά σημαντική ($p = 0.04$, έλεγχος t μιας μεταβλητής t-test με διόρθωση Welch). Το διάγραμμα της λυσίνης και η καμπύλη ROC δεν απεικονίζονται. Η τιμή AUC ήταν 0.66, ένδειξη οριακής δυνατότητας διάκρισης.

5. Συζήτηση

Το άσθμα είναι μια ετερογενής νόσος με ποικίλους κλινικούς και φλεγμονώδεις φαινότυπους. Το σοβαρό άσθμα είναι αντικείμενο περισσότερων μελετών λόγω της πολυπλοκότητάς του, της αντίστασής του στη θεραπεία και του υψηλού κόστους. Το σοβαρό άσθμα επηρεάζει σημαντικά την ποιότητα της ζωής των ασθενών και είναι σημαντικό να βρεθεί η κατάλληλη θεραπεία για κάθε ασθενή καθώς

προσανατολιζόμαστε στην προσωποποιημένη ιατρική. Αυτή η προσέγγιση είναι διαθέσιμη στην κλινική πρακτική χάρη σε καινοτόμες, στοχευμένες θεραπείες. Η μετοβολομική ανάλυση ενδέχεται να διαδραματίσει ρόλο στο διαχωρισμό των υποομάδων των ασθενών με διαφορές στην υποκείμενη παθοφυσιολογία. Υπάρχει περιορισμένος αριθμός μελετών αναφορικά με τη μετοβολομική ανάλυση του άσθματος και των φαινοτύπων του. Μια μετοβολομική ανάλυση του EBC βάσει NMR κατάφερε να διαφοροποιήσει τους ασθματικούς ασθενείς από ομάδες ελέγχου υγιών καθώς επίσης και να ταξινομήσει τους ασθματικούς σε τρεις υποομάδες βάσει των ποσοστών παροξύνσεων και των επιπέδων φλεγμονωδών κυττάρων [289]. Σε αυτή τη μελέτη, εντοπίστηκαν έντεκα μεταβολίτες και διέφεραν μεταξύ των τριών αυτών ομάδων/ομαδοποιήσεων ασθενών [289]. Σε μια άλλη μελέτη, ο φαινότυπος του σοβαρού άσθματος σε παιδιά ήταν πλήρως διακριτός από τον μη-σοβαρό βασιζόμενοι στην MS μετοβολομική ανάλυση του EBC [262]. Αξιοποιώντας LC-MS και GC-MS για το μετοβολομικό προφίλ στο πλάσμα, δεκαοχτώ μεταβολίτες σχετιζόμενα με μεταβολισμό στεροειδών και αμινοξέων παρουσίαζαν σημαντική διαφορά μεταξύ του σοβαρού και μη-σοβαρού άσθματος [300]. Σε συμφωνία με την προαναφερθείσα μελέτη ο Reinke και οι συνεργάτες υποστήριξαν πως ο μεταβολισμός των στεροειδών μεταβάλλεται στο σοβαρό άσθμα λόγω των υψηλών δόσεων ICS ή ακόμα και OCS [301]. Τέλος στην ίδια μελέτη, ασθενείς με ήπιο-έως-μέτριο άσθμα που δεν είχαν λάβει στεροειδή στο παρελθόν διαχωρίστηκαν από ομάδες ελέγχου υγιών με εξωγενείς μεταβολίτες όπως διαιτητικά λιπίδια [301].

Σε αυτήν τη μελέτη, προσπαθήσαμε να διαχωρίσουμε το σοβαρό από το ήπιο-μέτριο άσθμα βάσει μετοβολομικών του EBC με την εφαρμογή τόσο NMR όσο και UHPLC-MS. Ο διαχωρισμός με ανάλυση PCA τόσο για με NMR όσο και με UHPLC-MS δεν απέφερε αποτελέσματα, πιθανόν εξαιτίας των πολλών συγχυτικών παραγόντων όπως φύλο, ηλικία και φαρμακευτικές επιδράσεις. Τα αποτελέσματα των μετοβολομικών βάσει NMR έδειξαν πως τρία αμινοξέα, η τυροσίνη, το ασπαρτικό οξύ και ειδικά η λυσίνη είχαν τη δυνατότητα να διαχωρίσουν τις δυο ομάδες μελέτης. Μια πρόσφατη έρευνα επίσης καταδεικνύει πως η λυσίνη είναι υψηλότερη στην COPD και χαμηλότερη στην αλληλοεπικάλυψη του άσθματος με COPD (ACO) [302]. Στην ανάλυση UHPLC-MS, μεταβολίτες όπως εικοσανοειδή, φωσφολιπίδια και ακόρεστα λιπαρά οξέα ευθύνονται για τον στατιστικά αδύναμο διαχωρισμό των ομάδων.

Σημειώνεται ότι η μελέτη μας έχει ορισμένους περιορισμούς. Πρώτον, το μέγεθος δείγματος ήταν σχετικά μικρό και απαιτούνται περισσότερες μελέτες με μεγαλύτερα δείγματα για την επαλήθευση των αποτελεσμάτων μας. Δεύτερον, αν και το EBC είναι ένα μη επεμβατικό, εύκολο στη συλλογή υλικό [303], είναι βιολογικό υλικό που παρουσιάζει δυσχέρειες στη διαχείριση λόγω της αστάθειάς του. Υπάρχουν ακόμη προβληματισμοί σχετικά με κάποιες μεθοδολογικές πλευρές, όπως η διάρκεια της δειγματοληψίας και οι συνθήκες φύλαξης. Ένας ακόμα περιορισμός συνίσταται στη άγνωστη προέλευση των ενώσεων του EBC λόγω της ενδεχόμενης ανάμειξης με σίελο. Άλλοι συγχυτικοί παράγοντες όπως ηλικία, φύλο, συνήθειες καπνίσματος και φαρμακευτική αγωγή θα μπορούσαν να επηρεάσουν τη μεταβολομική ανάλυση [303]. Ειδικά όσον αφορά τα κορτικοστεροειδή (ICS και OCS), ενδέχεται να επηρεάζουν τα μεταβολομικά μονοπάτια και τον μεταβολισμό των στεροειδών με έναν δοσοεξαρτώμενο τρόπο όπως έχουν αποδείξει προηγούμενες μελέτες [301]. Από την άλλη πλευρά, ο μεταβολισμός των αμινοξέων και των λιπιδίων φαίνεται να επηρεάζεται από τη βαρύτητα του άσθματος, αν και η επίδραση των ICS δεν μπορεί να παραβλεφθεί ή να αποδειχτεί επειδή όλοι οι ασθενείς λάμβαναν ICS. Απαιτείται υψηλής ποιότητας τυποποίηση, τόσο στη δειγματοληψία όσο και στην ερμηνεία των αποτελεσμάτων, έτσι ώστε να εισαχθεί μια νέα τεχνική και να αποφέρει χρήσιμες πληροφορίες εφαρμόσιμες στην κλινική πρακτική.

Γ. Κλινικά, λειτουργικά και φλεγμονώδη χαρακτηριστικά σε ασθενείς με ακοκκιοκυτταρικό άσθμα

1.Εισαγωγή

Η παραδοχή πως παρατηρείται μεγάλη ανομοιογένεια μεταξύ των ασθματικών ασθενών όσον αφορά την εκδήλωση της ασθένειας, τα συμπτώματα, τους τύπους φλεγμονής και την ανταπόκριση στη θεραπευτική αγωγή κατέστησε αναγκαία την αναγνώριση διαφορετικών κλινικών φαινοτύπων[304]. Η εξέταση του τύπου φλεγμονής των αεραγωγών με χρήση ανάλυσης πτυέλων οδηγεί στην κατηγοριοποίηση των ασθματικών ασθενών σε τέσσερις διαφορετικούς φλεγμονώδεις υπότυπους [230]. Τα υποκείμενα με ουδετερόφιλα στα πτύελα $\geq 61\%$ ταξινομούνται

ως ασθενείς με ουδετεροφιλικό άσθμα ενώ εκείνα με ηωσινόφιλα $\geq 1-3\%$ ταξινομούνται ως ασθενείς με ηωσινοφιλικό άσθμα[230,305,306]. Όταν παρατηρείται αύξηση τόσο των ουδετερόφιλων όσο και των ηωσινόφιλων, οι ασθενείς ταξινομούνται ως πάσχοντες από μεικτό κοκκιοκυτταρικό άσθμα και τέλος ασθματικοί ασθενείς με χαμηλότερα επίπεδα τόσο των ουδετερόφιλων όσο και των ηωσινόφιλων ταξινομούνται ως ασθενείς πάσχοντες από ακκοκκιοκυτταρικό άσθμα[230]. Η κατηγοριοποίηση των ασθενών βάση των προαναφερθέντων φαινοτύπων χρησιμοποιείται επιτυχώς για την βελτιστοποίηση της θεραπείας του άσθματος [305,307,308].

Τα τελευταία έτη, η παρουσία ηωσινόφιλων ή ουδετερόφιλων σε προκλητά πτύελα έχει γίνει αντικείμενο μελετών. Συνεπώς, τα ηωσινόφιλα στα προκλητά πτύελα σχετίζονται με την παρουσία ατοπικών συμπτωμάτων και καλής απάντησης σε εισπνεόμενα κορτικοστεροειδή [307,309] ενώ μελέτες έχουν δείξει πως η βελτιστοποίηση της θεραπείας βάση των επιπέδων των ηωσινόφιλων στα προκλητά πτύελα οδηγεί σε καλύτερο έλεγχο του άσθματος [305]. Αντιθέτως, η παρουσία ουδετερόφιλων σχετίζεται συνήθως με την έκθεση σε ρύπους της ατμόσφαιρας (όπως ο καπνός του τσιγάρου) ή την παρουσία ιογενούς ή βακτηριδιακής μόλυνσης[234].

Αν και τόσο το ηωσινοφιλικό όσο και το ουδετεροφιλικό άσθμα έχουν μελετηθεί ευρέως, τα στοιχεία για το ακκοκκιοκυτταρικό άσθμα, αναφορικά με τις μετρήσεις βιολογικών δεικτών, τη σοβαρότητα της νόσου και την απάντηση σε θεραπεία, είναι ελλιπή.

2.Σκοπός

Ο σκοπός της παρούσης μελέτης είναι η αξιολόγηση των χαρακτηριστικών των ασθενών που πάσχουν από ακκοκκιοκυτταρικό άσθμα συγκριτικά με τους ηωσινοφιλικούς, ουδετερόφιλους και μικτούς φαινότυπους.

3.Μέθοδοι

3.1.Σχεδιασμός μελέτης

Στην μελέτη συμπεριελήφθησαν 240 ασθενείς διαγνωσμένοι με άσθμα, οι οποίοι παρακολουθούνταν σε 2 κλινικές άσθματος τριτοβάθμιας περίθαλψης (Α' Πνευμονολογική Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών, Νοσοκομείο Σωτηρία, Αθήνα, Ελλάδα και Β' Πανεπιστημιακή Πνευμονολογική Κλινική Αθηνών, Νοσοκομείο «Αττικόν», Χαϊδάρη, Αθήνα). Όλοι οι ασθενείς είχαν ακολουθήσει βέλτιστη

θεραπευτική αγωγή για τουλάχιστον 6 μήνες. Αφού δέχτηκαν να συμμετάσχουν στη μελέτη, καταγράφηκαν τα δημογραφικά και λειτουργικά τους χαρακτηριστικά, συμπεριλαμβανομένου του καπνίσματος, της ατοπίας, του δείκτη μάζας σώματος (BMI) και της τρέχουσας φαρμακευτικής αγωγής. Καταγράφηκε επίσης το επίπεδο της δόσης ICS (μικρής, μεσαίας και υψηλής) βάση των κατευθυντηρίων οδηγιών GINA 2016[310]. Όλοι οι ασθενείς υποβλήθηκαν σε σπιρομέτρηση, μετρήσεις του εκπνεόμενου μονοξειδίου του αζώτου (FeNO) και πρόκληση πτυέλων για τον υπολογισμό των κυτταρικών πληθυσμών και των φλεγμονωδών βιολογικών δεικτών στα προκλητά πτύελα. Ο έλεγχος άσθματος αξιολογήθηκε με τη χρήση του Τεστ Ελέγχου του Άσθματος (ACT). Όλα τα τεστ διενεργήθηκαν πρωινές ώρες και αφού όλοι οι ασθενείς είχαν λάβει την θεραπευτική τους αγωγή. Το πρωτόκολλο της μελέτης εγκρίθηκε από τις επιτροπές δεοντολογίας και των δυο νοσοκομείων και όλοι οι συμμετέχοντες έχουν υπογράψει έντυπο συγκατάθεσης.

3.2.Μέτρηση Πνευμονικής Λειτουργίας, Ατοπίας και εκπνεόμενου Μονοξειδίου του Αζώτου

Πραγματοποιήθηκε σπιρομέτρηση μετά βρογχοδιαστολής με τη χρήση Master Screen Body (Viasys Healthcare, Jaeger, Hoechberg, Germany) σύμφωνα με τις οδηγίες της Αμερικανικής Εταιρείας Θώρακα [311] και αξιολογήθηκε από πνευμονολόγους με εξειδίκευση στο άσθμα. Ως ατοπία ορίστηκε η παρουσία θετικής δερματικής δοκιμασίας δια νυγμού σε τουλάχιστον ένα από 20 κοινά αεροαλλεργιογόνα. Ο δείκτης FeNO μετρήθηκε με τη χρήση φορητής συσκευής ανάλυσης NO (NIOX MINO, Aerocrine, Solna, Sweden)[270]. Οι μετρήσεις MINO πραγματοποιήθηκαν με σταθερή ταχύτητα ροής 50 mL/sec, εκφράζονται ως μέρη ανά δισεκατομμύριο (ppb) και βρίσκονται σε κλινικά αποδεκτή συμφωνία με τις μετρήσεις που πραγματοποιήθηκαν με τη χρήση σταθερής συσκευής ανάλυσης σύμφωνα με τις οδηγίες της ATS[270,312,271].

3.3.Πρόκληση πτυέλων και επεξεργασία

Η πρόκληση πτυέλων πραγματοποιήθηκε όπως περιγράφηκε ανωτέρω[313,314], με τη χρήση όλων των τροποποιήσεων για ασφαλείς μετρήσεις σύμφωνα με την υποκείμενη βαρύτητα του άσθματος. Το υπερκείμενο των πτυέλων αφαιρέθηκε με

φυγοκέντρωση, οι μετρήσεις κυτταρικού πληθυσμού πραγματοποιήθηκαν με αιμοκυτταρόμετρο με χρήση χρωστικής trypan blue. Τα πλακίδια ετοιμάστηκαν με κυτταροφυγόκεντρο cytospin (Shandon, Runcorn, UK) και η χρώση πραγματοποιήθηκε με May-Grunwald και Giemsa για τις διαφορικές μετρήσεις των κυττάρων. Η μέτρηση τουλάχιστον 500 φλεγμονωδών κυττάρων σε κάθε δείγμα έγινε από ανεξάρτητο παρατηρητή που δεν γνώριζε τις επιμέρους κλινικές πληροφορίες των ασθενών. Τα δείγματα των πτυέλων θεωρήθηκαν επαρκή εφόσον είχαν όγκο τουλάχιστον 3ml μετά την τελική απόχρεμψη και ποσοστό πλακωδών κυττάρων στα προετοιμασμένα πλακίδια <10%. Ο συνολικός αριθμός κυττάρων εκφράστηκε ως ο αριθμός των κυττάρων x 10⁶/ml και τα φλεγμονώδη κύτταρα των προκλητών πτυέλων ως ποσοστό (%) των μη πλακωδών κυττάρων. Τα υπερκείμενα των πτυέλων αποθηκεύτηκαν στους -70°C έως την μέτρηση.

3.4.Καθορισμός των φαινοτύπων του άσθματος βάσει του κυτταρικού πληθυσμού/αριθμού των κυττάρων των πτυέλων

Οι ασθενείς κατηγοριοποιήθηκαν σε τέσσερις διαφορετικές ομάδες (φαινότυποι) βάσει του ποσοστού ηωσινόφιλων και ουδετερόφιλων στα προκλητά πτύελα. Ο ουδετεροφιλικός φαινότυπος ορίστηκε από την παρουσία $\geq 60\%$ ουδετερόφιλων και <3% ηωσινόφιλων, ο ηωσινοφιλικός φαινότυπος από $\geq 3\%$ ηωσινόφιλα και <60% ουδετερόφιλα, ο μεικτός φαινότυπος από την παρουσία $\geq 3\%$, ηωσινόφιλων και $\geq 60\%$ ουδετερόφιλων και ο ακοκκιοκυτταρικός τόσο από <3%, ηωσινόφιλων όσο και <60% ουδετερόφιλων[230].

3.5.Μέτρηση βιολογικών δεικτών στα προκλητά πτύελα

Τα επίπεδα της ιντερλευκίνης (IL)-13, IL-8, και της ηωσινοφιλικής κατιονικής πρωτεΐνης (ECP) στο υπερκείμενο των προκλητών πτυέλων μετρήθηκαν με τη χρήση κιτ/αντιδραστηρίων διαθέσιμων στο εμπόριο. Η ECP μετρήθηκε με τη χρήση του κιτ Unicap ECP (όριο ανίχνευσης: 0.5ng/ml, Pharmacia diagnostics Upsala Sweden), ενώ η IL-13 και IL-8 μετρήθηκαν με τη χρήση κιτ ενζυμο-ανοσολογικής δοκιμής (ELISA, R&D systems, Minneapolis, Minnesota, USA). Τα όρια ανίχνευσης ήταν 32 pg/ml και 3.5 pg/ml, για την IL-13 και την IL-8 αντίστοιχα.

3.6.Αξιολόγηση ελέγχου Άσθματος και Σοβαρού Ανθεκτικού στη Θεραπεία Άσθματος

Ο έλεγχος άσθματος αξιολογήθηκε βάσει των οδηγιών GINA [310] από δύο ειδικούς πνευμονολόγους στο άσθμα (SL και PB). Επιπροσθέτως χρησιμοποιήθηκε και ένα επικυρωμένο/εγκυροποιημένο ερωτηματολόγιο, το Asthma Control Test[267]. Η παρουσία Σοβαρού Ανθιστάμενου Άσθματος (SRA) αξιολογήθηκε βάσει των θέσεων ομοφωνίας της ATS[222].

3.7.Στατιστική ανάλυση

Οι ποιοτικές μεταβλητές παρουσιάζονται ως n (%), ενώ αντίθετα οι ποσοτικές μεταβλητές παρουσιάζονται ως μέση τιμή \pm τυπική απόκλιση (SD) ή διάμεση (διατεταρτημοριακό εύρος) για δεδομένα κανονικής ή μη κανονικής κατανομής αντίστοιχα. Η κανονική κατανομή των δεδομένων ελέγχθηκε με τη βοήθεια του *Kolmogorov-Smirnov test*. Οι συγκρίσεις μεταξύ των διαφορετικών φαινοτύπων του άσθματος βάσει του κυτταρικού πληθυσμού στα προκλητά πτύελα πραγματοποιήθηκαν με τη χρήση στατιστικών ελέγχων του X^2 (chi-square tests) για τα ποιοτικά δεδομένα καθώς και με τεστ One-way ANOVA ή Kruskal-Wallis test για τα κανονικά ή μη κανονικά καταμεμημένα ποσοτικά δεδομένα, αντίστοιχα. Όλες οι τιμές του $p < 0.05$ θεωρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές. Τα δεδομένα αναλύθηκαν με τη χρήση SPSS 17.0 for Windows (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

4.Αποτελέσματα

Τα δημογραφικά και λειτουργικά χαρακτηριστικά των συμμετεχόντων στην μελέτη απεικονίζονται στον Πίνακα 1. Οι τέσσερις διαφορετικοί φαινότυποι δεν παρουσίαζαν διαφορές αναφορικά με την ηλικία, το γένος, την ατοπία και το κάπνισμα. Οι ασθενείς κατηγοριοποιήθηκαν στους τέσσερις διαφορετικούς φαινότυπους ως εξής: ηωσινοφιλικός φαινότυπος 96/240 (40%), μικτός φαινότυπος 16/240 (6.7%), ουδετεροφιλικός φαινότυπος 13/240 (5.4%) και ακοκκιοκυτταρικός φαινότυπος 115/240 (47.9%) (Διάγραμμα 1).

4.1. Πνευμονική λειτουργία, βαρύτητα άσθματος και ανάγκες θεραπείας

Αν και τα αποτελέσματα της ACT δεν παρουσίαζαν διαφορές μεταξύ των τεσσάρων ομάδων ($p=0.288$), το ακοκκιοκυτταρικό άσθμα παρουσίαζε καλύτερη πνευμονική λειτουργία βάσει του μετά βρογχοδιαστολή FEV_1 (% pred.) [διάμεσος (IQR): 71.5 (59.0-88.75) έναντι 69.0 (59.0-77.6) έναντι 68.0 (60.0-85.5) έναντι 80.5 (69.7-95.0), $p=0.009$], και FEV_1/FVC αναλογία 67.5 (60.0, 77.0) έναντι 66.0 (63.0, 74.3) έναντι 65.0 (60.0, 72.0) έναντι 71.0 (66.8, 76.0), $p=0.041$, για το ηωσινοφιλικό, μικτό, ουδετεροφιλικό και ακοκκιοκυτταρικό άσθμα αντίστοιχα (Διάγραμμα 2 Α και Β). Επιπλέον, οι ασθενείς με ακοκκιοκυτταρικό άσθμα χρειάζονταν λιγότερο συχνά υψηλές δόσεις ICS (44.8% έναντι 37.5% έναντι 23.0% έναντι 21.7%, για τον ηωσινοφιλικό, μικτό, ουδετεροφιλικό και ακοκκιοκυτταρικό φαινότυπο αντίστοιχα), $p=0.004$. Δεν παρατηρήθηκαν διαφορές μεταξύ των ομάδων αναφορικά με τη χορήγηση LABA, τη χρήση από του στόματος κορτικοστεροειδών ή LTRA. Τέλος, παρατηρήθηκε συχνότερη εκδήλωση του SRA στον ηωσινοφιλικό και μικτό φαινότυπο (41.6% και 43.7% αντιστοίχως) και λιγότερο συχνή στον ουδετεροφιλικό και ακοκκιοκυτταρικό φαινότυπο (25% και 21.7% αντιστοίχως), $p=0.01$.

4.2. Φλεγμονώδεις βιολογικοί δείκτες στους τέσσερις φαινοτύπους άσθματος

Όπως αναμενόταν, οι δείκτες FeNO και ECP ήταν υψηλότεροι στο ηωσινοφιλικό και μικτό άσθμα ενώ η IL-8 ήταν αυξημένη σε ασθενείς με ουδετεροφιλικό και μικτό άσθμα ($p<0.001$ σε όλες τις συγκρίσεις, Διάγραμμα 3 (A-C)). Στην μελέτη μας, δεν παρατηρήθηκαν διαφορές στα επίπεδα της IL-13 μεταξύ των τεσσάρων ομάδων ($p=0.585$). Τα επίπεδα κάθε βιολογικού δείκτη στους τέσσερις διαφορετικούς φαινοτύπους άσθματος απεικονίζονται στον Πίνακα 2. Επιπλέον, στον Πίνακα 2 απεικονίζονται τα διαφορετικά επίπεδα κάθε βιολογικού δείκτη βάσει της παρουσίας χαρακτηριστικών του Σοβαρού Ανθιστάμενου Άσθματος (SRA).

5. Συζήτηση

Η μελέτη έδειξε πως η πλειονότητα των ασθματικών ασθενών με καλή ανταπόκριση στη θεραπεία στα κέντρα τριτοβάθμιας φροντίδας μας πάσχει από ακοκκιοκυτταρικό άσθμα. Αυτοί οι ασθενείς χαρακτηρίζονται από καλύτερη πνευμονική λειτουργία

ενώ λιγότερο συχνά χαρακτηρίζονται ως πάσχοντες από Σοβαρό Ανθιστάμενο Άσθμα (SRA) και απαιτείται η χορήγηση υψηλών δόσεων ICS. Τέλος, οι ασθενείς με ακοκκιοκυτταρικό άσθμα παρουσιάζουν χαμηλότερους δείκτες φλεγμονωδών βιολογικών δεικτών στον εκπνεόμενο αέρα και στα υπερκείμενα των προκλητών πτυέλων, ένδειξη λιγότερο σοβαρής φλεγμονώδους διαδικασίας.

Η αναγνώριση του είδους της φλεγμονής των αεραγωγών δύναται να συμβάλει κατά πολύ στην λήψη απόφασης για τη βέλτιστη θεραπευτική αγωγή. Οι διαφοροποιήσεις στα πτύελα ενδέχεται να είναι συναφείς κλινικά, ιδιαίτερα στο πλαίσιο της αναγνώρισης της ηωσινοφιλίας των πτυέλων σε κατάλληλους ασθενείς με σοβαρό άσθμα σε κέντρα ειδικευμένα σε αυτήν την τεχνική σύμφωνα με τις πρόσφατες οδηγίες ERS/ATS για το σοβαρό άσθμα. Η ύπαρξη ηωσινόφιλων στα προκλητά πτύελα αποτελεί σημαντικό προγνωστικό παράγοντα απάντησης στη θεραπεία με εισπνεόμενα κορτικοστεροειδή[307,234]. Σε αυτό το φάσμα, η απουσία ηωσινόφιλων (ήτοι στον ουδετεροφιλικό ή στον ακοκκιοκυτταρικό φαινότυπο) σε ασθματικούς ασθενείς πιθανότατα σχετίζεται με θεραπευτική αγωγή με επαρκή δόση εισπνεόμενου κορτικοστεροειδούς. Είναι αξιοσημείωτο πως στην μελέτη μας, ασθενείς με ακοκκιοκυτταρικό άσθμα παρουσίασαν καλύτερη πνευμονική λειτουργία και έλαβαν υψηλές δόσεις ICS λιγότερο συχνά, γεγονός που οδηγεί στο συμπέρασμα πως σε αυτούς τους ασθενείς, το άσθμα είτε ελέγχθηκε επαρκώς με χαμηλότερες δόσεις εισπνεόμενων κορτικοστεροειδών, είτε πως ο ιατρός κατάφερε να μειώσει τη θεραπευτική δόση λόγω του πλήρους ελέγχου του άσθματος σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες GINA [310]. Αυτό το εύρημα υποστηρίζεται περαιτέρω από το γεγονός ότι ασθενείς με ακοκκιοκυτταρικό άσθμα και SRA παρουσίαζαν υψηλότερες τιμές FeNO, IL-13 και IL-8 στα πτύελα συγκρινόμενοι με ασθενείς με ήπια-μέτρια νόσο. Η παρουσία φλεγμονωδών δεικτών και ταυτόχρονα η απουσία κυτταρικής φλεγμονής υποστηρίζουν την ανάγκη για βαθύτερη κατανόηση κατά την εκτίμηση της φλεγμονής των αεραγωγών σε ασθενείς με SRA. Δεν υπάρχει επαρκής γνώση της κλινικής συνάφειας και ενδεχόμενων θεραπευτικών επιπτώσεων της αναγνώρισης ασθενών με μη-ηωσινοφιλική φλεγμονή και η μελέτη μας παρέχει επιπρόσθετα στοιχεία προς αυτήν την κατεύθυνση.

Εμμένουσα παρουσία ηωσινόφιλων στα πτύελα παρά την θεραπευτική αγωγή (ήτοι στις περιπτώσεις ηωσινοφιλικών και μικτών φαινοτύπων) ενδέχεται να οφείλεται σε κακή συμμόρφωση στη θεραπεία, σε λανθασμένη χρήση συσκευής εισπνοής,

συνεχούς έκθεσης σε αεροαλλεργιογόνα ή ανεπαρκούς δόσης εισπνεόμενων κορτικοστεροειδών. Ωστόσο, η παρουσία επίμονης ηωσινοφιλικής φλεγμονής σε ορισμένους ασθενείς ενδέχεται να οφείλεται σε φτωχή απάντηση σε ICS [234].

Αν και στην μελέτη μας το ακοκκιοκυτταρικό άσθμα σχετιζόταν με καλύτερη πνευμονική λειτουργία και μικρότερη ανάγκη για χορήγηση υψηλών δόσεων ICS, εντούτοις 25 στους 115 ασθενείς (ήτοι 21.7%) χαρακτηρίστηκαν ως πάσχοντες από SRA ενώ 17 στους 115 ασθενείς (ήτοι 14.8%) είχαν τιμές ACT ≤ 19 , γεγονός που οδηγεί στο συμπέρασμα ότι το άσθμα τους δεν ελέγχεται καλά, παρά την απουσία φλεγμονωδών κυττάρων στα προκλητά πτύελα. Αυτή η παρατήρηση συνάδει με την υπόθεση πως σε μερικές περιπτώσεις, το ακοκκιοκυτταρικό άσθμα πιθανόν προκαλεί μεταβολή στη λειτουργία των δομικών κυττάρων (όπως των επιθηλιακών, λείων μυικών κυττάρων, αγγείων και νεύρων) που ενδεχομένως ενεργοποιούν τη φλεγμονή των αεραγωγών [237,315]. Αυτοί οι ασθενείς ενδέχεται να παρουσιάζουν αντίσταση στα στεροειδή και συνεπώς η χορήγηση υψηλών δόσεων ICS δεν θα προσφέρει κανένα επιπλέον όφελος στη διαχείριση τους. Αυτός ο υπο-πληθυσμός ασθενών με μη ελεγχόμενο ακοκκιοκυτταρικό άσθμα χρήζει περαιτέρω μελέτης και αναγνώρισης ενδεχόμενων νέων στοχευμένων αγωγών που στοχεύουν στα δομικά κύτταρα.

Ωστόσο, σε κάποιους ασθενείς με ακοκκιοκυτταρικό άσθμα, η απουσία φλεγμονωδών κυττάρων, θα μπορούσε ενδεχομένως να είναι αποτέλεσμα προϋπάρχοντος ηωσινοφιλικού άσθματος υπό επαρκή αγωγή με ICS στο οποίο δεν παρατηρείται ουδετεροφιλική φλεγμονή. Η υπόθεση αυτή ενδέχεται να εξηγεί την καλύτερη πνευμονική λειτουργία και την απουσία των κριτηρίων SRA που παρατηρήθηκαν στην πλειονότητα αυτής της ομάδας ασθενών. Με άλλα λόγια, σε συγκεκριμένους ασθενείς η παρουσία ακοκκιοκυτταρικού άσθματος πιθανόν να αντιπροσωπεύει επιτυχημένη θεραπευτική αγωγή και θα μπορούσε να θεωρηθεί αποτέλεσμα επιτυχούς θεραπευτικής παρέμβασης παρά διαφορετικός φαινότυπος άσθματος.

Αντιθέτως, η ουδετεροφιλική φλεγμονή σχετίζεται συνήθως με περιβαλλοντικούς παράγοντες, όπως οι ατμοσφαιρικοί ρύποι [316] ή λοιμώξεις και βακτηριακό αποικισμό [317]. Ασθενείς με ουδετεροφιλικό άσθμα παρουσιάζουν αντίσταση στα στεροειδή ενώ η ουδετεροφιλική φλεγμονή σχετίζεται με προοδευτική απώλεια της πνευμονικής λειτουργίας και επίμονο περιορισμό της ροής αέρα. Είναι αξιοσημείωτο πως στην μελέτη μας, ασθενείς με ουδετεροφιλική φλεγμονή (είτε ουδετεροφιλικός

είτε μικτός φαινότυπος), εμφάνιζαν χειρότερη πνευμονική λειτουργία και υπέφεραν συχνότερα από SRA και λάμβαναν υψηλότερες δόσεις ICS, που προφανώς χορηγήθηκαν σε μια προσπάθεια ελέγχου των επιμόνων συμπτωμάτων του ασθενούς. Πρέπει επίσης να σημειωθεί πως στην μελέτη μας μόνο μια μειονότητα ασθενών έπασχε από ουδετεροφιλική φλεγμονή (ήτοι είχαν κατηγοριοποιηθεί στον ουδετεροφιλικό και μεικτό φαινότυπο), ένα εύρημα που χρήζει διερεύνησης και επεξήγησης. Επιπλέον η περιορισμένη απάντηση των ασθενών με ουδετεροφίλια στα πτύελα στα ICS [318] αποτελεί μία ακόμη ώθηση για την επαρκή αναγνώριση του ενδοτύπου στα πτυέλων των ασθενών σε εξειδικευμένα κέντρα. Τα περιορισμένα στοιχεία για ενδεχόμενη ευεργετική επίδραση των μακρολίδων σε ασθενείς με ουδετεροφιλικό [319] ή μη ηωσινοφιλικό[320] άσθμα δεν επιβεβαιώθηκαν σε μια πιο πρόσφατη μελέτη[321] υπογραμμίζοντας την μη κάλυψη της κλινικής ανάγκης για αυτούς τους ασθενείς, αν χαρακτηρισθούν επαρκώς βάσει των προκλητών πτυέλων.

Σημειώνεται ότι η μελέτη μας έχει ορισμένους περιορισμούς. Πρώτον, όλοι οι ασθενείς μας λάμβαναν τη βέλτιστη θεραπευτική αγωγή και ήταν σταθεροί για τουλάχιστον ένα εξάμηνο. Συνεπώς, δεν διαθέτουμε πληροφορίες αναφορικά με την φλεγμονή αεραγωγού από την οποία έπασχαν κατά τη στιγμή της εκδήλωσης της ασθένειας, πριν την έναρξη θεραπείας. Το γεγονός αυτό δεν μας επιτρέπει να σχηματίσουμε ακριβή εικόνα του είδους της φλεγμονής από την οποία έπασχαν οι ασθενείς πριν την χορήγηση ICS για την εξαγωγή ασφαλών συμπερασμάτων σχετικά με το αν ο ουδετεροφιλικός και ο ακοκκιοκυτταρικός φαινότυπος αναπαριστά ηωσινοφιλικό άσθμα που έχει ανταποκριθεί σε θεραπεία. Επιπλέον, για τον ίδιο λόγο δεν διαθέτουμε πληροφορίες για το είδος της φλεγμονής κατά τη διάρκεια της επιδείνωσης των συμπτωμάτων ή κατά τη διάρκεια της παρόξυνσης του άσθματος. Αυτός ο περιορισμός ισχύει και για τις τέσσερις ομάδες των ασθενών, συμπεριλαμβανομένων των ασθενών με ακοκκιοκυτταρικό άσθμα, για τις οποίες επίσης δεν έχουμε δεδομένα σχετικά με την ενδεχόμενο αλλαγής του προφίλ της φλεγμονής των ασθενών σε περίπτωση επιδείνωσης των συμπτωμάτων και απώλειας ελέγχου άσθματος, δεδομένου πως έχει αναφερθεί ότι το προφίλ της φλεγμονής στα πτύελα ασθενών με μέτριο ή σοβαρό άσθμα συνήθως μεταβάλλεται και παραμένει σταθερό μόνο στο ένα τρίτο των ασθενών κατά προσέγγιση [322].

Συμπερασματικά, η πλειονότητα των ασθματικών που πάσχουν από ελεγχόμενο ακοκκιοκυτταρικό άσθμα αντιπροσωπεύει έναν «καλοήγη» φαινότυπο άσθματος που

σχετίζεται με σχετικά καλή απάντηση σε θεραπευτική αγωγή παρά ένας «πραγματικό» φαινότυπο άσθματος. Οι ακοκκιοκυτταρικοί ασθενείς των οποίων η κατάσταση παραμένει μη ελεγχόμενη παρά τη βέλτιστη θεραπεία αποτελούν μια ομάδα ασθματικών που χρήζει περαιτέρω μελέτης για ενδεχόμενες καινοτόμες εστιασμένες παρεμβάσεις.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΕΙΔΙΚΟΥ ΜΕΡΟΥΣ

- A. Εκπνεόμενη θερμοκρασία και βαρύτητα άσθματος**
B. Μεταβολομική ανάλυση του EBC και βαρύτητα του άσθματος
Γ. Ακοκκιοκυτταρικό άσθμα

A. Εκπνεόμενη θερμοκρασία και βαρύτητα άσθματος

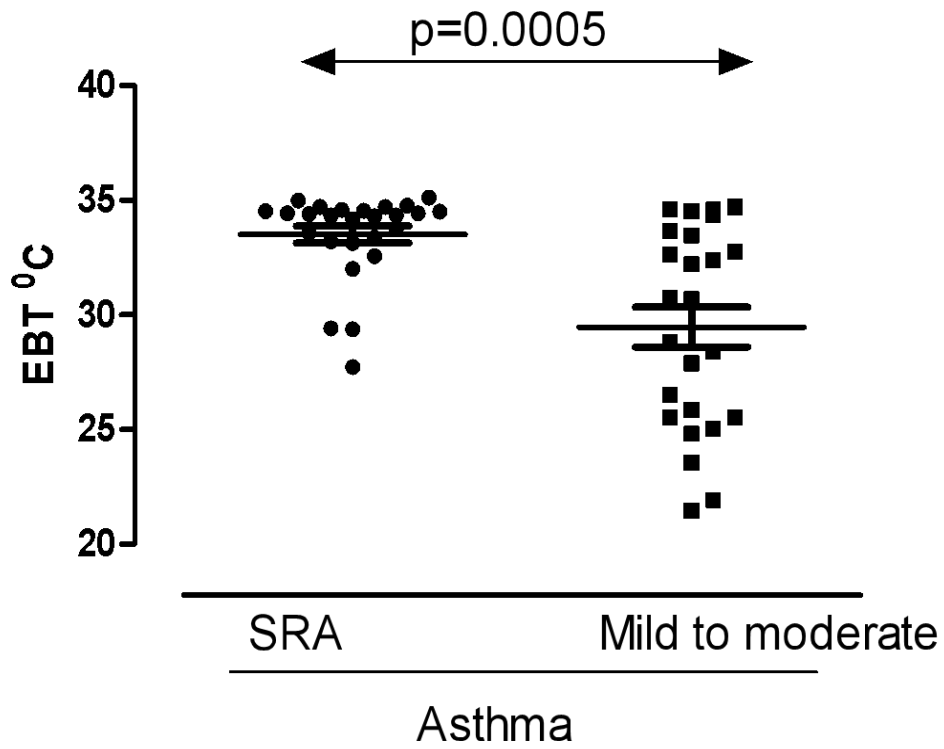
Parameters	Asthma [all patients] (n=88)	Mild to moderate (n=42)	SRA (n=46)	p value
Age	56 [46-66]	54[42-64]	57[48-64]	0.678
Gender(F/M)	54(61%)	24 (57%)	30 (65%)	
Atopy	49(55%)	25 (59 %)	24 (52%)	
Duration of disease (years)	26[13-38]	27[15-37]	25[13-36]	0.440
BMI Kg/m ²	27[24-30]	26[24-28]	28[24-31]	0.206
FeNO ppb	21[17-27]	20[15-23]	24[18-32]	0.421
eosinophils%	2(1-5)	2(1-4)	4(2-7)	0.005
neutrophils%	29(21-45)	23(17-40)	32(14-50)	0.002
VEGF pg/ml	1012(817-1234)	799(456-1037)	1156(932-1454)	0.003
AVP index	0.039(0.023-0.052)	0.03(0.019-0.04)	0.05(0.038-0.06)	<0.001
FEV ₁ % pred.	74(60-90)	89(73-96)	63(59-74)	<0.001
ACT	21±3	23±2.5	19±2	<0.001
FEV ₁ /FVC %	70±10	74±8	66±10	<0.001

Treatment			
ICS high dose	46(52%)	0	46(100%)
LABA	81 (92%)	36 (85%)	45(97%)
CS per os	13 (15%)	0	13(28%)
LTRA	10 (11%)	5 (12%)	5 (10%)
Omalizumab	12 (13%)	0	12(26%)

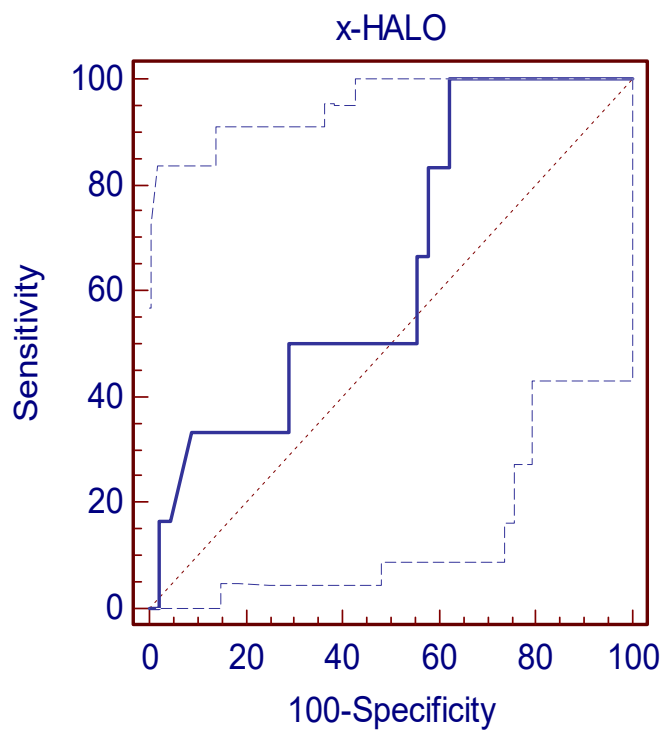
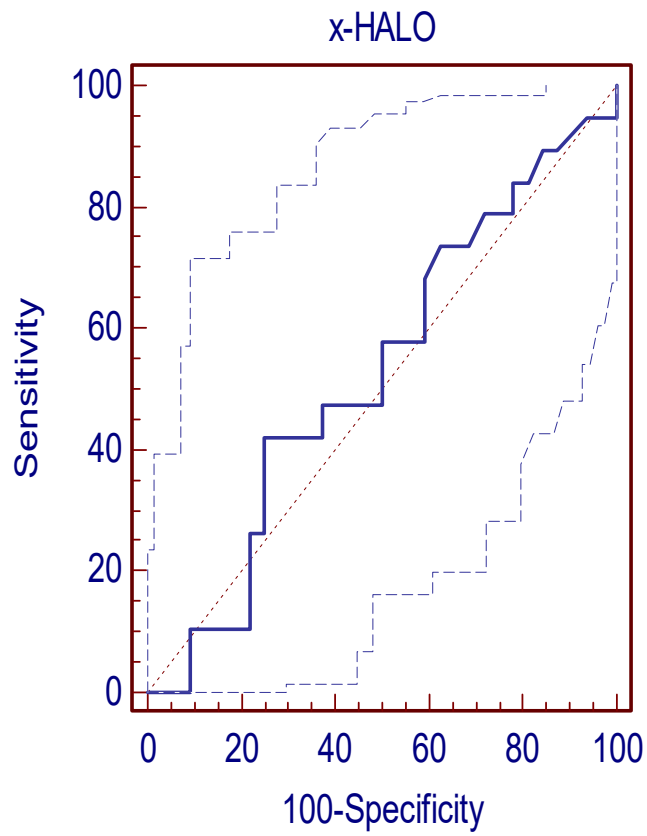
Πίνακας 1. Δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά συμμετεχόντων

Parameters	Beta coefficient	P value
eosinophils%	-0,177	0,859
neutrophils%	-0,718	0.475
VEGF pg/ml	2,587	0.001
AVP index	0.755	0.452
FeNO ppb	-0.473	0.637
SRA	1.98	0.045

Πίνακας 2. Προβλεπτική αξία της EBT για διάφορα φλεγμονώδη και κλινικά χαρακτηριστικά. Μοντέλο πολυπαραγοντικής ανάλυσης παλινδρόμησης

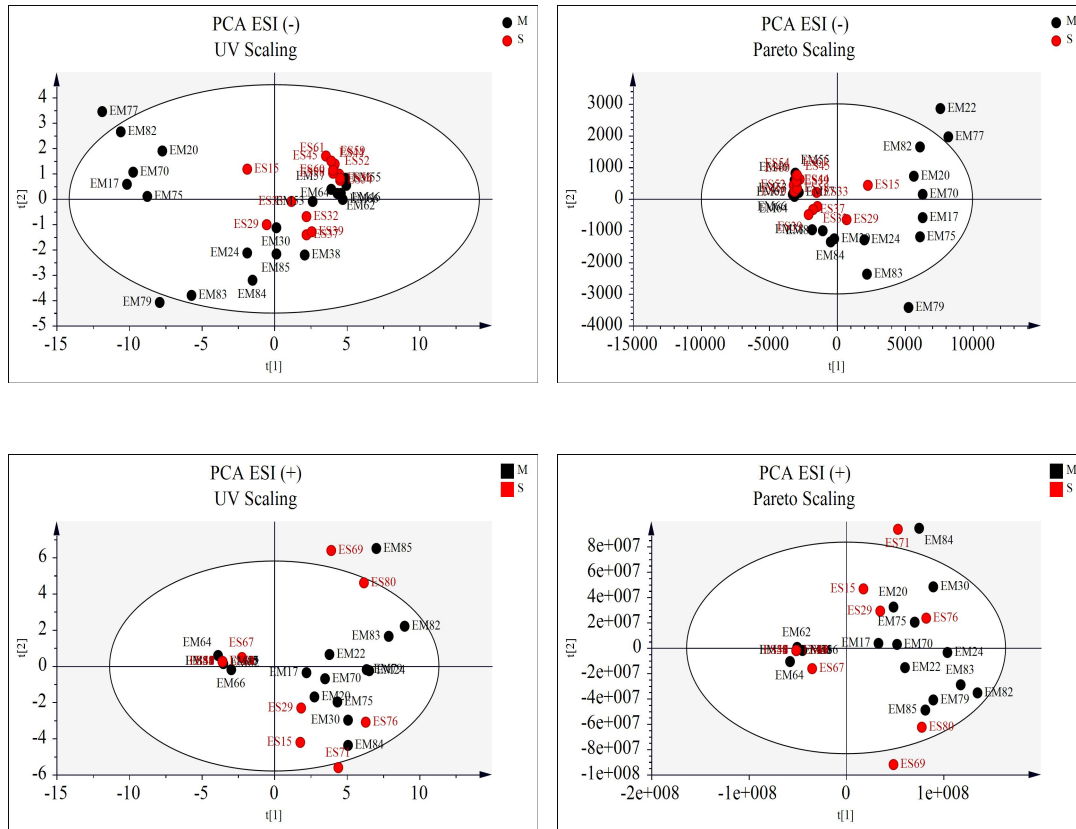


Διάγραμμα 1. Η EBT (median IQR) είναι σημαντικά αυξημένη σε ασθενείς με σοβαρό άσθμα σε σύγκριση με το ήπιο-μέτριο. EBT 34.34 [33.19 –34.55] έναντι 30.7 [25.52-33.57],

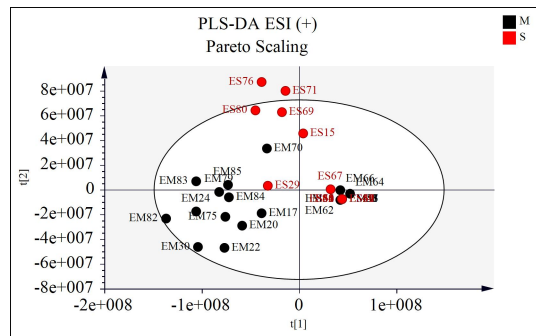
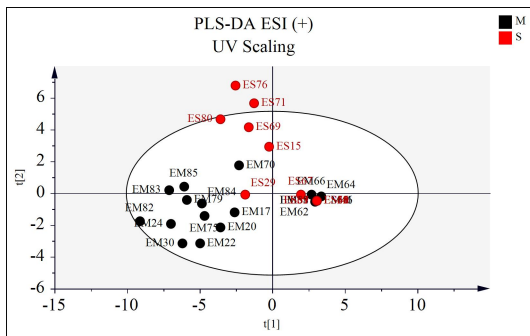
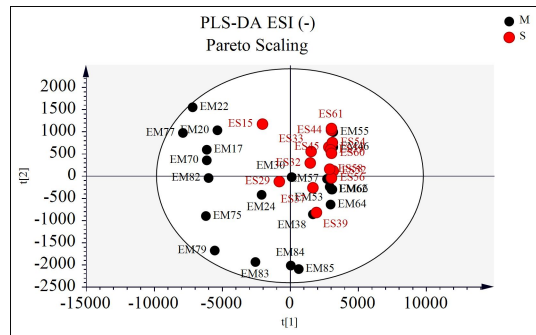
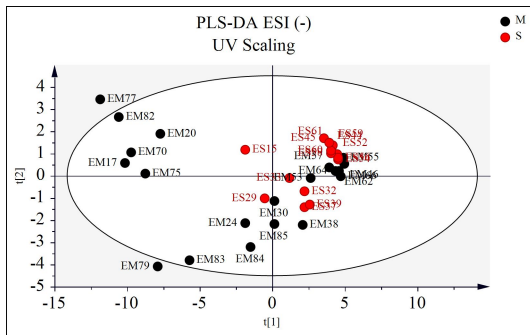


Διάγραμμα 2. Προβλεπτική αξία της EBT για τον ηωσινοφιλικό και τον ουδετεροφιλικό φαινότυπο άσθματος. Καμπύλες ROC

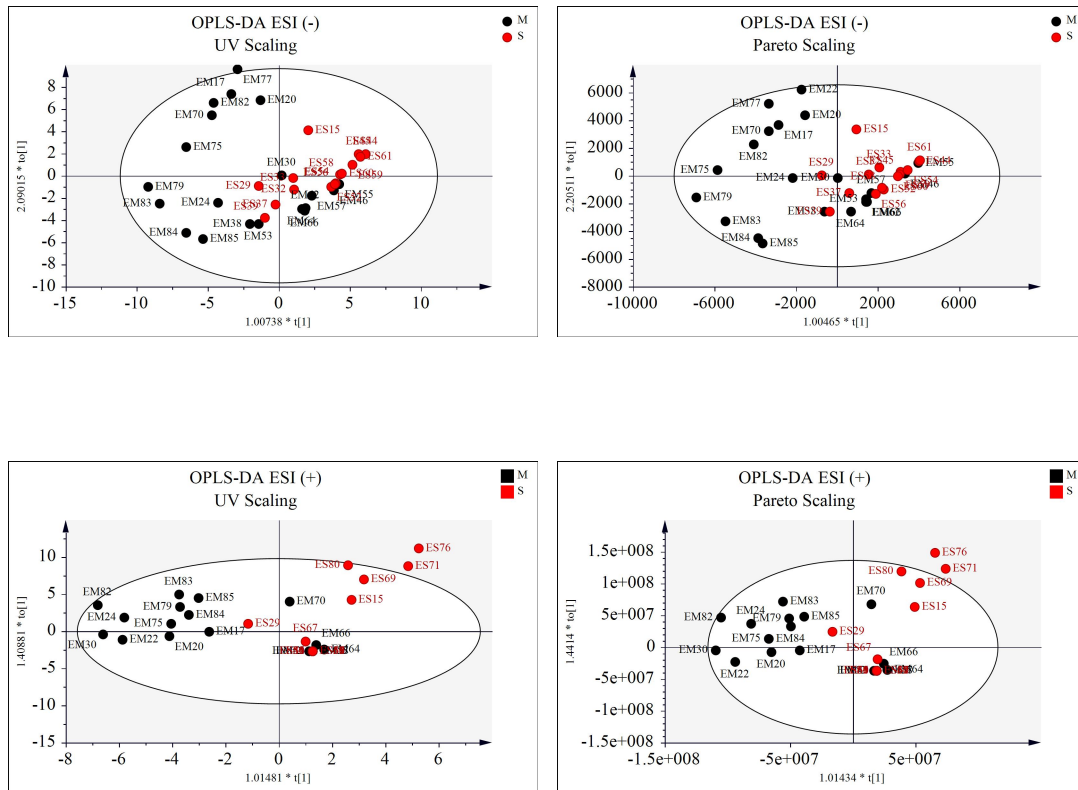
B. Μεταβολομική ανάλυση του EBC και βαρύτητα του άσθματος



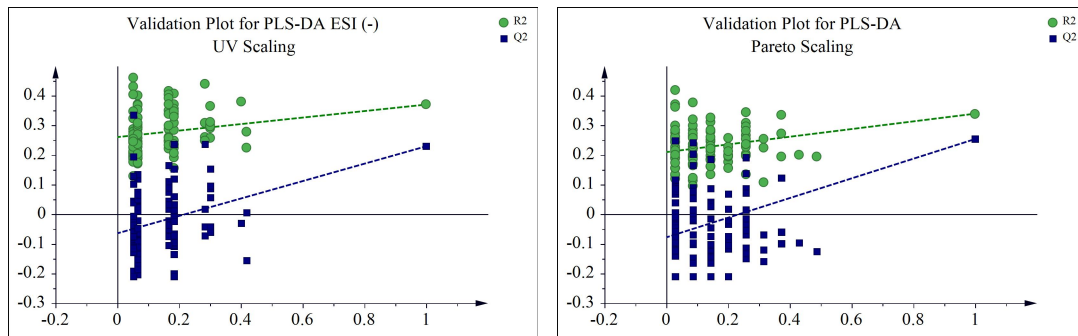
Συμπληρωματικό διάγραμμα 1: Διαγράμματα ανάλυσης κυρίων συνιστωσών από τα δεδομένα της φασματομετρίας μάζας στα αρνητικά και θετικά ιόντα χρησιμοποιώντας τη κλίμακα UV(αριστερά) και Pareto(δεξιά). Οι μαύρες κουκίδες αντιπροσωπεύουν το ήπιο-μέτριο άσθμα και οι κόκκινες το σοβαρό άσθμα στα δείγματα EBC. Συντμήσεις:PCA: ανάλυση κυρίων συνιστωσών, ESI: ιοντισμός ηλεκτροψεκασμού.



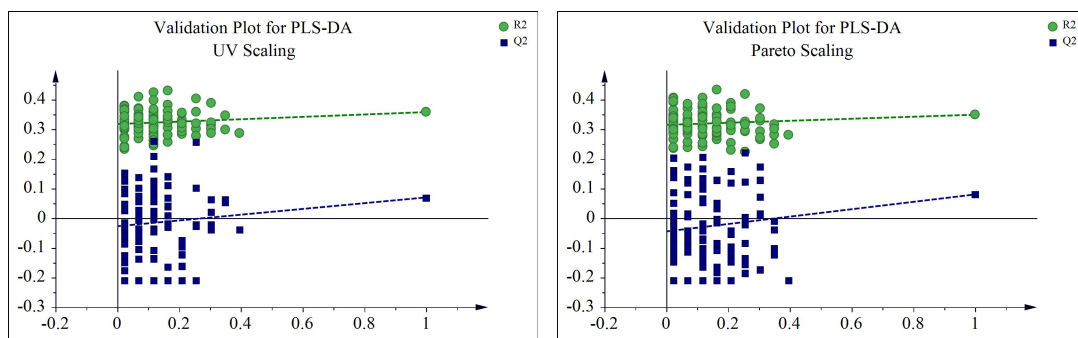
Συμπληρωματικό διάγραμμα 2: Διαγράμματα ανάλυσης μερικών ελαχίστων τετραγώνων από τα δεδομένα της φασματομετρίας μάζας στα αρνητικά και θετικά ιόντα χρησιμοποιώντας τη κλίμακα UV(αριστερά) και Pareto(δεξιά). Οι μαύρες κουκίδες αντιπροσωπεύουν το ήπιο-μέτριο άσθμα και οι κόκκινες το σοβαρό άσθμα στα δείγματα EBC. Συντμήσεις:PLS: ανάλυση μερικών ελαχίστων τετραγώνων, ESI: ιοντισμός ηλεκτροψεκασμού.



Συμπληρωματικό διάγραμμα 3: Διαγράμματα ανάλυσης μερικών ελαχίστων τετραγώνων σε ορθογώνια προβολή από τα δεδομένα της φασματομετρίας μάζας στα αρνητικά και θετικά ιόντα χρησιμοποιώντας τη κλίμακα UV(αριστερά) και Pareto(δεξιά). Οι μαύρες κουκίδες αντιπροσωπεύουν το ήπιο-μέτριο άσθμα και οι κόκκινες το σοβαρό άσθμα στα δείγματα EBC. Συντμήσεις: oPLS: ανάλυση μερικών ελαχίστων τετραγώνων σε ορθογώνια προβολή, ESI: ιοντισμός ηλεκτροψεκασμού.



Συμπληρωματικό διάγραμμα 4: Τεστ μεταθέσεων που επιτρέπει 100 μεταθέσεις για το μοντέλο της PLS ανάλυσης στις δύο υποομάδες της μελέτης χρησιμοποιώντας τη κλίμακα UV(αριστερά) και Pareto(δεξιά), για τον αρνητικό ιοντισμό. Συντιμήσεις:R2: περιγραφική ικανότητα μοντέλου, Q2: προβλεπτική ικανότητα.



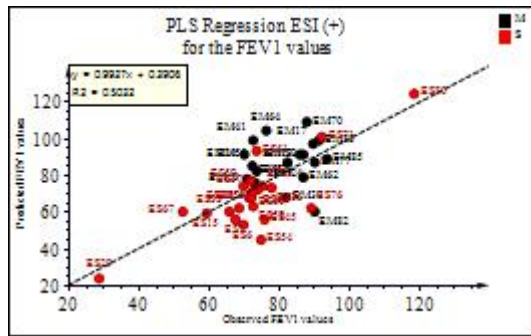
Συμπληρωματικό διάγραμμα 5: Τεστ μεταθέσεων που επιτρέπει 100 μεταθέσεις για το μοντέλο της PLS ανάλυσης στις δύο υποομάδες της μελέτης χρησιμοποιώντας τη κλίμακα UV(αριστερά) και Pareto(δεξιά), για τον θετικό ιοντισμό. Συντιμήσεις:R2: περιγραφική ικανότητα μοντέλου, Q2: προβλεπτική ικανότητα.

Mode	Model	R2	R2X	R2Y	Q2
positive	PCA Pareto (+)	0.489			0.259
	PLSDA Pareto (+)		0.464	0.349	0.0804
	oPLSDA Pareto (+)		0.464	0.349	0.0567
negative	PCA Pareto (-) PCA UV (-)	0.801			0.928
	PLSDA Pareto (-)		0.843	0.339	0.254
	oPLSDA Pareto (-)		0.843	0.339	0.255

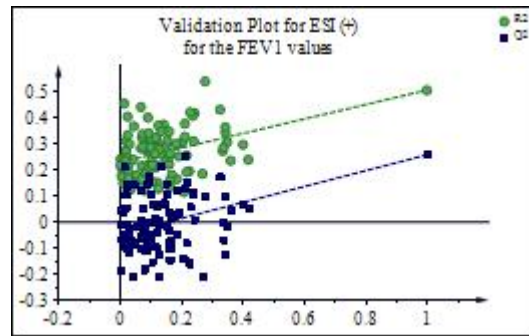
Συμπληρωματικός πίνακας Α: Στατιστική επικύρωση των μοντέλων ανάλυσης που χρησιμοποιήθηκαν για τον διαχωρισμό των δύο ομάδων της μελέτης

Άσθμα	Ήπιο-μέτριο(n=21)	Σοβαρό(n=15)	p-value
Φύλο (n%άρρεν)	14.2	13.3	1.000
FEV1(%pred, mean ±SD)	88.3 [±11.9]	64.4 [±15.6]	0.0003
FeNO median(25-75)	17 [11-35]	21 [17-33]	0.323
BMI (mean ±SD)	25 [±3.7]	28.3 [±5.7]	0.079
Κάπνισμα(n%καπνιστές)	10.4	8.7	0.316
Ηλικία (mean ±SD)	48.6 [±16.7]	55.2 [±10]	0.206
ICS median(25-75)*	600 (200-800)	1500 [1200-1600]	0.039
OCS(ασθενείς n)	0	5	

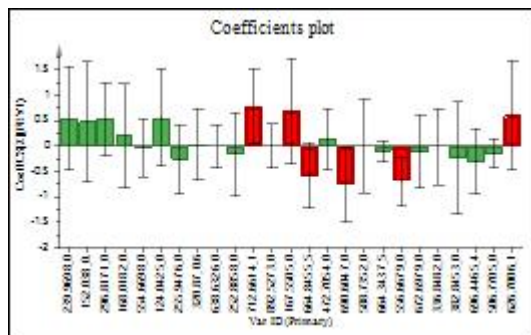
Πίνακας 1: Δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά των συμμετεχόντων. *Η δόση των ICS υπολογίσθηκε σε ισοδύναμα mcg βουδεσονίδης



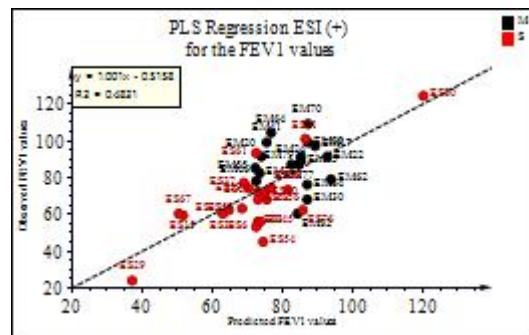
A.



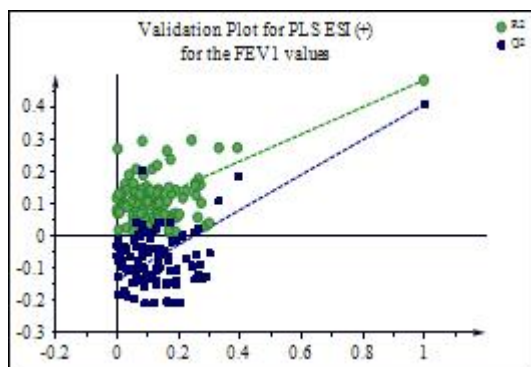
B.



C.



D.

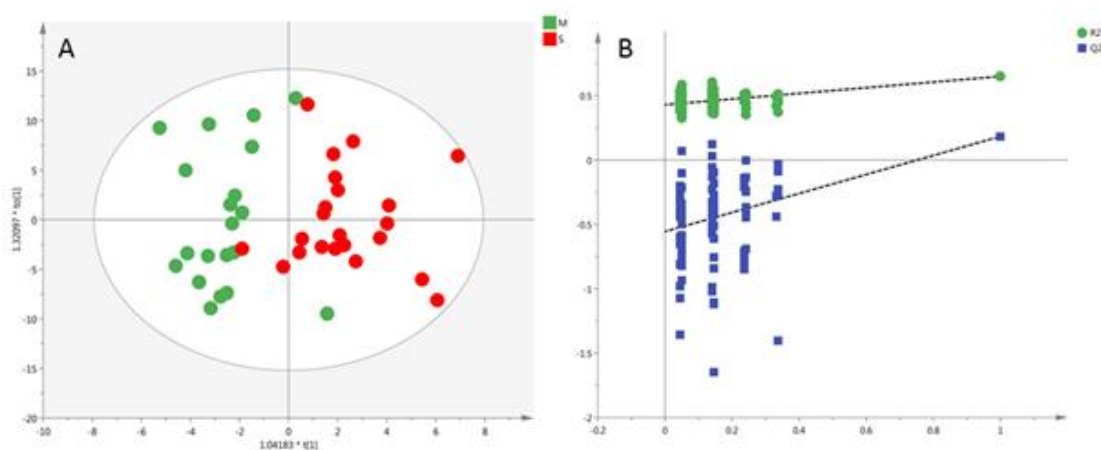


E.

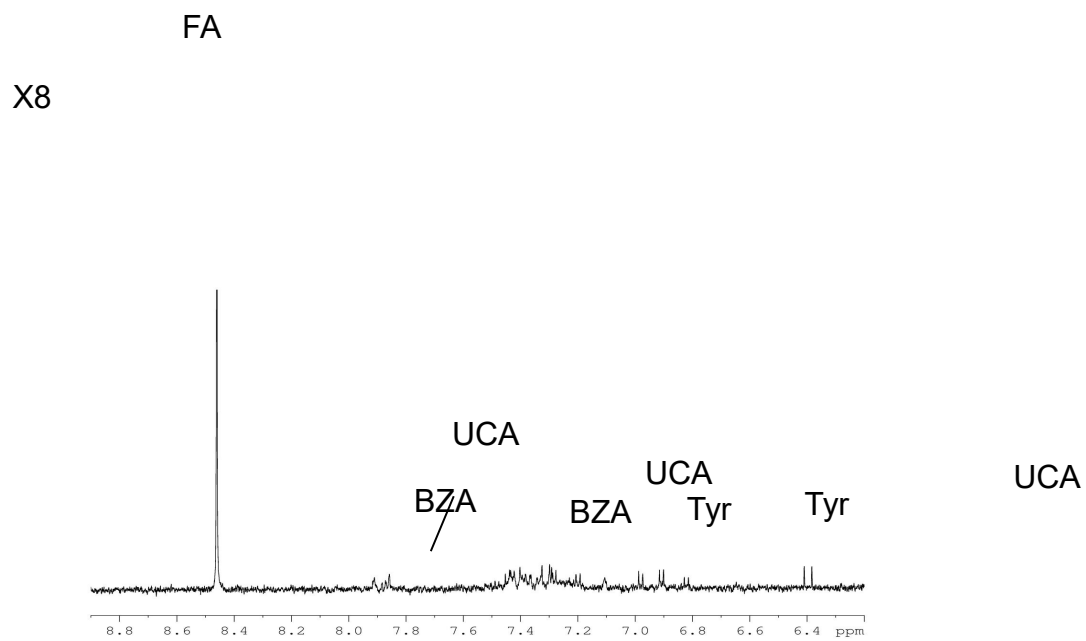
Εικόνα Α. Το αρχικό μοντέλο PLS ανάλυσης παλινδρόμησης ($R^2X_{(cum)} = 0.85$, $R^2Y_{(cum)} = 0.503$ and $Q^2_{(cum)} = 0.256$) δείχνει συσχέτιση των δεδομένων του θετικού ιοντισμού με τις τιμές FEV1. Β. Σύμφωνα με το τεστ μεταθέσεων, το μοντέλο δεν είναι αξιόπιστο. C. Το διάγραμμα των συντελεστών αναδεικνύει τους παράγοντες (με κόκκινο) που συμβάλλουν περισσότερο στο μοντέλο ανάλυσης ($R^2X_{(cum)} = 0.85$, $R^2Y_{(cum)} = 0.503$ and $Q^2_{(cum)} = 0.256$) για τον θετικό ιοντισμό και τις μετρήσεις FEV1. D. Το τελικό μοντέλο PLS ανάλυσης παλινδρόμησης ($R^2X_{(cum)} = 0.917$, $R^2Y_{(cum)} = 0.483$ and $Q^2_{(cum)} = 0.407$) δείχνει συσχέτιση των δεδομένων του θετικού ιοντισμού με τις τιμές FEV1. E. Σύμφωνα με το τεστ μεταθέσεων, τα αποτελέσματα του μοντέλου είναι αξιόπιστα σε αντίθεση με το αρχικό μοντέλο με αξιοσημείωτη περιγραφική και προβλεπτική ικανότητα.

Μεταβολίτης	Μάζα/φορτίο	t _R	Όνομα	ESI
712.6614_1.1	712.6614	1.1	12-dihexadecanoyl-sn-glycero-3-O-(NNN-trimethyl)-homoserine	(+)
167.5505_0.6	167.55	0.6	Unknown metabolite	(+)
664.8455_5.2	664.8455	5.2	Diradylglycerol/, Triradylglycerol/ Glycerophosphoglycerol/ Glycerophosphate/ Oxidized glycerophospholipid/ Isoprenoid/ Sterol	(+)
690.6047_0.8	690.6047	0.8	Glycerophosphoethanolamine/ Glycerophosphocholine	(+)
556.6679_0.8	556.6679	0.8	Unsaturated fatty acid/ Eicosanoid/ Glycerophosphoglycerol	(+)
626.7006_1.1	626.7006	1.1	Other Fatty Acyl, Diradylglycerol, Glycerophosphoinositol, Glycerophosphate, Sterol	(+)

Πίνακας 2: Σημαντικά χαρακτηριστικά που εντοπίστηκαν στις δύο ομάδες της μελέτης. tg:χρόνος κατακράτησης(λεπτά) ESI:ιοντισμός ηλεκτροψεκασμού



Εικόνα 2. Α. Το μοντέλο ανάλυσης PLS σε ορθογώνια προβολή (R2Xcum 0.46, Q2cum 0.18) και το τεστ μεταθέσεων των δειγμάτων EBC σε ασθενείς με ήπιο-μέτριο(πράσινο) και σοβαρό(κόκκινο) άσθμα.



Συμπληρωματικό διάγραμμα 6: Αλιφατική (4.40-0.80 ppm) και αρωματική (8.90-6.30 ppm) περιοχή αντιπροσωπευτική του φάσματος ^1H 1D NMR του ήπιου-μέτριου άσθματος σε δείγμα EBC. Οι συντημήσεις των μεταβολιτών επεξηγούνται στον πίνακα 2.

Supplementary Table B: Metabolites assigned in 1H NMR spectra of EBC samples

No	Metabolite	¹ H chemical shifts (ppm) (Multiplicity)
Amino Acids		
1	Leucine (Leu)	0.97 (d ¹); 0.96 (d)
2	Isoleucine (Ile)	1.01 (d); 0.95 (t)
3	Valine (Val)	3.62 (d); 1.05 (d); 0.99 (d)
4	Alanine (Ala)	3.79 (q); 1.48 (d)
5	Ornithine (Orn)	3.06 (t); 1.95 (m);
6	Lysine (Lys)	3.03 (t)
7	Aspartic acid (Asp)	3.90 (dd); 2.82 (dd); 2.68 (dd)
8	Pyroglutamic acid (p-Glu)	4.18 (dd); 2.51 (m); 2.41 (m); 2.04 (m)
9	Serine (Ser)	4.00 (dd); 3.95 (dd); 3.85 (dd)
10	Tyrosine (Tyr)	7.20 (d); 6.91 (d)
11	N,N-Dimethylglycine	2.93 (s)
12	Glycine (Gly)	3.56 (s)
13	Threonine (Thr)	4.26 (m); 3.59 (d);
Amines		
14	Methylamine (MA)	2.61 (s)
15	Dimethylamine (DMA)	2.72 (s)
16	N,N-Dimethylformamide (DMF)	2,87
Ketones		
17	Acetoin	4.43 (q); 2.23 (s); 1.38 (d)
18	Acetone/Acetoacetate (Ace)	2.24 (s)
Alcohols		
19	Methanol (MeOH)	3.36 (s)
20	Isopropanol (IPA)	4.03 (m); 1.18 (d)
21	Ethanol (EtOH)	3.66 (q); 1.19 (t)
22	Glycerol (Glyc)	3.79 (m); 3.66 (dd); 3.57 (dd)
23	Propylene Glycol (PG)	3.88 (m); 3.55 (dd); 3.45 (dd); 1.15 (d)
Organic Acids		
24	Pyruvic acid (PA)	2.38 (s)
25	Propionic acid (PPA)	2.18 (q); 1.06 (t)
26	Succinic acid (SA)	2.41 (s)
27	Acetic acid (HOAc)	1.92 (s)
28	Formic acid (FA)	8.46 (s)
29	Urocanic acid (UCA)	7.86 (s); 7.40 (s); 7.31 (d); 6.40 (d)
30	Lactic acid (LA)	4.12 (q); 1.33 (d)
31	Gluconic acid (GlcA)	4.14 (d); 4.04 (t, b); 3.83 (dd); 3.77 (m);
32	Glycolic acid (GA)	3.94 (s)
33	Benzoic acid	7.89 (d); 7.56 (t); 7.49 (t)

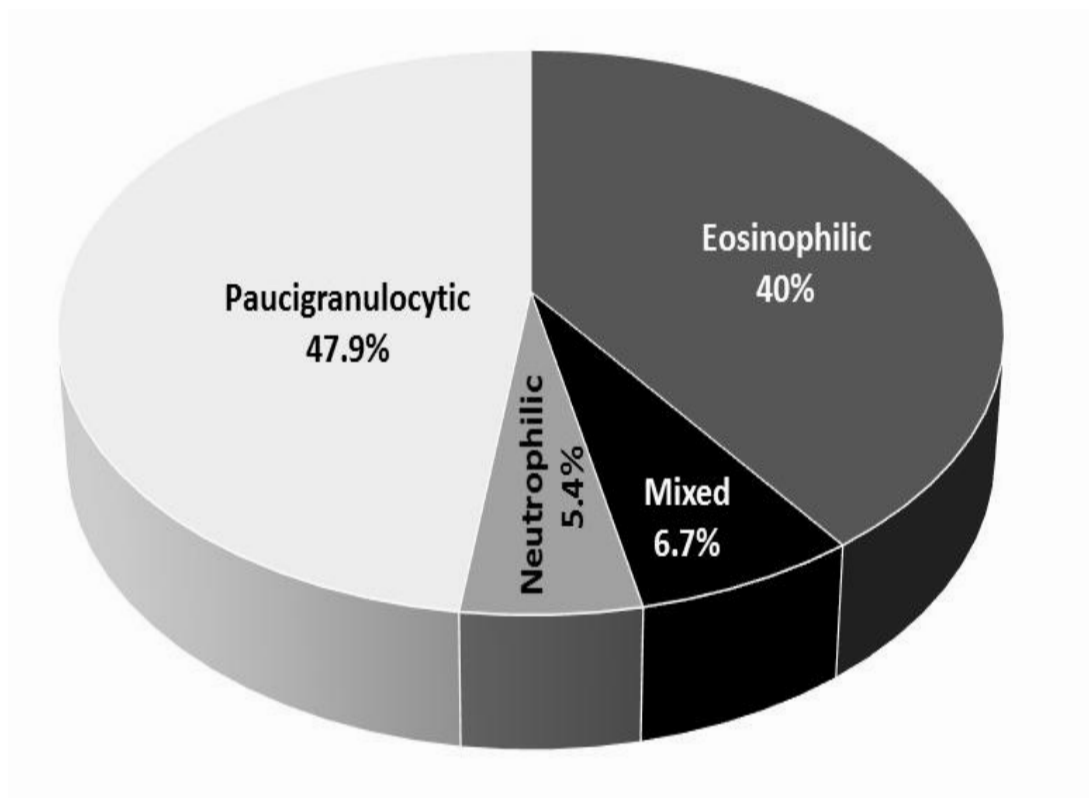
¹s: singlet; d: doublet; dd: doublet of doublets; t: triplet; q: quartet; m: multiplet

Συμπληρωματικός Πίνακας Β: Μεταβολίτες που προσδιορίστηκαν στο φάσμα 1H 1D NMR σε δείγματα EBC.

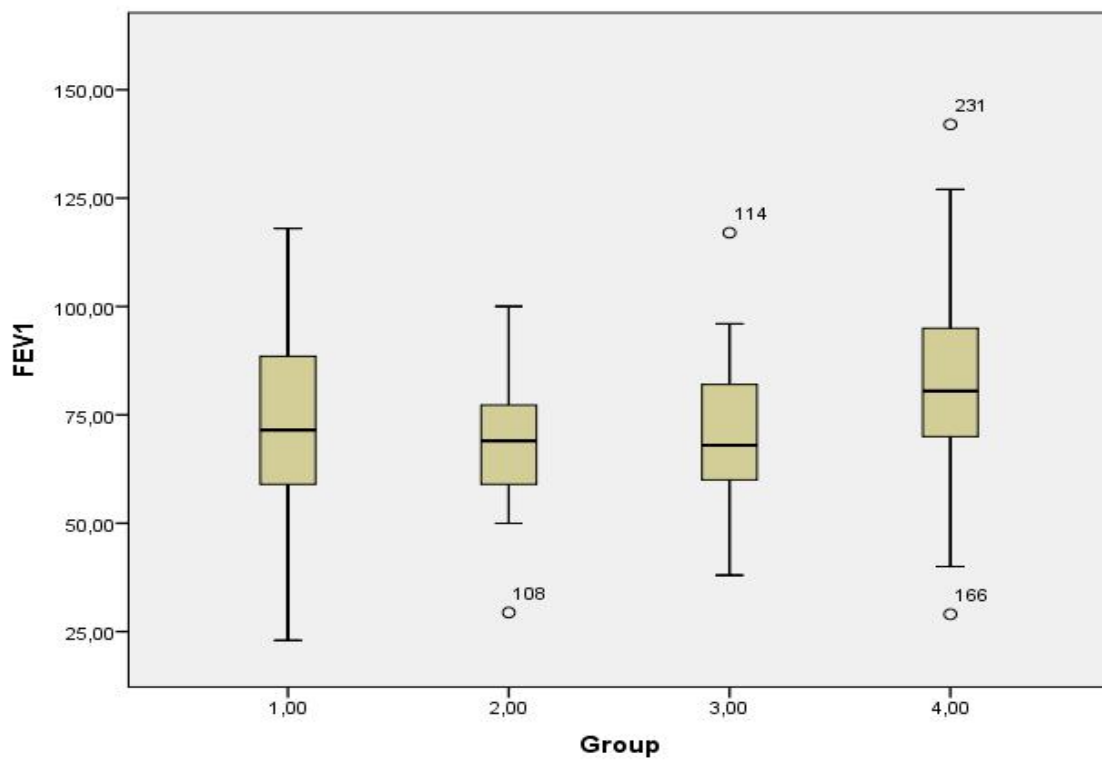
Γ. Ακοκκιοκυτταρικό άσθμα

Parameters	Eosinophilic (n=96)	Mixed (n=16)	Neutrophilic (n=13)	Paucigranulocytic (n=115)	p value
Age	51.5±14.3	57.5±10.2	56±12.5	54±13.03	0.374
Gender (F/M)	68/28	10/6	9/4	82/33	0.910
Atopy	51/96	7/16	4/13	48/115	0.256
Smoking	18	5	2	18	0.544
BMI	26.7 (24.4, 30.0)	28.9 (27.0, 32.8)	27.5 (24.2, 32.3)	27.0 (25.0, 30.0)	0.098
FeNO ppb	27±37.5	21.5±17.8	17±7.9	19±12.4	<0.001
FEV1 % pred.	71.5±20	69 ±18.2	68±20.2	80.5 ±20.4	0.009
FEV1/FVC(%)	67.5 (60.0, 77.0)	66.0 (63.0, 74.3)	65.0 (60.0, 72.0)	71.0 (66.8, 76.0)	0.041
ACT	22(19-24)	23(20-24)	23(19-24)	23(21-24)	0.288
SRA	40/96	7/16	3/13	25/115	0.011
Treatment					
ICS high	43/96	6/16	3/13	25/115	0.004
LABA	86/96	14/16	11/13	97/115	0.05
CS per os	25/96	5/16	3/13	19/115	0.289
LTRA	22/96	3/16	1/13	12/115	0.076

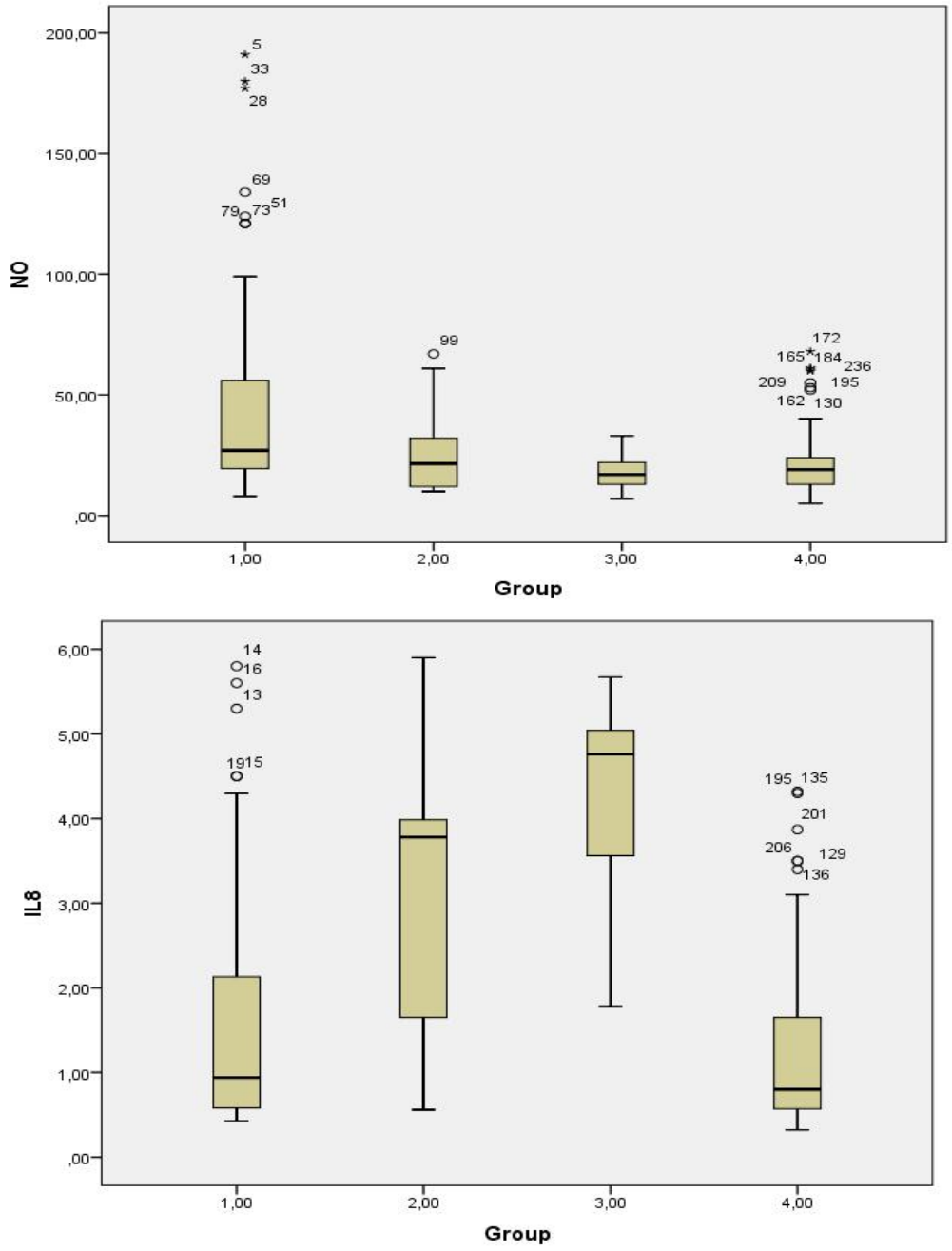
Πίνακας 1. Δημογραφικά χαρακτηριστικά συμμετεχόντων



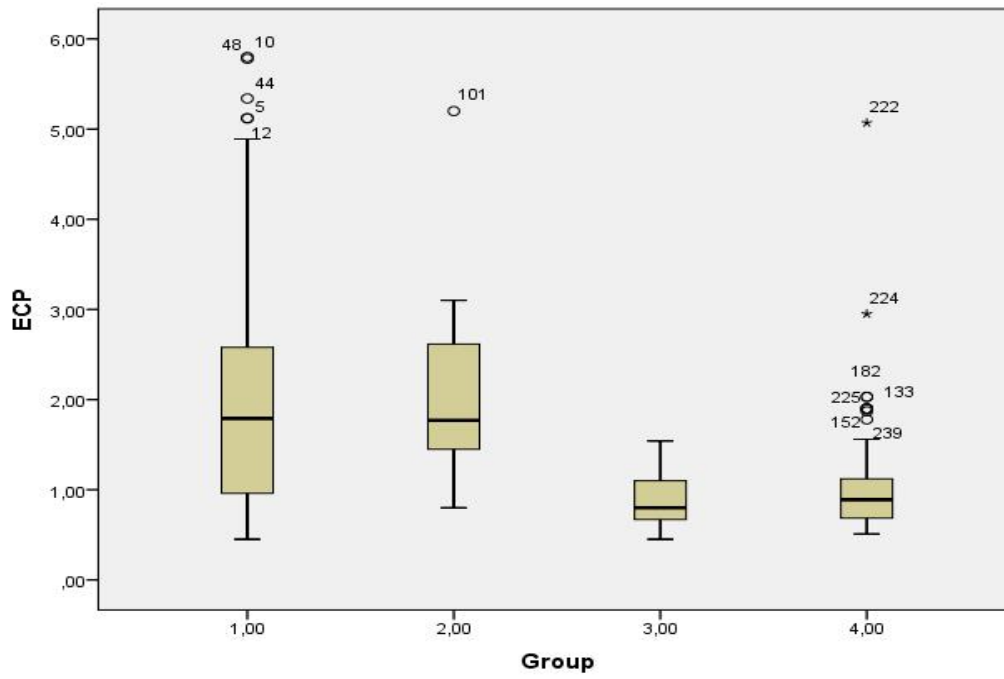
Διάγραμμα 1. Φαινότυποι του άσθματος με βάση τους κυτταρικούς πληθυσμούς στα προκλητά πτύελα



Διάγραμμα 2. FEV1 μετά βρογχοδιαστολή σε ασθενείς με διαφορετικούς φαινότυπους άσθματος



Διάγραμμα 3. Διαφορές στα επίπεδα FeNO(A), IL-8(B) και ECP (C) στις υποομάδες της μελέτης



Διάγραμμα 3. Διαφορές στα επίπεδα FeNO(A), IL-8(B) και ECP (C) στις υποομάδες της μελέτης

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Global initiative for Asthma. Global strategy for asthma management and prevention. Gina reports, 2020 update
2. Selroos O, Kupczyk M, Kuna P, et al. National and regional asthma programmes in Europe. *Eur Respir Rev* 2015; 24:474-483.
3. Lara J. Akinbami, M.D., and Cheryl D. Fryar, M.S.P.H, Current Asthma Prevalence by Weight Status Among Adults: United States, 2001–2014, National Center for Health Statistics Data Brief No. 239, March 2016.
4. Bousquet J, Burney PG, Zuberbier T, et al. GA2LEN (Global Allergy and Asthma European Network) addresses the allergy and asthma 'epidemic'. *Allergy* 2009; 64:969-977.
5. Bousquet J, Dahl R, Khaltaev N. Global Alliance against Chronic Respiratory Diseases. *Eur Respir J* 2007; 29:233-239.
6. Burney PG, Luczynska C, Chinn S, et al. The European Community Respiratory Health Survey. *Eur Respir J* 1994; 7:954-960
7. Asher MI, Keil U, Anderson HR, et al. International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC): rationale and methods. *Eur Respir J* 1995; 8:483-491
8. Janson C, Chinn S, Jarvis D, et al. Physician-diagnosed asthma and drug utilization in the European Community Respiratory Health Survey. *Eur Respir J* 1997; 10:1795-1802
9. Sembajwe G, Cifuentes M, Tak SW, et al. National income, self-reported wheezing and asthma diagnosis from the World Health Survey. *Eur Respir J* 2010; 35:279-286
10. Jarvis D, Newson R, Lotvall J, et al. Asthma in adults and its association with chronic rhinosinusitis: the GA2LEN survey in Europe. *Allergy* 2012; 67:91-98
11. Lai CK, Beasley R, Crane J, et al. Global variation in the prevalence and severity of asthma symptoms: phase three of the International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC). *Thorax* 2009; 64:476-483
12. Lundback B, Backman H, Lotvall J, et al. Is asthma prevalence still increasing? *Expert Rev Respir Med* 2016; 10:39-51
13. Asher MI, et al. Trends in worldwide asthma prevalence. *Eur Respir J*. 2020 Dec 24;56(6):2002094.
14. Επιδημιολογική έρευνα της Ομάδας Ασθματος (www.myasthma.gr)
15. Vellopoulou K, Bakakos P, Loukides S et al. The Economic Burden of Asthma in Greece: A Cross-Sectional Study. *Appl Health Econ Health Policy*. 2019 Oct;17(5):629-640.
16. Kourlaba G, Bakakos P, Loukides S et al. The self-reported prevalence and disease burden of asthma in Greece. *J Asthma*. 2019 May;56(5):478-497.
17. Gibson GJ, Loddenkemper R, Lundback B, et al. Respiratory health and disease in Europe: the new European Lung White Book. *Eur Respir J* 2013; 42:559-563
18. Aaron SD, Boulet LP, Reddel HK et al. Underdiagnosis and Overdiagnosis of Asthma. *Am J Respir Crit Care Med*. 2018 Oct 15;198(8):1012-1020
19. Demoly P, Annunziata K, Gubba E, et al. Repeated cross-sectional survey of patient-reported asthma control in Europe in the past 5 years. *Eur Respir Rev* 2012; 21:66-74
20. Fulvio Braido, Guy Brusselle, Daniele Guastalla et al. Determinants and impact of suboptimal asthma control In Europe: The international cross-sectional and longitudinal assessment on asthma control(Liaison study)*Resp Res* 2016 May 14;17(1):51.

21. Immervoll T, Loesgen S, Dutsch G, et al. Fine mapping and single nucleotide polymorphism association results of candidate genes for asthma and related phenotypes. *Hum Mutat* 2001; 18:327-336.
22. Bosse Y, Hudson TJ. Toward a comprehensive set of asthma susceptibility genes. *Annu Rev Med* 2007; 58:171-184.
23. Vercelli D. Discovering susceptibility genes for asthma and allergy. *Nat Rev Immunol* 2008; 8:169-182.
24. Moffatt MF, Gut IG, Demenais F, et al. A large-scale, consortium-based genomewide association study of asthma. *N Engl J Med* 2010; 363:1211-1221
25. Moffatt MF, Kabesch M, Liang L et al. Genetic variants regulating ORMDL3 expression contribute to the risk of childhood asthma. *Nature*. 2007 Jul 26;448(7152):470-3.
26. Torgerson DG, Ampleford EJ, Chiu GY et al. Meta-analysis of genome-wide association studies of asthma in ethnically diverse North American populations. *Nat Genet*. 2011 Jul 31;43(9):887-92.
27. Ntontsi P, Photiades A, Zervas E et al. Genetics and epigenetics in asthma. *Int J Mol Sci*. 2021 Feb 27;22(5):2412.
28. Vink NM, Postma DS, Schouten JP, et al. Gender differences in asthma development and remission during transition through puberty: the TRacking Adolescents' Individual Lives Survey (TRAILS) study. *J Allergy Clin Immunol* 2010; 126:498-504 e491-496.
29. Raghavan D, Jain R. Increasing awareness of sex differences in airway diseases. *Respirology* 2016; 21:449-459.
30. Akinbami LJ, Moorman J, Bailey CB, Zahran HS, King M, Johnson CA, Liu X, Trends in asthma prevalence, health care use, and mortality in the United States, 2001–2010. Center for Disease Control/National Center for Health Statistics 2012.
31. Tam A, Morrish D, Wadsworth S, et al. The role of female hormones on lung function in chronic lung diseases. *BMC Womens Health* 2011; 11:24.
32. Farha S, Asosingh K, Laskowski D, et al. Effects of the menstrual cycle on lung function variables in women with asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2009; 180:304-310.
33. Castro-Rodriguez JA, Holberg CJ, Wright AL, et al. A clinical index to define risk of asthma in young children with recurrent wheezing. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162:1403-1406.
34. Henderson J, Hilliard TN, Sherriff A, et al. Hospitalization for RSV bronchiolitis before 12 months of age and subsequent asthma, atopy and wheeze: a longitudinal birth cohort study. *Pediatr Allergy Immunol* 2005; 16:386-392
35. Mikhail I, Grayson MH. Asthma and viral infections: an intricate relationship. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2019 Oct;123(4):352-358.
36. Jackson DJ, Gangnon RE, Evans MD, et al. Wheezing rhinovirus illnesses in early life predict asthma development in high-risk children. *Am J Respir Crit Care Med* 2008; 178:667-672.
37. Jackson DJ, Gern JE, Lemanske RF, Jr. The contributions of allergic sensitization and respiratory pathogens to asthma inception. *J Allergy Clin Immunol* 2016; 137:659-665.
38. Arshad SH. Does exposure to indoor allergens contribute to the development of asthma and allergy? *Curr Allergy Asthma Rep* 2010; 10:49-55.

39. Patelis A, Gunnbjornsdottir M, Malinovsky A, et al. Population-based study of multiplexed IgE sensitization in relation to asthma, exhaled nitric oxide, and bronchial responsiveness. *J Allergy Clin Immunol* 2012; 130:397-402 e392.
40. Lodrup Carlsen KC, Roll S, Carlsen KH, et al. Does pet ownership in infancy lead to asthma or allergy at school age? Pooled analysis of individual participant data from 11 European birth cohorts. *PLoS One* 2012; 7:e43214.
41. Togias A, Fenton MJ, Gergen PJ, et al. Asthma in the inner city: the perspective of the National Institute of Allergy and Infectious Diseases. *J Allergy Clin Immunol* 2010; 125:540-544
42. Do DC, Zhao Y, Gao P. Cockroach allergen exposure and risk of asthma. *Allergy* 2016; 71:463-474.
43. Kanchongkittiphon W, Mendell MJ, Gaffin JM, et al. Indoor environmental exposures and exacerbation of asthma: an update to the 2000 review by the Institute of Medicine. *Environ Health Perspect* 2015; 123:6-20.
44. Strachan DP. Family size, infection and atopy: the first decade of the "hygiene hypothesis". *Thorax* 2000; 55 Suppl 1:S2-10.
45. Von Mutius E, Vercelli D. Farm living: effects on childhood asthma and allergy. *Nat Rev Immunol* 2010; 10:861-868.
46. Illi S, Depner M, Genuneit J, et al. Protection from childhood asthma and allergy in Alpine farm environments-the GABRIEL Advanced Studies. *J Allergy Clin Immunol* 2012; 129:1470-1477 e1476
47. Feng M, Yang Z, Pan L, et al. Associations of Early Life Exposures and Environmental Factors With Asthma Among Children in Rural and Urban Areas of Guangdong, China. *Chest* 2016; 149:1030-1041.
48. Ege MJ. The Hygiene Hypothesis in the Age of the Microbiome. *Ann Am Thorac Soc*. 2017 Nov;14(Supplement_5):S348-S353.
49. Dannemiller KC, Gent JF, Leaderer BP, et al. Indoor microbial communities: Influence on asthma severity in atopic and nonatopic children. *J Allergy Clin Immunol* 2016; 138:76-83 e71.
50. Adami AJ, Bracken SJ. Breathing Better Through Bugs: Asthma and the Microbiome. *Yale J Biol Med* 2016; 89:309-324.
51. Lemiere C, S NG, Sava F, et al. Occupational asthma phenotypes identified by increased fractional exhaled nitric oxide after exposure to causal agents. *J Allergy Clin Immunol* 2014; 134:1063-1067.
52. Tiotiu AI, Novakova S, Labor M, et al. Progress in occupational asthma. *Int J Environ Res Public Health*. 2020 Jun 24;17(12):4553.
53. Thacher JD, Gruzieva O, Pershagen G, et al. Pre- and postnatal exposure to parental smoking and allergic disease through adolescence. *Pediatrics* 2014; 134:428-434.
54. Xepapadaki P, Manios Y, Liarigkovinos T, et al. Association of passive exposure of pregnant women to environmental tobacco smoke with asthma symptoms in children. *Pediatr Allergy Immunol* 2009; 20:423-429.
55. Zacharasiewicz A. Maternal smoking in pregnancy and its influence on childhood asthma. *ERJ Open Res* 2016; 2

56. Jamrozik E, Knuiman MW, James A, et al. Risk factors for adult-onset asthma: a 14-year longitudinal study. *Respirology* 2009; 14:814-821.
57. Cerveri I, Cazzoletti L, Corsico AG, et al. The impact of cigarette smoking on asthma: a population-based international cohort study. *Int Arch Allergy Immunol* 2012; 158:175-183.
58. Thomson NC, Chaudhuri R. Asthma in smokers: challenges and opportunities. *Curr Opin Pulm Med* 2009; 15:39-45.
59. Lazarus SC, Chinchilli VM, Rollings NJ, et al. Smoking affects response to inhaled corticosteroids or leukotriene receptor antagonists in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2007; 175:783-790.
60. Perret JL, Dharmage SC, Matheson MC, et al. The interplay between the effects of lifetime asthma, smoking, and atopy on fixed airflow obstruction in middle age. *Am J Respir Crit Care Med* 2013; 187:42-48.
61. D'Amato G, Pawankar R, Vitale C, et al. Climate Change and Air Pollution: Effects on Respiratory Allergy. *Allergy Asthma Immunol Res* 2016; 8:391-395.
62. Gryparis A, Forsberg B, Katsouyanni K, et al. Acute effects of ozone on mortality from the "air pollution and health: a European approach" project. *Am J Respir Crit Care Med* 2004; 170:1080-1087.
63. Jerrett M, Burnett RT, Pope CA, 3rd, et al. Long-term ozone exposure and mortality. *N Engl J Med* 2009; 360:1085-1095.
64. Robison R, Kumar R. The effect of prenatal and postnatal dietary exposures on childhood development of atopic disease. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2010; 10:139-144.
65. Yong SB, Wu CC, Wang L, et al. Influence and mechanisms of maternal and infant diets on the development of childhood asthma. *Pediatr Neonatol* 2013; 54:5-11.
66. Parr CL, Magnus MC, Karlstad O, et al. Maternal Folate Intake During Pregnancy and Childhood Asthma in a Population Based Cohort. *Am J Respir Crit Care Med* 2016 [epub ahead of print].
67. Oddy WH. Breastfeeding and asthma in children: findings from a West Australian study. *Breastfeed Rev* 2000; 8:5-11.
68. Gdalevich M, Mimouni D, Mimouni M. Breast-feeding and the risk of bronchial asthma in childhood: a systematic review with meta-analysis of prospective studies. *J Pediatr* 2001; 139:261-266.
69. Sears MR, Greene JM, Willan AR, et al. Long-term relation between breastfeeding and development of atopy and asthma in children and young adults: a longitudinal study. *Lancet* 2002; 360:901-907.
70. Garcia-Marcos L, Castro-Rodriguez JA, Weinmayr G, et al. Influence of Mediterranean diet on asthma in children: a systematic review and meta-analysis. *Pediatr Allergy Immunol* 2013; 24:330-338.
71. Guilleminault L, Williams EJ, Scott HA, et al. Diet and Asthma: Is It Time to Adapt Our Message? *Nutrients*. 2017 Nov 8;9(11):1227.
72. Beuther DA, Sutherland ER. Overweight, obesity, and incident asthma: a meta-analysis of prospective epidemiologic studies. *Am J Respir Crit Care Med* 2007; 175:661-666.
73. Sivapalan P, Diamant Z, Ulrik CS. Obesity and asthma: current knowledge and future needs. *Curr Opin Pulm Med* 2015; 21:80-85.

74. Holguin F, Bleecker ER, Busse WW, et al. Obesity and asthma: an association modified by age of asthma onset. *J Allergy Clin Immunol* 2011; 127:1486-1493 e1482.
75. Dixon AE, et al. Diet and Metabolism in the Evolution of Asthma and Obesity. *Clin Chest Med*. 2019.
76. Sillanaukee P, Strid N, Jousilahti P, et al. Association of self-reported diseases and health care use with commonly used laboratory markers for alcohol consumption. *Alcohol Alcohol* 2001; 36:339-345.
77. Holgate ST. Pathogenesis of asthma. *Clin Exp Allergy* 2008; 38:872-897.
78. Lambrecht BN, Hammad H. Asthma: the importance of dysregulated barrier immunity. *Eur J Immunol* 2013; 43:3125-3137.
79. van Rijt LS, Vos N, Willart M, et al. Essential role of dendritic cell CD80/CD86 costimulation in the induction, but not reactivation, of TH2 effector responses in a mouse model of asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 114:166-173.
80. Bradding P, Walls AF, Holgate ST. The role of the mast cell in the pathophysiology of asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 117:1277-1284.
81. Borak J, Lefkowitz RY. Bronchial hyperresponsiveness. *Occup Med (Lond)* 2016; 66:95-105.
82. Kaur D, Saunders R, Berger P, et al. Airway smooth muscle and mast cell-derived CC chemokine ligand 19 mediate airway smooth muscle migration in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2006; 174:1179-1188.
83. Bradding P, Arthur G. Mast cells in asthma--state of the art. *Clin Exp Allergy* 2016; 46:194-263.
84. Okumura S, Sagara H, Fukuda T, et al. FcepsilonRI-mediated amphiregulin production by human mast cells increases mucin gene expression in epithelial cells. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 115:272-279.
85. Tarique AA, Logan J, Thomas E, et al. Phenotypic, functional, and plasticity features of classical and alternatively activated human macrophages. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2015; 53:676-688.
86. Dong L, Wang SJ, Camoretti-Mercado B, et al. FIZZ1 plays a crucial role in early stage airway remodeling of OVA-induced asthma. *J Asthma* 2008; 45:648-653.
87. Upham JW, Stumbles PA. Why are dendritic cells important in allergic diseases of the respiratory tract? *Pharmacol Ther* 2003; 100:75-87.
88. Farrell E, O'Connor TM, Duong M, et al. Circulating myeloid and plasmacytoid dendritic cells after allergen inhalation in asthmatic subjects. *Allergy* 2007; 62:1139-1145.
89. Davoine F, Lacy P. Eosinophil cytokines, chemokines, and growth factors: emerging roles in immunity. *Front Immunol* 2014; 5:570.
90. Dunican EM, Fahy JV. The Role of Type 2 Inflammation in the Pathogenesis of Asthma Exacerbations. *Ann Am Thorac Soc* 2015; 12 Suppl 2:S144-149.
91. Shevach EM, DiPaolo RA, Andersson J, et al. The lifestyle of naturally occurring CD4+ CD25+ Foxp3+ regulatory T cells. *Immunol Rev* 2006; 212:60-73.
92. Akdis M, Blaser K, Akdis CA. T regulatory cells in allergy: novel concepts in the pathogenesis, prevention, and treatment of allergic diseases. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 116:961-968.

93. Bathoorn E, Liesker JJ, Postma DS, Koeter GH, van der Toorn M, van der Heide S, Ross HA, Van Oosterhout AJ, Kerstjens HA: Change in inflammation in out-patient COPD patients from stable phase to a subsequent exacerbation. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis* 2009, 4:101–109.
94. Artis D, Spits H. The biology of innate lymphoid cells. *Nature* 2015; 517:293-301.
95. McKenzie AN. Type-2 innate lymphoid cells in asthma and allergy. *Ann Am Thorac Soc* 2014; 11 Suppl 5:S263-270.
96. Chignard M, Balloy V. Neutrophil recruitment and increased permeability during acute lung injury induced by lipopolysaccharide. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2000; 279:L1083-1090.
97. Park SJ, Wiekowski MT, Lira SA, et al. Neutrophils regulate airway responses in a model of fungal allergic airways disease. *J Immunol* 2006; 176:2538-2545.
98. Voynow JA, Young LR, Wang Y, et al. Neutrophil elastase increases MUC5AC mRNA and protein expression in respiratory epithelial cells. *Am J Physiol* 1999; 276:L835-843.
99. Kratzer B, Pickl WF. Years in Review: Recent Progress in Cellular Allergology. *Int Arch Allergy Immunol* 2016; 169:1-12.
100. Moritani C, Ishioka S, Haruta Y, Kambe M, Yamakido M, Activation of platelets in bronchial asthma. *Chest* 1998;113: 452-458.
101. Hammad H, Lambrecht BN. Barrier Epithelial Cells and the Control of Type 2 Immunity. *Immunity* 2015; 43:29-40.
102. Kool M, Willart MA, van Nimwegen M, et al. An unexpected role for uric acid as an inducer of T helper 2 cell immunity to inhaled antigens and inflammatory mediator of allergic asthma. *Immunity* 2011; 34:527-540.
103. Hara K, Iijima K, Elias MK, et al. Airway uric acid is a sensor of inhaled protease allergens and initiates type 2 immune responses in respiratory mucosa. *J Immunol* 2014; 192:4032-4042.
104. Perez-Vilar J. Mucin granule intraluminal organization. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2007; 36:183-190.
105. Temann UA, Laouar Y, Eynon EE, et al. IL9 leads to airway inflammation by inducing IL13 expression in airway epithelial cells. *Int Immunol* 2007; 19:1-10.
106. Bailey SR, Boustany S, Burgess JK, et al. Airway vascular reactivity and vascularisation in human chronic airway disease. *Pulm Pharmacol Ther* 2009; 22:417-425.
107. Meyer N, Akdis CA. Vascular endothelial growth factor as a key inducer of angiogenesis in the asthmatic airways. *Curr Allergy Asthma Rep* 2013; 13:1-9.
108. Demayo F, Minoo P, Plopper CG, et al. Mesenchymal-epithelial interactions in lung development and repair: are modeling and remodeling the same process? *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2002; 283:L510-517.
109. Prakash YS. Airway smooth muscle in airway reactivity and remodeling: what have we learned? *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2013; 305:L912-933.
110. Erle DJ, Sheppard D. The cell biology of asthma. *J Cell Biol* 2014; 205:621-63.
111. Damera G, Tliba O, Panettieri RA, Jr. Airway smooth muscle as an immunomodulatory cell. *Pulm Pharmacol Ther* 2009; 22:353-359.

112. Hahn C, Islamian AP, Renz H, et al. Airway epithelial cells produce neurotrophins and promote the survival of eosinophils during allergic airway inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 117:787-794.
113. Drake MG, Lebold KM, Roth-Carter QR, et al. Eosinophil and airway nerve interactions in asthma. *J Leukoc Biol.* 2018 Jul;104(1):61-67.
114. Holgate ST, Peters-Golden M, Panettieri RA, Henderson WR, Jr., Roles of cysteinyl leukotrienes in airway inflammation, smooth muscle function, and remodeling. *J Allergy Clin Immunol* 2003;111: S18-34; discussion S34-16.
115. Robinson C, Holgate ST, The role of leukotrienes and prostaglandins in asthma: evidence from clinical investigations. *Adv Prostaglandin Thromboxane Leukot Res* 1990;20: 209-216.
116. Holgate ST, Bradding P, Sampson AP, Leukotriene antagonists and synthesis inhibitors: new directions in asthma therapy. *J Allergy Clin Immunol* 1996;98: 1-13.
117. Peters-Golden M, Henderson WR, Jr., Leukotrienes. *N Engl J Med* 2007;357: 1841-1854.
118. Chung KF, Barnes PJ, Cytokines in asthma. *Thorax* 1999;54: 825-857.
119. Ntontsi P, Papathanassiou E, Loukides S, et al. Targeted anti-IL-13 therapies in asthma: current data and future perspectives. *Expert Opin Investig Drugs.* 2018 Feb;27(2):179-186.
120. Lambrecht BN, Hammad H, Fahy JV. The cytokines of asthma. *Immunity.* 2019 Apr 16;50(4):975-991.
121. Blease K, Lukacs NW, Hogaboam CM, Kunkel SL, Chemokines and their role in airway hyper-reactivity. *Respir Res* 2000;1: 54-61.
122. Hirota N, Martin JG, Mechanisms of airway remodeling. *Chest* 2013;144: 1026-1032.
123. Redington AE, Fibrosis and airway remodelling. *Clin Exp Allergy* 2000;30 Suppl 1: 42-45.
124. Saglani S, Lloyd CM. Novel concepts in airway inflammation and remodelling in asthma. *Eur Respir J* 2015; 46:1796-1804
125. Ingram JL, Kraft M. IL-13 in asthma and allergic disease: asthma phenotypes and targeted therapies. *J Allergy Clin Immunol* 2012; 130:829-842.
126. Roche WR, Beasley R, Williams JH, Holgate ST, Subepithelial fibrosis in the bronchi of asthmatics. *Lancet* 1989;1: 520-524.
127. Moreno RH, Hogg JC, Pare PD, Mechanics of airway narrowing. *Am Rev Respir Dis* 1986;133: 1171-1180.
128. Chung KF, Rogers DF, Barnes PJ, Evans TW, The role of increased airway microvascular permeability and plasma exudation in asthma. *Eur Respir J* 1990;3: 329-337.
129. Shimura S, Andoh Y, Haraguchi M, Shirato K, Continuity of airway goblet cells and intraluminal mucus in the airways of patients with bronchial asthma. *Eur Respir J* 1996;9: 1395-1401.
130. Vinall LE, Fowler JC, Jones AL, Kirkbride HJ, de Bolos C, Laine A, Porchet N, Gum JR, Kim YS, Moss FM, Mitchell DM, Swallow DM, Polymorphism of human mucin genes in chest disease: possible significance of MUC2. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2000;23: 678-686.
131. Carroll N, Carello S, Cooke C, James A, Airway structure and inflammatory cells in fatal attacks of asthma. *Eur Respir J* 1996;9: 709-715.
132. James AL, Bai TR, Mauad T, et al. Airway smooth muscle thickness in asthma is related to severity but not duration of asthma. *Eur Respir J* 2009; 34:1040-1045.

133. Borak J, Lefkowitz RY. Bronchial hyperresponsiveness. *Occup Med (Lond)* 2016; 66:95-105.
134. Aravamudan B, Thompson M, Pabelick C, et al. Brain-derived neurotrophic factor induces proliferation of human airway smooth muscle cells. *J Cell Mol Med* 2012; 16:812-823.
135. Calhoun WJ. Nocturnal asthma. *Chest* 2003; 123:399S-405S.
136. Reddel H, Ware S, Marks G, et al. Differences between asthma exacerbations and poor asthma control. *Lancet* 1999; 353:364-369.
137. Pellegrino R, Viegi G, Brusasco V, et al. Interpretative strategies for lung function tests. *Eur Respir J* 2005; 26:948-968.
138. Miller MR, Hankinson J, Brusasco V, et al. Standardisation of spirometry. *Eur Respir J* 2005; 26:319-338.
139. Marseglia GL, Cirillo I, Vizzaccaro A, et al. Role of forced expiratory flow at 25-75% as an early marker of small airways impairment in subjects with allergic rhinitis. *Allergy Asthma Proc* 2007; 28:74-78.
140. Saydain G, Beck KC, Decker PA, et al. Clinical significance of elevated diffusing capacity. *Chest* 2004; 125:446-452.
141. Cockcroft DW. Direct challenge tests: Airway hyperresponsiveness in asthma: its measurement and clinical significance. *Chest* 2010; 138:18S-24S.
142. Crapo RO, Casaburi R, Coates AL, et al. Guidelines for methacholine and exercise challenge testing-1999. This official statement of the American Thoracic Society was adopted by the ATS Board of Directors, July 1999. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161:309-329.
143. Borak J, Lefkowitz RY. Bronchial hyperresponsiveness. *Occup Med (Lond)* 2016; 66:95-105.
144. Pizzichini MM, Popov TA, Efthimiadis A, et al. Spontaneous and induced sputum to measure indices of airway inflammation in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 154:866-869.
145. Dweik RA, Boggs PB, Erzurum SC, et al. An official ATS clinical practice guideline: interpretation of exhaled nitric oxide levels (FENO) for clinical applications. *Am J Respir Crit Care Med* 2011; 184:602-615.
146. Ahlstedt S, Murray CS. In vitro diagnosis of allergy: how to interpret IgE antibody results in clinical practice. *Prim Care Respir J* 2006; 15:228-236.
147. Jia CE, Zhang HP, Lv Y, Liang R, Jiang YQ, Powell H, Fu JJ, Wang L, Gibson PG, Wang G. The Asthma Control Test and Asthma Control Questionnaire for assessing asthma control: Systematic review and meta-analysis. *J Allergy Clin Immunol* 2013;131: 695-703.
148. Joos GF, O'Connor B, Anderson SD, Chung F, et al. Indirect airway challenges. *Eur Respir J* 2003;21: 1050-1068.
149. Rundell KW, Slee JB. Exercise and other indirect challenges to demonstrate asthma or exercise-induced bronchoconstriction in athletes. *J Allergy Clin Immunol* 2008;122: 238-246; quiz 247-238.
150. Bakakos P, Schleich F, Alchanatis M, Louis R. Induced sputum in asthma: from bench to bedside. *Curr Med Chem* 2011;18: 1415-1422.
151. Levy ML, Thomas M, Small I, Pearce L, et al. Summary of the 2008 BTS/SIGN British Guideline on the management of asthma. *Prim Care Respir J* 2009;18 Suppl 1: S1-16.

152. Kharitonov SA, Barnes PJ, Exhaled markers of inflammation. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2001;1: 217-224.
153. Kostikas K, Minas M, Papaioannou AI, et al. Exhaled nitric oxide in asthma in adults: the end is the beginning? *Curr Med Chem* 2011;18: 1423-1431.
154. Horvath I, Hunt J, Barnes PJ, Alving K, et al. Exhaled breath condensate: methodological recommendations and unresolved questions. *Eur Respir J* 2005;26: 523-548.
155. Loukides S, Kontogianni K, Hillas G, Horvath I, Exhaled breath condensate in asthma: from bench to bedside. *Curr Med Chem* 2011;18: 1432-1443.
156. Kostikas K, Papatheodorou G, Ganas K et al. pH in expired breath condensate of patients with inflammatory airway diseases. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;165: 1364-1370.
157. Antus B, Barta I, Kullmann T, Lazar Z, Valyon M, Horvath I, Csiszer E, Assessment of exhaled breath condensate pH in exacerbations of asthma and chronic obstructive pulmonary disease: A longitudinal study. *Am J Respir Crit Care Med* 2010;182: 1492-1497.
158. Baur X, Sigsgaard T, Aasen TB, Burge PS, Heederik D, Henneberger P, Maestrelli P, Rooyackers J, Schlunssen V, Vandenas O, Wilken D, Guidelines for the management of work-related asthma. *Eur Respir J* 2012;39: 529-545.
159. Hardin M, Silverman EK, Barr RG, Hansel NN, Schroeder JD, Make BJ, Crapo JD, Hersh CP, The clinical features of the overlap between COPD and asthma. *Respir Res* 2011;12: 127.
160. Taylor DR, Bateman ED, Boulet LP, et al. A new perspective on concepts of asthma severity and control. *Eur Respir J* 2008; 32:545-554.
161. O'Byrne PM, Reddel HK, Eriksson G, et al. Measuring asthma control: a comparison of three classification systems. *Eur Respir J* 2010; 36:269-276.
162. LeMay KS, Armour CL, Reddel HK. Performance of a brief asthma control screening tool in community pharmacy: a cross-sectional and prospective longitudinal analysis. *Prim Care Respir J* 2014; 23:79-84.
163. Ahmed S, Ernst P, Tamblyn R, et al. Validation of The 30 Second Asthma Test as a measure of asthma control. *Can Respir J* 2007; 14:105-109.
164. Pinnock H, Burton C, Campbell S, et al. Clinical implications of the Royal College of Physicians three questions in routine asthma care: a real-life validation study. *Prim Care Respir J* 2012; 21:288-294.
165. Juniper EF, Svensson K, Mork AC, et al. Measurement properties and interpretation of three shortened versions of the asthma control questionnaire. *Respir Med* 2005; 99:553-558.
166. Juniper EF, Bousquet J, Abetz L, et al. Identifying 'well-controlled' and 'not well-controlled' asthma using the Asthma Control Questionnaire. *Respir Med* 2006; 100:616-621.
167. Thomas M, Kay S, Pike J, et al. The Asthma Control Test (ACT) as a predictor of GINA guideline-defined asthma control: analysis of a multinational cross-sectional survey. *Prim Care Respir J* 2009; 18:41-49.
168. Schatz M, Kosinski M, Yarlas AS, et al. The minimally important difference of the Asthma Control Test. *J Allergy Clin Immunol* 2009; 124:719-723 e711.
169. Kohansal R, Martinez-Camblor P, Agusti A, et al. The natural history of chronic airflow obstruction revisited: an analysis of the Framingham offspring cohort. *Am J Respir Crit Care Med* 2009; 180:3-10.

170. O'Byrne PM, Pedersen S, Lamm CJ, et al. Severe exacerbations and decline in lung function in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2009; 179:19-24.
171. Raissy HH, Kelly HW, Harkins M, et al. Inhaled corticosteroids in lung diseases. *Am J Respir Crit Care Med* 2013; 187:798-803.
172. Roland NJ, Bhalla RK, Earis J. The local side effects of inhaled corticosteroids: current understanding and review of the literature. *Chest* 2004; 126:213-219.
173. Kitch BT, Paltiel AD, Kuntz KM, et al. A single measure of FEV1 is associated with risk of asthma attacks in long-term follow-up. *Chest* 2004; 126:1875-1882.
174. Rosi E, Stendardi L, Binazzi B, et al. Perception of airway obstruction and airway inflammation in asthma: a review. *Lung* 2006; 184:251-258.
175. Reddel HK, Jenkins CR, Marks GB, et al. Optimal asthma control, starting with high doses of inhaled budesonide. *Eur Respir J* 2000; 16:226-235.
176. Reddel HK, Marks GB, Jenkins CR. When can personal best peak flow be determined for asthma action plans? *Thorax* 2004; 59:922-924.
177. Frey U, Brodbeck T, Majumdar A, et al. Risk of severe asthma episodes predicted from fluctuation analysis of airway function. *Nature* 2005; 438:667-670.
178. Gibson PG, Powell H, Coughlan J, et al. Self-management education and regular practitioner review for adults with asthma. *Cochrane Database Syst Rev* 2003:CD001117.
179. Wilson SR, Strub P, Buist AS, et al. Shared treatment decision making improves adherence and outcomes in poorly controlled asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2010; 181:566-577.
180. Haldar P, Pavord ID, Shaw DE, et al. Cluster analysis and clinical asthma phenotypes. *Am J Respir Crit Care Med* 2008; 178:218-224.
181. Petsky HL, Cates CJ, Lasserson TJ, et al. A systematic review and meta-analysis: tailoring asthma treatment on eosinophilic markers (exhaled nitric oxide or sputum eosinophils). *Thorax* 2012; 67:199-208.
182. Gibson PG. Using fractional exhaled nitric oxide to guide asthma therapy: design and methodological issues for Asthma Treatment Algorithm studies. *Clin Exp Allergy* 2009; 39:478-490.
183. Chung KF, Wenzel SE, Brozek JL, et al. International ERS/ATS guidelines on definition, evaluation and treatment of severe asthma. *Eur Respir J* 2014; 43:343-373.
184. Roche N, Reddel HK, Agusti A, et al. Integrating real-life studies in the global therapeutic research framework. *Lancet Respir Med* 2013; 1:e29-30.
185. Drazen JM. Asthma: the paradox of heterogeneity. *J Allergy Clin Immunol* 2012; 129:1200-1201.
186. Barnes PJ. How corticosteroids control inflammation: Quintiles Prize Lecture 2005. *Br J Pharmacol* 2006; 148:245-254.
187. Kirkland SW, Vandenberghe C, Voaklander B et al. Combined inhaled beta-agonist and anticholinergic agents for emergency management in adults with asthma. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017 Jan 11;1(1):CD001284
188. Israel E, Drazen JM, Liggett SB, et al. The effect of polymorphisms of the beta(2)-adrenergic receptor on the response to regular use of albuterol in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162:75-80.

189. Barnes NC, Miller CJ. Effect of leukotriene receptor antagonist therapy on the risk of asthma exacerbations in patients with mild to moderate asthma: an integrated analysis of zafirlukast trials. *Thorax* 2000; 55:478-483.
190. Dahlen B, Nizankowska E, Szczeklik A, et al. Benefits from adding the 5-lipoxygenase inhibitor zileuton to conventional therapy in aspirin-intolerant asthmatics. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157:1187-1194.
191. Wechsler ME, Finn D, Gunawardena D, et al. Churg-Strauss syndrome in patients receiving montelukast as treatment for asthma. *Chest* 2000; 117:708-713.
192. Yalcin AD. An overview of the effects of anti-IgE therapies. *Med Sci Monit* 2014; 20:1691-1699.
193. Mauri P, Riccio AM, Rossi R, et al. Proteomics of bronchial biopsies: galectin-3 as a predictive biomarker of airway remodelling modulation in omalizumab-treated severe asthma patients. *Immunol Lett* 2014; 162:2-10.
194. Humbert M, Beasley R, Ayres J, et al. Benefits of omalizumab as add-on therapy in patients with severe persistent asthma who are inadequately controlled despite best available therapy (GINA 2002 step 4 treatment): INNOVATE. *Allergy* 2005; 60:309-316.
195. Hanania NA, Alpan O, Hamilos DL, et al. Omalizumab in severe allergic asthma inadequately controlled with standard therapy: a randomized trial. *Ann Intern Med* 2011; 154:573-582.
196. Corren J, Casale TB, Lanier B, et al. Safety and tolerability of omalizumab. *Clin Exp Allergy* 2009; 39:788-797.
197. Ortega HG, Liu MC, Pavord ID, et al. Mepolizumab treatment in patients with severe eosinophilic asthma. *N Engl J Med* 2014; 371:1198-1207.
198. Fasenna. European Medicines Agency. Updated 22/04/2021.
199. Kew KM, Undela K, Kotortsi I, et al. Macrolides for chronic asthma. *Cochrane Database Syst Rev* 2015:CD002997.
200. O'Byrne PM, Pedersen S, Lamm CJ, et al. Severe exacerbations and decline in lung function in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2009; 179:19-24.
201. Busse WW, Pedersen S, Pauwels RA, et al. The Inhaled Steroid Treatment As Regular Therapy in Early Asthma (START) study 5-year follow-up: effectiveness of early intervention with budesonide in mild persistent asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2008; 121:1167-1174.
202. Baur X, Sigsgaard T, Aasen TB, et al. Guidelines for the management of work-related asthma. *Eur Respir J* 2012; 39:529-545.
203. Adams NP, Bestall JB, Malouf R, et al. Inhaled beclomethasone versus placebo for chronic asthma. *Cochrane Database Syst Rev* 2005:CD002738.
204. Tarlo SM, Malo JL, An official ATS proceedings: asthma in the workplace: the Third Jack Pepys Workshop on Asthma in the Workplace: answered and unanswered questions. *Proc Am Thorac Soc* 2009;6: 339-349.
205. Legiest B, Nemery B, Management of work-related asthma: guidelines and challenges. *Eur Respir Rev* 2013;21: 79-81.
206. Szram J, Cullinan P, Occupational asthma. *Semin Respir Crit Care Med* 2012;33: 653-665.
207. Murphy VE, Schatz M, Asthma in pregnancy: a hit for two. *Eur Respir Rev* 2014;23: 64-68.
208. Murphy VE, Gibson PG, Asthma in pregnancy. *Clin Chest Med* 2011;32: 93-110

209. Vatti RR, Teuber SS, Asthma and pregnancy. *Clin Rev Allergy Immunol* 2012;43: 45-56.
210. Gibson PG, Powell H. Written action plans for asthma: an evidence-based review of the key components. *Thorax* 2004; 59:94-99.
211. Gibson PG, Powell H, Coughlan J, et al. Self-management education and regular practitioner review for adults with asthma. *Cochrane Database Syst Rev* 2003:CD001117.
212. Hulin M, Simoni M, Viegi G, et al. Respiratory health and indoor air pollutants based on quantitative exposure assessments. *Eur Respir J* 2012; 40:1033-1045.
213. Abramson MJ, Puy RM, Weiner JM. Injection allergen immunotherapy for asthma. *Cochrane Database Syst Rev* 2010:CD001186.
214. Normansell R, Kew KM, Bridgman AL. Sublingual immunotherapy for asthma. *Cochrane Database Syst Rev* 2015:CD011293.
215. Haahtela T, Malmberg P, Moreira A. Mechanisms of asthma in Olympic athletes--practical implications. *Allergy* 2008; 63:685-694.
216. Moreira A, Delgado L, Haahtela T, et al. Physical training does not increase allergic inflammation in asthmatic children. *Eur Respir J* 2008; 32:1570-1575.
217. Barros R, Moreira A, Fonseca J, et al. Adherence to the Mediterranean diet and fresh fruit intake are associated with improved asthma control. *Allergy* 2008; 63:917-923.
218. Cates CJ, Rowe BH. Vaccines for preventing influenza in people with asthma. *Cochrane Database Syst Rev* 2013:CD000364.
219. Sheikh A, Alves B, Dhimi S. Pneumococcal vaccine for asthma. *Cochrane Database Syst Rev* 2002:CD002165.
220. Castro M, Rubin AS, Laviolette M, et al. Effectiveness and safety of bronchial thermoplasty in the treatment of severe asthma: a multicenter, randomized, double-blind, sham-controlled clinical trial. *Am J Respir Crit Care Med* 2010; 181:116-124.
221. Chan-Yeung M, Chang JH, Manfreda J, et al. Changes in peak flow, symptom score, and the use of medications during acute exacerbations of asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 154:889-893.
222. Griffiths B, Ducharme FM. Combined inhaled anticholinergics and short-acting beta2-agonists for initial treatment of acute asthma in children. *Cochrane Database Syst Rev* 2013:CD000060.
223. Proceedings of the ATS workshop on refractory asthma: current understanding, recommendations, and unanswered questions. American Thoracic Society. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162:2341-2351.
224. Moore WC, Meyers DA, Wenzel SE, et al. Identification of asthma phenotypes using cluster analysis in the Severe Asthma Research Program. *Am J Respir Crit Care Med* 2010; 181:315-323.
225. Firszt R, Francisco D, Church TD, et al. Interleukin-13 induces collagen type-1 expression through matrix metalloproteinase-2 and transforming growth factor-beta1 in airway fibroblasts in asthma. *Eur Respir J* 2014; 43:464-473.
226. Nezgovorova V, Liu Q, Hu B, et al. Sputum Gene Expression of IL-13 Receptor alpha2 Chain Correlates with Airflow Obstruction and Helper T-Cell Type 2 Inflammation in Asthma. *Ann Am Thorac Soc* 2016; 13 Suppl 1:S96-97.
227. Saha SK, Berry MA, Parker D, et al. Increased sputum and bronchial biopsy IL-13 expression in severe asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2008; 121:685-691.

228. Papaporfyriou A, Tseliou E, Loukides S, et al. Noninvasive evaluation of airway inflammation in patients with severe asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2013; 110:316-321
229. Pavord ID, Pizzichini MM, Pizzichini E, et al. The use of induced sputum to investigate airway inflammation. *Thorax* 1997; 52:498-501.
230. Simpson JL, Scott R, Boyle MJ, et al. Inflammatory subtypes in asthma: assessment and identification using induced sputum. *Respirology* 2006; 11:54-61.
231. Fahy JV, Kim KW, Liu J, et al. Prominent neutrophilic inflammation in sputum from subjects with asthma exacerbation. *J Allergy Clin Immunol* 1995; 95:843-852.
232. Parameswaran K, Leigh R, Hargreave FE. Sputum eosinophil count to assess compliance with corticosteroid therapy in asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 104:502-503.
233. Romagnoli M, Vachier I, Tarodo de la Fuente P, et al. Eosinophilic inflammation in sputum of poorly controlled asthmatics. *Eur Respir J* 2002; 20:1370-1377.
234. Hargreave FE, Nair P. Point: Is measuring sputum eosinophils useful in the management of severe asthma? Yes. *Chest* 2011; 139:1270-1273.
235. Bartoli ML, Bacci E, Carnevali S, et al. Clinical assessment of asthma severity partially corresponds to sputum eosinophilic airway inflammation. *Respir Med* 2004; 98:184-193.
236. Shaw DE, Berry MA, Hargadon B, et al. Association between neutrophilic airway inflammation and airflow limitation in adults with asthma. *Chest* 2007; 132:1871-1875.
237. Panettieri RA Jr. I Neutrophilic and **Pauci-immune** Phenotypes in Severe **Asthma**. *mmunol Allergy Clin North Am.* 2016 Aug;36(3):569-79
238. Popov TA, Dunev S, Kralimarkova TZ, et al. Evaluation of a simple, potentially individual device for exhaled breath temperature measurement. *Respir Med*, 2007, 101(10):2044-50.
239. Paredi P, Kharitonov SA, Barnes PJ. Faster rise of exhaled breath temperature in asthma: a novel marker of airway inflammation? *Am J Respir Crit Care Med.* 2002 Jan 15;165(2):181-4.
240. Tufvesson E, Svensson H, Ankerst J et al. Increase of club cell (Clara) protein (CC16) in plasma and urine after exercise challenge in asthmatics and healthy controls, and correlations to exhaled breath temperature and exhaled nitric oxide. *Respir Med*, 2013.107(11):1675-81.
241. Parsons GH, Nichol GM, Barnes PJ et al.. Peptide mediator effects on bronchial blood velocity and lung resistance in conscious sheep. *J Appl Physiol* (1985). 1992 Mar;72(3):1118-22.
242. Charan NB, Johnson SR, Lakshminarayan S et al. Nitric oxide and beta-adrenergic agonist-induced bronchial arterial vasodilation. *J Appl Physiol* (1985). 1997 Feb;82(2):686-92.
243. Tufvesson E, Nilsson E, Popov TA et al. Fractional exhaled breath temperature in patients with asthma, chronic obstructive pulmonary disease, or systemic sclerosis compared to healthy controls. *Eur Clin Respir J.* 2020 Apr 12;7(1):1747014
244. Araya J, et al. Fibrogenic reactions in lung disease. *Annu Rev Pathol.* 2010
245. Carpagnano GE, Lacedonia D, Spanevello A, et al. Is the exhaled breath temperature in lung cancer influenced by airways neoangiogenesis or by inflammation? *Med Oncol*, 2015.32(10):237
246. Popov TA, Kralimarkova TZ, Labor M, et al. The added value of exhaled breath temperature in respiratory medicine. *J Breath Res.* 2017 Aug 8;11(3):034001.

247. Walters EH, Soltani A, Reid DW, et al. Vascular remodelling in asthma. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*,2008.8(1):39-43.
248. Carpagnano GE, Foschino-Barbaro MP, Crocetta C, et al. Validation of the Exhaled Breath Temperature Measure: Reference Values in Healthy Subjects. *Chest*. 2017 Apr;151(4):855-860.
249. Ahmadzai H, Huang S, Hettiarachchi R, et al. Exhaled breath condensate: a comprehensive update *Clin. Chem. Lab. Med.* 51 1343–61.
250. Thomas P.S., Lowe A.J., Samarasinghe P., et al. Exhaled breath condensate in pediatric asthma: Promising new advance or pouring cold water on a lot of hot air? A systematic review. *Pediatr. Pulmonol.* 2013;48:419–442
251. Morton J., Henry R.L., Thomas P.S. Exhaled breath condensate nitrite/nitrate and pH in relation to pediatric asthma control and exhaled nitric oxide. *Pediatr. Pulmonol.* 2006;41:929–936.
252. Brunetti L., Francavilla R., Tesse R., et al. Exhaled breath condensate pH measurement in children with asthma, allergic rhinitis and atopic dermatitis. *Pediatr. Allergy Immunol.* 2006;17:422–427.
253. Wan G.-H., Yan D.-C., Tseng H.-Y., et al. Cysteinyl leukotriene levels correlate with 8-isoprostane levels in exhaled breath condensates of atopic and healthy children. *Pediatr. Res.* 2013;74:584–591.
254. Baraldi E., Carraro S., Alinovi R., et al. Cysteinyl leukotrienes and 8-isoprostane in exhaled breath condensate of children with asthma exacerbations. *Thorax*. 2003;58:505–509
255. Samitas K., Chorianopoulos D., Vittorakis S., et al. Exhaled cysteinyl-leukotrienes and 8-isoprostane in patients with asthma and their relation to clinical severity. *Respir. Med.* 2009;103:750–756.
256. Bodini A., Peroni D., Vicentini L., et al. Exhaled breath condensate eicosanoids and sputum eosinophils in asthmatic children: A pilot study. *Pediatr. Allergy Immunol.* 2004;15:26–31.
257. Bino R J *et al* 2004 Potential of metabolomics as a functionalgenomics tool *Trends Plant Sci.* 9 418–25.
258. Nicholson J K, Lindon J C and Holmes E 1999 ‘Metabonomics’: understanding the metabolic responses of living systems to pathophysiological stimuli via multivariate statistical analysis of biological NMR spectroscopic data *Xenobiotica* 29 1181–9.
259. Sofia M, Maniscalco M, de Laurentiis G, Paris D, et al. 2011 Exploring airway diseases by NMR-based metabolomics: a review of application to exhaled breath condensate *J. Biomed. Biotechnol.* 2011 403260.
260. Turi KN, Romick-Rosendale L, Ryckman KK, et al. A review of metabolomics approaches and their application in identifying causal pathways of childhood asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2018 Apr;141(4):1191-1201.
261. Carraro S., Rezzi S., Reniero F., et al. Metabolomics applied to exhaled breath condensate in childhood asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2007;175:986–990.
262. Carraro S., Giordano G., Reniero F., et al.. Asthma severity in childhood and metabolomic profiling of breath condensate. *Allergy.* 2013;68:110–117
263. Virchow JC Jr, Hölscher U, Virchow C Sr. et al. Sputum ECP levels correlate with parameters of airflow obstruction. *Am Rev Respir Dis.* 1992 Sep;146(3):604-6.

264. Gibson PG, Simpson JL, Saltos N. Heterogeneity of airway inflammation in persistent asthma: evidence of neutrophilic inflammation and increased sputum interleukin-8. *Chest*. 2001 May;119(5):1329-36.
265. Wojsyk-Banaszak I, Mikos M, Szczepankiewicz A, et al. Evaluation of exhaled breath temperature (EBT) as a marker and predictor of asthma exacerbation in children and adolescents. *J Asthma*, 2017.10:1-7.
266. Garcia G, Bergna M, Uribe E, et al. Increased exhaled breath temperature in subjects with uncontrolled asthma. *Int J Tuberc Lung Dis*,2013. 17(7):969-72.
267. Nathan RA, Sorkness CA, Kosinski M, et al. Development of the asthma control test: a survey for assessing asthma control. *J Allergy Clin Immunol*, 2004.113(1):59-65
268. Kips JC, Fahy JV, Hargreave FE, et al. Methods for sputum induction and analysis of induced sputum: a method for assessing airway inflammation in asthma. *Eur Respir J Suppl*,1998.26:9S-12S.
269. Grootendorst DC, van den Bos JW, Romeijn JJ, et al. Induced sputum in adolescents with severe stable asthma. Safety and the relationship of cell counts and eosinophil cationic protein to clinical severity. *Eur Respir J*,1999.13(3):647-53.
270. ATS/ERS recommendations for standardized procedures for the online and offline measurement of exhaled lower respiratory nitric oxide and nasal nitric oxide, 2005. *Am J Respir Crit Care Med*,2005.171(8):912-30.
271. Menzies D, Nair A, Lipworth BJ. Portable exhaled nitric oxide measurement: Comparison with the "gold standard" technique. *Chest*,2007.131(2):410-4
272. Kanazawa H, Nomura S, Yoshikawa J. Role of microvascular permeability on physiologic differences in asthma and eosinophilic bronchitis. *Am J Respir Crit Care Med*,2004.169(10):1125-30
273. Svensson H, Bjermer L, Tufvesson E. Exhaled breath temperature in asthmatics and controls after eucapnic voluntary hyperventilation and a methacholine challenge test. *Respiration*,2014.87(2):149-57.
274. Leonardi S, Cuppari C, Lanzafame A, et al. Exhaled Breath Temperature in Asthmatic Children. *J Biol Regul Homeost Agents*,2015.29(2 Suppl 1):47-54
275. Hamill L, Ferris K, Kapande K, et al. Exhaled breath temperature measurement and asthma control in children prescribed inhaled corticosteroids: A cross sectional study. *Pediatr Pulmonol*,2016.51(1):13-21.
276. Paredi P, Kharitonov SA, Barnes PJ. Correlation of exhaled breath temperature with bronchial blood flow in asthma. *Respir Res*,2005.10;6:15
277. Zanini A, Chetta A, Imperatori AS, et al.. The role of the bronchial microvasculature in the airway remodelling in asthma and COPD. *Respir Res*,2010.11:132.
278. Fagan KA, Tyler RC, Sato K, et al. Relative contributions of endothelial, inducible, and neuronal NOS to tone in the murine pulmonary circulation. *Am J Physiol*,1999.277(3 Pt 1):L472-8.
279. Piacentini GL, Peroni DG, Bodini A, et al. Exhaled breath temperature as a marker of airway remodelling in asthma: a preliminary study. *Allergy*,2008.63(4):484-5.
280. Peinado VI, Pizarro S, Barbera JA. Pulmonary vascular involvement in COPD. *Chest*,2008.134(4):808-14.
281. Allinson JP, Hardy R, Donaldson GC et al. The Presence of Chronic Mucus Hypersecretion across Adult Life in Relation to Chronic Obstructive Pulmonary Disease Development. *Am J Respir Crit Care Med*,2016.193(6):662-72.
282. Noble DD, McCafferty JB, Greening AP, Innes JA. Respiratory heat and moisture loss is associated with eosinophilic inflammation in asthma. *Eur Respir J*,

2007.29(4):676-81

283. Ried J S *et al* 2013 Integrative genetic and metabolite profiling analysis suggests altered phosphatidylcholine metabolism in asthma *Allergy* 68 629–36
284. Chang C, Guo Z G, He B and Yao W Z 2015 Metabolic alterations in the sera of Chinese patients with mild persistent asthma: a GC-MS-based metabolomics analysis *Acta Pharmacol. Sin.* 36 1356–66
285. Mattarucchi E, Baraldi E and Guillou C 2012 Metabolomics applied to urine samples in childhood asthma; differentiation between asthma phenotypes and identification of relevant metabolites *Biomed. Chromatogr.* 26 89–94.
286. Saude E J, Skappak C D, Regush S, et al.2011 Metabolomic profiling of asthma: diagnostic utility of urine nuclear magnetic resonance spectroscopy *J. Allergy Clin. Immunol.* 127 757–64
287. Gahleitner F, Guallar-Hoyas C, Beardsmore C S, et al.2013 Metabolomics pilot study to identify volatile organic compound markers of childhood asthma in exhaled breath *Bioanalysis* 5 2239–47
288. Ibrahim B, Marsden P, Smith J A, et al 2013. Breath metabolomic profiling by nuclear magnetic resonance spectroscopy in asthma *Allergy* 68 1050–6
289. Sinha A, Desiraju K, Aggarwal K, et al. 2017 Exhaled breath condensate metabolome clusters for endotype discovery in asthma *J. Transl. Med.* 15 262
290. Horvath I *et al* 2017 A European Respiratory Society technical standard: exhaled biomarkers in lung disease *Eur. Respir. J.* 49 4
291. Xia J, Sinelnikov I V, Han B and Wishart D S 2015. MetaboAnalyst 3.0—making metabolomics more meaningful *Nucleic Acids Res.* 43 W251–7.
292. Abdi H and Williams L J 2013 Partial least squares methods: partial least squares correlation and partial least square regression *Methods Mol. Biol.* 930 549–79
293. Le Cao K A, Gonzalez I and Dejean S 2009 integrOmics: an R package to unravel relationships between two omics datasets *Bioinformatics* 25 2855–6.
294. Phapale P B, Kim S D, Lee H W, et al 2010 An integrative approach for identifying a metabolic phenotype predictive of individualized pharmacokinetics of tacrolimus *Clin. Pharmacol. Ther.* 87 426–36.
295. Eriksson L, Johansson E, Lindgren F, et al.2002 Megavariate analysis of hierarchical QSAR data *J. Comput. Aided Mol. Des.* 16 711–26
296. Uppal K, Walker D I and Jones D P 2017 xMSannotator: an R package for network-based annotation of high-resolution metabolomics data *Anal. Chem.* 89 1063–7
297. Kan M, Shan S, Zhang H, et al. 2016 Multi-view discriminant analysis *IEEE Trans. Pattern Anal. Mach. Intell.* 38 188–94
298. Triba M N, Le Moyec L, Amathieu R, et al.2015. PLS/OPLS models in metabolomics: the impact of permutation of dataset rows on the K-fold cross-validation quality parameters *Mol. Biosyst.* 11 13–19
299. Xia J and Wishart D S 2016 Using MetaboAnalyst 3.0 for comprehensive metabolomics data analysis *Curr. Protoc. Bioinform.* 55 14.10.1–14.10.91
300. Comhair S A, McDunn J, Bennett C, et al.2015 Metabolomic endotype of asthma *J. Immunol.* 195 643–50
301. Reinke S N, Gallart-Ayala H, Gomez C, et al. 2017 Metabolomics analysis identifies different metabolotypes of asthma severity *Eur. Respir. J.* 49
302. Ghosh N, Choudhury P, Subramani E, et al.2019 Metabolomic signatures of asthma-COPD overlap (ACO) are different from asthma and COPD *Metabolomics* 15 87

303. Konstantinidi E M *et al* 2015 Exhaled breath condensate: technical and diagnostic aspects *Sci. World J.* 2015 435160
304. Xie M, Wenzel SE. A global perspective in asthma: from phenotype to endotype. *Chin Med J (Engl)*. 2013;126:166-174.
305. Green RH, Brightling CE, McKenna S, et al. Asthma exacerbations and sputum eosinophil counts: a randomised controlled trial. *Lancet*. 2002;360:1715-1721
306. Schleich FN, Seidel L, Sele J, et al. Exhaled nitric oxide thresholds associated with a sputum eosinophil count $\geq 3\%$ in a cohort of unselected patients with asthma. *Thorax*. 2010;65:1039-1044.
307. Berry M, Morgan A, Shaw DE, et al. Pathological features and inhaled corticosteroid response of eosinophilic and non-eosinophilic asthma. *Thorax*. 2007;62:1043-1049.
308. Gibson PG. A light at the end of the tunnel of inflammation in obstructive airway diseases? *Chest*. 2008;134:475-476
309. Berry MA, Shaw DE, Green RH, et al. The use of exhaled nitric oxide concentration to identify eosinophilic airway inflammation: an observational study in adults with asthma. *Clin Exp Allergy*. 2005;35:1175-1179.
310. Global Initiative for Asthma. Updated from Global Strategy for Asthma Management and Prevention. 2016. Workshop Report 2016. Available at www.ginasthma.com
311. Standardization of Spirometry. 1994 Update. American Thoracic Society. *Am J Respir Crit Care Med*. 1995;152:1107-1136.
312. Alving K, Janson C, Nordvall L. Performance of a new hand-held device for exhaled nitric oxide measurement in adults and children. *Respir Res*. 2006;7:67. 316. . Tseliou E, Bakakos P, Kostikas K, Hillas G, Mantzouranis K, Emmanouil P, et al. Increased levels of angiopoietins 1 and 2 in sputum supernatant in severe refractory asthma. *Allergy*. 2012;67:396-402
313. Tseliou E, Bakakos P, Kostikas K, et al. Increased levels of angiopoietins 1 and 2 in sputum supernatant in severe refractory asthma. *Allergy*. 2012;67:396-402
314. Efthimiadis A, Spanevello A, Hamid Q, et al. Methods of sputum processing for cell counts, immunocytochemistry and in situ hybridisation. *Eur Respir J Suppl*. 2002;37:19s-23s.
315. Koziol-White CJ, Panettieri RA Jr. Airway smooth muscle and immunomodulation in acute exacerbations of airway disease. *Immunol Rev*. 2011;242:178-185.
316. McCreanor J, Cullinan P, Nieuwenhuijsen MJ, et al. Respiratory effects of exposure to diesel traffic in persons with asthma. *N Engl J Med*. 2007;357:2348-2358.
317. Green BJ, Wiriyachaiporn S, Grainge C, et al. Potentially pathogenic airway bacteria and neutrophilic inflammation in treatment resistant severe asthma. *PLoS One*. 2014;9:e100645
318. Green RH, Brightling CE, Woltmann G, et al. Analysis of induced sputum in adults with asthma: identification of subgroup with isolated sputum neutrophilia and poor response to inhaled corticosteroids. *Thorax*. 2002;57:875-879.
319. Simpson JL, Powell H, Boyle MJ et al. Clarithromycin targets neutrophilic airway inflammation in refractory asthma. *Am J Respir Crit Care Med*. 2008;177:148-155.
320. Brusselle GG, Vanderstichele C, Jordens P, et al. Azithromycin for prevention of exacerbations in severe asthma (AZISAST): a multicentre randomised double-blind placebo-controlled trial. *Thorax*. 2013;68:322-329
321. Johnston SL, Szigeti M, Cross M, Brightling C, et al. Azithromycin for acute exacerbations of asthma: the AZALEA randomized clinical trial. *JAMA Intern Med*. 2016;176:1630- 1637.

322. Al-Samri MT, Benedetti A, Prefontaine D, et al. Variability of sputum inflammatory cells in asthmatic patients receiving corticosteroid therapy: a prospective study using multiple samples. *J Allergy Clin Immunol.* 2010;125:1161-1163