

Uniwersytet Jagielloński  
Collegium Medicum  
Wydział Lekarski

Tomasz Stachura

**Analiza przydatności oznaczania stężenia leukotrienu E<sub>4</sub>  
w moczu za pomocą testu ELISA jako nieinwazyjnej  
metody diagnostycznej *in vitro* pozwalającej na  
rozpoznanie astmy aspirynowej**

*Praca doktorska*

Promotor: Prof. dr hab. med. Grażyna Bochenek

Pracę wykonano w Klinice Pulmonologii II Katedry Chorób Wewnętrznych  
im. Profesora A. Szczeklika Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego

Kierownik Kliniki: Prof. dr hab. med. Krzysztof Śladek

Kierownik Katedry: Prof. dr hab. med. Jacek Musiał

Kraków, 2017

*Pamięci Ojca*

*Pani Prof. dr hab. n. med. Grażynie Bochenek  
za opiekę naukową, pomoc i wielką życzliwość  
okazywaną podczas powstawania pracy  
serdecznie dziękuję*

## SPIS TREŚCI

SKRÓTY I SYMBOLE STOSOWANE W PRACY .....	7
1. WSTĘP .....	10
1.1. Astma oskrzelowa jako choroba heterogenna .....	10
1.2. Astma aspirynowa – obraz kliniczny .....	11
1.3. Leukotrieny w astmie oskrzelowej.....	13
1.3.1. Biosynteza leukotrienów .....	14
1.3.2. Alternatywny sposób produkcji leukotrienów .....	17
1.3.3. Receptory leukotrienowe.....	17
1.3.4. Rola leukotrienów i receptorów leukotrienowych w astmie oskrzelowej.....	18
1.4. Astma aspirynowa – patogeneza.....	20
1.4.1. Ostra reakcja po przyjęciu aspiryny i innych NLPZ .....	21
1.4.2. Astma aspirynowa jako przewlekłe eozynofilowe zapalenie dróg oddechowych.....	23
1.4.3. Rola leukotrienów .....	24
1.4.4. Rola prostaglandyn.....	28
1.4.5. Rola tromboksanu .....	28
1.4.6. Rola infekcji bakteryjnych i wirusowych.....	29
1.5. Astma aspirynowa – diagnostyka.....	29
1.5.1. Diagnostyka <i>in vivo</i> .....	29
1.5.2. Diagnostyka <i>in vitro</i> .....	30
2. ZAŁOŻENIA I CELE PRACY .....	33
3. MATERIAŁ I METODY .....	35
3.1. Grupy badane .....	35
3.2. Metodyka.....	36
3.2.1. Dane kliniczne.....	36
3.2.2. Badanie spirometryczne .....	37
3.2.3. Pomiar stężenia LTE <sub>4</sub> w moczu .....	37
3.2.4. Badania laboratoryjne krwi – eozynofilia bezwzględna i IgE całkowite .....	38
3.2.5. Testy skórne .....	38
3.3. Metody statystyczne.....	38
4. WYNIKI .....	40
4.1. Ogólna charakterystyka chorych .....	40
4.1.1. Płeć, wiek, BMI.....	40

4.1.2. Czas trwania, wiek wystąpienia pierwszych objawów i zaostrzenia astmy .....	40
4.1.3. Kontrola astmy .....	42
4.1.4. Stosowane leczenie i ciężkość astmy .....	42
4.1.5. Objawy ze strony górnych dróg oddechowych .....	44
4.1.6. Leczenie związane z zajęciem górnych dróg oddechowych .....	45
4.1.7. Parametry funkcji płuc .....	45
4.1.8. Wybrane badania dodatkowe .....	46
4.2. Stężenia LTE <sub>4</sub> w moczu w badanych grupach oraz wyznaczenie wartości stężenia LTE <sub>4</sub> w moczu najlepiej różnicującej grupy chorych na AERD i na ATA .....	47
4.2.1. Stężenia LTE <sub>4</sub> w moczu u chorych na AERD, ATA i u osób zdrowych .....	47
4.2.2. Wyznaczenie wartości stężenia LTE <sub>4</sub> w moczu najlepiej różnicującej grupy chorych na AERD i ATA; metoda I – w oparciu o rozkład kwartyłowy.....	48
4.2.3. Wyznaczenie wartości stężenia LTE <sub>4</sub> w moczu najlepiej różnicującej grupy chorych na AERD i ATA; metoda II – krzywa ROC .....	50
4.3. Analiza zmiennych w zależności od wartości stężeń LTE <sub>4</sub> w moczu .....	52
4.3.1. Wiek i BMI w zależności od stężeń LTE <sub>4</sub> w moczu .....	52
4.3.2. Czas trwania i zaostrzenia astmy.....	52
4.3.3. Zależność kontroli astmy od stężeń LTE <sub>4</sub> w moczu .....	53
4.3.4. Stosowane leczenie i ciężkość astmy w grupach stężeń LTE <sub>4</sub> w moczu .....	54
4.3.5. Objawy ze strony górnych dróg oddechowych w grupach stężeń LTE <sub>4</sub> w moczu .....	55
4.3.6. Leczenie związane z zajęciem górnych dróg oddechowych w grupach stężeń LTE <sub>4</sub> w moczu .....	56
4.3.7. Parametry funkcji płuc w grupach stężeń LTE <sub>4</sub> w moczu.....	57
4.3.8. Wybrane badania dodatkowe – eozynofilia bezwzględna, IgE całkowite, alergiczne testy skórne w grupach stężeń LTE <sub>4</sub> w moczu .....	57
4.3.9. Porównanie wybranych parametrów w grupach o wysokich stężeniach LTE <sub>4</sub> w moczu (>800,0 pg/mg kreatyniny) pomiędzy chorymi na AERD i ATA.....	58
4.4. Analiza wpływu wybranych zmiennych na rozpoznanie AERD z zastosowaniem analizy regresji logistycznej .....	60
4.4.1. Jednowymiarowa regresja logistyczna .....	60
4.4.2. Wielowymiarowa regresja logistyczna .....	61
4.4.3. Wielowymiarowa regresja logistyczna – porównanie modeli A i B.....	63
5. Dyskusja.....	66
5.1. Porównanie parametrów klinicznych i laboratoryjnych w podobnych demograficznie populacjach chorych na AERD i na ATA .....	66
5.2. Przydatność oznaczania LTE <sub>4</sub> w moczu w rozpoznawaniu AERD .....	74

5.3. Ocena wartości pomiaru stężenia LTE <sub>4</sub> w moczu jako pojedynczego parametru różnicującego grupy chorych na AERD i ATA .....	78
5.4. Analiza zmiennych w zależności od wartości stężeń LTE <sub>4</sub> w moczu w obu grupach chorych na astmę.....	82
5.5 Analiza przydatności wybranych zmiennych klinicznych i laboratoryjnych w rozpoznawaniu AERD w modelach regresji jedno i wielowymiarowej.....	85
6. WNIOSKI.....	90
7. STRESZCZENIE .....	91
8. SUMMARY .....	94
9. PIŚMIENNICTWO .....	97
10. SPIS TABEL .....	114
11. SPIS RYCIN.....	116

## SKRÓTY I SYMBOLE STOSOWANE W PRACY

<b>AA</b>	(ang. <i>arachidonic acid</i> ) kwas arachidonowy
<b>AChE</b>	acetylocholinesteraza
<b>ACT</b>	(ang. <i>asthma control test</i> ) test kontroli astmy
<b>AERD</b>	(ang. <i>aspirin exacerbated respiratory disease</i> ) choroba dróg oddechowych zaostrzana przez aspirynę
<b>AIA</b>	(ang. <i>aspirin-induced asthma, aspirin-intolerant asthma</i> ) astma aspirynowa
<b>AIANE</b>	(ang. <i>European Network of Aspirin-Induced Asthma</i> ) Europejska Sieć Chorych na Astmę Aspirynową
<b>ASPI Test</b>	(ang. <i>aspirin-sensitive patients identification test</i> ) test identyfikacji pacjentów z nadwrażliwością na aspirynę
<b>ATA</b>	(ang. <i>aspirin-tolerant asthma</i> ) astma z tolerancją aspiryny
<b>ATP</b>	adenozynotrifosforan
<b>AUC</b>	(ang. <i>area under curve</i> ) obszar pod krzywą ROC
<b>BAL</b>	(ang. <i>bronchoalveolar lavage</i> ) popłuczyny oskrzelowo-pęcherzykowe
<b>BAT</b>	(ang. <i>basophil activation test</i> ) test aktywacji bazofilów
<b>BLT1R, BLT2R</b>	receptor typu 1, 2 dla LTB <sub>4</sub>
<b>BMI</b>	(and. <i>body mass index</i> ) wskaźnik masy ciała
<b>CAST</b>	(ang. <i>cellular allergen stimulation test</i> ) test stymulowania komórek alergenem
<b>CCL11</b>	(ang. <i>C-C motif chemokine 11, eosinophil chemotactic protein, eotaxin-1</i> ) białko chemotaktyczne dla eozynofiliów
<b>CD34+, CD45RO+</b>	(ang. <i>cluster of differentiation</i> ) antygen różnicowania komórkowego 34+, 45RO+
<b>COX-1, COX-2</b>	(ang. <i>cyclooxygenase 1, 2</i> ) cyklooksygenaza 1, 2
<b>cPLA<sub>2</sub></b>	(ang. <i>cytosolic phospholipase A<sub>2</sub></i> ) cytoplazmatyczna fosfolipaza A <sub>2</sub>
<b>CRS</b>	(ang. <i>chronic rhinosinusitis</i> ) przewlekły nieżyt nosa i zatok przynosowych
<b>CysLT</b>	(ang. <i>cysteinyl leukotriene</i> ) leukotrien cysteinylowy
<b>CysLT1R, CysLT2R, CysLT3R</b>	receptor typu 1,2,3 dla leukotrienów cysteinylowych
<b>CysLT<sub>E</sub>R</b>	receptor dla LTE <sub>4</sub>
<b>DHT</b>	dihydrotestosteron
<b>ECP</b>	(ang. <i>eosinophil cationic protein</i> ) białko kationowe eozynofiliów
<b>EGF</b>	(ang. <i>epithelial growth factor</i> ) nabłonkowy czynnik wzrostu
<b>ELISA, EIA</b>	(ang. <i>enzyme-linked immunosorbent assay, enzyme immunoassay</i> ) test immunoenzymatyczny
<b>EMID2</b>	(ang. <i>human EMI domain-containing protein 2</i> ) ludzkie białko zawierające domenę EMI 2
<b>ENFUMOSA</b>	<i>European Network for Understanding Mechanisms of Severe Asthma</i>
<b>EP2</b>	receptor typu 2 dla prostaglandyny E <sub>2</sub>
<b>FESS</b>	(ang. <i>functional endoscopic sinus surgery</i> ) czynnościowa endoskopowa operacja zatok przynosowych

<b>FET</b>	(ang. <i>functional eicosanoid testing and typing</i> ), test wydzielania eikozanoidów przez leukocyty krwi obwodowej
<b>FEV<sub>1</sub></b>	(ang. <i>forced expiratory volume in 1 second</i> ) pierwszosekundowa natężona objętość wydechowa
<b>FEV<sub>1</sub>%FVC</b>	wskaźnik Tiffeneau
<b>FLAP</b>	(ang. <i>5-lipoxygenase activating protein</i> ) białko aktywujące 5-lipoksygenazę
<b>Flow-CAST</b>	połączenie cytometrii przepływowej oraz testu stymulowania komórek alergenem
<b>fMLP</b>	N-formylo-metionilo-leucylfenylamina
<b>GINA</b>	(ang. <i>Global Initiative for Asthma</i> ) Światowa Inicjatywa Zwalczenia Astmy
<b>GKS</b>	glikokortykosteroidy
<b>GM-CSF</b>	(ang. <i>granulocyte-macrophage colony-stimulating factor</i> ) czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów
<b>GPCR</b>	(ang. <i>G protein-coupled receptor</i> ) receptor związany z białkami G
<b>HETE</b>	kwas 5-hydroksyeikozatetraenowy
<b>HPETE</b>	kwas 5-hydroperoksyekozatetraenowy
<b>HPLC- MS</b>	(ang. <i>high performance liquid chromatography – mass spectrometry</i> ) wysokosprawna chromatografia cieczowa – spektrometria mas
<b>HRV</b>	(ang. <i>human rhinovirus</i> ) ludzki rhinovirus
<b>IgE</b>	immunoglobulina E
<b>IL-4, 5, 6, 13, 17</b>	interleukina 4, 5, 6, 13, 17
<b>INF<math>\gamma</math></b>	interferon $\gamma$
<b>IQR</b>	(ang. <i>interquartile range</i> ) rozstęp międzykwartyłowy
<b>LPS</b>	lipopolisacharyd
<b>Log<sub>2</sub></b>	logarytm kwadratowy
<b>LOX</b>	lipoksygenaza
<b>LR-</b>	(ang. <i>likelihood ratio</i> ) iloraz wiarygodności wyniku ujemnego
<b>LR+</b>	(ang. <i>likelihood ratio</i> ) iloraz wiarygodności wyniku dodatniego
<b>LT</b>	leukotrieny
<b>LTC<sub>4</sub>S</b>	(ang. <i>leukotriene C<sub>4</sub> synthase</i> ) syntaza LTC <sub>4</sub>
<b>LTRA</b>	(ang. <i>leukotriene receptor antagonist</i> ) antagonist CysLT <sub>1</sub> R
<b>MCP-3/CCL7</b>	(ang. <i>monocyte-specific chemokine 3, chemokine (C-C motif) ligand 7</i> ) białko chemotaktyczne dla monocytów 3
<b>MNLT</b>	(ang. <i>mediators in nasal lavage test</i> ) test badania mediatorów w popłuczynach nosowych
<b>mRNA</b>	matrycowy kwas rybonukleinowy
<b>NARES</b>	(ang. <i>nonallergic rhinitis with eosinophilia</i> ) niealergiczny nieżyt nosa z eozynofilią
<b>NHLBI</b>	<i>National Heart, Lung and Blood Institute</i>
<b>NHWS</b>	<i>National Health and Wellness Survey</i>
<b>NLPZ</b>	niesteroidowe leki przeciwzapalne
<b>NPV</b>	(ang. <i>negative predictive value</i> ) negatywna wartość prognostyczna



<b>OIT</b>	oddział intensywnej terapii
<b>OR</b>	(ang. <i>odds ratio</i> ) iloraz szans
<b>P2Y<sub>12</sub></b>	chemoreceptor przyłączający adenosynodifosforan należący do rodziny receptorów purynowych P2Y ulegający blokadzie przez tienopirydyny
<b>PC<sub>20</sub></b>	dawka metacholiny, która powoduje spadek FEV <sub>1</sub> o 20% w teście nadreaktywności oskrzeli
<b>PGD</b>	prostaglandyna
<b>PPV</b>	(ang. <i>positive predictive value</i> ) pozytywna wartość prognostyczna
<b>RANTES</b>	(ang. <i>regulated on activation, normal T-cell expressed and secreted</i> ) chemokina regulowana przez aktywację, wyrażana i przypuszczalnie wydzielana przez prawidłowe limfocyty T
<b>RIA</b>	(ang. <i>radioimmunoassay</i> ) test radioimmunologiczny
<b>ROC</b>	(ang. <i>receiver operating characteristic</i> ) krzywa wyznaczana celem oceny poprawności klasyfikatora
<b>SAE</b>	enterotoksyna <i>Staphylococcus aureus</i>
<b>SARP</b>	<i>Severe Asthma Research Programme</i>
<b>SCF/sKITLG</b>	(ang. <i>stem cell factor lub soluble kit-ligand</i> ) cytokina wiążąca się z rozpuszczalnym receptorem kit (CD117)
<b>SD</b>	(ang. <i>standard deviation</i> ) odchylenie standardowe
<b>SPT</b>	(ang. <i>serum-PGF<sub>2α</sub> test</i> ) test wydzielania PGF <sub>2α</sub> w surowicy
<b>SRS-A</b>	(ang. <i>slow reacting substance of anaphylaxis</i> ) wolno reagujący czynnik anafilaksji
<b>TENOR</b>	<i>The Epidemiology and Natural History of Asthma: Outcomes and Treatment Regimens</i>
<b>TGF-β</b>	(ang. <i>transforming growth factor β</i> ) czynnik transformujący wzrostu β
<b>TK</b>	tomografia komputerowa
<b>TNF-α</b>	(ang. <i>tumor necrosis factor α</i> ) czynnik martwicy nowotworów α
<b>TP</b>	receptor dla tromboksanu
<b>TXA<sub>2</sub></b>	tromboksan A <sub>2</sub>

## **1. WSTĘP**

### **1.1. Astma oskrzelowa jako choroba heterogenna**

Astma oskrzelowa to choroba o złożonych i zróżnicowanych patomechanizmach, co znajduje odzwierciedlenie w szerokim spektrum manifestacji klinicznych oraz odmiennej odpowiedzi na stosowane leczenie. Jak dotąd, brak jednego, stałego i mierzalnego parametru potwierdzającego jej rozpoznanie. U poszczególnych chorych występują znaczne różnice co do spektrum prezentowanych objawów klinicznych; zróżnicowane może być ich nasilenie, częstość występowania, jak również odpowiedź na leczenie. Podobnie, zaostrzenia astmy mogą pojawiać się z różną częstością, a ich przyczyną mogą być takie czynniki jak np. infekcje, alergeny, wysiłek fizyczny, czy zażycie aspiryny. U jednych chorych objawy pojawiają się już w dzieciństwie, u innych dopiero w okresie dorosłości. W drogach oddechowych mogą dominować różne typy komórek zapalnych, stąd wyróżnia się astmę z zapaleniem eozynofilowym, neutrofilowym, mieszanokomórkowym, a także ubogokomórkowym [1]. Prowadzone w ostatnich latach badania na dużych populacjach chorych na astmę, jak np. amerykańskie badania SARP (Severe Asthma Research Programme) [2], TENOR (The Epidemiology and Natural History of Asthma: Outcomes and Treatment Regimens) [3], europejskie badanie ENFUMOSA (European Network for Understanding Mechanisms of Severe Asthma) [4] uwidoczniły niezwykle różnorodność, jaką może cechować się ta choroba. Wobec tak znacznej heterogeniczności, zaczęto wyodrębniać fenotypy astmy [5]. Badania wariantów astmy dowiodły, iż poszczególne fenotypy tej choroby wykazują znaczne różnice co do etiologii i patofizjologii. Astma rozumiana jest więc obecnie jako zespół chorobowy, czyli grupa chorób o pewnych wspólnych cechach klinicznych. Aktualne wytyczne leczenia astmy nie w pełni uwzględniają tę różnorodność, aczkolwiek ich przestrzeganie w znacznej mierze umożliwia uzyskanie zadawalającej kontroli objawów. Jednakże u około 10-20% chorych objawy utrzymują się mimo stosowania leczenia uznawanego obecnie za optymalne [6,7]. Wobec postępu badań nad biologią astmy, w celu szczegółowego zidentyfikowania jej rodzajów, w 2008 r. Anderson [8] zaproponował wprowadzenie terminu endotyp. Odpowiada on określone fenotypowi astmy o wyróżniających się mechanizmach funkcjonalnych i patofizjologicznych i jest definiowany w oparciu o jej mechanizm molekularny lub odpowiedź na leczenie [8]. Endotypowanie astmy stanowi ważny krok do zindywidualizowanego leczenia chorych opartego na znajomości kliniki i podstaw

molekularnych choroby. Jego wymierną korzyść stanowi identyfikacja grup chorych, którym specyficzne (spersonalizowane) leczenie zapewni lepszą kontrolę objawów. Między innymi, u odpowiednio dobranych pacjentów obiecujące wyniki leczenia stwierdzono przy zastosowaniu monoklonalnych przeciwciał przeciwko IgE (omalizumab), czy też przeciwko interleukinie 5 (mepolizumab) [9,10]. Trwają także intensywne badania nad identyfikacją markerów związanych z odpowiedzią na stosowane leczenie, np. na leki przeciweukotrienowe, glikokortykosteroidy, czy też leki biologiczne [9,10,11].

Dzięki coraz lepszemu poznaniu różnych patomechanizmów astmy i zastosowaniu zaawansowanych metod statystycznych, prace – między innymi Haldara i wsp. [12] Moore i wsp. [13], Fitzpatrick i wsp. [14], czy Brasier i wsp. [15] – pokazują nowe perspektywy badań nad tą chorobą.

## **1.2. Astma aspirynowa – obraz kliniczny**

Jednym z fenotypów i zarazem endotypów astmy oskrzelowej jest astma aspirynowa. W piśmiennictwie europejskim określana jest najczęściej jako astma indukowana przez aspirynę (AIA; *aspirin-induced asthma* lub *aspirin-intolerant asthma*). Ponieważ aspiryna nie jest przyczyną, a jedynie czynnikiem zaostrzającym przewlekły stan zapalny w drogach oddechowych, stąd też w Stanach Zjednoczonych zaproponowano w ostatnich latach szersze pojęcie choroby dróg oddechowych zaostrzanej przez aspirynę (AERD; *aspirin-exacerbated respiratory disease*). W dalszej części niniejszej pracy będzie używany skrót AERD na określenie astmy aspirynowej. Natomiast grupa chorych na astmę, którzy dobrze tolerują aspirynę i inne niesteroidowe leki przeciwzapalne (NLPZ), określana będzie skrótem ATA (*aspirin-tolerant asthma*).

Po raz pierwszy asocjację pomiędzy objawami astmy, polipami nosa i nadwrażliwością na aspirynę stwierdzili Widali i wsp. [16] w 1922 r. Jednak dopiero w latach 60. ubiegłego stulecia, dzięki pracom Samtera i Beers'a Jr [17,18], doszło do popularyzacji tej choroby nazywanej wówczas zespołem Samtera lub „triadą aspirynową”. Ten wariant astmy charakteryzuje zespół objawów klinicznych dotyczący górnych i dolnych dróg oddechowych, na który składają się: 1) astma oskrzelowa, 2) przewlekły nieżyt nosa i zatok przynosowych (o cechach przewlekłego zapalenia eozynofilowego), 3) często z towarzyszącymi polipami nosa i zatok oraz 4) krzyżowa reakcja nadwrażliwości na aspirynę i inne NLPZ [19,20]. Wykształcenie wszystkich powyższych cech tworzy zatem „tetradę aspirynową”.

Nadwrażliwość na NLPZ rzadko występuje u dzieci [21]. Stosowanie aspiryny jest przeciwwskazane u osób poniżej 12. roku życia z powodu ryzyka wystąpienia ciężkich powikłań w postaci zespołu Reya. U dzieci chorych na astmę w wieku 6 do 18 lat, skurcz oskrzeli po podaniu ibuprofenu stwierdzono u 2% badanych [22]. U większości chorych na AERD pierwsze objawy pojawiają się zazwyczaj w 3. lub 4. dekadzie życia [23]. W dwóch, jak dotąd największych badaniach populacji chorych na AERD, tj. w badaniu europejskim AIANE (Aspirin Network on Aspirin Induced Asthma) [24] oraz amerykańskim prowadzonym w Scripps Clinic Layolla University [25], średni wiek, w którym pojawiły się objawy wynosił odpowiednio, 29 i 34 lata. Choroba częściej występuje u kobiet niż u mężczyzn. W badaniu AIANE proporcje te wynosiły 2,3:1 [24]. Natomiast w badaniu amerykańskim przewaga kobiet była mniejsza, tj. 1,3:1 [25].

W większości przypadków przebieg naturalny AERD jest bardzo charakterystyczny, gdyż choroba ta cechuje się określoną sekwencją objawów. Wykształcenie w pełni typowego zespołu („tetrady aspirynowej”) może trwać od kilku do kilkunastu lat [24]. Początkowo dominują objawy związane z nieżytem nosa w postaci wodnistej wydzieliny z nosa, spływania wydzieliny po tylnej ścianie gardła, uczucia zatkania nosa, kichania oraz utraty powonienia wraz ze znacznym upośledzeniem czucia smaku. Choć pacjenci często wiążą wystąpienie powyższych objawów z przemijającą infekcją grypopodobną, to zapalenie błony śluzowej nosa nie mija, lecz utrzymuje się przez wiele lat. Rozwijają się przewlekły nieżyt nosa i zapalenie zatok przynosowych. Objawy trudno poddają się leczeniu. Z czasem wykształca się przewlekłe eozynofilowe, hiperplastyczne zapalenie górnych dróg oddechowych, często z formowaniem polipów nosa i zatok. U wielu chorych przebieg powyższego zapalenia jest bardzo nasilony [24].

Najczęściej po dwóch - trzech latach dołączają się objawy astmy. Nadwrażliwość na NLPZ jest istotnym czynnikiem prognostycznym rozwoju niejednokrotnie ciężkiej astmy z częstszymi zaostrzeniami, która wymaga intensywnej steroidoterapii za pomocą leków wziewnych i systemowych [24]. W europejskim badaniu kohorty 500 chorych na AERD (AIANE), aż 51% chorych było równocześnie leczonych systemowymi i wziewnymi steroidami, a kolejne 30% stosowało wziewne steroidy w dużych dawkach celem kontroli objawów choroby [24]. W amerykańskim badaniu kohorty 300 chorych na AERD, aż 77% chorych przyjmowało steroidy systemowo w ciągu roku przed przystąpieniem do badania [25]. Chorzy z tym fenotypem astmy mieli bardziej nasiloną obturację dróg oddechowych, byli częściej hospitalizowani, częściej korzystali z doraźnej

pomocy medycznej i częściej stosowali krótkotrwałą terapię steroidami systemowymi w związku z zaostrzeniami, niż chorzy na ciężką astmę, którzy dobrze tolerowali NLPZ [3,4].

Po następnych trzech latach od wystąpienia objawów astmy, u chorych uprzednio dobrze tolerujących NLPZ, pojawiają się reakcje nadwrażliwości na te leki. Typowo, reakcja na aspirynę lub inne NLPZ rozwija się w ciągu 30-120 minut od przyjęcia leku i dotyczy górnych i dolnych dróg oddechowych. Występuje różnie nasilony skurcz oskrzeli, któremu towarzyszy obecność wodnistej wydzieliny z nosa, zatkanie nosa, podrażnienie spojówek, łzawienie, czasem również obrzęk na twarzy, zwłaszcza wokół oczu. Niektórzy chorzy prezentują wysypkę skórą na twarzy i szyi, nudności, ból brzucha lub w klatce piersiowej. Objawy mogą być łagodne, ale czasem dochodzi do wystąpienia silnej reakcji anafilaktoidalnej ze spadkiem ciśnienia tętniczego i utratą przytomności. Warto podkreślić, że chorzy na AERD, po zażyciu NLPZ mają zaostrzenie objawów, niemniej sama astma rozwija się nawet mimo dalszego unikania stosowania preparatów z tej grupy [24,25].

Przewlekły nieżyt nosa i zapalenie zatok przynosowych predysponuje do wtórnych infekcji [24]. W badaniu AIANE przewlekły nieżyt nosa był obecny u 82%, a polipy nosa u 60% chorych [24]. W związku z powyższymi objawami chorzy często wymagają wykonania polipektomii, bądź stosowania innych metod operacyjnego leczenia zatok obocznych nosa [26]. Niemniej polipy często nawracają, czasem nawet w ciągu kilku miesięcy po zabiegu [24,25].

W ogólnej populacji nadwrażliwość na aspirynę występuje u 0,6-2,5% osób [19]. Natomiast w badaniach ankietowych przeprowadzonych wśród chorych na astmę w Australii, Finlandii i w Polsce, AERD stwierdzono odpowiednio u 11,9%, 8,8% i 4,3% osób badanych [27,28,29]. Metaanaliza 15 badań wykazała, iż u chorych na astmę poddanych doustnej próbie prowokacyjnej z aspiryną dodatnią reakcję obserwowano aż 21% badanych [21]. Testy prowokacyjne z aspiryną wykonywane w grupie chorych z nieżytem nosa i przewlekłym zapaleniem zatok oraz z polipami nosa wypadały dodatnio aż u 30-40% badanych [21]. Jak wynika z niedawno opublikowanej metaanalizy Rajan i wsp. [30], częstość występowania AERD w populacji dorosłych chorych na astmę wynosi 7,3% i wzrasta do 14,9% w grupie chorych na ciężką astmę.

### **1.3. Leukotrieny w astmie oskrzelowej**

Leukotrieny (LT) to grupa związków chemicznych pochodzenia lipidowego, które powstają na szlaku przemian kwasu arachidonowego (AA; *arachidonic acid*) przy udziale

enzymu 5-lipoksygenazy (5-LOX) [31]. Pierwotnie określane były jako „wolno reagujący związek anafilaksji” (*slow reacting substance of anaphylaxis*; SRS-A). Nazwa „leukotrieny” wywodzi się od nazwy komórek, z których po raz pierwszy zostały one wyizolowane, czyli leukocytów („leuko”) oraz obecności trzech sprzężonych wiązań podwójnych w łańcuchu węglowym („trieny”). Określenie ich struktury chemicznej oraz zasadniczych szlaków przemian zawdzięczamy Bengtonowi Samuelssonowi – amerykańskiemu uczonemu, który za swe badania w 1982 r. otrzymał Nagrodę Nobla [32]. Leukotrieny dzielą się na 2 grupy: leukotrieny cysteinyłowe (CysLT), czyli LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub> i LTE<sub>4</sub> oraz leukotrien B<sub>4</sub> (LTB<sub>4</sub>). CysLT, prócz wspólnego szlaku przemian łączy obecność w ich strukturze cysteiny przy 6. atomie węgla. Liczba 4 oznacza całkowitą ilość wiązań podwójnych w łańcuchu węglowym [33]. Natomiast LTB<sub>4</sub> to dihydroksy-leukotrien, który w swej strukturze nie zawiera cysteiny [33].

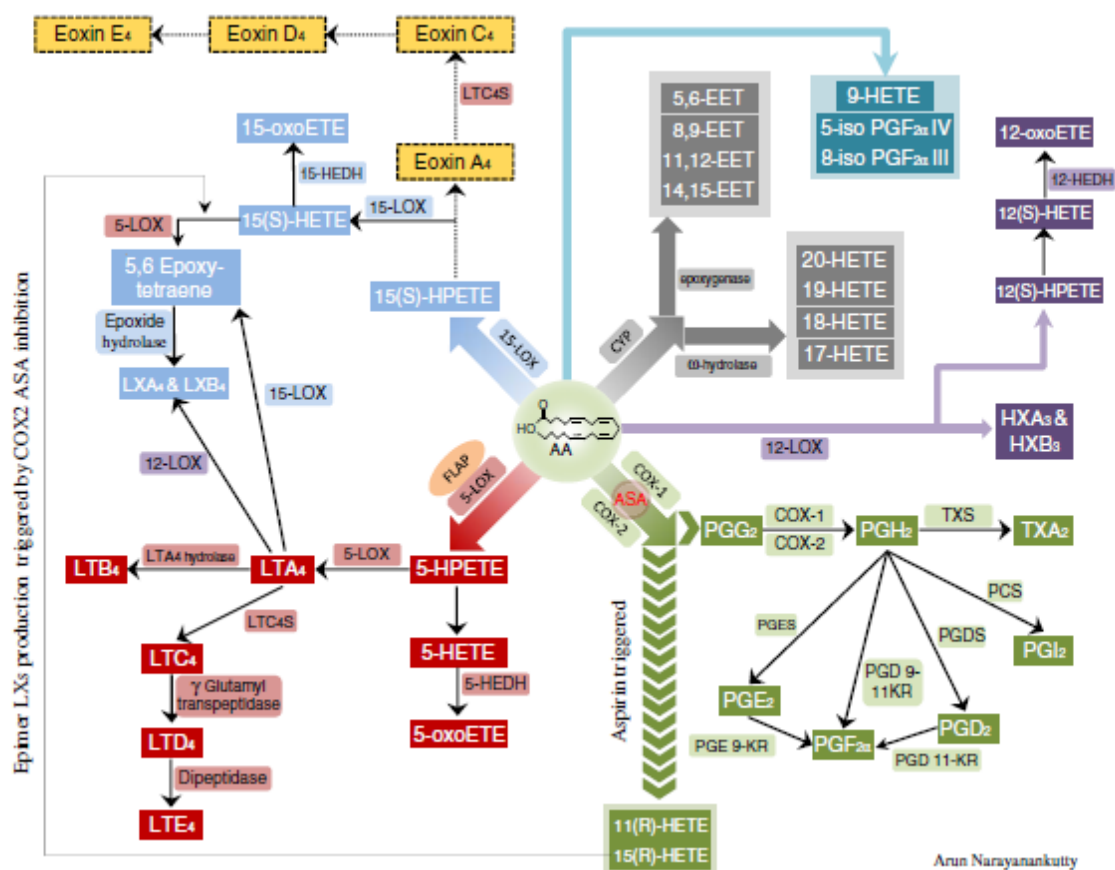
LT pełnią szerokie spektrum funkcji biologicznych. Należą do związków najsilniej kurczących oskrzela [33]. Biorą udział w procesach zapalnych, alergicznych, odpornościowych, pełnią istotne funkcje w patofizjologii astmy oskrzelowej, alergicznego nieżytu nosa, łuszczycy, reumatoidalnego zapalenia stawów, miażdżycy naczyń [33,34,35,36]. Związki te nie podlegają magazynowaniu w ziarnistościach wewnątrzkomórkowych i są każdorazowo syntetyzowane *de novo* na drodze oksydacji lipidów [37].

### 1.3.1. Biosynteza leukotrienów

LT powstają na drodze przemian AA i zaliczają się do tzw. eikozanoidów. Szlaki przemian AA obejmują ponad 50 enzymów i prowadzą do uzyskania szeregu biologicznie czynnych lipidów [38]. Wyróżnia się 3 główne szlaki przemian enzymatycznych AA: z udziałem lipoksygenaz (5-LOX, 15-LOX, 12-LOX), cyklooksigenaz (COX-1, COX-2) oraz oksydaz cytochromowych (hydrolaza, epoksygenaza), a także przemiany na drodze nieenzymatycznej (Rysunek 1).

LT powstają z udziałem lipoksygenaz (LOX). Enzymy te katalizują przyłączenie cząsteczki tlenu do nienasyconych reszt AA tworząc hydroperoksydy. W patogenezie astmy istotne miejsce zajmują 3 izoformy LOX: 5-LOX, 15-LOX i 12-LOX. W niepobudzonej komórce enzymy te znajdują się w cytozolu. Po aktywacji komórki zachodzi zależna od wapnia ich translokacja do błon w różnych przedziałach komórki [39,40]. Ekspresja 5-LOX ograniczona jest do komórek pochodzenia szpikowego [38]. Pierwsza reakcja szlaku

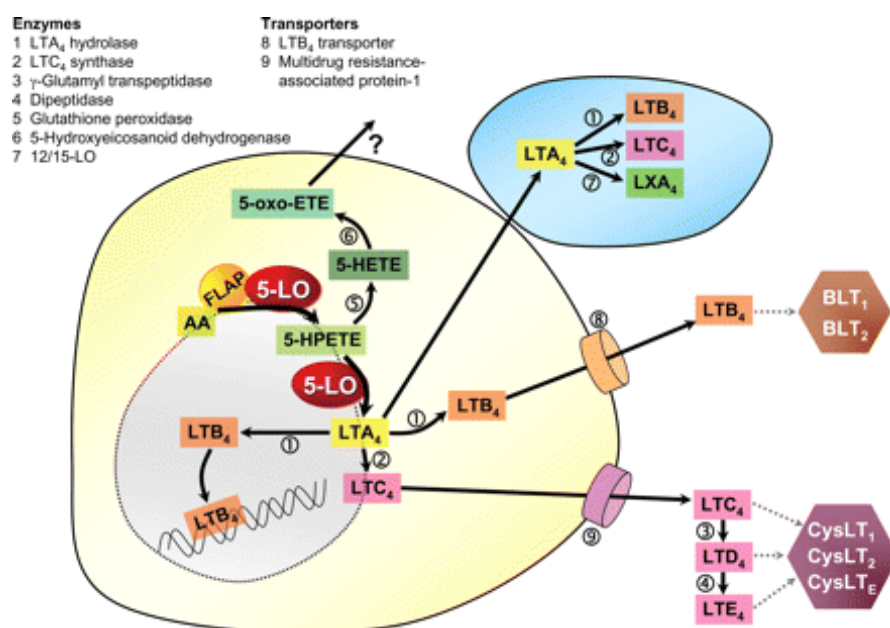
lipoksygenazowego to oksydacja AA prowadzona przez enzym 5-LOX w połączeniu z aktywującym białkiem błonowym FLAP (5-lipoxygenase-activating protein) [41].



Rysunek 1. Szlaki przemian enzymatycznych kwasu arachidonowego (AA). Według A. Narayanankutty i wsp. [38]

Choć samo FLAP nie posiada właściwości enzymatycznych, to zwiększa powinowactwo 5-LOX do substratu. W komórce będącej w stanie spoczynkowym 5-LOX znajduje się w cytoplazmie. W wyniku aktywacji komórki pod wpływem różnych czynników, takich jak bodźce zapalne, reakcja antygen-przeciwciało, stymulacja fizyczna, wzrasta poziom wapnia wewnątrzkomórkowego [42]. Aktywacji ulega cytoplazmatyczna fosfolipaza A<sub>2</sub> (cPLA<sub>2</sub>), która przy udziale jonów wapnia i ATP hydrolizuje fosfolipidy otoczki jądrowej do glicerolu i AA [38]. Równocześnie 5-LOX przemieszcza się do błony jądrowej. W transferze AA do błony jądrowej konieczny jest udział białka FLAP. 5-LOX katalizuje oksydację wolnego rodnika tlenu w pozycji C5 AA tworząc 5-HPETE. Następnie związek ten poddawany jest redukcji i peroksydacji tworząc 5-HETE lub też ulega dehydratacji do nietrwałej pochodnej epoksydowej tworząc leukotrien A<sub>4</sub> (LTA<sub>4</sub>) [41]. Jego dalsze przemiany będą dwukierunkowe. Poprzez enzymatyczną hydrolizę

przy udziale hydrolazy  $LTA_4$  powstaje  $LTB_4$ , natomiast dzięki aktywności syntazy  $LTC_4$  ( $LTC_4S$ ), zwanej również swoistą S-transferazą glutationową,  $LTA_4$  jest sprzęgany ze zredukowanym glutationem tworząc  $LTC_4$  [41].  $LTC_4S$  wydaje się być również związana z białkiem FLAP. Następnie  $LTB_4$  i  $LTC_4$  są transportowane poza komórkę przez specyficzny układ przenośników białkowych. Uwolniony poza komórkę  $LTC_4$  podlega kolejnym reakcjom. Najpierw, za pośrednictwem gamma-glutamylotranspeptydazy, odszczepieniu ulega reszta glutaminowa tworząc  $LTD_4$ . Następnie dipeptydaza odłącza od  $LTD_4$  cząsteczkę glicyny i powstaje  $LTE_4$  (Rysunek 2) [41,43].



Rysunek 2. Biosynteza leukotrienów. Według D. PoECKel i CD. Funk [43]

Spośród CysLT,  $LTE_4$  ma najdłuższy czas półtrwania i jest wydalany z żółcią lub przez nerki w formie niezmienionej lub po acetylacji [44]. Po dożylnym podaniu znakowanego  $LTC_4$ , około 40% wydalano się z żółcią, około 20% z moczem, z czego 4-6% stanowił  $LTE_4$  [44]. Tym samym pomiar stężenia  $LTE_4$  w moczu odzwierciedla pośrednio jego ogólnoustrojową produkcję *in vivo*.

Zdolność do generowania LT uwarunkowana jest obecnością w komórkach niezbędnych do tego enzymów. W większości przypadków komórki, inne niż leukocyty, nie posiadają wystarczającej ilości 5-LOX i FLAP, aby samodzielnie prowadzić syntezę znamiennych ilości LT z AA. Tak więc pierwotne ich źródło stanowią komórki pochodzące ze szpiku kostnego. CysLT syntetyzowane są przede wszystkim przez eozynofile i mastocyty oraz w nieco mniejszym stopniu przez bazofile, monocyty i



makrofagi [45]. Natomiast  $LTB_4$  produkowany jest w głównej mierze przez neutrofile, a w mniejszych ilościach przez monocyty i makrofagi [45].

### 1.3.2. Alternatywny sposób produkcji leukotrienów

Pierwotnym źródłem LT pozostają leukocyty, niemniej niektóre inne komórki, jak np. neutrofile we współpracy z płytkami krwi wykazują ekspresję enzymów końcowej części przemian AA i po wchłonięciu  $LTA_4$  przekształcają go do form bioaktywnych na drodze biosyntezy transkomórkowej opisanej po raz pierwszy przez Marcusa w 1982 r. [46]. LT, jako cząsteczki lipidowe swobodnie przenikają przez błony komórkowe. Produkcja eikozanoidów może przebiegać przy współdziałaniu różnych komórek, z których każda przeprowadza jedynie pewną część reakcji koniecznych do uzyskania produktu końcowego. Taki sposób współpracy różnych typów komórek umożliwia miejscowe generowanie znacznych ilości danego związku w miejscu jego zapotrzebowania, np. w zapalnie zmienionej tkance [47].

### 1.3.3. Receptory leukotrienowe

LT wiążą się ze specyficznymi receptorami należącymi do klasy receptorów rodopsynowych (nadrodzina GPCR; *G protein-coupled receptor*), które zlokalizowane są w zewnętrznej błonie komórkowej komórek zapalnych oraz rzadziej w komórkach strukturalnych [48]. U ludzi, geny dla receptorów CysLT1 (CysLT1R) i CysLT2 (CysLT2R) zlokalizowane są na ramionach długich, odpowiednio chromosomów 10 i 13 [49]. Na podstawie powinowactwa do tak zwanych klasycznych antagonistów (np. montelukast, zafirlukast, pranlukast) dokonano podziału receptorów CysLT na 2 klasy [50]. Wyżej wymienieni klasyczni antagoniści hamują działanie CysLT1R, natomiast pozostają bez uchwytne wpływu na reakcje mediowane przez CysLT2R. Jedynym antagonistą hamującym działanie obu typów receptorów jest analog  $LTE_4$  – BAY u9773 [51]. Niemniej działanie tej substancji nie jest ani zbyt silne, ani zbyt specyficzne dla CysLT w tkankach ludzkich, a ponadto wykazuje częściowe działanie agonistyczne dla CysLT2R.

Większość efektu działania CysLT w astmie mediowana jest przez CysLT1R. Ich ekspresję stwierdzono na powierzchni monocytów, makrofagów, eozynofilów, bazofilów, mastocytów, neutrofilów, limfocytów T, limfocytów B, nisko zróżnicowanych hemopoetycznych komórek szpiku (CD34+), komórek nabłonka nosa, komórek mięśni gładkich

oskrzeli, fibroblastów oskrzeli oraz komórek śródbłonka naczyń [52]. Stymulacja CysLT1R powoduje długotrwały skurcz oskrzeli, wydzielanie śluzu w drogach oddechowych i prowadzi do obrzęku błon śluzowych [53,54].

Badania na modelach mysich wykazały, że stymulacja CysLT2R nie powodowała skurczu oskrzeli [46]. U ludzi, obecność tych receptorów stwierdzono w sercu, komórkach śródbłonka naczyń, komórkach mięśni gładkich, nadnerczach oraz w centralnym systemie nerwowym [55]. Ponadto wykazano ekspresję CysLT2R w bazofilach krwi obwodowej, komórkach śródbłonka oraz w eozynofilach i mastocytach pobranych z nosa chorych na alergiczny nieżyt nosa [56]. Rola CysLT2R w procesach alergicznych jest słabo poznana. Badając funkcję tych receptorów na modelach zwierzęcych i u ludzi stwierdzono wręcz ich działanie prozapalne [55].

Efekty pobudzenia CysLT1R i CysLT2R zdają się nie wyczerpywać całości efektów działania CysLT. Postuluje się istnienie trzeciego typu receptora dla CysLT (CysLT3R) oraz osobnego receptora dla  $LTE_4$  – CysLT<sub>E</sub>R [51]. Obecnie trwają badania mające na celu ich identyfikację.

$LTB_4$  przyłącza się do 2 typów receptorów: BLT1R i BLT2R, które należą do nadrodziny receptorów GPCR. Geny kodujące powyższe receptory znajdują się na chromosomie 14 [57]. BLT1R, o wysokim powinowactwie do  $LTB_4$ , odpowiedzialne są za większość obecnie zidentyfikowanych prozapalnych i chemotaktycznych funkcji  $LTB_4$  i znajdują się przede wszystkim na komórkach zapalnych (granulocyty, monocyty, makrofagi, mastocyty, komórki dendrytyczne, efektorowe komórki T) [57]. BLT2R wykazują niskie powinowactwo do  $LTB_4$  i mogą również przyłączać inne eikozanoidy [58]. Występują w wielu tkankach, ale ich funkcja biologiczna jest mało znana.

#### **1.3.4. Rola leukotrienów i receptorów leukotrienowych w astmie oskrzelowej**

CysLT i  $LTB_4$  pełnią istotną rolę w patogenezie astmy. Ich znaczenie może być różne, w zależności od endotypu tej choroby. Wiadomo, że LT wykazują silne właściwości prozapalne i w sposób istotny przyczyniają się do rozwoju i utrzymania przewlekłego stanu zapalnego w drogach oddechowych. Ponadto, są to substancje najsilniej kurczące oskrzela u ludzi [59]. U osób zdrowych występuje swoista równowaga między eikozanoidami kurczącymi (CysLT) i rozszerzającymi oskrzela (prostaglandyna  $E_2$ ;  $PGE_2$ ), co zapewnia utrzymanie odpowiedniego napięcia mięśni gładkich ściany drzewa oskrzelowego. W astmie, zmiana stężenia LT zaburza tę równowagę i w znaczący sposób wpływa na

występowanie objawów chorobowych [51]. Sugeruje się, że jedną z przyczyn stale zwiększonego napięcia mięśni gładkich ściany oskrzeli w astmie przewlekłej może być konstytutywna nadprodukcja CysLT [51]. Chociaż LTC<sub>4</sub> i LTD<sub>4</sub> są mniej trwale niż LTE<sub>4</sub>, to właśnie one, poprzez oddziaływanie na CysLTR (przede wszystkim na CysLT1R), wykazują silne właściwości kurczące mięśnie gładkie oskrzeli. LTE<sub>4</sub> wpływa również na napięcie ścian oskrzeli, ale nie poprzez wpływ na CysLT1R i CysLT2R, których jest słabym agonistą, a poprzez oddziaływanie na odrębne, jeszcze niezidentyfikowane typy receptorów [51].

CysLT zwiększają przepuszczalności naczyń w ścianie oskrzeli, co prowadzi do wystąpienia obrzęku i rozwoju stanu zapalnego. Do rozwoju obrzęku dochodzi prawdopodobnie na drodze oddziaływań CysLT i LTB<sub>4</sub>. LTB<sub>4</sub>, jako chemoatraktant, powoduje napływ leukocytów w miejsce tworzenia obrzęku. Leukocyty dostarczają stosownych ilości LTA<sub>4</sub>, który następnie w komórkach nabłonka przetwarzany jest do CysLT, a te z kolei indukują rozluźnienie zespoleń między komórkami nabłonka [60]. Wyniki badań prowadzonych na szczurach wskazują, iż proliferację komórek mięśni gładkich i remodeling oskrzeli stymulowane są przede wszystkim przez LTD<sub>4</sub> [61]. Jak dotychczas, nie potwierdzono bezpośredniego wpływu LTD<sub>4</sub> na remodeling oskrzeli u ludzi, niemniej LTD<sub>4</sub> wydaje się potencjalizować w tym zakresie działanie czynnika wzrostu nabłonka (EGF; *epithelial growth factor*) [62]. Badania stężeń CysLT w kondensacie wydychanego powietrza korelowało z pogrubieniem warstwy podstawnej błony śluzowej oskrzeli u ludzi [63].

Liczne badania wskazują, iż u chorych na astmę, już w okresie spoczynkowym, stężenia CysLT mogą być podwyższone i dalej wzrastają po ekspozycji na alergen, po wysiłku, czy po prowokacji aspiryną. Badania indukowanej płwociny wykazały wyższe stężenia CysLT u chorych z ciężką postacią astmy niż z lżejszą [64]. Badania popłuczyn oskrzelowo-pęcherzykowych (BAL; *bronchoalveolar lavage*) u astmatyków wykazały znaczny wzrost stężenia LTC<sub>4</sub> po ekspozycji na alergen, co bezpośrednio korelowało z nasileniem stanu zapalnego [65]. W astmie alergicznej, wraz ze wzrostem liczby eozynofiliów stwierdzono wzrost stężenia CysLT w BAL i w moczu [51,65]. Pod wpływem mediatorów parakrynych wydzielanych przez mastocyty i limfocyty, CysLT zwiększają okres przeżycia eozynofiliów, promują ich dojrzewanie, a jako chemoatraktanty stymulują rekrutację ze szpiku kostnego i migrację tych komórek do płuc [51]. W badaniach indukowanej płwociny i kondensatu wydychanego powietrza przeprowadzonych u chorych na astmę wysiłkową, stwierdzono wzrost stężenia CysLT bezpośrednio po wysiłku

fizycznym [66]. Również w moczu chorych na astmę wysiłkową stwierdzono wzrost stężenia LTE<sub>4</sub> po wysiłku [66]. Rolę CysLT w tym fenotypie astmy dodatkowo potwierdza skuteczne stosowanie antagonistów CysLT1R, a także inhibitorów 5-LOX (zileuton) w zapobieganiu atakom astmy wywołanym wysiłkiem [51].

W badaniach osocza, płwociny i BAL uzyskanych od chorych na astmę, w porównaniu z osobami zdrowymi, wykazano również wyższe stężenia LTB<sub>4</sub> [51,67,68]. W patogenezie astmy, LTB<sub>4</sub> spełnia swoją rolę przede wszystkim poprzez wpływ na aktywację i migrację komórek zapalnych do zapalnie zmienionej tkanki [51,68]. W badaniach na myszach stwierdzono, że LTB<sub>4</sub>, poprzez działanie na BLT1R, powoduje rekrutację neutrofilów, a także efektorowych komórek T w odpowiedzi na stymulację alergenem [51]. W badaniach na modelach zwierzęcych stwierdzono, iż zastosowanie antagonisty LTB<sub>4</sub> zapobiegało akumulacji neutrofilów w płucach, natomiast pozostawało bez wpływu na napływ eozynofiliów [51]. Choć LTB<sub>4</sub> nie powoduje bezpośrednio skurczu oskrzeli, to może on oddziaływać na to zjawisko pośrednio, np. poprzez wpływ na wydzielanie tromboksanu A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>) i histaminy przez mastocyty [51]. Po inhalacji metacholiny u chorych na astmę, obserwowano wzrost stężenia LTB<sub>4</sub> w BAL [67]. Podobnego efektu nie obserwowano u osób zdrowych.

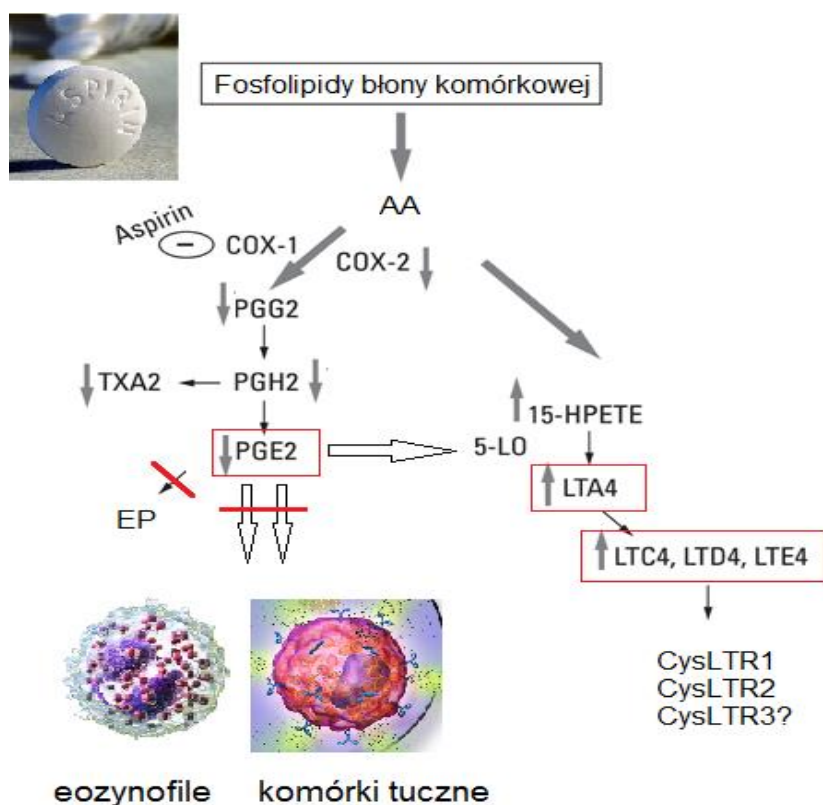
#### **1.4. Astma aspirynowa – patogeneza**

Astma aspirynowa, określana w niniejszej pracy skrótem AERD, jest jednym z najlepiej scharakteryzowanych pod względem klinicznym fenotypów astmy. Natomiast patomechanizm jej powstawania nie został dotychczas w pełni wyjaśniony. Rozważając patogenezę tej choroby należy wyróżnić: 1) przewlekłe eozynofilowe zapalenie błony śluzowej górnych i dolnych dróg oddechowych (uznawane obecnie za podstawę tej choroby) oraz 2) zmiany zachodzące bezpośrednio po przyjęciu aspiryny i innych NLPZ (inhibitorów COX1) prowadzące do typowych ostrych reakcji ze strony górnych i dolnych dróg oddechowych [24].

Warto podkreślić, że reakcja nadwrażliwości na NLPZ, choć dość charakterystyczna w swojej manifestacji klinicznej, może wystąpić jedynie okazjonalnie, czasami tylko jeden raz w życiu chorego lub może pozostać niezauważona i zależy od stosowania przez niego leków z grupy NLPZ. Natomiast sama AERD, jako choroba, rozwija się niezależnie od przyjmowania aspiryny i innych NLPZ [24].

### 1.4.1. Ostra reakcja po przyjęciu aspiryny i innych NLPZ

Jak dotychczas, jedyną szeroko przyjętą hipotezą wyjaśniającą patomechanizm zaostrzeń AERD po przyjęciu NLPZ jest opracowana w latach 70. ubiegłego stulecia teoria cyklooksygenazowa [69] (Rysunek 3). W 1971 r., dzięki badaniom Vane'a [70] wyjaśniono przeciwzapalny mechanizm działania aspiryny. Badania przeprowadzone w 1975 roku przez Profesorów Szczeklika i Gryglewskiego [69] wykazały, iż wszystkie NLPZ wywołujące u chorych na AERD napady duszności hamują COX. W badaniu tym zaobserwowano również związek pomiędzy siłą hamowania COX *in vitro* a stopniem nasilenia skurczu oskrzeli *in vivo*. Dalszych argumentów na rzecz powyższej teorii dostarczyło odkrycie dwóch izoform COX: konstytutywnej COX-1 oraz indukowanej czynnikami zapalnymi COX-2 [71]. Silne inhibitory COX-1, których reprezentantem jest aspiryna, powodują powstanie objawów u wszystkich chorych na AERD. Natomiast związki słabo blokujące COX-1 (np. acetaminofen) oraz selektywne inhibitory COX-2 w większości przypadków okazały się dobrze tolerowane przez tego typu chorych [72].



Rysunek 3. Patomechanizm ostrej reakcji po przyjęciu aspiryny i innych NLPZ u chorych na AERD

Na tej podstawie zaproponowano teorię, która zakłada, że aspiryna i inne NLPZ będące silnymi inhibitorami COX-1, poprzez transacetylację COX-1 powodują zablokowanie miejsca aktywnego tego enzymu [73]. W wyniku tej reakcji u chorych na AERD dochodzi do zaburzeń przemiany AA, czego efektem są silne napady duszności astmatycznej, którym niejednokrotnie towarzyszą objawy ze strony górnych dróg oddechowych. Zablokowanie COX-1 prowadzi do zmian w szlaku przemian COX i LOX (Rysunek 3). Istnieją dwie izoformy COX. COX-1 to forma konstytutywna, obecna w niemal wszystkich komórkach organizmu i niezbędna w utrzymaniu jego homeostazy. Natomiast COX-2 jest formą indukowaną przez różne mediatory prozapalne. U chorych na AERD wykazano zmniejszoną ekspresję COX-2 w komórkach nabłonka dróg oddechowych, czego efektem jest zmniejszona produkcja PGE<sub>2</sub> oraz innych prostaglandyn już w warunkach spoczynkowych [74]. Zażycie aspiryny przez chorych na AERD, poprzez blokadę COX-1 prowadzi do dalszego spadku stężeń substancji produkowanych przez ten enzym, a zwłaszcza PGE<sub>2</sub>. Ponieważ PGE<sub>2</sub> działa hamująco na 5-LOX i FLAP, stąd też obniżenie jej stężenia prowadzi do wzrostu aktywności powyższych enzymów, co w konsekwencji powoduje generowanie znacznych ilości CysLT. To z kolei prowadzi do amplifikacji reakcji zapalnej, skurczu oskrzeli i w efekcie do napadu duszności astmatycznej. Ponieważ PGE<sub>2</sub> hamuje również aktywację eozynofików i mastocytów, dlatego reakcja skurczowa oskrzeli jest dodatkowo potencjalizowana przez mediatory uwalniane z tych komórek. Zasadniczą rolę w wyzwalaniu skurczu oskrzeli po zażyciu aspiryny przez chorych na AERD odgrywa fakt, że PGE<sub>2</sub> działa rozkurczająco na oskrzela, a obniżenie jej stężenia pozbawia oskrzela ochronnego działania tego eikozanoidu [51].

U chorych na AERD poddanych próbie prowokacyjnej z aspiryną, która naśladuje ostrą reakcję po zażyciu tego leku, potwierdzono podwyższone względem wartości spoczynkowych stężenia CysLT w badaniach prawie wszystkich płynów i wydaliny ustrojowych, a więc w moczu [75], w surowicy krwi [76], w ślinie [76], w indukowanej plwocinie [76], w popłuczynach nosa [77], w kondensacie powietrza wydychanego [78] oraz w BAL [79]. Podobnych wzrostów nie obserwowano w grupie chorych na ATA i u osób zdrowych [75]. Z kolei, zastosowanie u chorych na AERD inhalacji z PGE<sub>2</sub> przed wykonaniem próby prowokacyjnej z aspiryną niemal całkowicie blokowało wpływ tego leku, czego wyrazem był brak istotnych zmian w stężeniach LTE<sub>4</sub> w moczu mierzonych przed i po powyższej próbie [80].

Zaburzenie równowagi pomiędzy rozkurczowymi właściwościami PGE<sub>2</sub>, a silnie kurczącymi oskrzela i prozapalnymi efektami działania CysLT stanowi podstawę

patomechanizmu ostrej reakcji po przyjęciu aspiryny przez chorych na AERD. Niemniej proces ten zdaje się być bardziej złożony i wymaga dalszych badań.

Teoria cyklooksygenazowa tłumaczy mechanizm powstawania zaostrzeń choroby po przyjęciu NLPZ przez chorych na AERD, natomiast pozostawia otwartym pytanie, dlaczego pozostali chorzy na astmę oraz osoby zdrowe nie reagują w podobny sposób na zażycie tych leków. Tak więc, różnice w patogenezie AERD i ATA są głębsze i polegają również na zaburzeniach w środowisku komórkowym dróg oddechowych, zmianach w produkcji cytokin, czynników wzrostu, funkcjonowaniu wtórnych przekaźników, enzymów i receptorów. Ważną rolę mogą odgrywać również zaburzenia genetyczne i epigenetyczne, które to dopiero wszystkie razem odpowiedzialne są za patomechanizmy i charakterystyczny obraz choroby.

#### **1.4.2. Astma aspirynowa jako przewlekłe eozynofilowe zapalenie dróg oddechowych**

U chorych na AERD występuje przewlekłe zapalenie zarówno górnych jak i dolnych dróg oddechowych. Badania biopsji błony śluzowej nosa i oskrzeli chorych z tym fenotypem astmy wykazywały kilkakrotnie większą liczbę całkowitą oraz odsetek aktywowanych eozynofilów i mastocytów w porównaniu do grupy ATA [81]. Co ciekawe, liczba ta rosła wraz z czasem trwania choroby oraz pojawianiem się kolejnych objawów "tetrady aspirynowej" [82]. A zatem, nawet bez prowokacji aspiryną, w drogach oddechowych chorych na AERD utrzymuje się aktywny stan zapalny z przewagą eozynofilów i mastocytów, przy współdziałaniu limfocytów T. Aktywacja tych komórek prowadzi do produkcji wielu substancji o właściwościach prozapalnych i regulatorowych, które poprzez wzajemne interakcje tworzą skomplikowaną sieć sygnałów. W błonie śluzowej górnych dróg oddechowych u chorych na AERD stwierdzono m.in. wzrost stężenia kationowego białka eozynofilów (ECP), interleukin (IL-4, IL-5, IL-6, IL-13), GM-CSF, eotaksyny (CCL11), białka chemotaktycznego monocytów 3 (MCP-3/CCL5), RANTES (*Regulated on Activation, Normal T-cell Expressed and Secreted*) [83]. Prace Steinke i wsp. [84] podkreślają istotną rolę IL-4 w patogenezie AERD. Natomiast IL-5 jest istotnym czynnikiem przedłużającym okres przeżycia eozynofilów w przebiegu przewlekłego zapalenia [84,85]. Z kolei w bioptatach polipów nosa pobranych od chorych na AERD stwierdzono zwiększoną ekspresję i wydzielanie cytokiny SCF/sKITLG (*Stem Cell Factor*, znanej również jako *soluble kit-ligand*), która jest istotnym czynnikiem chemotaktycznym dla mastocytów oraz stymuluje ich dojrzewanie i aktywację [86].

Stężenia SCF korelowały z liczbą wykonanych polipektomii nosa, co sugeruje ich istotny wpływ na rozwój polipów nosa. Istotną funkcję zdają się pełnić również płytki krwi. Są one odpowiedzialne za amplifikację reakcji zapalnej w drogach oddechowych; powodują migrację leukocytów do płuc, a także – poprzez produkcję GM-CSF – wydłużają okres półtrwania eozynofiliów [87]. W istotny sposób uczestniczą również w produkcji CysLT [87]. W badaniach bioptatów polipów nosa pobranych od chorych na AERD stwierdzono również obecność limfocytów Th2, podwyższone stężenia IL-5 oraz komórek CD45RO+, co wskazuje na istotną rolę aktywowanych limfocytów T w podtrzymywaniu przewlekłej reakcji zapalnej u tych chorych [85]. Co ciekawe, wyniki ostatnio publikowanych prac sugerują, iż w patogenezie tej choroby istotną rolę odgrywają nie tylko limfocyty Th2, ale również limfocyty Th1 oraz produkowane przez te komórki substancje, m.in.  $INF\gamma$  [85]. Tak więc profil immunologiczny dróg oddechowych chorych na astmę aspirynową nie jest ostatecznie określony i wymaga to dalszych szczegółowych badań.

### **1.4.3. Rola leukotrienów**

U chorych na AERD, podstawowe wydzielanie CysLT, nawet bez dodatkowej stymulacji przez NLPZ, jest znamienne wyższe niż u chorych na ATA, co zostało wielokrotnie potwierdzone w badaniach różnych materiałów biologicznych, m.in. śliny, indukowanej płwociny, kondensatów powietrza wydychanego, popłuczyn nosowych, a także moczu [76-79]. W biopsjach oskrzeli chorych na AERD stwierdzono 5-krotnie wyższy odsetek komórek, w których immunohistologicznie stwierdzono zwiększoną ekspresję LTC<sub>4</sub>S [88]. Równocześnie odsetek ten był 20 razy wyższy niż u osób zdrowych. Na tej podstawie wysunięto hipotezę, że u podłoża AERD leży konstytutywna nadprodukcja CysLT w eozynofilach, mastocytach i makrofagach dróg oddechowych z udziałem LTC<sub>4</sub>S [88]. Badania Sanaka i wsp. [89] wykazały istotną różnicę w częstości występowania polimorfizmu genu LTC<sub>4</sub>S u chorych na AERD w porównaniu z chorymi na ATA, niemniej kolejne badania wskazują, iż polimorfizm ten związany jest raczej z ciężką astmą eozynofilową niż z samą AERD. Chorzy z nadekspresją LTC<sub>4</sub>S w nabłonku dróg oddechowych posiadają zdolność wytworzenia takich ilości CysLT, które są w stanie spowodować znamienne reakcję biologiczną. Ostatnie badania Laidlaw i wsp. [87] wskazują na istotną rolę kooperacji pomiędzy płytkami krwi a leukocytami w procesie syntezy CysLT. Dzięki ekspresji LTC<sub>4</sub>S, płytki krwi mają zdolność przekształcania uwalnianego przez leukocyty LTA<sub>4</sub> do CysLT. Ponadto uwalniają one znaczne ilości 15-HETE i AA, które z kolei przekształcane są przez leukocyty do LTA<sub>4</sub>. Powyżsi badacze



wykazali również silną korelację pomiędzy odsetkiem krążących we krwi granulocytów z przylegającymi do nich płytkami a stężeniem LTE<sub>4</sub> w moczu. U chorych na AERD płytki krwi odpowiadały za ponad połowę całkowitej aktywności LTC<sub>4</sub>S [87]. Tak więc, za amplifikację produkcji CysLT w AERD odpowiadają nie tyle same eozynofile, mastocyty i makrofagi, co kompleksy granulocytów opłaszczonych płytkami, które dzięki syntezie trancelularnej generują duże ilości CysLT.

Rola CysLT w różnicowaniu poszczególnych fenotypów/endotypów astmy oskrzelowej jest jednak słabo poznana. Wielokrotnie wykazano znamienne wyższe średnie stężenie LTE<sub>4</sub> w moczu (hiperleukotrienuria) w warunkach spoczynkowych u chorych na AERD w porównaniu z chorymi na ATA i osobami zdrowymi [75,76,90-98]. Po raz pierwszy tą zależność opisała Christie i wsp. [75] w 1991 roku. Zarówno w tej pracy, jak i w pracach innych autorów były to jednakże tylko różnice pomiędzy średnimi, natomiast w obrębie poszczególnych grup obserwowano nakładanie się wyników. W grupie AERD były bowiem osoby ze względnie niskimi stężeniami LTE<sub>4</sub>, zaś w grupie ATA znajdowały się osoby z wyższymi stężeniami tego metabolitu. Trzeba podkreślić, że dotychczasowe badania obejmowały stosunkowo nieliczne grupy chorych, nigdy nie przekraczające liczby kilkudziesięciu. W tabeli 1 zestawiono wybrane prace dotyczące tego zagadnienia prowadzone w ciągu ostatnich kilkunastu lat. We wszystkich pracach różnica stężeń LTE<sub>4</sub> w moczu pomiędzy grupami AERD i ATA była istotna statystycznie. Poszczególne wartości różniły się jednak w zależności od metodologii przyjętej do oznaczania LTE<sub>4</sub> w moczu. Ponadto, w poszczególnych pracach stosowano różne sposoby prezentacji wyników.

Zaburzenia leżące u podłoża AERD zdają się być jednak bardziej złożone. Podawanie leków antyleukotrienowych ma niewielki wpływ na przebieg choroby, a pozytywne efekty zażywania tych leków odnotowano tylko u części chorych [99]. Zwiększona podstawowa produkcja CysLT wydaje się być bardziej powiązana ze zwiększoną liczbą eozynofilów, a być może również mastocytów w tkankach, a więc z nasileniem zapalenia eozynofilowego niż stanowić odrębny patomechanizm prowadzący do rozwoju AERD. Powyższą tezę zdają się potwierdzać badania Higashi i wsp. [95], w których wykazano silny związek pomiędzy zwiększonym stężeniem CysLT w moczu (leukotrienurią) a obecnością i nasileniem przewlekłego eozynofilowego zapalenia zatok przynosowych i polipów nosa, zarówno u chorych na AERD jak i ATA. Równocześnie stwierdzono znamienne spadki wydzielania CysLT w moczu po zabiegu chirurgicznego usunięcia polipów nosa i tkanek zapalnych z zatok obocznych nosa [95].

W patogenezie AERD postuluje się również nadreaktywność receptorów CysLT1R, których zwiększoną ekspresję stwierdzono w błonie śluzowej nosa tego typu chorych [100].

Tabela 1. Zestawienie wybranych publikacji dotyczących porównania stężeń LTE<sub>4</sub> w moczu u chorych na AERD i ATA

Liczba pacjentów		Stężenie LTE <sub>4</sub> w moczu		Jednostki	Pozycja piśmiennictwa
AERD	ATA	AERD	ATA		
6	6	83,0 (15,0-326,0)	33,8 (10,0-111,0)	średnia geometr. (zakres) <sup>\$</sup>	[75]
10	28	101,0 (55,0-186,0)	43,0 (32,0-57,0)	średnia geometr. (95% CI)	[90]
9	15	112,0 ±54,0	38,0 ±20,0	średnia ± SD <sup>&amp;</sup>	[91]
22	17	340,0 ±47,0	65,0 ±15,0	średnia ± SD <sup>\$</sup>	[92]
13	10	180,0 (61,6-660,0)	122,1 (68,8-193,4)	mediana (zakres) <sup>\$</sup>	[93]
65	66	1420,9 ±1185,9	482,8 ±337,5	średnia ± SD <sup>\$</sup>	[94]
64	73	227,2(30,9-1465,7)	90,3 (16,5-915,8)	mediana (zakres) <sup>\$</sup>	[95]
67	51	433,0 ±361,7	333,1 ±202,8	średnia ± SD <sup>\$</sup>	[96]
11	10	90,0 (66,0-120,0)	41,0 (35,0-52,0)	średnia (IQR) <sup>&amp;</sup> .	[76]
8	16	2371,0 (1012,3-10284,0)	373,5 (173,3-1110,0)	mediana (IQR) <sup>\$</sup>	[97]
20	18	2231,0 (1073,7-3443,2)	511,5 (427,0-908,0)	mediana (IQR) <sup>\$</sup>	[98]
247	239	2190,3 ±3416,7	618,5 ±778,3	średnia ± SD <sup>\$</sup>	
		783,0 (1790,0)	408,0 (490,0)	mediana (IQR) <sup>\$</sup>	
<sup>\$</sup> pg/mg kreat., <sup>&amp;</sup> ng/mmol kreat.					

<b>Pierwszy autor (rok)</b>
Christie PE (1991)
Smith CM (1992)
Kumlin M (1992)
Oosaki R (1997)
Higashi N (2002)
Bochenek G (2003)
Higashi N (2004)
Micheletto C (2006)
Gaber F (2008)
Celejewska –Wójcik N (2012)
Pezato R (2016)
Niniejsze badanie

#### **1.4.4. Rola prostaglandyn**

U chorych na AERD główną rolę w syntezie PGE<sub>2</sub> odgrywa COX-2. W drogach oddechowych chorych na AERD ekspresja COX-2 jest obniżona, co prowadzi do zmniejszonej produkcji PGE<sub>2</sub> [101]. Badania ekspresji PGE<sub>2</sub> w hodowlach fibroblastów i komórek mięśni gładkich oskrzeli, w błonie śluzowej polipów nosa oraz w leukocytach krwi obwodowej dowodzą zmniejszonej ilości PGE<sub>2</sub> u chorych na AERD w porównaniu z chorymi na ATA [102,103]. Efekt działania PGE<sub>2</sub> jest plejotropowy i zależy od rodzaju komórek i tkanek, w których jest ona syntetyzowana. Głównymi komórkami odpowiedzialnymi za syntezę tego związku w płucach są komórki nabłonka oraz mięśni gładkich oskrzeli. PGE<sub>2</sub> stanowi istotny element w utrzymywaniu równowagi reakcji zapalnych oraz prowadzi do rozkurczu oskrzeli. Prostaglandyna ta hamuje migrację eozynofików do dróg oddechowych, blokuje aktywację eozynofików i mastocytów poprzez działanie na receptory EP2 [104], jak również indukuje fosforylację i hamuje przemieszczanie 5-LOX do otoczki jądrowej, przez co pośrednio reguluje produkcję CysLT [105]. Wreszcie, hamuje ona produkcję kolagenu przez fibroblasty, zapobiegając remodelingowi dróg oddechowych [104,105].

Istotne znaczenie w patogenezie AERD pełnią także receptory PGE<sub>2</sub>. W badaniach neutrofilów, komórek tucznych oraz eozynofików błony śluzowej nosa u chorych na AERD stwierdzono zmniejszoną ekspresję receptora EP2 [106]. Funkcjonalny niedobór PGE<sub>2</sub> u chorych na AERD stanowi jeden z najistotniejszych elementów patogenezy tej choroby. Zmniejszona ilość PGE<sub>2</sub> wraz z obniżoną ekspresją receptora EP2 w komórkach dróg oddechowych promuje aktywację eozynofików, mastocytów oraz syntezę CysLT.

U chorych na AERD stwierdzono konstytutywną nadprodukcję prostaglandyny D<sub>2</sub> (PGD<sub>2</sub>), która poprzez wydłużenie przeżycia eozynofików, mastocytów oraz ułatwienie infiltracji oskrzeli przez limfocyty T przyczynia się do rozwoju przewlekłego stanu zapalnego dróg oddechowych [94].

#### **1.4.5. Rola tromboksanu**

W badaniach BAL pozyskanych od chorych na AERD stwierdzono wyższe stężenia metabolitów tromboksanu A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>) niż u chorych na ATA [107]. Natomiast po prowokacji z aspiryną ich stężenia uległy obniżeniu. TXA<sub>2</sub> powoduje skurcz oskrzeli

poprzez aktywację receptora TP. Działanie TXA<sub>2</sub> i CysLT na oskrzela wydaje się być powiązane. Możliwe, iż część efektu działania LTE<sub>4</sub> mediowana jest przez receptory TP [108]. Prawdopodobnie TXA<sub>2</sub> pośrednio hamuje również produkcję CysLT poprzez wpływ na płytki krwi [108].

#### **1.4.6. Rola infekcji bakteryjnych i wirusowych**

Doniesienia ostatnich lat wykazały znamienne wyższe miana specyficznych przeciwciał IgE przeciwko enterotoksynie B *Staphylococcus aureus* (SAE B) w osoczu oraz w bioptatach polipów nosa chorych na AERD w porównaniu z chorymi na ATA [109]. Stężenia SAE B korelowały z poziomami ECP, eotaksyny i IL-5 [110]. Obecnie nie wiadomo, czy zjawisko to wskazuje na predyspozycję do kolonizacji tą bakterią, czy też odzwierciedla zaburzenia odpowiedzi immunologicznej przyczynowo związane z rozwojem AERD.

W 1988 roku Profesor Szczeklik [111] zaproponował wirusową teorię rozwoju AERD. W badaniach przeprowadzonych w następnych latach, w komórkach nabłonka dróg oddechowych wykryto obecność transkryptów mRNA HRV (*Human Rhinovirus*) u 100% chorych na AERD i tylko u 73% chorych na ATA [112]. Na tej podstawie wysunięto hipotezę, iż astma oskrzelowa – a AERD w szczególności – może być chorobą układu oddechowego zaostrzaną przez infekcje wynikające z zaburzeń odporności przeciwwirusowej. Otwartym pozostaje nadal pytanie, czy zaburzenia te są wtórne, czy też są pierwotnie związane z rozwojem choroby.

### **1.5. Astma aspirynowa – diagnostyka**

#### **1.5.1. Diagnostyka *in vivo***

Dokładnie zebrany wywiad pozwala z dużym prawdopodobieństwem wysunąć podejrzenie nadwrażliwości na aspirynę i inne NLPZ, jednakże ostateczne rozpoznanie powinno zostać postawione po wykonaniu testu prowokacyjnego z aspiryną. Istnieją następujące możliwości podawania aspiryny: doustnie, w inhalacji, donosowo oraz dożylnie [113]. Obecnie za „złoty standard” uważa się doustny test prowokacyjny z aspiryną, ponieważ ta droga podawania leku odzwierciedla naturalną ekspozycję [114]. Zaletą tej metody jest największa łatwość przeprowadzenia testu, gdyż potrzebna jest tylko

aspiryna w odpowiednich dawkach i spirometr. Jest ona jednak czasochłonna (trwa 2 dni), wymaga hospitalizacji chorego i wiąże się z ryzykiem wystąpienia reakcji ogólnoustrojowych. Czulość i specyficzność tej metody zostały ocenione odpowiednio na 89% i 93% [114]. Test inhalacyjny i donosowy są bezpieczniejsze, jednak wymagają zastosowania rozpuszczalnej w wodzie, trudniej osiągalnej aspiryny lizynowej i posiadania odpowiedniego sprzętu. Czulość i specyficzność testu inhalacyjnego oceniono odpowiednio na 77% i 93% [115], natomiast testu donosowego odpowiednio na 86,7% i 95,7% [116]. Należy pamiętać, że ujemny wynik obu tych testów nie wyklucza nadwrażliwości na NLPZ i w wątpliwych przypadkach wymaga ostatecznego potwierdzenia za pomocą testu doustnego [114].

Testy prowokacyjne z aspiryną nie są rutynowo wykonywanymi badaniami. Z powodu przedstawionych powyżej ograniczeń przeprowadza się je jedynie w ośrodkach wysokospecjalistycznych, pod nadzorem doświadczonego personelu medycznego, z możliwością udzielenia natychmiastowej pomocy w razie wystąpienia poważnych reakcji ogólnoustrojowych. Przed wykonaniem testu wymagana jest kwalifikacja chorego, który musi spełniać odpowiednie kryteria zapewniające bezpieczeństwo badania. Chory powinien być w stanie stabilnym, astma dobrze kontrolowana, a wartość  $FEV_1$  – nie niższa niż 70% wartości należnej. Ponadto, przed badaniem należy czasowo odstawić niektóre leki, które potencjalnie mogłyby „maskować” dodatni wyniki testu (glikokortykosteroidy doustne,  $\beta_2$ -mimetyki długodziałające, leki przeciwleukotrienowe i antyhistaminowe). Niestety część pacjentów, zwłaszcza z ciężką astmą, przy każdej próbie odstawienia leków pogarsza się na tyle, że nie kwalifikuje się do przeprowadzenia testu prowokacyjnego. W takich wypadkach rozpoznanie AERD można postawić wyłącznie na podstawie charakterystycznego wywiadu [113].

### **1.5.2. Diagnostyka *in vitro***

Biorąc pod uwagę wymienione wcześniej ograniczenia testów prowokacyjnych z aspiryną, prowadzone są intensywne badania nad opracowaniem testów laboratoryjnych umożliwiających rozpoznawanie AERD w sposób mniej inwazyjny. Na przestrzeni ostatnich kilkudziesięciu lat, wraz ze zmianą rozumienia patomechanizmów tej choroby, proponowano różne metody badań *in vitro*. Wiele z nich ma już tylko znaczenie historyczne i nie znalazło szerszego zastosowania [117]. W stosowanej metodyce

widoczna jest zmiana wykorzystywanych badań, z prostych procedur immunologicznych na wieloczynnikowe analizy różnych substancji, co odzwierciedla postęp wiedzy o złożonych patomechanizmach prowadzących do rozwoju tej choroby. W chwili obecnej proponowanych jest kilka testów *in vitro*, niemniej żaden z nich nie znalazł zastosowania w codziennej diagnostyce AERD.

W teście aktywacji bazofilów (*Basophil Activation Test*; BAT) granulocyty zasadochłonne pobrane z obwodowej krwi żyłnej poddaje się inkubacji w roztworach o różnych stężeniach NLPZ. Następnie komórki te są znakowane za pomocą przeciwciał skierowanych przeciw IgE oraz CD63 (lub CD203). CD63 i CD203 to białka związane z błoną komórkową, które podlegają ekspresji w aktywowanych bazofilach. W cytometrii przepływową, dzięki detekcji fluorescencyjnej, określa się liczbę znakowanych bazofilów. Metoda ta została opracowana w 2000 r. przez de Wecka [120]. W kolejnych latach prowadzono badania nad jej udoskonaleniem. Zależnie od przyjętych metod, ustalono czułość BAT na 10-64%, a specyficzność na 75-100% [119]. Określenie przydatności klinicznej BAT wymaga dalszych badań.

Test stymulowania komórek alergenem (*Cellular Allergen Stimulation Test*; CAST) polega na inkubacji bazofilów pobranych z obwodowej krwi żyłnej w roztworach o różnych stężeniach NLPZ w obecności IgE lub składników dopełniacza (C5a). Następnie, przy użyciu metod immunologicznych stosuje się enzym specyficzny dla CysLT uwalnianych z aktywowanych bazofilów. Metoda CAST po raz pierwszy została zaproponowana przez de Wecka i wsp. [120] w 1993 r. Czułość tej metody wynosi 41-82%, a specyficzność 82-100%. Jednakże nowsze prace sugerują, iż u chorych na AERD aspiryna i inne NLPZ mogą powodować niespecyficzną aktywację bazofilów, co w zasadzie eliminuje przydatność CAST w diagnozowaniu tej choroby [121].

Stosując jednocześnie cytometrię przepływową oraz CAST (Flow-CAST), uzyskany wynik uwzględnia użycie obu technik. Połączenie powyższych metod zwiększało czułość oznaczeń (73%), jednak równocześnie zmniejszało ich specyficzność (71%) [117]. Obecnie przyjmuje się, iż na podstawie ujemnego wyniku Flow-CAST, nie można wykluczyć nadwrażliwości na NLPZ i konieczna jest próba prowokacyjna z aspiryną [122].

Test identyfikacji pacjentów nadwrażliwych na aspirynę (*Aspirin-Sensitive Patients Identification Test*; ASPI Test) polega na badaniu leukocytów krwi obwodowej poddanych ekspozycji na różne stężenia NLPZ. Jest to metoda immunologiczna, w której stosuje się

enzym specyficzny dla 15-HETE. Jako punkt odcięcia dla identyfikacji pacjentów z nadwrażliwością na NLPZ uznaje się wzrost stężenia 15-HETE o 6% [117]. Badając nabłonek polipów nosa oraz leukocyty krwi obwodowej chorych na astmę, obecność 15-HETE stwierdzono tylko u chorych nadwrażliwych na aspirynę [117]. Wydzielanie 15-HETE ulega zahamowaniu po podaniu mizoprostolu – analogu PGE<sub>1</sub> [117]. Na podstawie powyższych obserwacji Kowalski i wsp. [123] ustalili, iż wydzielanie 15-HETE z leukocytów krwi obwodowej pod wpływem aspiryny odpowiada podobnym reakcjom *in vivo*. Czulość tej metody szacuje się na 63-83%, a specyficzność na 50-82% [123].

W badaniu wydzielania eikozanoidów przez leukocyty krwi obwodowej (*Functional Eicosanoid Testing and Typing*; FET), określa się stężenia PGE<sub>2</sub> i LT przy użyciu metod immunoenzymatycznych. W buforach stosuje się różne stężenia aspiryny, neuropeptydów i kwasu arachidonowego. Wartości wyników kwalifikuje się do jednej z 4 grup w skali od 0 do 3. Niektóre badania wskazują, iż klasyfikacja do jednej z wyżej wymienionych grup może mieć znaczenie prognostyczne [124]. Wstępne wyniki stosowania powyższej metody w diagnostyce AERD są obiecujące, niemniej FET nie znalazła jak dotąd szerszego zastosowania.

Test wydzielania PGF<sub>2α</sub> w osoczu (*Serum-PGF<sub>2α</sub> Test*; SPT) opiera się na obserwowanym u chorych na AERD wzroście stężeń PGF<sub>2α</sub> w osoczu po podaniu aspiryny. Podobnej zależności nie stwierdzono u chorych na ATA [125]. Źródłem PGF<sub>2α</sub> są w tym przypadku płytki krwi [126]. W SPT, do osocza uzyskanego z krwi obwodowej dodaje się pewną ilość aspiryny i za pomocą metod radioimmunologicznych mierzy się stężenia PGF<sub>2α</sub>. Choć wyniki badań są obiecujące, brak prac dokumentujących szersze zastosowanie tej metody.

Badanie mediatorów w popłuczynach nosowych (*Mediators in Nasal Lavage Test*; MNLT) nie jest *par excellence* testem *in vitro* i wymaga wykonania prowokacji z użyciem aspiryny lizynowej. Za pomocą metod immunoenzymatycznych określa się stężenia cytokin – białka chemotaktycznego monocytów 3 (MCP-3) oraz chemokiny RANTES. Porównanie chorych na astmę z i bez nadwrażliwości na aspirynę wykazało podwyższone stężenia MCP-3/CCL5 i RANTES u tych pierwszych [127]. Konieczne są jednak dalsze badania określające przydatność MNLT w diagnozowaniu AERD.



## 2. ZAŁOŻENIA I CELE PRACY

CysLT pełnią istotną rolę w patogenezie AERD. Choroba ta charakteryzuje się nadprodukcją CysLT w warunkach spoczynkowych [75,76,90-98]. Po prowokacji aspiryną ich stężenie w płynach ustrojowych, między innymi w moczu, jeszcze bardziej wzrasta [94]. LTE<sub>4</sub>, jako końcowy metabolit na szlaku przemian CysLT, jest najbardziej stabilny i posiada najdłuższy czas połowicznego rozpadu. Dlatego też uważa się go za najbardziej wiarygodny wskaźnik endogennej syntezy CysLT [51]. Wydalany jest on głównie z moczem, stąd mocz jest najczęściej wykorzystywany do jego oznaczania. W wielu badaniach wykazano, że średnie stężenie LTE<sub>4</sub> w moczu mierzone w warunkach spoczynkowych było znamienne wyższe u chorych na AERD (hiperleukotrienuria) niż u chorych na ATA i u osób zdrowych [75,76,90-98]. Były to jednakże tylko różnice pomiędzy średnimi, natomiast w obrębie poszczególnych grup chorych obserwowano nakładanie się wyników. Szczególnie wysokie stężenia LTE<sub>4</sub> stwierdzano u chorych z przewlekłym eozynofilowym zapaleniem zatok i polipami nosa, nawet bez towarzyszącej nadwrażliwości na aspirynę [93]. Trzeba jednak podkreślić, iż wyżej wymienione badania obejmowały stosunkowo nieliczne grupy chorych, nigdy nie przekraczające liczby kilkudziesięciu.

Biorąc pod uwagę wymienione wcześniej ograniczenia testów prowokacyjnych z aspiryną, prowadzone są intensywne badania nad opracowaniem testów laboratoryjnych umożliwiających rozpoznawanie AERD w sposób nieinwazyjny. W chwili obecnej żaden z proponowanych testów *in vitro* nie znalazł zastosowania w codziennej diagnostyce klinicznej tego fenotypu astmy.

Głównym celem niniejszej pracy była:

Ocena przydatności oznaczania stężenia LTE<sub>4</sub> w moczu za pomocą testu ELISA, jako nieinwazyjnej metody diagnostycznej *in vitro* pozwalającej na rozpoznanie AERD.

Celami szczegółowymi pracy było:

1. Porównanie pod względem wybranych parametrów klinicznych, laboratoryjnych i stężenia LTE<sub>4</sub> w moczu grupy chorych na AERD z grupą chorych na ATA.
2. Wyznaczenie wartości stężenia LTE<sub>4</sub> w moczu najlepiej różnicującej grupy chorych na AERD i ATA.

3. Ustalenie wartości diagnostycznej oznaczania stężenia LTE<sub>4</sub> w moczu jako pojedynczego parametru pozwalającego na rozpoznanie AERD.
4. Ustalenie najważniejszych parametrów klinicznych i laboratoryjnych będących potencjalnymi predyktorami pozwalającymi na rozpoznanie AERD.
5. Próba stworzenia modelu diagnostycznego pozwalającego na rozpoznanie AERD i ustalenie wartości oznaczania stężenia LTE<sub>4</sub> w moczu jako składowej tego modelu.

### 3. MATERIAŁ I METODY

#### 3.1. Grupy badane

Badaniem zostały objęte 3 grupy osób obu płci w wieku powyżej 18 lat:

1. chorzy na AERD (n = 247),
2. chorzy na ATA (n = 239),
3. osoby zdrowe stanowiące grupę kontrolną (n = 95).

Pacjenci z dwóch pierwszych grup byli rekrutowani spośród chorych pozostających pod opieką Przychodni Przyklinicznej Kliniki Pulmonologii II Katedry Chorób Wewnętrznych im. Prof. Andrzeja Szczeklika UJ CM w Krakowie lub spośród pacjentów hospitalizowanych w Oddziale Klinicznym Pulmonologii tejże Katedry.

Grupę 1. stanowili chorzy, którzy mieli rozpoznaną AERD na podstawie typowego wywiadu i w większości przypadków dodatniego wyniku doustnej lub wziewnej próby prowokacyjnej z aspiryną wykonanej w przeszłości lub w trakcie trwania projektu badawczego. U 42 chorych (17,3%) rozpoznanie oparto wyłącznie na bardzo charakterystycznym wywiadzie. Dotyczyło to chorych z ciężką steroidozależną astmą, u których ze względu na zbyt niskie FEV<sub>1</sub> i konieczność stałego zażywania wysokich dawek glikokortykosteroidów doustnych próba prowokacyjna z aspiryną nie była nigdy możliwa do wykonania.

Do grupy 2. byli kwalifikowani chorzy na astmę, którzy w wywiadzie zgłaszali dobrą tolerancję aspiryny i innych NLPZ. U losowo wybranych chorych (n = 21) wykonano próbę prowokacyjną z aspiryną celem potwierdzenia przynależności do stosowanej grupy.

Wszyscy pacjenci byli włączani do badania w stabilnym okresie choroby, bez zaostrzeń astmy w ciągu 6 tygodni poprzedzających udział w badaniu.

Osoby zdrowe, niechorujące na astmę, alergię, z negatywnym wywiadem w kierunku jakichkolwiek reakcji niepożądanych po NLPZ, z prawidłową funkcją nerek oraz bez innych istotnych obciążeń zdrowotnych byli ochotnikami pozyskiwanymi wśród personelu Kliniki i ich rodzin.

Dane uzyskane od osób biorących udział w badaniu wprowadzono do bazy danych programu Microsoft Excel. Baza danych została zabezpieczona przed dostępem osób nieupoważnionych. Dane pacjentów, wyniki i rozpoznania były ściśle chronione tajemnicą

lekarską. Uczestnikom na wstępie został przedstawiony cel badania, po czym wyrazili oni świadomą i dobrowolną pisemną zgodę na udział w badaniu.

Projekt badania uzyskał pozytywną zgodę Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Jagiellońskiego nr KBET/178/B/2011 z dnia 29.09.2011 roku. Badanie było finansowane ze środków przeznaczonych na działalność statutową Uczelni (K/ZDS/002794).

## **3.2. Metodyka**

### **3.2.1. Dane kliniczne**

U chorych przeprowadzono szczegółowy wywiad lekarski w oparciu o kwestionariusz, specjalnie opracowany dla celów badania, który obejmował między innymi:

- szczegółowy przebieg choroby: czas trwania astmy, częstość i przyczyny zaostrzeń, częstość i rodzaj udzielanej w związku z tym pomocy lekarskiej (pomoc doraźna, hospitalizacja, pobyt na oddziale intensywnej terapii (OIT)), przyczyny pierwszego napadu astmy,
- dokładne informacje dotyczące stosowanego leczenia astmy (glikokortykosteroidy doustne, wziewne, leki antyleukotrienowe, etc.),
- ocena aktualnego stopnia ciężkości (wg wytycznych GINA 2015 [128] i kontroli astmy (Test Kontroli Astmy – ACT) [129],
- występowanie i czas trwania objawów ze strony nosa i zatok przynosowych, występowanie polipów nosa, stosowanie steroidów donosowych, przebyte polipektomie i operacyjne leczenie zapalenia zatok,
- informacje dotyczące palenia papierosów, współwystępowania innych chorób, w tym o podłożu alergicznym,
- współwystępowanie objawów związanych z nadwrażliwością na aspirynę i inne NLPZ.

W przypadku chorych na AERD wywiad dotyczył również:

- częstości i rodzaju objawów po ekspozycji na aspirynę i inne NLPZ,
- rodzaju leków z grupy NLPZ, które wywoływały reakcje nadwrażliwości,
- przeprowadzenia i rodzaju testów prowokacyjnych z aspiryną (doustne, wziewne),

- wywiadu rodzinnego ze szczególnym uwzględnieniem astmy, nadwrażliwości na aspirynę, chorób alergicznych, etc.

Dla potrzeb analizy statystycznej i ujednoczenia danych, dawki glikokortykosteroidów wziewnych przeliczano na równoważne dawki flutykazonu, zaś glikokortykosteroidów doustnych – na równoważne dawki metylprednizolonu (przeliczniki wg wytycznych GINA 2015) [128].

### **3.2.2. Badanie spirometryczne**

Badanie spirometryczne wykonywano przy pomocy spirometru komputerowego – pneumotachografu MasterScreen (Erich Jaeger GmbH, Hochberg, Niemcy) przed i po podaniu 4 wziewów leku rozszerzającego oskrzela (salbutamol 400 µg).

### **3.2.3. Pomiar stężenia LTE<sub>4</sub> w moczu**

Stężenie LTE<sub>4</sub> w moczu oznaczano metodą immunoenzymatyczną przy użyciu komercyjnych zestawów EIA (ELISA, Cayman Chemicals, AnnArbor, USA). Od każdej badanej osoby pobrano jednorazowo poranną próbkę moczu (30 ml), po 2-godzinnym gromadzeniu moczu w pęcherzu. Próbkę moczu rozporcjowywano po ok. 1 ml w probówkach typu Eppendorfa i przechowywano w temperaturze -80°C do czasu oznaczenia. Bezpośrednio przed oznaczeniem stężenia LTE<sub>4</sub> mocz rozmrażano, wirowano (4000 obrotów/min w temp. 4°C), poddawano rozcieńczeniu buforem EIA, a następnie umieszczano w dołkach płytek opłaszczonych przeciwciałem monoklonalnym (mysie monoklonalne przeciwciała skierowane przeciw króliczym IgG). Równocześnie z tych samych próbek moczu oznaczano poziom kreatyniny w analizatorze Vitros 350 (Johnson & Johnson, USA). W dalszej kolejności mocz był inkubowany przez 18 godzin w temperaturze pokojowej z acetylocholinesterazą (AChE) skonjugowaną z LTE<sub>4</sub> oraz z antysurowicą specyficzną dla LTE<sub>4</sub> (poliklonalne królicze przeciwciała przeciw LTE<sub>4</sub>). LTE<sub>4</sub> znajdujące się w badanej próbce konkurowały z kompleksami LTE<sub>4</sub>-AChE o wiązanie z przeciwciałami poliklonalnymi. Nie związane reagenty usuwano, a płytkę płukano buforem. Następnie dodawano odczynnik zawierający substrat dla AChE i całość poddawano inkubacji przez godzinę w temperaturze pokojowej. W wyniku reakcji enzymatycznej powstawał związek silnie pochłaniający światło o długości fali 412 nm. Barwny produkt reakcji enzymatycznej mierzono spektrofotometrycznie w czytniku kolorymetrycznym ELx 800 (BIO-TEK Instruments, USA). Stopień absorpcji światła był

odwrotnie proporcjonalny do stężenia LTE<sub>4</sub> w badanej próbce. Wartości stężeń LTE<sub>4</sub> wyrażano w pg/mg kreatyniny.

#### **3.2.4. Badania laboratoryjne krwi – eozynofilia bezwzględna i IgE całkowite**

Krew pobierano przy pomocy zestawu z systemem próżniowym firmy Becton-Dickinson do probówek z wersenianem potasu. Określenie eozynofilii bezwzględnej we krwi wykonywano pod mikroskopem w komorze Fuchs'a-Rosenthala w barwieniu eozyną. Pomiar IgE całkowitego w surowicy wykonywano metodą nefelometryczną przy pomocy nefelometru BN-2 (Dade Behring Marburg GmbH, Marburg, Niemcy).

#### **3.2.5. Testy skórne**

Testy skórne *prick* wykonywano z 14 powszechnymi alergenami wziewnymi przy użyciu zestawu firmy Allergopharma (Reinbek, Niemcy). Jako kontrolę dodatnią stosowano chlorowodorek histaminy, jako kontrolę ujemną – oryginalny rozcieńczalnik alergenów. Za wynik dodatni przyjmowano bąbel o średnicy  $\geq 3$  mm większy niż w kontroli ujemnej.

### **3.3. Metody statystyczne**

Analiza opisowa danych została wykonana z zastosowaniem procedur z pakietu statystycznego Statistica PL v.10 (StatSoft Inc.).

Zgodność rozkładu zmiennych ilościowych z rozkładem normalnym oceniano za pomocą testu Shapiro-Wilka. Analiza opisowa wyników została przedstawiona w postaci wartości średnich (wraz z odchyleniem standardowym), mediany z rozstępem międzykwartylowym (IQR) oraz proporcji, w przypadku cech skategoryzowanych. Zależność pomiędzy cechami jakościowymi badana była przy pomocy testu Chi<sup>2</sup>, testu dokładnego Fishera oraz testu proporcji. Porównanie cech mierzalnych pomiędzy grupami mężczyzn i kobiet zostało oparte o analizę wartości średnich z zastosowaniem testu *t*-Studenta, a dla rozkładów niezgodnych z rozkładem normalnym zastosowano test *U* Manna-Whitney'a. W przypadku analizy 3 grup badanych (AERD, ATA, grupa kontrolna) stosowano test ANOVA lub test Kruskalla-Wallisa. Stężenia LTE<sub>4</sub> w moczu, ze względu na brak normalności rozkładu w obrębie badanych grup, logarytmowano przed wykonywaniem obliczeń.

Celem wyznaczenia wartości odcięcia stężeń LTE<sub>4</sub> w moczu u chorych na AERD i ATA zastosowano 2 metody statystyczne:

1. Przedziały stężenia LTE<sub>4</sub> wyznaczone w oparciu o rozkład percentylowy dla rozkładu stężeń LTE<sub>4</sub> w moczu osób zdrowych.

Rozkład wartości stężeń LTE<sub>4</sub> w moczu osób zdrowych podzielono na kwartyle, uzyskując w ten sposób 3 wartości odcięcia dzielące populację osób zdrowych na 4 równe części. Ponieważ nie zaobserwowano różnic w proporcji chorych na AERD i ATA pomiędzy drugą (Q2) i trzecią (Q3) grupą rozkładu stężeń LTE<sub>4</sub>, dla celów późniejszej analizy grupy rozkładu kwartylowego Q2 i Q3 połączono razem. W ten sposób otrzymano trzy przedziały wartości stężeń LTE<sub>4</sub> w moczu: 1) niskie (Q1), 2) średnie (Q2+Q3), 3) wysokie (Q4). Następnie porównano częstości występowania wartości stężeń LTE<sub>4</sub> w moczu u chorych na AERD i ATA w kwartylach rozkładu stężeń LTE<sub>4</sub> dla osób zdrowych oraz obliczono iloraz szans rozpoznania AERD względem ATA w zależności od przynależności do stosownego przedziału.

2. Krzywa dyskryminująca (lub klasyfikacyjna) ROC (*receiver operating characteristic*).

W celu wyznaczenia wartości stężenia LTE<sub>4</sub> w moczu, jako parametru różnicującego pomiędzy diagnozą AERD i ATA, wykreślono krzywą ROC obliczając parametry diagnostyczne testu (czułość, specyficzność, wartość predykcyjną dodatnią i wartość predykcyjną ujemną oraz moc testu (pole powierzchni pod krzywą)).

W celu porównywania szansy na to, że pozytywny wynik testu otrzyma osoba z grupy chorych na AERD do szansy, że ten sam efekt będzie obserwowany wśród chorych na ATA wyznaczono iloraz wiarygodności (LR; *likelihood ratio*).

Celem zidentyfikowania czynników predykcyjnych wpływających na rozpoznanie AERD, analizowano szereg zmiennych niezależnych z zastosowaniem regresji logistycznej jednowymiarowej a następnie wielowymiarowej. Wynikiem oszacowania był iloraz szans (OR; *odds ratio*) diagnozy AERD w porównaniu do ATA wraz z 95% przedziałem ufności (95% CI). Procent zmienności diagnozy AERD względem ATA, wyjaśniający tę zmienność za pomocą zmiennych objaśniających, został określony za pomocą współczynnika determinacji R<sup>2</sup> (Negerkelke).

We wszystkich analizach za poziom istotności statystycznej przyjęto  $\alpha=0,05$ . Przy porównaniach wielokrotnych stosowano poprawkę Bonferroniego – poziom istotności  $\alpha=0,0167$  (dla 3 zmiennych).

## 4. WYNIKI

### 4.1. Ogólna charakterystyka chorych

#### 4.1.1. Płeć, wiek, BMI

W badaniu wzięło udział 581 osób, w tym: 247 chorych na AERD, 239 chorych na ATA oraz 95 osób zdrowych stanowiących grupę kontrolną (N) (Tabela 2). W obu grupach osób chorych na astmę było ponad 2 razy więcej kobiet niż mężczyzn. W kontrolnej grupie osób zdrowych odsetek kobiet i mężczyzn był zbliżony. Grupy chorych nie różniły się między sobą w sposób istotny statystycznie pod względem wieku. Porównując BMI w obu grupach chorych na astmę nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic (Tabela 2).

Tabela 2. Ogólna charakterystyka badanych: płeć, wiek, BMI

	<b>AERD n = 247</b>	<b>ATA n = 239</b>	<b>N n = 95</b>	<b>p</b>
<b>Płeć</b>				
kobiety, n (%)	169 (68,4%)	167 (69,9%)	53 (56,3%)	0,039 <sup>z</sup>
mężczyźni, n (%)	78 (31,6%)	72 (30,1%)	42 (43,8%)	
<b>Wiek (lata)</b>				
średnia (SD)	49,3 (12,9)	49,3 (14,8)	45,9 (13,4)	0,058 <sup>y</sup>
Zakres	18 – 77	20 – 83	24 – 80	
<b>BMI (kg/m<sup>2</sup>)</b>				
średnia (SD)	26,8 (5,0)	26,9 (5,1)		0,856 <sup>t</sup>
mediana (IQR)	26,1 (6,1)	26,1 (6,6)		

<sup>z</sup> test Chi<sup>2</sup>; <sup>t</sup> test t-Studenta; <sup>y</sup> test Kruskala-Wallis

#### 4.1.2. Czas trwania, wiek wystąpienia pierwszych objawów i zaostrzenia astmy

W obu grupach chorych na astmę porównano czas trwania choroby i stwierdzono, że pacjenci z rozpoznaniem AERD chorowali istotnie dłużej niż chorzy na ATA (Tabela 3). Analizowano również wiek wystąpienia pierwszych objawów astmy w powyższych grupach. U chorych na AERD pierwsze objawy wystąpiły średnio około 31 roku życia. Średnia wieku wystąpienia pierwszych objawów astmy była nieco wyższa w grupie ATA, różnica – choć niewielka – była istotna statystycznie (Tabela 3).



Tabela 3. Czas trwania, wiek wystąpienia pierwszych objawów i zaostrzenia astmy

	<b>AERD n = 247</b>	<b>ATA n = 239</b>	<b>p</b>
<b>Czas trwania astmy (lata)</b>			
średnia (SD)	18,8 (11,8)	15,3 (13,8)	<0,001 <sup>†</sup>
mediana (IQR)	18,0 (18,0)	10,5 (19,0)	
<b>Wiek wystąpienia pierwszych objawów astmy (lata)</b>			
średnia (SD)	30,8 (11,9)	33,9 (17,3)	0,02 <sup>†</sup>
mediana (IQR)	31 (26,0)	34 (24,0)	
<b>Zaostrzenia astmy wymagające hospitalizacji w czasie trwania astmy, n (%)</b>	169 (69,3)	111 (50,5)	<0,001 <sup>χ</sup>
<b>Zaostrzenia astmy wymagające hospitalizacji w czasie ostatniego roku, n (%)</b>	45 (18,5)	53 (24,1)	0,143 <sup>χ</sup>
<b>Zaostrzenia astmy wymagające hospitalizacji / czas trwania astmy</b>			
średnia (SD)	0,33 (1,39)	0,25 (0,62)	<0,001 <sup>†</sup>
mediana (IQR)	0,11 (0,29)	0,026 (0,25)	
<b>Zaostrzenia astmy wymagające pomocy doraźnej w czasie trwania astmy, n (%)</b>	141 (57,8)	43 (19,5)	<0,001 <sup>χ</sup>
<b>Zaostrzenia astmy wymagające pomocy doraźnej w czasie ostatniego roku, n (%)</b>	41 (16,9)	33 (15,0)	0,570 <sup>χ</sup>
<b>Zaostrzenia astmy wymagające pomocy doraźnej / czas trwania astmy</b>			
średnia (SD)	0,47 (1,26)	0,12 (0,63)	<0,001 <sup>†</sup>
mediana (IQR)	0,07 (0,32)	0,00 (0,00)	
<b>Zaostrzenia astmy wymagające pobytu w OIT, n (%)</b>	52 (21,3)	19 (8,5)	<0,001 <sup>χ</sup>

<sup>†</sup> test Manna-Whitney'a; <sup>†</sup>test t-Studenta; <sup>χ</sup> test Chi<sup>2</sup>

Porównując obie grupy stwierdzono, że chorzy na AERD mieli istotnie statystycznie więcej zaostrzeń astmy wymagających hospitalizacji i pomocy

ambulatoryjnej w całym czasie trwania choroby niż chorzy na ATA (Tabela 3). Ze względu na różny czas trwania astmy w obu badanych grupach chorych, przeliczono liczbę wszystkich zgłaszanych hospitalizacji oraz liczbę wszystkich wizyt ambulatoryjnych względem czasu trwania astmy, celem obiektywizacji porównań. Również w tych przypadkach wykazano istotną statystycznie przewagę u chorych na AERD (Tabela 3). Natomiast nie stwierdzono istotnych różnic, kiedy porównywano analogiczne zaostrzenia w czasie ostatniego roku (Tabela 3). Ciężkie zaostrzenia astmy wymagające hospitalizacji w oddziale intensywnej terapii (OIT) wystąpiły u co 5-go chorego na AERD i zaledwie u 8,5% chorych na ATA. Porównanie obu grup wykazało istotną statystycznie różnicę (Tabela 3).

#### 4.1.3. Kontrola astmy

Porównując stopnie kontroli astmy pomiędzy grupami chorych, nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic (Tabela 4).

Tabela 4. Stopnie kontroli astmy wg ACT

Kontrola astmy (ACT)	AERD, n (%)	ATA, n (%)	<i>p</i>
dobrze kontrolowana (ACT = 25)	56 (22,9)	49 (21,3)	0,863 <sup>χ</sup>
częściowo kontrolowana (ACT: 20-24)	79 (32,2)	79 (34,3)	
źle kontrolowana (ACT < 20)	110 (44,9)	102 (44,3)	

<sup>χ</sup> test Chi<sup>2</sup>

#### 4.1.4. Stosowane leczenie i ciężkość astmy

Zgodnie z wytycznymi GINA z 2015 roku, ciężkość astmy oceniano retrospektywnie, na podstawie stosowanego leczenia glikokortykosteroidami [128]. W tym celu analizowano stosowane leczenie chorych doustnymi glikokortykosteroidami (dGKS; w przeliczeniu na dawki metylprednizolonu) i wziewnymi glikokortykosteroidami (wGKS; w przeliczeniu na dawki flutykazonu). W grupie AERD istotnie częściej stwierdzano astmę ciężką (Tabela 5). Natomiast u chorych na ATA istotnie częściej stwierdzono postać łagodną astmy (Tabela 5). Grupy nie różniły się pod względem odsetka chorych z astmą umiarkowaną i sporadyczną. Dobowe dawki przyjmowanego metylprednizolonu nie różniły się istotnie między grupami (Tabela 5). Również odsetek chorych, którzy stosowali

leki z grupy antagonistów receptorów CysLT1 (LTRA: montelukast) był zbliżony (Tabela 5).

Tabela 5. Stosowane leczenie astmy

Astma	Leczenie	AERD n = 247	ATA n = 239	p
Ciężka	dGKS + wGKS, n (%)	65 (26,6)	39 (17,6)	0,02 <sup>χ</sup>
Umiarkowana	wGKS >500 (μg/d), n (%)	66 (27,0)	59 (26,6)	0,92 <sup>χ</sup>
Łagodna	wGKS ≤500 (μg/d), n (%)	79 (32,4)	99 (44,6)	0,007 <sup>χ</sup>
Sporadyczna	bez stosowania GKS, n (%)	34 (13,9)	25 (11,3)	0,4 <sup>χ</sup>
	Metyprednizolon (mg/d), średnia (SD)	9,35 (7,08)	12,85 (12,06)	0,47 <sup>†</sup>
	LTRA, n (%)	45 (18,4)	39 (17,1)	0,7 <sup>χ</sup>

<sup>χ</sup> test porównania proporcji z poprawką Bonferroniego; <sup>†</sup> test Manna-Whitney'a

#### 4.1.5. Objawy ze strony górnych dróg oddechowych

Objawy ze strony górnych dróg oddechowych związane z przewlekłym nieżytem nosa lub przewlekłym zapaleniem zatok zgłaszało istotnie statystycznie więcej chorych na AERD niż na ATA (Tabela 6). Czas trwania powyższych objawów był również istotnie dłuższy u chorych na AERD (Tabela 6). Polipy nosa, zarówno w przeszłości, jak i w czasie trwania badania zgłaszała istotnie częściej grupa chorych na AERD niż na ATA (Tabela 6).

Tabela 6. Objawy ze strony górnych dróg oddechowych, polipy nosa

	AERD n = 247	ATA n = 239	p
Objawy ze strony górnych dróg oddechowych: obecnie, n (%)	182 (74,6)	79 (34,5)	<0,001 <sup>χ</sup>
Objawy ze strony górnych dróg oddechowych: kiedykolwiek, n (%)	233 (95,5)	108 (49,3)	<0,001 <sup>χ</sup>
Czas trwania objawów ze strony górnych dróg oddechowych (lata)			
średnia (SD)	16,7 (12,6)	7,0 (11,4)	<0,001 <sup>†</sup>
mediana (IQR)	15,00 (18,0)	0,00 (10,0)	
Polipy nosa, n (%)	191 (78,6)	46 (20,9)	<0,001 <sup>χ</sup>

<sup>†</sup> test Manna-Whitney'a; <sup>χ</sup> test Chi<sup>2</sup>

#### 4.1.6. Leczenie związane z zajęciem górnych dróg oddechowych

Grupy AERD i ATA różniły się istotnie pod względem przeprowadzonych zabiegów w obrębie nosa i zatok (polipektomie). Były one istotnie częstsze wśród chorych na AERD (Tabela 7). Donosowe glikokortykosteroidy (nGKS) były stosowane istotnie częściej przez chorych na AERD, zarówno obecnie jak i w przeszłości (Tabela 7). Podobnie wyższa była liczba miesięcy ich stosowania w ciągu roku poprzedzającego niniejsze badanie (Tabela 7).

Tabela 7. Leczenie związane z zajęciem górnych dróg oddechowych

	<b>AERD n = 247</b>	<b>ATA n = 239</b>	<b>p</b>
<b>Polipektomie, n (%)</b>	165 (67,6)	44 (19,3)	<0,001 <sup>z</sup>
<b>Liczba polipektomii w całej grupie</b>			
średnia (SD)	3,55 (5,07)	0,97 (2,65)	<0,001 <sup>†</sup>
mediana (IQR)	2,00 (5,0)	0,00 (0,0)	
<b>nGKS : obecnie, n (%)</b>	138 (56,6)	49 (22,5)	<0,001 <sup>z</sup>
<b>nGKS: kiedykolwiek, n (%)</b>	212 (86,9)	84 (38,5)	<0,001 <sup>z</sup>
<b>Liczba miesięcy stosowania nGKS w czasie ostatniego roku</b>			
średnia (SD)	6,70 (5,25)	4,60 (5,02)	0,013 <sup>†</sup>
mediana (IQR)	7,00 (11,0)	2,00 (11,5)	

<sup>†</sup> test Manna-Whitney'a; <sup>z</sup> test Chi<sup>2</sup>

#### 4.1.7. Parametry funkcji płuc

Średnia wartość wskaźnika FEV<sub>1</sub>% w.n. była istotnie niższa w grupie chorych na AERD (Tabela 8). Równocześnie nie stwierdzono istotnej statystycznie różnicy w częstości występowania odwracalnej obturacji oskrzeli ( $\Delta$ FEV<sub>1</sub>%  $\geq$ 12%) pomiędzy badanymi grupami chorych (Tabela 8). Wskaźnik FEV<sub>1</sub>%FVC był istotnie niższy u chorych na AERD niż u chorych na ATA. Również średnia wartość FEV<sub>1</sub>%FVC po przyjęciu leku rozszerzającego oskrzela była istotnie niższa u chorych na AERD niż u chorych na ATA i wynosiła poniżej 70%, co może wskazywać na obecność utrwalonej obturacji w pierwszej z badanych grup (Tabela 8).

Tabela 8. Parametry funkcji płuc

	<b>AERD n = 247</b>	<b>ATA n = 239</b>	<b>p</b>
<b>FEV<sub>1</sub>% wartości należnej</b>			
średnia (SD)	80,0 (19,9)	87,0 (19,8)	<0,001 <sup>†</sup>
<b>ΔFEV<sub>1</sub>% (≥12%), n (%)</b>	60 (25,8)	64 (32,8)	0,108 <sup>χ</sup>
<b>FEV<sub>1</sub>%FVC</b>			
średnia (SD)	68,96 (11,04)	74,87 (10,58)	<0,001 <sup>†</sup>
<b>FEV<sub>1</sub>%FVC po leku rozszerzającym oskrzela</b>			
średnia (SD)	68,13 (10,92)	71,12 (10,36)	<0,001 <sup>†</sup>

<sup>†</sup>test t-Studenta; <sup>χ</sup> test Chi<sup>2</sup>

#### 4.1.8. Wybrane badania dodatkowe

Porównując eozynofilię bezwzględną we krwi obwodowej stwierdzono istotne statystycznie różnice pomiędzy trzema badanymi grupami. Poziom eozynofilii różnił się zarówno pomiędzy chorymi na AERD i N ( $p < 0,001$ ), ATA i N ( $p = 0,02$ ), jak również pomiędzy obiema grupami chorych na astmę ( $p = 0,002$ ), przy czym w grupie AERD był on najwyższy, zaś w grupie kontrolnej – najniższy (Tabela 9).

Badając różnice stężeń całkowitego IgE w surowicy krwi obwodowej, stwierdzono istotne różnice pomiędzy grupą AERD i N ( $p < 0,001$ ) oraz pomiędzy ATA i N ( $p < 0,001$ ). Natomiast nie zaobserwowano istotnej różnicy pomiędzy grupami chorych na astmę (Tabela 9).

Porównując częstość dodatnich wyników testów skórnych z alergenami wziewnymi w obu grupach chorych na astmę, nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic (Tabela 9).

Analizowano również wpływ przyjmowania doustnych glikokortykosteroidów na poziom eozynofilii bezwzględnej. Stwierdzono istotną ujemną korelację pomiędzy poziomem eozynofilii bezwzględnej we krwi obwodowej a dawką przyjmowanego doustnie metylprednizolonu ( $r = -0,18$ ,  $p < 0,001$ ).

Tabela 9. Ogólna charakterystyka badanych: eozynofilia bezwzględna, IgE całkowite, alergiczne testy skórne

	<b>AERD</b> <b>n = 247</b>	<b>ATA</b> <b>n = 239</b>	<b>N</b> <b>n = 95</b>	<b>p</b>
<b>Eozynofilia bezwzględna (komórki/ml)</b>				
średnia ( <i>SD</i> )	388,4 (342,0)	294,9 (308,6)	189,4 (188,2)	<0,001 <sup>¥</sup>
mediana ( <i>IQR</i> )	294,0 (440,0)	207,0 (345,0)	131,0 (141,0)	
<b>IgE całkowite (IU/ml)</b>				
średnia ( <i>SD</i> )	157,9 (224,2)	252,2 (535,0)	66,2 (115,9)	<0,001 <sup>¥</sup>
mediana ( <i>IQR</i> )	88,0 (158,2)	84,6 (175,3)	25,9 (52,7)	
<b>Dodatnie testy skórne, n (%)</b>	152 (62,6)	146 (67,3)		0,289 <sup>z</sup>

<sup>¥</sup> test Kruskala-Wallisa; <sup>z</sup> test Chi<sup>2</sup>

#### 4.2. Stężenia LTE<sub>4</sub> w moczu w badanych grupach oraz wyznaczenie wartości stężenia LTE<sub>4</sub> w moczu najlepiej różnicującej grupy chorych na AERD i na ATA

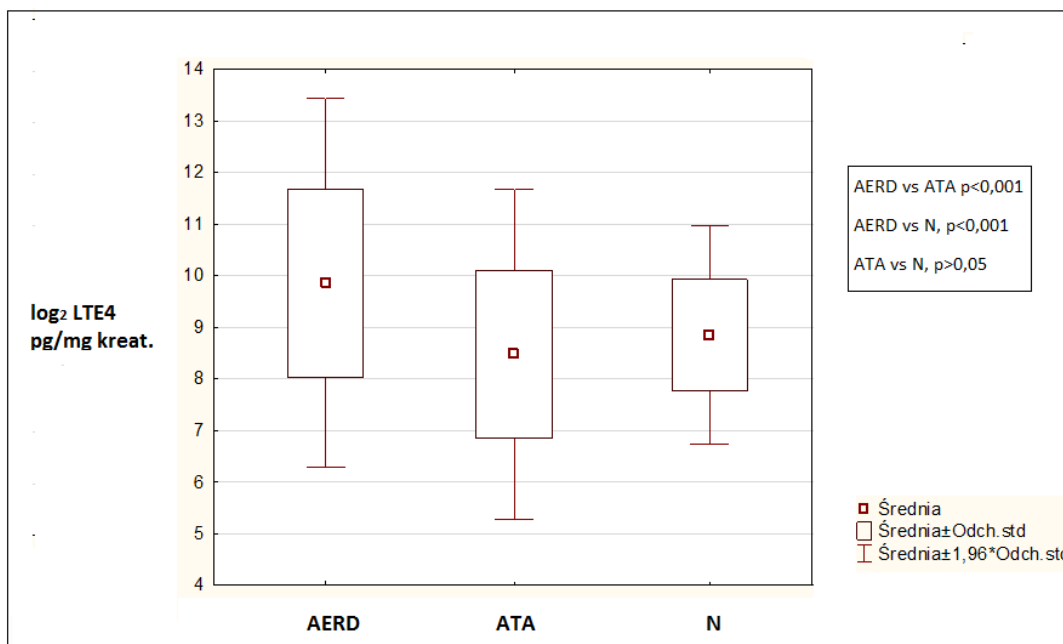
##### 4.2.1. Stężenia LTE<sub>4</sub> w moczu u chorych na AERD, ATA i u osób zdrowych

W grupie chorych na AERD stwierdzono istotnie wyższe średnie stężenie LTE<sub>4</sub> w moczu w porównaniu z grupą chorych na ATA, a także z grupą N (Tabela 10, Rysunek 4). Natomiast nie zaobserwowano istotnej różnicy pomiędzy grupami ATA i N (Tabela 10, Rysunek 4).

Tabela 10. Stężenia LTE<sub>4</sub> w moczu u chorych na AERD, ATA i u osób zdrowych (N)

	<b>AERD</b> <b>n = 247</b>	<b>ATA</b> <b>n = 239</b>	<b>N</b> <b>n = 95</b>	<b>p</b>
<b>LTE<sub>4</sub> (pg/mg kreat.)</b>				
średnia ( <i>SD</i> )	2190,3 (3416,7)	618,5 (778,3)	573,7 (352,0)	<0,001 <sup>¥</sup>
mediana ( <i>IQR</i> )	783,0 (1790,0)	408,0 (490,0)	493,0 (439,0)	

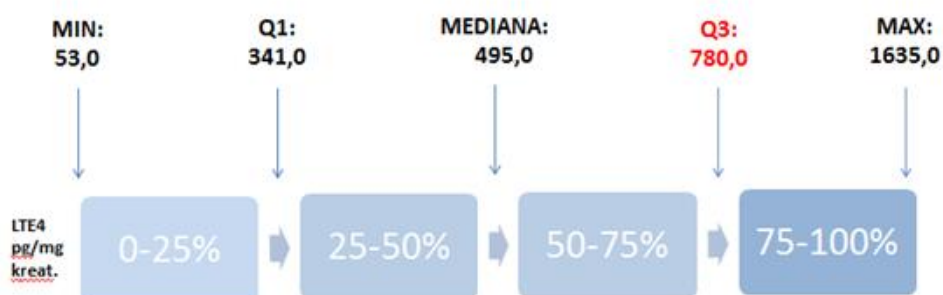
<sup>¥</sup> test Kruskala-Wallisa



Rysunek 4. Stężenie LTE<sub>4</sub> w moczu u chorych na AERD, ATA i u osób zdrowych (N)

#### 4.2.2. Wyznaczenie wartości stężenia LTE<sub>4</sub> w moczu najlepiej różnicującej grupy chorych na AERD i ATA; metoda I – w oparciu o rozkład kwartyłowy

W celu poszukiwania wartości stężenia LTE<sub>4</sub> w moczu najlepiej różnicującej grupy chorych na AERD i ATA, wartości stężeń LTE<sub>4</sub> w moczu osób zdrowych podzielono na 4 grupy wyznaczone przez rozkład kwartyłowy (grupy LTE<sub>4</sub>). W ten sposób uzyskano 3 wartości odcięcia dzielące populację osób zdrowych na 4 równe części (Rysunek 5).



Rysunek 5. Podział na 4 grupy wyznaczone przez rozkład kwartyłowy i rozkład wartości stężeń LTE<sub>4</sub> w moczu osób zdrowych



Następnie oceniono rozkład chorych na AERD i ATA w grupach rozkładu LTE<sub>4</sub> dla pacjentów zdrowych (Tabela 11).

Tabela 11. Przynależność chorych na AERD i na ATA do poszczególnych grup wyznaczonych przez rozkład kwartylowy stężenia LTE<sub>4</sub> w moczu

	<b>Q1</b> LTE <sub>4</sub> ≤341,0 pg/mg kreat.	<b>Q2</b> LTE <sub>4</sub> 342,0– 495,0 pg/mg kreat.	<b>Q3</b> LTE <sub>4</sub> 496,0– 780,0 pg/mg kreat.	<b>Q4</b> LTE <sub>4</sub> >780,0 pg/mg kreat.
<b>AERD, n (%)</b>	52 (21,0)	35 (14,2)	36 (14,6)	124 (50,2)
<b>ATA, n (%)</b>	108 (45,2)	34 (14,2)	48 (20,1)	49 (20,5)
<b>AERD+ATA, n (%)</b>	160 (33,0)	69 (14,2)	84 (17,6)	173 (35,0)

Ponieważ nie zaobserwowano różnic w proporcji chorych na AERD i ATA pomiędzy drugą (Q2) i trzecią (Q3) grupą rozkładu LTE<sub>4</sub>, dla celów późniejszej analizy grupy rozkładu kwartylowego Q2 i Q3 połączono razem. W ten sposób otrzymano trzy przedziały wartości stężeń LTE<sub>4</sub> w moczu: 1) niskie (Q1), 2) średnie (Q2+Q3), 3) wysokie (Q4) oraz dwie wartości odcięcia: ≤341,0 pg/mg kreatyniny i >780,0 pg/mg kreatyniny wyznaczające granice dla odpowiednio, niskich i wysokich stężeń LTE<sub>4</sub> w moczu (Tabela 11, Rysunek 5).

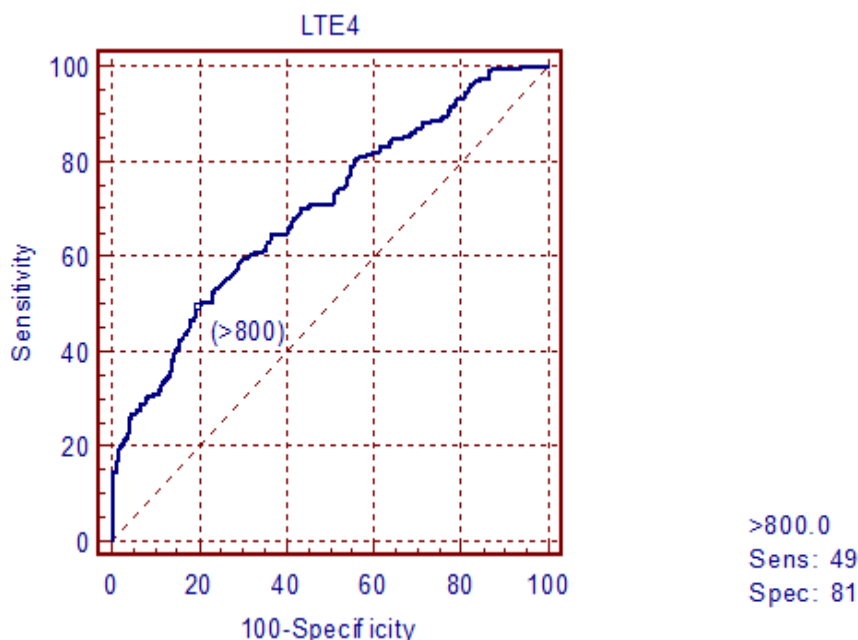
Zaobserwowano, iż szansa rozpoznania AERD względem ATA jest istotnie związana z podwyższonym stężeniem LTE<sub>4</sub> w moczu. U pacjentów ze stężeniem LTE<sub>4</sub> w moczu powyżej 341,0 pg/mg kreatyniny szansa ta wzrasta o 80%. Natomiast u pacjentów ze stężeniem LTE<sub>4</sub> przekraczającym 780,0 pg/mg kreatyniny AERD jest rozpoznawana 5-krotnie częściej niż ATA (Tabela 12).

Tabela 12. Szansa rozpoznania AERD względem ATA związana ze stężeniem LTE<sub>4</sub> w moczu w przedziałach zmienności LTE<sub>4</sub> wyznaczonych na podstawie grupy osób zdrowych

	<b>OR</b>	<b>95%CI</b>	<b>p</b>
<b>Niskie stężenie</b> <b>Q1: LTE<sub>4</sub> ≤341,0 pg/mg kreat.</b>	1.0		
<b>Średnie stężenie</b> <b>Q2+Q3: 341,0 &lt; LTE<sub>4</sub> ≤780,0 pg/mg kreat.</b>	1,80	1,14-2,85	0,012
<b>Wysokie stężenie</b> <b>Q4: LTE<sub>4</sub> &gt;780,0 pg/mg kreat.</b>	5,26	3,29-8,40	<0,001

#### 4.2.3. Wyznaczenie wartości stężenia LTE<sub>4</sub> w moczu najlepiej różnicującej grupy chorych na AERD i ATA; metoda II – krzywa ROC

W celu wyznaczenia wartości stężenia LTE<sub>4</sub> w moczu, jako parametru różnicującego grupy chorych na AERD i na ATA, wyznaczono krzywą ROC (Rysunek 6).



Rysunek 6. Krzywa ROC dla stężenia LTE<sub>4</sub> w moczu dyskryminująca chorych na AERD i na ATA

Na podstawie analizy krzywej ROC stwierdzono, iż wartością graniczną stężenia LTE<sub>4</sub> w moczu, która najlepiej różnicuje grupy chorych na AERD i na ATA jest wartość równa 800,0 pg/mg kreatyniny. Stężenia LTE<sub>4</sub> >800,0 pg/mg kreatyniny określały dodatni wynik testu, natomiast stężenia LTE<sub>4</sub> ≤800,0 pg/mg kreatyniny określały wynik ujemny. Wartości wskaźników diagnostycznych rozpoznania AERD w oparciu o tak zdefiniowany test przedstawiono w Tabeli 13. Wynika z niej, że test poprawnie diagnozuje 49% chorych z występującą AERD (czułość) oraz wskazuje, że 81% chorych na ATA charakteryzuje się wynikiem ujemnym testu (swoistość). Wśród chorych z dodatnim wynikiem testu (stężenie LTE<sub>4</sub> >800,0 pg/mg kreatyniny) AERD rozpoznano w 72% przypadków (wartość predykcyjna dodatnia, PPV), natomiast u chorych, którzy uzyskali ujemny wynik testu, diagnozę ATA postawiono u 61% chorych (wartość predykcyjna ujemna, NPV). Ponieważ zarówno PPV i NPV zależą od częstości występowania choroby w populacji i jeśli przyjęto, że częstość występowania AERD w populacji astmatyków wynosi 7,4% [30], PPV rozpoznania AERD u osób z wynikiem LTE<sub>4</sub> >800,0 pg/mg kreatyniny zmniejszyła

się do 16%, natomiast znacząco wzrosła NPV pozwalająca określić, że prawdopodobieństwo rozpoznania AERD wśród osób ze stężeniem LTE<sub>4</sub> ≤800,0 pg/mg kreatyniny wynosi 4% (100-NPV).

Czułość i swoistość testu nie mogą być wykorzystane do określenia prawdopodobieństwa wystąpienia choroby u indywidualnego pacjenta, ale wartości obu wskaźników tworzą miarę (iloraz wiarygodności, LR) określającą stopień, w jakim wynik testu zmienia prawdopodobieństwo rozpoznania AERD. I tak, szansa na to, że pozytywny wynik testu (LTE<sub>4</sub> >800,0 pg/mg kreatyniny) uzyska osoba rzeczywiście chora na AERD jest 2,57 razy większa niż szansa, że pozytywny wynik testu uzyska osoba rzeczywiście chorująca na ATA (LR<sup>+</sup> = 2,57), co wskazuje na małą przydatność testu dla rozpoznania AERD. Natomiast szansa na to, że negatywny wynik testu (LTE<sub>4</sub> ≤800,0 pg/mg kreatyniny) uzyska osoba rzeczywiście chora na AERD jest 0,63 razy większa niż szansa, że negatywny wynik testu uzyska osoba rzeczywiście chorująca na ATA (LR<sup>-</sup> = 0,63), co wskazuje na bardzo małą przydatność testu dla wykluczenia AERD.

Ogólną wartość diagnostyczną testu zdefiniowanego w oparciu o poziom stężenia LTE<sub>4</sub> w moczu można określić jako przeciętną (obszar pod krzywą ROC = 0,70; 95%CI: 0,66-0,74).

Tabela 13. Wartości diagnostyczne testu rozpoznającego AERD w oparciu o stężenie LTE<sub>4</sub> w moczu

Wynik testu		Rozpoznanie przez lekarza		Wartości predykcyjne	
		AERD	ATA	Surowe	Standaryzowane*
<b>Dodatni</b>	LTE <sub>4</sub> >800	122	46	PPV <sup>1</sup> 72%	16%
<b>Ujemny</b>	LTE <sub>4</sub> ≤800	125	193	NPV <sup>2</sup> 61%	96%
		Czułość 49%	Swoistość 81%		
		LR <sup>+</sup> <sup>3</sup> 2,57	LR <sup>-</sup> <sup>4</sup> 0,63		

\*/ z uwzględnieniem częstości występowania AERD w populacji (7,4%)

<sup>1</sup>PPV: wartość predykcyjna dodatnia; <sup>2</sup>NPV: wartość predykcyjna ujemna; <sup>3</sup>LR<sup>+</sup>: iloraz wiarygodności wyniku dodatniego; <sup>4</sup>LR<sup>-</sup>: iloraz wiarygodności wyniku ujemnego

### 4.3. Analiza zmiennych w zależności od wartości stężeń LTE<sub>4</sub> w moczu

#### 4.3.1. Wiek i BMI w zależności od stężeń LTE<sub>4</sub> w moczu

Nie stwierdzono różnic w rozkładzie wieku oraz BMI pomiędzy kategoriami stężeń LTE<sub>4</sub> w moczu w obu badanych grupach chorych oraz w grupie kontrolnej osób zdrowych (Tabela 14).

Tabela 14. Porównanie wieku i BMI w grupach stężenia LTE<sub>4</sub> w moczu

		<b>Niskie (≤341,0)</b>	<b>Średnie (342,0-780,0)</b>	<b>Wysokie (&gt;780,0)</b>	<b>p<sup>Y</sup></b>
<b>Wiek (lata), mediana (IQR)</b>	<b>AERD</b>	52,0 (15,0)	54,0 (19,0)	48 (20,0)	0,069
	<b>ATA</b>	50,0 (23,5)	47,0 (22,0)	54 (26,0)	0,29
	<b>N</b>	39,0 (19,0)	45,5 (19,0)	55,0 (27,0)	0,34
<b>BMI (kg/m<sup>2</sup>), mediana (IQR)</b>	<b>AERD</b>	27,2 (6,5)	26,2 (7,9)	25,5 (5,8)	0,11
	<b>ATA</b>	25,9 (5,1)	27,0 (6,9)	26,5 (8,2)	0,68
	<b>N</b>	23,5 (0,0)	25,7 (6,1)	25,8 (2,0)	0,85

<sup>Y</sup> test Kruskala-Wallisa

#### 4.3.2. Czas trwania i zaostrzenia astmy

W grupie chorych na AERD czas trwania astmy był istotnie krótszy w grupie osób z wysokimi stężeniami LTE<sub>4</sub> w moczu w porównaniu do grup z niższymi stężeniami (Tabela 15). Nie stwierdzono zależności pomiędzy czasem trwania astmy a stężeniem LTE<sub>4</sub> w moczu w grupie ATA. U chorych na ATA wyższe stężenia LTE<sub>4</sub> w moczu związane były z częstszymi zaostrzeniami wymagającymi hospitalizacji, zarówno w czasie trwania astmy, jak i w ostatnim roku (Tabela 15). Ta zależność utrzymała się, gdy przeliczono liczbę wszystkich hospitalizacji na czas trwania astmy. Natomiast w grupie chorych na AERD częstość zaostrzeń zakończonych hospitalizacją była podobna, niezależnie od stężenia LTE<sub>4</sub> w moczu (Tabela 15). Analogiczna analiza dotycząca zaostrzeń astmy wymagających korzystania z pomocy doraźnej oraz pobytu na OIT nie wykazała związku pomiędzy ich częstością a stężeniem LTE<sub>4</sub> w moczu, zarówno w grupie AERD jak i ATA (Tabela 15).

Tabela 15. Występowanie zaostrzeń u chorych na astmę w grupach stężenia LTE<sub>4</sub> w moczu

		Niskie (≤341,0)	Średnie (342,0–780,0)	Wysokie (>780,0)	<i>p</i>
<b>Czas trwania astmy (lata), mediana (IQR)</b>	<b>AERD</b>	21,5 (17,0)	19,5 (18,0)	14 (16,0)	<0,001 <sup>Y</sup>
	<b>ATA</b>	10,5 (16,0)	10,0 (20,0)	13 (29,0)	0,3 <sup>Y</sup>
<b>Zaostrzenia astmy wymagające hospitalizacji w czasie trwania astmy, n (%)</b>	<b>AERD</b>	35 (67,3)	49 (70,0)	85 (69,7)	0,94 <sup>z</sup>
	<b>ATA</b>	38 (38,8)	37 (48,1)	36 (80,0)	<0,001 <sup>z</sup>
<b>Zaostrzenia astmy wymagające hospitalizacji w czasie ostatniego roku, n (%)</b>	<b>AERD</b>	7 (13,5)	11 (15,9)	27 (22,1)	0,33 <sup>z</sup>
	<b>ATA</b>	16 (16,3)	18 (23,4)	19 (42,2)	0,003 <sup>z</sup>
<b>Zaostrzenia astmy wymagające hospitalizacji/ czas trwania astmy, mediana (IQR)</b>	<b>AERD</b>	0,08 (0,2)	0,09 (0,2)	0,15 (0,4)	0,18 <sup>Y</sup>
	<b>ATA</b>	0,00 (0,1)	0,00 (0,2)	0,25 (0,4)	<0,001 <sup>Y</sup>
<b>Zaostrzenia astmy wymagające pomocy doraźnej w czasie trwania astmy, n (%)</b>	<b>AERD</b>	34 (65,4)	40 (57,1)	67 (54,9)	0,44 <sup>z</sup>
	<b>ATA</b>	18 (18,4)	15 (19,5)	10 (22,2)	0,86 <sup>z</sup>
<b>Zaostrzenia astmy wymagające pomocy doraźnej w czasie ostatniego roku, n (%)</b>	<b>AERD</b>	12 (23,1)	14 (20,0)	15 (12,5)	0,17 <sup>z</sup>
	<b>ATA</b>	12 (12,2)	11 (14,3)	10 (22,2)	0,29 <sup>z</sup>
<b>Zaostrzenia astmy wymagające pomocy doraźnej / czas trwania astmy, mediana (IQR)</b>	<b>AERD</b>	0,07 (0,3)	0,07 (0,3)	0,06 (0,3)	0,58 <sup>Y</sup>
	<b>ATA</b>	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0,46 <sup>Y</sup>
<b>OIT, n (%)</b>	<b>AERD</b>	10 (19,2)	15 (21,4)	27 (22,1)	0,91 <sup>z</sup>
	<b>ATA</b>	6 (5,9)	7 (8,9)	6 (13,6)	0,31 <sup>z</sup>

<sup>Y</sup> test Kruskala-Wallisa; <sup>z</sup> test Chi<sup>2</sup>

#### 4.3.3. Zależność kontroli astmy od stężeń LTE<sub>4</sub> w moczu

Nie stwierdzono związku pomiędzy stężeniami LTE<sub>4</sub> w moczu i stopniem kontroli astmy w obydwu badanych grupach chorych (Tabela 16).

Tabela 16. Stopnie kontroli astmy wg ACT w grupach stężeń LTE<sub>4</sub> w moczu

		Niskie (≤341,0)	Średnie (342,0 – 780,0)	Wysokie (>780,0)	<i>p</i> <sup>z</sup>
ACT = 25, n (%)	AERD	10 (19,2)	11 (15,7)	35 (28,5)	0,1
	ATA	26 (25,0)	16 (20,3)	7 (14,9)	0,36
ACT: 20-24, n (%)	AERD	14 (26,9)	24 (34,3)	41 (33,3)	0,65
	ATA	37 (35,6)	26 (32,9)	16 (34,0)	0,93
ACT < 20, n (%)	AERD	28 (53,9)	35 (50,0)	47 (38,2)	0,1
	ATA	41 (39,4)	37 (46,8)	24 (51,1)	0,35

<sup>z</sup> test Chi<sup>2</sup>

#### 4.3.4. Stosowane leczenie i ciężkość astmy w grupach stężeń LTE<sub>4</sub> w moczu

Tylko w grupie chorych na ATA stwierdzono związek pomiędzy stosowanym leczeniem/ciężkością astmy a stężeniem LTE<sub>4</sub> w moczu. W przedziale wysokich stężeń LTE<sub>4</sub> w moczu znalazło się istotnie więcej chorych stosujących doustne glikokortykosteroidy, a więc z ciężką postacią astmy i jednocześnie najmniej chorych pozostających bez leczenia glikokortykosteroidami, a więc z astmą sporadyczną (Tabela 17).

Tabela 17. Stosowane leczenie i stopnie ciężkości astmy w grupach stężeń LTE<sub>4</sub> w moczu

Astma	Leczenie		Niskie (≤341,0)	Średnie (342,0 – 780,0)	Wysokie (>780)	<i>p</i>
Ciężka	dGKS+ wGKS, n (%)	AERD	15 (28,85)	19 (27,14)	31 (25,41)	0,89 <sup>z</sup>
		ATA	13 (13,00)	11 (14,29)	15 (33,33)	0,008 <sup>z</sup>
Umiarkowana	wGKS>500 (µg/d), n (%)	AERD	13 (25,00)	15 (21,43)	38 (31,15)	0,32 <sup>z</sup>
		ATA	27 (27,00)	19 (24,68)	13 (28,89)	0,87 <sup>z</sup>
Łagodna	wGKS≤500 (µg/d), n (%)	AERD	16 (30,77)	25 (35,71)	38 (31,15)	0,78 <sup>z</sup>
		ATA	49 (49,00)	34 (44,16)	16 (35,56)	0,32 <sup>z</sup>
Sporadyczna	brak wGKS, n (%)	AERD	8 (15,38)	11 (15,71)	15 (12,30)	0,76 <sup>z</sup>
		ATA	11 (11,00)	13 (16,88)	1 (2,22)	0,047 <sup>z</sup>
Metylprednizolon (mg/d), mediana (IQR)		AERD	4 (4,0)	8 (12,0)	8 (12,0)	0,26 <sup>y</sup>
		ATA	8 (12,0)	8 (12,0)	8 (28,0)	0,85 <sup>y</sup>
LTRA, n (%)		AERD	9 (17,31)	13 (18,57)	23 (18,85)	0,97 <sup>z</sup>
		ATA	19 (18,63)	14 (17,72)	6 (12,77)	0,67 <sup>z</sup>

<sup>y</sup> test Kruskala-Wallisa; <sup>z</sup> test Chi<sup>2</sup>

W grupie chorych na AERD nie stwierdzono zależności pomiędzy stosowanym leczeniem astmy a stężeniem LTE<sub>4</sub> w moczu (Tabela 17). W obu badanych grupach chorych nie obserwowano związku stężeń LTE<sub>4</sub> w moczu z dawką metylprednizolonu, ani ze stosowaniem antagonistów receptora CysLT1 (LTRA) (Tabela 17).

#### 4.3.5. Objawy ze strony górnych dróg oddechowych w grupach stężeń LTE<sub>4</sub> w moczu

Tylko w grupie chorych na AERD stwierdzono istotny związek pomiędzy objawami ze strony górnych dróg oddechowych a stężeniem LTE<sub>4</sub> w moczu (Tabela 18). Wraz ze wzrostem stężenia LTE<sub>4</sub> w moczu znamienne wzrastał odsetek chorych z objawami ze strony górnych dróg oddechowych (zarówno obecnie jak i w przeszłości), a także chorych zgłaszających obecność polipów nosa (Tabela 18). Podobnych zależności nie stwierdzono w grupie chorych na ATA (Tabela 18).

Tabela 18. Objawy ze strony górnych dróg oddechowych i polipy nosa w grupach stężeń LTE<sub>4</sub> w moczu

		Niskie (≤341,0)	Średnie (342,0–780,0)	Wysokie (>780,0)	<i>p</i>
<b>Objawy z górnych dróg oddechowych: obecnie, n (%)</b>	<b>AERD</b>	30 (57,69)	54 (77,14)	98 (80,33)	0,006 <sup>z</sup>
	<b>ATA</b>	36 (34,95)	26 (32,91)	17 (36,17)	0,93 <sup>z</sup>
<b>Objawy z górnych dróg oddechowych: kiedykolwiek, n (%)</b>	<b>AERD</b>	45 (86,54)	68 (97,14)	121 (99,18)	<0,001 <sup>z</sup>
	<b>ATA</b>	54 (52,43)	42 (53,16)	33 (70,21)	0,10 <sup>z</sup>
<b>Czas trwania objawów ze strony górnych dróg oddechowych (lata), mediana (IQR)</b>	<b>AERD</b>	13,5 (21,0)	14,5 (18,0)	15 (18,0)	0,45 <sup>y</sup>
	<b>ATA</b>	0 (10,0)	0 (4,0)	2 (10,0)	0,14 <sup>y</sup>
<b>Polipy nosa, n (%)</b>	<b>AERD</b>	30 (57,69)	53 (75,71)	108 (89,26)	<0,001 <sup>z</sup>
	<b>ATA</b>	16 (16,33)	15 (19,48)	15 (33,33)	0,06 <sup>z</sup>

<sup>y</sup> test Kruskala-Wallisa; <sup>z</sup> test Chi<sup>2</sup>

#### 4.3.6. Leczenie związane z zajęciem górnych dróg oddechowych w grupach stężeń LTE<sub>4</sub> w moczu

W grupie chorych na AERD stwierdzano istotny związek pomiędzy leczeniem górnych dróg oddechowych a stężeniem LTE<sub>4</sub> w moczu (Tabela 19). Wraz ze wzrostem stężenia LTE<sub>4</sub> w moczu znamienne wzrastał odsetek chorych, którzy mieli wykonywane polipektomie oraz którzy stosowali donosowe glikokortykosteroidy (zarówno obecnie jak w przeszłości) (Tabela 19). Ponadto chorzy na AERD z wysokimi stężeniami LTE<sub>4</sub> w moczu stosowali donosowe glikokortykosteroidy przez dłuższy okres czasu w ciągu ostatniego roku (Tabela 19). Podobnych zależności nie stwierdzono u chorych na ATA (Tabela 19). Natomiast średnia liczba polipektomii była znamienne większa przy wyższych stężeniach LTE<sub>4</sub> w moczu, zarówno u chorych na AERD jak i na ATA (Tabela 19).

Tabela 19. Leczenie związane z zajęciem górnych dróg oddechowych w grupach stężeń LTE<sub>4</sub> w moczu

		Niskie (≤341,0)	Średnie (342,0–780,0)	Wysokie (>780,0)	<i>p</i>
<b>Polipektomie, n (%)</b>	<b>AERD</b>	21 (40,38)	41 (59,42)	89 (73,55)	<0,001 <sup>z</sup>
	<b>ATA</b>	9 (9,18)	7 (9,09)	9 (20,00)	0,12 <sup>x</sup>
<b>Liczba wykonanych polipektomii, mediana (IQR)</b>	<b>AERD</b>	0,00 (3,0)	1,50 (4,0)	2,00 (4,0)	0,007 <sup>y</sup>
	<b>ATA</b>	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (1,0)	0,01 <sup>y</sup>
<b>nGKS : obecnie, n (%)</b>	<b>AERD</b>	20 (8,46)	38 (54,29)	80 (65,57)	0,004 <sup>x</sup>
	<b>ATA</b>	21 (21,88)	15 (19,74)	13 (28,26)	0,54 <sup>x</sup>
<b>nGKS: kiedykolwiek, n (%)</b>	<b>AERD</b>	38 (73,08)	63 (90,00)	111 (90,98)	0,004 <sup>x</sup>
	<b>ATA</b>	40 (41,67)	23 (30,26)	21 (45,65)	0,17 <sup>x</sup>
<b>nGKS: liczba miesięcy w ostatnim roku, mediana (IQR)</b>	<b>AERD</b>	0,5 (12,0)	3 (12,0)	7 (11,5)	0,009 <sup>y</sup>
	<b>ATA</b>	0 (1,0)	0 (0,0)	0 (1,0)	0,5 <sup>y</sup>

<sup>y</sup> test Kruskala-Wallisa; <sup>z</sup> test Chi<sup>2</sup>



#### 4.3.7. Parametry funkcji płuc w grupach stężeń LTE<sub>4</sub> w moczu

Analiza parametrów funkcji płuc nie wykazała istotnych różnic względem stężeń LTE<sub>4</sub> w moczu, zarówno u chorych na AERD jak i na ATA (Tabela 20).

Tabela 20. Parametry funkcji płuc w grupach stężeń LTE<sub>4</sub> w moczu

		Niskie (≤341,0)	Średnie (342,0-780,0)	Wysokie (>780,0)	<i>p</i>
<b>FEV<sub>1</sub>% wartości należnej, średnia (SD)</b>	<b>AERD</b>	76,8 (20,6)	79,5 (21,8)	81,7 (18,4)	0,33 <sup>‡</sup>
	<b>ATA</b>	88,8 (19,0)	85,9 (19,2)	84,9 (22,4)	0,46 <sup>‡</sup>
<b>ΔFEV<sub>1</sub>% (≥12%), n (%)</b>	<b>AERD</b>	15 (30,61)	13 (18,84)	32 (27,83)	0,27 <sup>χ</sup>
	<b>ATA</b>	25 (29,76)	24 (35,29)	15 (34,88)	0,73 <sup>χ</sup>
<b>FEV<sub>1</sub>%FVC, średnia (SD)</b>	<b>AERD</b>	68,6 (12,4)	68,6 (11,2)	69,3 (10,4)	0,89 <sup>‡</sup>
	<b>ATA</b>	75,9 (10,8)	74,8 (10,1)	73,0 (10,7)	0,31 <sup>‡</sup>
<b>FEV<sub>1</sub>%FVC po leku rozszerzającym oskrzela, średnia (SD)</b>	<b>AERD</b>	67,8 (10,9)	68,1 (10,5)	68,3 (1,3)	0,96 <sup>‡</sup>
	<b>ATA</b>	72,0 (10,5)	71,9 (9,5)	68,2 (11,1)	0,19 <sup>‡</sup>

<sup>‡</sup> testy ANOVA; <sup>χ</sup> test Chi<sup>2</sup>

#### 4.3.8. Wybrane badania dodatkowe – eozynofilia bezwzględna, IgE całkowite, alergiczne testy skórne w grupach stężeń LTE<sub>4</sub> w moczu

Tylko w grupie chorych na AERD stwierdzono istotne związki pomiędzy eozynofilią krwi obwodowej oraz stężeniem całkowitego IgE w surowicy krwi a stężeniem LTE<sub>4</sub> w moczu. Eozynofilia krwi obwodowej wzrastała wraz ze stężeniem LTE<sub>4</sub> w moczu (Tabela 21). Podobnie, stężenie całkowitego IgE było najwyższe w grupie chorych z wysokimi stężeniami LTE<sub>4</sub> w moczu, natomiast nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy przedziałem stężeń niskich i średnich (Tabela 21). Nie stwierdzono istotnych zależności pomiędzy powyższymi parametrami laboratoryjnymi a stężeniem LTE<sub>4</sub> w moczu w grupie chorych na ATA i osób zdrowych (Tabela 21). Dodatkowo testy skórne występowały z podobną częstością w poszczególnych przedziałach stężeń LTE<sub>4</sub> w moczu, zarówno u chorych na AERD jak i na ATA (Tabela 21).

Tabela 21. Eozynofilia bezwzględna, IgE całkowitego i wyniki alergicznych testów skórnych dla AERD, ATA i N w grupach stężeń LTE<sub>4</sub> w moczu

		Niskie (≤341,0)	Średnie (342,0-780,0)	Wysokie (>780,0)	<i>p</i>
<b>Eozynofilia bezwzględna (komórki/ml), mediana (IQR)</b>	<b>AERD</b>	192 (278,0)	278,0 (353,0)	429,5 (510,0)	<0,001 <sup>Y</sup>
	<b>ATA</b>	186,5 (259,0)	186,0 (389,0)	239 (446,0)	0,25 <sup>Y</sup>
	<b>N</b>	116,0 (103,0)	151,5 (156,0)	200,0 (203,0)	0,62 <sup>Y</sup>
<b>IgE całkowite (IU/ml), mediana (IQR)</b>	<b>AERD</b>	71,8 (184,9)	67,4 (124,9)	103,0 (156,5)	0,022 <sup>Y</sup>
	<b>ATA</b>	65,8 (139,9)	84,7 (196,1)	128 (225,4)	0,116 <sup>Y</sup>
	<b>N</b>	27,9 (39,3)	24,3 (52,8)	25,9 (59,7)	0,84 <sup>Y</sup>
<b>Dodatnie testy skórne, n (%)</b>	<b>AERD</b>	33 (63,46)	39 (55,71)	71 (58,20)	0,69 <sup>Z</sup>
	<b>ATA</b>	64 (62,14)	44 (56,41)	28 (63,64)	0,66 <sup>Z</sup>

<sup>Y</sup> test Kruskala-Wallis; <sup>Z</sup> test Chi<sup>2</sup>

#### 4.3.9. Porównanie wybranych parametrów w grupach o wysokich stężeniach LTE<sub>4</sub> w moczu (>800,0 pg/mg kreatyniny) pomiędzy chorymi na AERD i ATA

Na podstawie wcześniejszej analizy krzywej ROC ustalono, iż wartością graniczną stężenia LTE<sub>4</sub> w moczu, która najlepiej różnicuje grupy chorych na AERD i na ATA jest stężenie wynoszące 800,0 pg/mg kreatyniny i było ono bardzo zbliżone do wartości odcięcia wyznaczającej górny kwartył stężenia LTE<sub>4</sub> w moczu w populacji osób zdrowych (780,0 pg/mg kreatyniny). W związku z powyższym postanowiono porównać chorych na AERD i na ATA, u których stwierdzono wysokie stężenia LTE<sub>4</sub> w moczu (>800,0 pg/mg kreatyniny).

Istotnie częstsze zaostrzenia astmy wymagające pomocy doraźnej w przeliczeniu na liczbę lat trwania choroby obserwowano w grupie AERD (Tabela 22). Ta grupa chorych cechowała się również istotnie częstszym występowaniem objawów ze strony górnych dróg oddechowych (zarówno w czasie niniejszego badania, jak i kiedykolwiek), dłuższym czasem występowania tychże objawów, częstszym występowaniem polipów nosa i polipektomii oraz większą liczbą polipektomii przypadającą na chorego (jeśli taki zabieg był wykonywany). Chorzy w tej grupie istotnie częściej stosowali glikokortykosteroidy donosowe (zarówno w czasie badania jak i kiedykolwiek) oraz przez większą liczbę miesięcy w roku poprzedzającym niniejsze badanie. U chorych na AERD z wysokimi stężeniami LTE<sub>4</sub> w moczu wartości FEV<sub>1</sub>%FVC były istotnie niższe niż u chorych na ATA z podobnym przedziałem wartości LTE<sub>4</sub> w moczu. W wyżej wymienionych grupach,

pozostałe analizowane parametry nie osiągnęły poziomu istotności statystycznej (Tabela 22).

Tabela 22. Porównanie wybranych parametrów w grupach o wysokich stężeniach LTE<sub>4</sub> w moczu (>800,0 pg/mg kreatyniny) pomiędzy chorymi na AERD i na ATA

Parametr	AERD	ATA	<i>p</i>
Wiek (lata), mediana (IQR)	48,0 (20,0)	54,0 (26,0)	0,08
BMI (kg/m <sup>2</sup> ), mediana (IQR)	25,5 (5,8)	26,5 (8,2)	0,12
Czas trwania astmy (lata), mediana (IQR)	14 (16,0)	13 (29,0)	0,67
Zaostrzenia astmy wymagające hospitalizacji / czas trwania astmy, mediana (IQR)	0,15 (0,4)	0,25 (0,4)	0,15
Zaostrzenia astmy wymagające pomocy doraźnej / czas trwania astmy, mediana (IQR)	0,06 (0,3)	0 (0,0)	<0,001
OIT, n (%)	27 (22,1)	6 (13,6)	0,23
Objawy z górnych dróg oddechowych: obecnie, n (%)	98 (80,33)	17 (36,17)	<0,001
Objawy z górnych dróg oddechowych: kiedykolwiek, n (%)	121 (99,18)	33 (70,21)	<0,001
Czas trwania objawów ze strony górnych dróg oddechowych, mediana (IQR)	15 (18,0)	2 (10,0)	<0,001
Polipy nosa, n (%)	108 (89,26)	15 (33,33)	<0,001
Polipektomie, n (%)	89 (73,55)	9 (20,00)	<0,001
Liczba wykonanych polipektomii/pacjenta, mediana (IQR)	2,00 (4,0)	0 (1,0)	<0,001
nGKS : obecnie, n (%)	80 (65,57)	13 (28,26)	<0,001
nGKS: kiedykolwiek, n (%)	111 (90,98)	21 (45,65)	<0,001
FEV <sub>1</sub> % wartości należnej, średnia (SD)	81,7 (18,4)	84,9 (22,4)	0,33
ΔFEV <sub>1</sub> % (≥12%), n (%)	32 (27,83)	15 (34,88)	0,39
FEV <sub>1</sub> %FVC, średnia (SD)	69,3 (10,4)	73,0 (10,7)	0,04
FEV <sub>1</sub> %FVC po leku rozszerzającym oskrzela, średnia (SD)	68,3 (1,3)	68,2 (11,1)	0,97
Eozynofilia bezwzględna (komórki/ml), mediana (IQR)	429,5 (510,0)	239 (446,0)	0,06
IgE całkowite (IU/ml), mediana (IQR)	103,0 (156,5)	128 (225,4)	0,71
Dodatnie testy skórne, n (%)	71 (58,20)	28 (63,64)	0,53

#### 4.4. Analiza wpływu wybranych zmiennych na rozpoznanie AERD z zastosowaniem analizy regresji logistycznej

##### 4.4.1. Jednowymiarowa regresja logistyczna

Na podstawie wcześniejszych analiz wybrano grupę zmiennych, które wydawały się mieć największy związek z wystąpieniem AERD. W celu uproszczenia obliczeń zsumowano liczbę zaostrzeń astmy wymagających hospitalizacji lub pomocy doraźnej w czasie trwania astmy do wspólnej kategorii: zaostrzenia astmy wymagające interwencji lekarskiej. Spośród wybranych 17 zmiennych jedynie 3, a mianowicie – BMI, dodatnie alergiczne testy skórne oraz stężenie całkowitego IgE okazały się nie wpływać na rozpoznanie AERD w sposób istotny statystycznie (Tabela 23). Wszystkie pozostałe analizowane parametry, za wyjątkiem FEV<sub>1</sub>, zwiększały istotnie szansę wystąpienia AERD (Tabela 23). Natomiast wzrost FEV<sub>1</sub>% wartości należnej o 1% zmniejszał istotnie tę szansę o 2% (Tabela 23).

Tabela 23. Szansa wystąpienia AERD w zależności od potencjalnych czynników ryzyka na podstawie jednowymiarowej regresji logistycznej

Parametr	OR	95%CI	p
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	1,00	0,99-1,01	0,840
Czas trwania astmy (lata)	1,02	1,01-1,04	0,005
Zaostrzenia astmy wymagające interwencji lekarskiej /czas trwania astmy (zaostrzenie/rok)	1,33	1,08-1,63	0,007
Pobyt w OIT z powodu zaostrzenia astmy (Tak/Nie)	2,92	1,67-5,13	<0,001
Stosowanie doustnych GKS (Tak/Nie)	1,71	1,09-2,68	0,018
Objawy ze strony górnych dróg oddechowych: obecnie (Tak/Nie)	5,57	3,74-8,30	<0,001
Objawy ze strony górnych dróg oddechowych: kiedykolwiek (Tak/Nie)	18,14	9,13-36,04	<0,001
Polipy nosa (Tak/Nie)	13,89	8,88-21,75	<0,001
Polipektomie (Tak/Nie)	8,73	5,71-13,37	<0,001
Donosowe GKS: obecnie (Tak/Nie)	4,49	2,99-6,75	<0,001
Donosowe GKS: kiedykolwiek (Tak/Nie)	10,57	6,66-16,78	<0,001
FEV <sub>1</sub> % wartości należnej (%)	0,98	0,97-0,99	<0,001
FEV <sub>1</sub> %FVC <70% po leku rozszerzającym oskrzela (Tak/Nie)	1,95	1,28-2,95	0,002
Eozynofilia bezwzględna >400 komórek/ml (Tak/Nie)	1,89	1,29-2,78	0,001
IgE całkowite (log <sub>2</sub> ) (IU/ml)	1,001	0,90-1,11	0,979
Dodatnie testy skórne (Tak/Nie)	0,93	0,64-1,34	0,685
LTE <sub>4</sub> >800,0 pg/mg kreat. (Tak/Nie)	4,05	2,70-6,08	<0,001

#### 4.4.2. Wielowymiarowa regresja logistyczna

Następnie, spośród 14 zmiennych, które istotnie wpływały na szansę wystąpienia AERD (Tabela 23), wybrano 6 niezależnych zmiennych (zaostżenia astmy wymagające interwencji lekarskiej/czas trwania astmy, objawy ze strony górnych dróg oddechowych występujące kiedykolwiek, polipy nosa, FEV<sub>1</sub>% wartości należnej, FEV<sub>1</sub>%FVC <70% po leku rozszerzającym oskrzela, eozynofilię bezwzględną >400 komórek/ml), które uznano za najbardziej znaczące w przypadku potencjalnego rozpoznawania AERD. Stosując regresję logistyczną krokową postępującą i wsteczną uzyskano model końcowy A, w którym ostatecznie znalazły się 4 zmienne mające niezależny, istotny wpływ na szansę rozpoznania AERD po uwzględnieniu pozostałych czynników (Tabela 24). Model A poprawnie klasyfikował 81% pacjentów do grupy AERD, a także w 46% wyjaśniał zmienność diagnozy za pomocą włączonych do modelu regresji zmiennych objaśniających (R<sup>2</sup>=46,1).

Tabela 24. Szansa wystąpienia AERD na podstawie wielowymiarowej regresji logistycznej – model końcowy A

Parametr	OR	95%CI	p
Zaostrzenia astmy wymagające interwencji lekarskiej /czas trwania astmy (zaostżenie/rok)	1,20	1,02-1,42	0,03
Objawy ze strony górnych dróg oddechowych: kiedykolwiek (Tak/Nie)	6,07	2,76-13,37	<0,001
Polipy nosa (Tak/Nie)	7,55	4,57-12,48	<0,001
FEV <sub>1</sub> % wartości należnej (%)	0,98	0,97-0,99	0,005

Następnie, chcąc ocenić niezależny wpływ podwyższonego stężenia LTE<sub>4</sub> w moczu na szansę wystąpienia AERD, do modelu A włączono zmienną w postaci stężenia LTE<sub>4</sub> w moczu >800,0 pg/mg kreatyniny uzyskując model B (Tabela 25). W modelu tym stężenie LTE<sub>4</sub> >800,0 pg/ml kreatyniny okazało się czynnikiem, który istotnie i niezależnie zwiększał szansę wystąpienia AERD po uwzględnieniu wpływu pozostałych czynników. Włączenie tej zmiennej do modelu zmniejszyło szansę wystąpienia AERD dla takich zmiennych jak: polipy nosa i objawy ze strony górnych dróg oddechowych kiedykolwiek, pozostało bez wpływu na wartość FEV<sub>1</sub>% wartości należnej. Natomiast zaostrzenia astmy

wymagające interwencji lekarskiej/czas trwania astmy, jako zmienna niezależna o potencjalnym wpływie na wystąpienie AERD, straciły istotność statystyczną (Tabela 25). Włączenie LTE<sub>4</sub> do modelu A istotnie zwiększało dopasowanie modelu B do danych ( $p=0,02$ ). Model B poprawnie klasyfikował 82% pacjentów do grupy AERD, a także w 47% wyjaśniał zmienność diagnozy za pomocą włączonych do modelu regresji zmiennych objaśniających ( $R^2=47,2$ ).

Tabela 25. Szansa wystąpienia AERD na podstawie wielowymiarowej regresji logistycznej – model końcowy B

Parametr	OR	95%CI	p
Zaostrzenia astmy wymagające interwencji lekarskiej /czas trwania astmy (zaostrzenie/rok)	1,18	0,996-1,41	0,055
Objawy ze strony górnych dróg oddechowych: kiedykolwiek (Tak/Nie)	5,44	2,51-11,76	<0,001
Polipy nosa (Tak/Nie)	6,68	4,01-11,14	<0,001
FEV <sub>1</sub> % wartości należnej (%)	0,98	0,97-0,99	0,003
LTE <sub>4</sub> >800,0 pg/mg kreat.	1,94	1,17-3,25	0,01

Model zawierający tylko jeden czynnik, jakim jest podwyższone stężenie LTE<sub>4</sub> >800,0 pg/mg kreatyniny poprawnie klasyfikował 50% pacjentów do grupy AERD i tylko w 13% wyjaśniał zmienności diagnozy ( $R^2=13,0$ ).

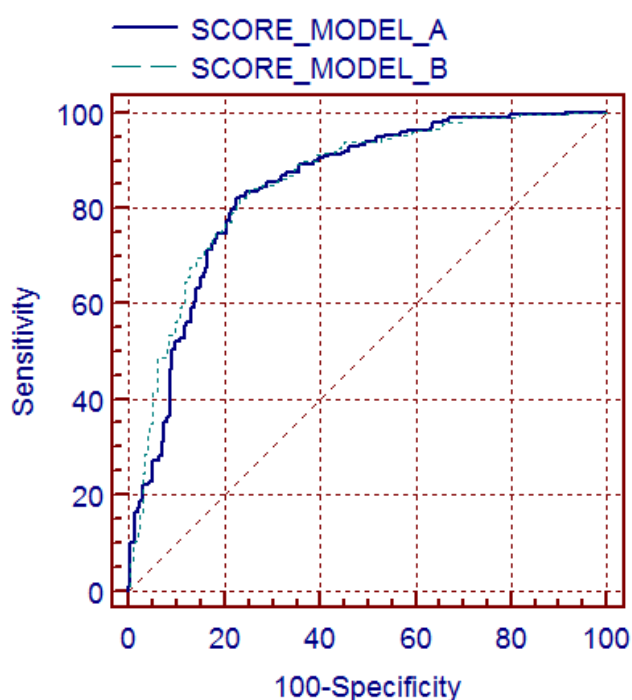
Bardziej szczegółowa analiza diagnozy AERD w odniesieniu do ocenianych zmiennych wykazała, że najsilniejszym predyktorem rozpoznania tego fenotypu astmy była obecność polipów nosa ( $R^2=38,5$ ), gdyż zmienna ta do modelu włączana była jako pierwsza (Tabela 26). Podwyższone stężenie LTE<sub>4</sub> >800,0 pg/mg kreatyniny okazało się najsłabszym predyktorem, ponieważ zmienna ta do modelu włączana była w ostatniej kolejności.

Tabela 26. Kolejność włączania zmiennych do modelu metodą regresji logistycznej krokowej

Parametr	R <sup>2</sup>
Polipy nosa (Tak/Nie)	38,5
Objawy ze strony górnych dróg oddechowych: kiedykolwiek (Tak/Nie)	42,2
FEV <sub>1</sub> % wartości należnej (%)	45,0
Zaostrzenia astmy wymagające interwencji lekarskiej /czas trwania astmy (zaostrzenie/rok)	46,2

#### 4.4.3. Wielowymiarowa regresja logistyczna – porównanie modeli A i B

Na podstawie współczynników regresji każdemu pacjentowi przypisano określony wskaźnik (score) utworzony w oparciu o te same zmienne niezależne, które wchodziły w skład modelu końcowego A i modelu końcowego B. Przy tworzeniu wskaźnika przyjęto następujące zasady: zaostrzenia astmy i wartość FEV<sub>1</sub>% w.n. były traktowane jako zmienne ilościowe, objawom ze strony górnych dróg oddechowych i polipom nosa przypisywano wartość 1, gdy występowały i wartość 0, gdy nie występowały, natomiast stężeniu LTE<sub>4</sub> w moczu przypisywano wartość 1, gdy wynosiło >800,0 pg/mg kreatyniny i wartość 0, gdy wynosiło ≤800,0 pg/mg kreatyniny. Mając tak utworzone wskaźniki wyznaczono krzywe ROC dla powstałych w ten sposób modeli A i B (Rysunek 7).



Rysunek 7. Porównanie krzywych ROC dla modeli A i B utworzonych w oparciu o wskaźniki (score) na podstawie wielowymiarowej analizy regresji logistycznej

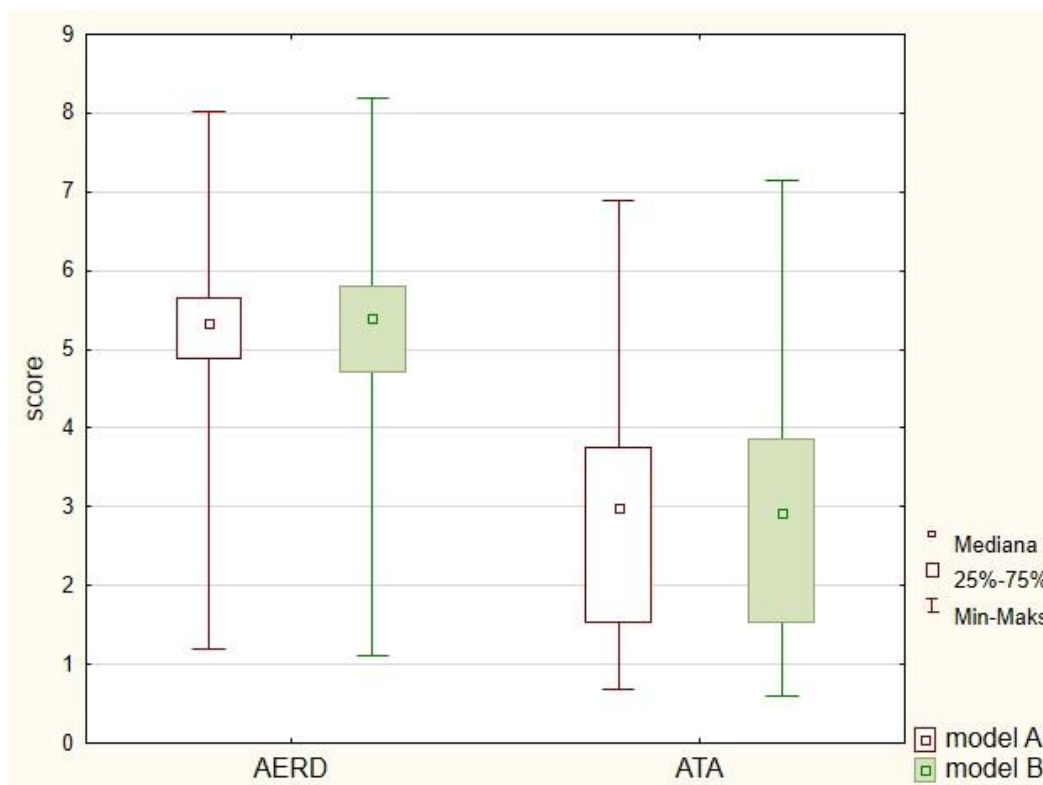
Model A: zaostrzenia astmy, objawy ze strony górnych dróg oddechowych, polipy nosa, FEV<sub>1</sub>% w.n. Model B: zaostrzenia astmy, objawy ze strony górnych dróg oddechowych, polipy nosa, FEV<sub>1</sub>% w.n. i stężenie LTE<sub>4</sub> w moczu.

Stwierdzono, iż model A poprawnie diagnozuje 81% chorych na AERD (czułość), natomiast 77% chorych na ATA charakteryzuje się wynikiem ujemnym testu (swoistość) (Tabela 27). Dla modelu A obszar pod krzywą ROC wynosił 0,843 (95%CI: 0,81-0,88), co oznacza, iż wartość diagnostyczna testu uwzględniającego wyłącznie parametry kliniczne jest dobra. Dołączenie do analizy wartości stężeń LTE<sub>4</sub> w moczu (model B) tylko w nieznacznym stopniu poprawiło prawdopodobieństwo rozpoznania AERD względem ATA (Tabela 27), a uzyskana różnica nie była istotna statystycznie (p=0,117).

Tabela 27. Porównanie krzywych ROC modeli A i B utworzonych w oparciu o wskaźniki (score) na podstawie wielowymiarowej analizy regresji logistycznej

Model	AUC	95%CI	Czułość (%)	Swoistość (%)	<i>p</i>
Model A	0,843	0,81-0,88	81	77	0.117
Model B	0,856	0,82-0,89	82	77	

Rysunek 8 pokazuje, że model A składający się wyłącznie z klasycznych parametrów klinicznych bardzo dobrze różnicuje chorych z rozpoznaniem AERD względem ATA. Dołączenie do tych parametrów wartości stężenia LTE<sub>4</sub> w moczu nie poprawia istotnie wartości predykcyjnej wielowymiarowego modelu diagnostycznego.





Rysunek 8. Porównanie rozpoznania AERD względem ATA w oparciu o wskaźniki (score) zbudowane na podstawie wielowymiarowej regresji logistycznej dla modelu A i B

## 5. DYSKUSJA

W niniejszej pracy podjęto próbę określenia przydatności oznaczania stężenia  $\text{LTE}_4$  w moczu w diagnozowaniu AERD. Oprócz pomiaru tego eikozanoidu w moczu, przeanalizowano również szereg parametrów klinicznych i laboratoryjnych, celem weryfikacji ich roli w rozpoznawaniu powyższego fenotypu astmy. Grupę chorych na AERD porównano z podobną pod względem demograficznym grupą chorych na ATA. Obecnie dysponujemy dość licznymi publikacjami, w których wykazano znamienne różnice w stężeniach  $\text{LTE}_4$  w moczu pomiędzy chorymi na AERD i ATA w okresie stabilnym choroby. Jednakże w niniejszej pracy po raz pierwszy dokonano porównania tego parametru w tak dużych populacjach chorych, co miało na celu uzyskanie bardziej wiarygodnych wyników. Do badania włączono także grupę kontrolną osób zdrowych w celu odniesienia stężeń  $\text{LTE}_4$  w moczu u chorych na AERD i na ATA do uzyskanych w ten sposób zakresów normy. Na podstawie różnych metod statystycznych określono graniczną wartość stężenia  $\text{LTE}_4$  w moczu, która najlepiej dyskryminowała pomiędzy rozpoznaniem AERD i ATA. Uzyskane w ten sposób przedziały wartości stężeń  $\text{LTE}_4$  w moczu analizowano w aspekcie ich przydatności w rozpoznawaniu AERD. Oceniano również, jaki wpływ mają rosnące wartości stężeń  $\text{LTE}_4$  w moczu na wybrane parametry kliniczne i biochemiczne. Następnie budując modele regresji jedno- i wielowymiarowej starano się ustalić, które parametry kliniczne i laboratoryjne mają największy wpływ na rozpoznanie AERD oraz w jaki sposób uwzględnianie stężenia  $\text{LTE}_4$  w moczu wpływa na uzyskane wyniki.

### 5.1. Porównanie parametrów klinicznych i laboratoryjnych w podobnych demograficznie populacjach chorych na AERD i na ATA

W uczestniczącej w niniejszym badaniu grupie chorych na AERD przeważały kobiety (68,4%). W celu wiarygodności dalszych porównań, grupa chorych na ATA została dobrana w ten sposób, by zawierała podobny odsetek kobiet (69,9%). Podobne proporcje płci występowały w poprzednich dużych badaniach chorych na AERD – w badaniu TENOR (78% kobiet) i AIANE (69,6% kobiet) [3,24]. Przyczyna przewagi kobiet wśród chorych na AERD jest niejasna. Ogólnie, u dzieci astmę oskrzelową częściej stwierdza się u chłopców. W okresie dojrzewania częstość jej występowania u obu płci ulega wyrównaniu. Natomiast wśród dorosłych chorych dominują kobiety [130]. Częstsze

występowanie astmy u kobiet wydaje się być związane z niektórymi jej fenotypami, np. astma u otyłych kobiet [13,14]. Prawdopodobnie istotną rolę mogą odgrywać hormony płciowe. Niektóre badania wskazują na możliwość wpływu płci na szlaki przemian lipoksygenazy i regulacje procesów zapalnych, również w astmie. Pergola i wsp. [131] stwierdzili zależne od płci różnice stężeń CysLT we krwi obwodowej po stymulacji czynnikami prozapalnymi, takimi jak lipopolisacharyd (LPS), N-formylo-metionylo-leucylfenylamina (fMLP), czy  $Ca^{2+}$ . Zaobserwowali również zależne od płci różnice w rozmieszczeniu 5-LO w neutrofilach krwi obwodowej, a także różną aktywność tego enzymu po stymulacji dihydrotestosteronem (DHT). Dalsze badania wykazały, iż działanie DHT jest prawdopodobnie mediowane poprzez system pozakomórkowych kinaz regulowanych sygnałem (*extracellular signal-regulated kinase*; ERK) [131]. Badania Szczeklika i wsp. [132] wskazują również na możliwą rolę polimorfizmu genu COX-2 w rozwoju astmy u kobiet, a zwłaszcza AERD. Jednak, jak płeć może wpływać na wykształcanie niektórych endotypów astmy oskrzelowej pozostaje pytaniem otwartym.

Średnia wieku w grupie chorych na AERD w chwili przeprowadzenia badania wynosiła 49,3 (12,9) lat i była bardzo zbliżona do średnich wieku chorych w badaniach TENOR – 49,9 (14,3) lat i AIANE – 45,2 (12,5) lat [3,24]. Średnia wieku chorych na ATA była podobna i wynosiła 49,3 (14,8) lat. Chorzy zostali tak dobrani, aby obie grupy chorych na astmę nie różniły się między sobą pod względem wieku w sposób istotny statystycznie. Podobnie dobrano pod tym względem grupę osób zdrowych, której średni wiek wynosił 45,9 (13,4) lat.

W obu grupach chorych na astmę porównano czas trwania choroby i stwierdzono, że pacjenci z rozpoznaniem AERD chorowali istotnie dłużej niż chorzy na ATA. U chorych na AERD mediana czasu trwania astmy wynosiła 18 lat, a w grupie ATA – 10,5 lat. Biorąc pod uwagę średnią wieku grupy chorych na AERD, można uznać, że pierwsze objawy astmy w tej grupie chorych wystąpiły niedługo po 30 roku życia. Powyższa obserwacja jest zgodna z wynikiem uzyskanym w badaniach AIANE i TENOR, w których średni wiek wystąpienia pierwszych objawów astmy wynosił odpowiednio: 29 i 34 lata [3,24]. Tak więc niniejsze badanie po raz kolejny potwierdza, że AERD to typowy fenotyp astmy o późnym początku.

W niniejszym badaniu liczby zaostrzeń astmy wymagających doraźnej pomocy medycznej oraz hospitalizacji, oceniane w całym okresie trwania choroby, były istotnie wyższe u chorych na AERD. Również bardzo ciężkie zaostrzenia astmy wymagające

hospitalizacji w OIT występowały istotnie częściej u chorych na AERD. W badaniu TENOR stwierdzono, iż chorzy na AERD wymagali niemal dwa razy więcej intubacji z powodu zaostrzeń astmy niż chorzy na ATA [3]. W badaniu AIANE aż 51% chorych było leczonych równocześnie glikokortykosteroidami systemowymi i wziewnymi, a kolejne 30% – stosowało glikokortykosteroidy wziewne w dużych dawkach celem kontroli objawów choroby [24]. Natomiast w badaniu Berges-Gimeno i wsp. [25] aż 77% chorych przyjmowało glikokortykosteroidy systemowo w ciągu roku poprzedzającego przystąpienie do badania. Powyższe wyniki potwierdzają cięższy przebieg i trudniejszą kontrolę astmy u chorych na AERD. Ponieważ zaostrzenia, zwłaszcza ciężkie, są często związane z przyjęciem NLPZ przez osoby z nadwrażliwością na te leki, dlatego tak ważna jest identyfikacja, a następnie odpowiednia edukacja chorych na AERD. Muszą oni bezwzględnie unikać zażywania aspiryny i innych NLPZ, będących inhibitorami COX-1 oraz stosownie informować o tym personel medyczny. Pozwala to uniknąć ciężkich reakcji nadwrażliwości, które mogą zakończyć się nawet zgonem. Badane grupy AERD i ATA nie różniły się istotnie pod względem liczby zaostrzeń astmy mających miejsce w czasie ostatniego roku poprzedzającego badanie. Wynika z tego, że zgłaszane zaostrzenia występowały z większą częstością we wcześniejszych latach trwania astmy. Ten fakt można próbować ogólnie tłumaczyć dostępnością do coraz lepszych leków, coraz szerszą implementacją wytycznych leczenia astmy wśród lekarzy, czy wreszcie coraz lepszą edukacją chorych. Jeśli zaś chodzi o chorych na AERD, to może to wynikać z większej świadomości lekarzy odnośnie potencjalnego zagrożenia związanego z zażywaniem NLPZ i kierowania podejrzanych chorych do ośrodków specjalistycznych w celu dalszej diagnostyki tego problemu.

W trakcie prowadzenia badania chorzy w obu badanych grupach wykazywali znaczne zróżnicowanie co do stosowanego leczenia, a w konsekwencji, co do stopnia ciężkości astmy. Zgodnie z najnowszymi zaleceniami wprowadzonymi w wytycznych GINA z 2015 roku, ciężkość astmy oceniano na podstawie stosowanego u pacjentów leczenia przewlekłego [128]. W ten sposób stwierdzono, że w grupie chorych na AERD istotnie częściej rozpoznawano astmę ciężką, natomiast w grupie chorych na ATA istotnie częściej rozpoznawano astmę łagodną. Warto podkreślić, iż niniejsze badanie przewidywało jednorazową wizytę pacjenta w Klinice z zastrzeżeniem, że przez ostatnie 4 tygodnie nie miał on zaostrzenia objawów astmy oraz zażywał regularnie leki przeciwastmatyczne, zgodnie z zaleceniem lekarza prowadzącego. Tak więc, badanie prowadzone było w warunkach życia codziennego, o czym wspomniano już wcześniej. W

efekcie część pacjentów mogła być ‘niedoleczona’ i przyjmować zbyt małe dawki steroidów, natomiast część mogła przyjmować zbyt duże dawki tych leków. Należy pamiętać, że nie wszyscy uczestniczący w badaniu chorzy pozostawali pod stałą opieką lekarzy naszej Kliniki. Chorzy z podejrzeniem AERD przesyłani są do naszej Kliniki z różnych regionów Polski w celu wykonania próby prowokacyjnej z aspiryną, a następnie wracają pod opiekę swojego lekarza prowadzącego. Jeśli zaś chodzi o chorych na ATA, to część z nich trafia do naszej Kliniki, jako ośrodka referencyjnego, w celu diagnostyki astmy lub z powodu trudnej do leczenia astmy, a następnie wraca do lekarza kierującego, bliżej miejsca swojego zamieszkania. Niemniej jednak wyniki niniejszego badania wyraźnie wykazały, że wśród chorych na AERD astma ciężka zdarza się znacznie częściej niż wśród chorych na ATA.

W niniejszym badaniu nie stwierdzono istotnych różnic co do stosowania leków antyleukotrienowych pomiędzy dwiema grupami chorych na astmę. Co ważne, odsetek chorych na AERD stosujących powyższe leki był znacznie niższy niż w badaniu TENOR (18,4% vs. 67%) [3]. Powyższe dane wydają się odzwierciedlać zmianę tendencji w przepisywaniu tych leków. Badanie TENOR prowadzone było w latach 2001-2012. Natomiast nowsze badania wskazują na ograniczoną skuteczność stosowania leków antyleukotrienowych i uzależnienia ich działania od predyspozycji genetycznych pacjenta [133]. Tak więc, stosowanie tychże leków przynosi korzystne rezultaty jedynie u niektórych chorych na AERD, co z jednej strony wskazuje jak złożona jest rola CysLT w tej chorobie, a równocześnie dowodzi heterogeniczności już w obrębie samej grupy chorych na AERD.

Wyniki badań spirometrycznych uzyskane w niniejszym badaniu wydają się potwierdzać większe nasilenie obturacji dróg oddechowych i częstsze występowanie utrwalonej obturacji u chorych na AERD niż na ATA. Podobne zależności stwierdzono w badaniu TENOR [3]. Wyniki te zdają się potwierdzać, iż AERD jako astma o późnym początku z eozynofilowym zapaleniem dróg oddechowych charakteryzuje się szybszym narastaniem upośledzenia wentylacji płuc [134]. Możliwe, iż do rozwoju AERD istotnie przyczynia się remodeling dróg oddechowych. Badania na modelach zwierzęcych wskazują na ważną rolę LT w tym procesie [135]. Ponadto badania u ludzi sugerują istotną funkcję macierzy pozakomórkowej i zaburzeń równowagi w ekspresji metaloproteinaz, zarówno w górnych jak i dolnych drogach oddechowych [136]. W badaniu Pasaje i wsp. [137] stwierdzono powiązanie polimorfizmu genu EMID2 (*human EMI domain-containing protein 2*) z większą szansą rozpoznania AERD. Gen ten koduje białko związane między

innymi z tranzycją nabłonkowo-śródbłonkową i z rozwojem remodelingu. Równocześnie postuluje się, iż nasilenie zmian w górnych drogach oddechowych (hiperplazja tkanek, włóknienie, tworzenie polipów nosa) bezpośrednio nasila procesy zapalne w dolnych drogach oddechowych. Poprzez działanie szeregu cytokin, w tym TGF- $\beta$ , dochodzi do rozwoju remodelingu i włóknienia, również w dolnych drogach oddechowych [136]. Klinicznie, chorzy ci prezentują utrwaloną obturację, jako wyraz nasilonych i nieodwracalnych zmian w ścianie oskrzeli. Najpewniej z tego też powodu AERD jest często ciężką i trudno poddającą się leczeniu postacią astmy.

W niniejszej pracy informacje dotyczące objawów ze strony górnych dróg oddechowych i występowania polipów nosa czerpano z wywiadu z pacjentem i z dostarczonej dokumentacji medycznej. Objawy ze strony górnych dróg oddechowych związane z przewlekłym zapaleniem zatok zgłaszało niemal  $\frac{3}{4}$  chorych na AERD i ok.  $\frac{1}{3}$  chorych na ATA, natomiast występowanie powyższych objawów kiedykolwiek podawało 95,5% chorych na AERD i blisko połowa chorych na ATA. Również czas trwania objawów ze strony górnych dróg oddechowych był istotnie dłuższy u chorych na AERD niż na ATA. Polipy nosa, zarówno w przeszłości, jak i w czasie trwania badania, zgłaszało niemal 80% chorych na AERD i jedynie 20% chorych na ATA. TK zatok obocznych nosa nie była rutynowo wykonywana u wszystkich chorych. W badaniu AIANE przewlekłe zapalenie zatok stwierdzono u 82,4% chorych na AERD [24]. Na podstawie endoskopii polipy nosa rozpoznano u 60% chorych, a liczba ta wzrosła do 90% po wykonaniu badania TK zatok przynosowych [24].

W historii naturalnej AERD objawy przewlekłego zapalenia zatok są składową „tetradą aspirynowej” i są związane z eozynofilowym zapaleniem górnych dróg oddechowych [24]. Rozpoznanie AERD w początkowym okresie rozwoju choroby może być trudne. W pierwszych latach trwania choroby obraz kliniczny odpowiada najczęściej niealergicznemu eozynofilowemu nieżytowi nosa (*nonallergic rhinitis with eosinophilia* – NARES) [138]. U części chorych reakcja nadwrażliwości na NLPZ dotyczy w tym czasie tylko górnych dróg oddechowych. Przypuszcza się, iż patomechanizmy choroby są podobne jak w pełnoobjawowym AERD i z czasem, u części chorych wykształcą się również objawy astmy oskrzelowej [26]. Wystąpienie polipów najczęściej związane jest z ciężkim przebiegiem przewlekłego zapalenia zatok oraz z cięższym przebiegiem astmy oskrzelowej. U tych chorych trudniej jest osiągnąć dobrą kontrolę objawów astmy oraz istnieje większe ryzyko ciężkich, nieraz zagrażających życiu zaostrzeń choroby [24,139]. Nasilenie i dynamika procesów zapalnych w górnych drogach oddechowych chorych na

AERD jest największa spośród wszystkich chorych z przewlekłym zapaleniem zatok [140]. Badania TK potwierdziły znacznie większe nasilenie przerostu błony śluzowej zatok przynosowych u chorych na AERD w porównaniu z chorymi na ATA [141]. Chorzy na AERD wykazują 10-krotnie większe ryzyko nawrotu polipów nosa i zatok po wykonaniu FESS [142]. Badania Kim i wsp. [143] wykazały, iż stopień nasilenia zmian patologicznych w obrębie zatok przynosowych w obrazie tomograficznym zwiększa szansę rozpoznania AERD.

W niniejszym badaniu zabiegi operacyjne wykonywane w obrębie nosa i zatok (określane jako polipektomie) były istotnie częstsze wśród chorych na AERD niż wśród chorych na ATA. Obie grupy różniły się również istotnie co do liczby wykonywanych polipektomii i stosowania glikokortykosteroidów donosowo. Powyższe dane potwierdzają częstsze występowanie objawów ze strony górnych dróg oddechowych, a w konsekwencji bardziej intensywne leczenie chorych na AERD niż na ATA. Zajęcie górnych dróg oddechowych może dramatycznie pogarszać jakość życia chorych. Zabiegi polipektomii, choć przynoszą poprawę stanu klinicznego, często okazują się rozwiązaniem jedynie czasowym, a polipy nosa nawracają nieraz już w czasie kilku tygodni po zabiegu. Istotę problemu zdają się potwierdzać uzyskane w niniejszym badaniu mediany liczb wykonywanych polipektomii u chorych na AERD. W badaniu Bavbec i wsp. [139], 63,3% spośród 270 chorych na AERD było poddanych w przeszłości polipektomii, a u ¼ z nich zabieg ten był wykonywany więcej niż 3-krotnie.

Na początku XX wieku, dzięki badaniom biopsji dróg oddechowych osób zmarłych z powodu astmy, po raz pierwszy dokonano powiązania objawów astmy z eozynofilowym zapaleniem dróg oddechowych [144]. Rola eozynofili w poszczególnych fenotypach/endotypach astmy jest jednak niejednoznaczna. Bresciani i wsp. [145] dowiedli związku przewlekłego zapalenia zatok przynosowych z nasileniem objawów ciężkiej astmy, a także związku nasilenia zmian w badaniach tomograficznych zatok przynosowych z wysokością eozynofilii we krwi obwodowej. Ponadto stwierdzono ścisłą zależność pomiędzy stopniem nasilenia zmian w zatokach przynosowych w obrazie TK a liczbą eozynofili we krwi obwodowej i w płwocinie chorych na ciężką astmę [146]. Typowo, zapalenie eozynofilowe dróg oddechowych wiąże się aktywacją limfocytów Th2 i produkowanymi przez te komórki cytokinami, które po uwolnieniu do krwiobiegu nie tylko bezpośrednio przyczyniają się do rozwoju stanu zapalnego w drogach oddechowych, ale również działają chemotaktycznie, powodując dalszą rekrutację eozynofili ze szpiku kostnego. Ważną funkcję pełni tu IL-5, która promuje

różnicowanie, proliferację oraz aktywację eozynofilów [147]. Istotną rolę w przenikaniu eozynofilów z krwiobiegu i ich wędrówce do dróg oddechowych zdaje się pełnić szereg innych mediatorów, np. eotaksyna, IL-4 i IL-13, a także CysLT, czy integryny śródbłonna naczyń [147]. Leki biologiczne hamujące cytokiny limfocytów Th2 (np. anti-IL-5, anti-IL13) wpływają na obniżenie stężenia eozynofilów we krwi. Podobnie działają blokery 5-LOX (zileuton), leki antyleukotrienowe (montelukast, zafirlukast), a także omalizumab (anti-IgE) [9,133]. Identyfikacja eozynofilowego zapalenia dróg oddechowych jest istotna ze względu na lepszą odpowiedź kliniczną na leczenie glikokortykosteroidami w tej grupie chorych. Równoczesne farmakologiczne i chirurgiczne leczenie przewlekłego zapalenia zatok przynosowych poprawia znacząco funkcję płuc u tych chorych. Higashi i wsp. [93,95] wykazali, iż wykonanie polipektomii u chorych na AERD zmniejsza nasilenie objawów zarówno ze strony górnych jak i dolnych dróg oddechowych.

Uczestniczące w niniejszym badaniu grupy chorych różniły się istotnie między sobą poziomem eozynofilii obwodowej, która była najwyższa w grupie AERD, nieco niższa w grupie ATA, a najniższa w grupie kontrolnej. Uwagę zwracał jednak szeroki zakres wartości i nakładanie się jej rozkładów w każdej z badanych grup. Choć wysoka eozynofilia bezwzględna we krwi obwodowej uważana jest za typową cechę chorych na AERD, w niniejszej pracy nie stwierdzono jej u wszystkich badanych. Wiarygodna ocena jej wartości oraz różnic pomiędzy badanymi grupami chorych na astmę jest utrudniona, ponieważ część chorych stosowała steroidy doustne, które obniżają poziom eozynofilii. Potwierdza to istotnie ujemna korelacja pomiędzy poziomem eozynofilii bezwzględnej we krwi obwodowej, a dawką przyjmowanego doustnie metylprednizolonu.

Powiązanie przewlekłego zapalenia w górnych i w dolnych drogach oddechowych z eozynofilią krwi obwodowej wskazuje, iż astma nie ogranicza się do wystąpienia lokalnych zaburzeń w drogach oddechowych, ale jest to choroba systemowa. Badania te zdają się popierać tezę o 'jedności' dróg oddechowych (*united airway disease*), według której za obraz chorobowy ze strony górnych i dolnych dróg oddechowych odpowiedzialne są podobne mechanizmy [141]. Według jednej z teorii, do rozwoju przewlekłego zapalenia zatok i astmy może przyczyniać się pierwotne zaburzenie funkcji barierowej nabłonka dróg oddechowych (zaburzenia międzykomórkowych połączeń ścisłych, ekspresja okludyny) [148], co umożliwia przenikanie obcych cząsteczek, czynników zakaźnych (wirusów, bakterii, grzybów) w obręb tkanek i prowadzi do powstania przewlekłego stanu zapalnego dróg oddechowych. Tak więc istotną rolę może tu odgrywać czynnik infekcyjny. Trwają badania nad rolą zakażeń wirusowych jako potencjalnie związanych z



rozwojem choroby. Badana jest również rola różnych bakterii, a w szczególności *Staphylococcus aureus* i produkowanych przez nie enterotoksyn. Yoo i wsp. [149] wykazali, że chorzy na AERD z wysokimi stężeniami SAE IgE mieli podwyższone wartości eozynofilii i całkowitego IgE we krwi obwodowej.

W niniejszej pracy stwierdzono istotne różnice stężeń całkowitego IgE pomiędzy grupami chorych na astmę a kontrolną grupą osób zdrowych. Natomiast pomiędzy grupami chorych na AERD i na ATA stężenia całkowitego IgE w surowicy krwi obwodowej nie różniły się istotnie. Uzyskane wyniki dla chorych na AERD uczestniczących w niniejszym badaniu były zbliżone do wyników uzyskanych w badaniu TENOR (mediana 89 vs. 88 IU/ml) [3]. Natomiast średnie stężenia IgE całkowitego u chorych na AERD były niższe niż w badaniu AIANE (157 vs. 987 IU/ml) [24].

Stężenia całkowitego IgE w surowicy są powiązane z różnymi fenotypami astmy oskrzelowej i osiągają najwyższe wartości u chorych na astmę atopową [150]. Niemniej, zależności te są złożone i jeszcze nie do końca określone. Gergen i wsp. [151] stwierdzili, iż podwyższone stężenie całkowitego IgE, przy braku swoistych IgE nie jest związane z astmą oskrzelową. Z kolei Burrows i wsp. [150] wykazali, że częstość występowania astmy zwiększa się proporcjonalnie do wzrostu stężeń całkowitego IgE, nawet u chorych, u których wyniki testów alergicznych są ujemne. Chociaż w astmie atopowej obserwowano wzrost stężenia całkowitego IgE proporcjonalny do liczby uczulających alergenów wyrażonej liczbą dodatnich wyników dla swoistych IgE [152], to jednak stężenia całkowitego IgE nie zawsze korelują ze stężeniami swoistych IgE wobec określonego alergenu [153]. Jednym z powodów może być fakt, że stężenia całkowitego IgE obejmują również pewne ilości wspomnianych wcześniej IgE skierowanych przeciw superantygenom bakteryjnym (np. SAE) [154].

W niniejszej pracy obie grupy chorych na astmę nie różniły się istotnie co do częstości występowania atopii wyrażonej obecnością dodatnich testów skórnych wobec określonych alergenów wziewnych. Atopia jest silniej związana z niektórymi fenotypami astmy. Bochenek i wsp. [155] nie stwierdzili istotnej różnicy w częstości występowania atopii u chorych na AERD w porównaniu z populacją ogólną.

Wskaźnik BMI nie różnił się istotnie w obu badanych grupach chorych. Chorzy na AERD biorący udział w niniejszym badaniu mieli niższą średnią wartość BMI niż chorzy uczestniczący w badaniu TENOR (26,8 vs. 30,6 kg/m<sup>2</sup>) [3], co odzwierciedla różnice w

częstości występowania otyłości między społeczeństwami Stanów Zjednoczonych i Polski [156].

Obie badane grupy chorych nie różniły się pod względem stopnia kontroli astmy. Jedynie co piąty pacjent w każdej z grup miał prawidłowo kontrolowaną chorobę (ACT = 25). Natomiast aż u 45% chorych z obu grup astma była źle kontrolowana (ACT < 20). Powyższe wyniki pokazują jak trudno jest osiągnąć zadawalającą kontrolę astmy w warunkach życia codziennego (*real life study*) i pozostają w zgodności z badaniami prowadzonymi na dużych populacjach chorych na astmę. W amerykańskim badaniu Fuhlbrigge i wsp. [157] brak kontroli astmy stwierdzono u 41% chorych, natomiast w badaniu europejskim *National Health and Wellness Surveys (NHWS)* [158] – aż u 53,5% chorych.

## **5.2. Przydatność oznaczania LTE<sub>4</sub> w moczu w rozpoznawaniu AERD**

Jak dotąd, brak jest jednego, stałego i mierzalnego parametru potwierdzającego rozpoznanie AERD. Należy zaznaczyć, iż wielu chorych na AERD nie wiąże początkowo swoich ataków astmy z zażywaniem NLPZ. W wielośrodkowym badaniu europejskim aż 15% chorych na AERD nie zdawało sobie sprawy, iż nie tolerują leków z tej grupy [24]. Z drugiej strony, w badaniu Pleskova i wsp. [159] u 16% procent chorych na astmę, którzy w wywiadzie podawali nadwrażliwość na NLPZ, testy prowokacyjne z aspiryną wypadły ujemnie. Testy te stanowią obecnie ‘złoty standard’ w diagnozowaniu AERD. W badaniu Jenkins i wsp. [160], po wykonaniu testów prowokacyjnych z aspiryną rozpoznanie AERD postawiono aż u 21% chorych. W świetle codziennej praktyki klinicznej występowanie AERD u co 5-go chorego na astmę jest raczej mało prawdopodobne. W rezultacie diagnoza AERD wydaje się być z jednej strony niedoszacowana, a z drugiej strony stawiana zbyt często. Badania Dursun i wsp. [161] wykazały zależność pomiędzy ciężkością reakcji klinicznej po przyjęciu NLPZ przez chorych podejrzanych o AERD a prawdopodobieństwem rozpoznania tej choroby za pomocą testu prowokacyjnego z aspiryną. Test potwierdził rozpoznanie AERD u wszystkich chorych, którzy w wywiadzie podawali ciężkie ataki astmatyczne po przyjęciu NLPZ. Natomiast u chorych, którzy w wywiadzie zgłaszali objawy umiarkowane lub łagodne, częstość rozpoznania wahała się pomiędzy 73% a 79%. Prawdopodobieństwo rozpoznania AERD wzrastało do 89%, jeśli pacjent podawał w wywiadzie co najmniej 2-krotne zażycie NLPZ powikłane wystąpieniem typowej reakcji nadwrażliwości [161].

W grupie chorych na AERD uczestniczących w niniejszym badaniu 83% posiadało udokumentowane dodatnie wyniki testów prowokacyjnych z aspiryną. W pozostałych przypadkach rozpoznanie choroby opierało się na bardzo typowym obrazie klinicznym oraz dobrze udokumentowanych, jednoznacznych, ostrych reakcjach ze strony dolnych i często również górnych dróg oddechowych po zażyciu aspiryny lub innych NLPZ. U tych chorych odstąpiono od wykonywania testów prowokacyjnych z aspiryną ze względu na ciężki stopień steroidozależnej astmy i obturację oskrzeli. Każda próba odstawienia lub redukcji doustnych steroidów powodowała bowiem spadek FEV<sub>1</sub> poniżej 70% wartości należytnej, co dyskwalifikowało chorych od przeprowadzenia testów. Byli to jednak pacjenci dobrze znani lekarzom kliniki, z dobrze udokumentowaną i jednoznaczną nadwrażliwością na NLPZ w wywiadzie. Tak więc, włączenie ich do grupy chorych na AERD nie budziło wątpliwości.

Chociaż rozpoznawanie AERD jedynie na podstawie danych z wywiadu (typowy obraz kliniczny oraz typowe reakcje nadwrażliwości po przyjęciu NLPZ) może być zawodne, to jednak w niektórych przypadkach, zwłaszcza przy braku możliwości wykonania testu prowokacyjnego z aspiryną, analiza tych danych pozostaje jedynym narzędziem diagnostycznym. Dlatego też tak istotnym jest znalezienie wiarygodnych biomarkerów AERD, które jednoznacznie określałyby powyższe rozpoznanie. W niniejszej pracy postanowiono przeanalizować rolę LTE<sub>4</sub>, jako potencjalnego biomarkera tego fenotypu astmy.

CysLT podlegają szybkiej przemianie w płucach, a częściowo również w wątrobie, gdzie LTC<sub>4</sub> jest szybko przekształcany przez  $\gamma$ -glutamylotranspeptydazę w LTD<sub>4</sub>, a ten dzięki usunięciu glicyny przez dipeptydazę – w LTE<sub>4</sub>. Na ścieżce przemian lipoksygenazy, LTE<sub>4</sub> jest końcowym, najbardziej stabilnym metabolitem i posiada najdłuższy czas połowicznego rozpadu, dlatego też uważa się go za najbardziej wiarygodny wskaźnik endogennej syntezy CysLT [44, 162]. Wydalany jest głównie z moczem i częściowo z żółcią [44,162]. W badaniach Asano i wsp. [163], zarówno u osób zdrowych jak i u chorych na astmę nie wykazano dobowej zmienności stężeń LTE<sub>4</sub> w moczu. W porównaniu do badań innych płynów ustrojowych (popłuczyny oskrzelowo-pęcherzykowe, popłuczyny nosowe, osocze krwi obwodowej), badanie moczu jest metodą prostą i nieinwazyjną. Umożliwia określenie ustrojowej produkcji CysLT. Badanie moczu, jako płynu ubogokomórkowego niesie mniejsze ryzyko (np. w porównaniu do badania krwi obwodowej) powstawania artefaktów przy pozyskiwaniu materiału do badania. W płynach o większej liczbie komórek, w trakcie preparatyki istnieje ryzyko uwalniania LTE<sub>4</sub> i

innych metabolitów kwasu arachidonowego przez komórki [162]. Stężenia metabolitów kwasu arachidonowego w płynach ustrojowych są niezwykle niskie – zazwyczaj są to wartości w zakresie piko- lub nanogramów w przeliczeniu na mililitr. Stężenia LTE<sub>4</sub> w moczu są znacznie wyższe niż w osoczu krwi obwodowej [164]. Należy jednak pamiętać, iż choroby nerek mogą wpływać na wydzielanie LTE<sub>4</sub> z moczem [162]. W celu zniwelowania wpływu dobowych wahań produkcji i koncentracji moczu, wynik stężenia LTE<sub>4</sub> podawany jest w relacji do wydalanej kreatyniny [162].

W celu oznaczenia stężeń LTE<sub>4</sub> w moczu najczęściej stosowane są obecnie metody oparte na spektrometrii mas (np. wysokosprawna spektrometria cieczowa – spektrometria mas; HPLC-MS) oraz z wykorzystaniem przeciwciał, takie jak testy immunoenzymatyczne (EIA, w tym ELISA), testy radioimmunologiczne (RIA) [165,166]. Technika spektrometrii mas umożliwia analizę ilościową polarnych związków organicznych. Jest ona ciągle udoskonalana i pojawiają się nowe rodzaje spektrometrów mas: z pojedynczym analizatorem mas lub tandemowe, z użyciem potrójnego kwadrupola, pułapki jonowej, czy też spektrometry wysokiej rozdzielczości. W zastosowaniu spektrometrii mas istotna jest wydajność jonizacji, która zależy od wielu czynników i wprowadza pewną zmienność wyników. Użycie tej metody do pomiarów stężeń LTE<sub>4</sub> w moczu związane jest z ryzykiem utraty części materiału podczas czasochłonnej preparatyki oraz przy wykonywaniu samych pomiarów, zwłaszcza przy wykorzystaniu bardziej złożonych, wieloetapowych procedur, co utrudnia zastosowanie niektórych z tych technik do badań klinicznych. Również dostępność do tego rodzaju urządzeń jest niestety ograniczona i wiąże się z wysokimi kosztami badań. Niemniej badanie przy użyciu spektrometrii mas wysokiej rozdzielczości wydaje się obecnie metodą o największej powtarzalności wyników i największej dokładności pomiaru LTE<sub>4</sub> w moczu.

Alternatywą jest oznaczanie stężeń LTE<sub>4</sub> w moczu przy pomocy testów immunologicznych z wykorzystaniem przeciwciał. Otrzymany wynik zależy jednak od rodzaju stosowanych przeciwciał. Ponieważ metoda ta polega na współzawodniczeniu wolnego LTE<sub>4</sub> w badanej próbce z LTE<sub>4</sub> związanym z acetylocholinesterazą o wiązanie z ograniczoną ilością antysurowicy, substancje zawarte w moczu mogą zakłócać przebieg reakcji, czego efektem jest zawyżenie wyników testu. W świetle przeprowadzonych dotąd badań, stosowanie dodatkowej preparatyki próbek moczu przed wykonaniem testu metodą EIA/RIA nie polepszało w sposób istotny wyników, natomiast prowadziło czasem do utraty materiału [166]. Tak więc do badania leukotrienów w moczu najlepiej stosować nieoczyszczone próbki moczu. Metody EIA oraz RIA umożliwiają zatem oznaczanie

jedynie względnych wartości stężeń LTE<sub>4</sub> w moczu, a substancje zanieczyszczające mocz mogą być odpowiedzialne za zawyżanie wyników oraz mniejszą powtarzalność pomiarów w porównaniu z technikami spektrometrii mas. Niemniej wyniki tego typu pomiarów w pełni wystarczają do porównań stężeń LTE<sub>4</sub> w moczu zakładając, iż stosowana jest ta sama metoda oznaczeń. Przy porównaniu metod EIA i RIA, pierwsza z nich cechuje się większą czułością i pozwala na otrzymanie wyniku w krótszym czasie [166]. Porównując natomiast EIA z HPLC-MS należy stwierdzić, że obie metody w sposób porównywalny określają różnice stężeń LTE<sub>4</sub> w moczu. Za pomocą obu metod stwierdzono istotną różnicę średniego stężenia LTE<sub>4</sub> w moczu pomiędzy pacjentami chorymi na AERD i na ATA [165]. W badaniu Sanaka i wsp. [165] stwierdzono przewagę stosowania HPLC-MS w oznaczeniach LTE<sub>4</sub> w moczu w zakresie niskich stężeń, pomiędzy 0-200 pg/ml. Natomiast w zakresie wyższych stężeń (500, 1000, 2000 pg/ml) wyniki uzyskane metodą ELISA były w pełni zadawalające. Choć HPLC-MS cechuje się lepszą dokładnością pomiarów, jednak metoda ELISA jest prostsza, mniej czasochłonna, tańsza i łatwiej dostępna. Stanowi tym samym korzystniejszą alternatywę dla szerszego zastosowania w codziennej diagnostyce laboratoryjnej. Dlatego też w niniejszej pracy zastosowano zestaw EIA produkowany przez Cayman Chemical Company (Ann Arbor, MI), który w ostatnim czasie jest często stosowany w badaniach klinicznych do oznaczania stężeń LTE<sub>4</sub> w astmie.

Ze względu na opisane powyżej różnice w stosowanej metodologii wyznaczenie zakresu stężeń LTE<sub>4</sub> w moczu u osób zdrowych już stanowi pewną trudność. Należy pamiętać, iż wyniki poszczególnych prac z tego zakresu nie zawsze można bezpośrednio porównywać. Ponadto liczba publikacji dotyczących tego tematu jest ograniczona, a grupy objęte badaniem są niezbyt liczne. W niniejszej pracy średnie stężenie LTE<sub>4</sub> w moczu w grupie kontrolnej wynosiło 573,7 (352,0) pg/mg kreatyniny. W badaniach Celejewskiej-Wójcik [97] i Pezato [98], które wykonywane były tą samą metodą i w tym samym laboratorium co niniejsze badanie, średnie stężenia były znacząco wyższe. Jednak należy zaznaczyć, iż powyższe dwa badania były prowadzone wśród populacji chorych na AERD, w których wszyscy pacjenci mieli zaawansowane zmiany w górnych dróg oddechowych. To zdaje się tłumaczyć powyższą różnicę.

Podobnie jak w innych badaniach, nie zaobserwowano istotnej różnicy stężeń LTE<sub>4</sub> w moczu pomiędzy grupą chorych na ATA i osobami zdrowymi [75,76,90-98]. Natomiast chorzy na AERD mieli istotnie wyższe stężenia LTE<sub>4</sub> w moczu, zarówno w porównaniu do grupy chorych na ATA jak i osób zdrowych. Wielokrotnie wykazywano znamienne

wyższe średnie stężenie LTE<sub>4</sub> w moczu (hiperleukotrienuria) w warunkach spoczynkowych u chorych na AERD w porównaniu z chorymi na ATA i osobami zdrowymi [75,76,90-98]. Po raz pierwszy zależność tę opisała Christie i wsp. [75] w 1991 roku. W poszczególnych pracach stosowano różne metodologie oznaczania LTE<sub>4</sub> w moczu i sposoby prezentacji wyników, co utrudnia ich bezpośrednie porównanie. Niemniej we wszystkich powyższych badaniach różnice stężeń LTE<sub>4</sub> w moczu pomiędzy grupami AERD i ATA były istotne statystycznie. Były to jednakże tylko różnice pomiędzy średnimi, natomiast w obrębie poszczególnych grup obserwowano nakładanie się wyników. W grupie AERD były osoby ze względnie niskimi stężeniami LTE<sub>4</sub>, zaś w grupie ATA znajdowały się osoby z wyższymi stężeniami tego metabolitu. Trzeba podkreślić, że dotychczasowe badania obejmowały stosunkowo nieliczne grupy chorych, nigdy nie przekraczające liczby kilkudziesięciu. Dlatego też rola LTE<sub>4</sub> w moczu jako biomarkera AERD pozostawała nierozstrzygnięta. Dotychczas badania z udziałem największej liczby chorych przeprowadzili Bochenek i wsp. [94], Higashi i wsp. [93] oraz Micheletto i wsp. [96]. (Tabela 1). W niniejszym badaniu po raz pierwszy przebadano tak duże grupy chorych na AERD (n=247) i na ATA (n=239).

### **5.3. Ocena wartości pomiaru stężenia LTE<sub>4</sub> w moczu jako pojedynczego parametru różnicującego grupy chorych na AERD i ATA**

W celu określenia wartości stężenia LTE<sub>4</sub> w moczu najlepiej różnicującej grupy chorych na AERD i ATA zastosowano dwie niezależne metody statystyczne. W pierwszej z nich wartości stężeń LTE<sub>4</sub> w moczu osób zdrowych podzielono na 4 grupy wyznaczone przez rozkład kwartyłowy, uzyskując 3 wartości odcięcia. Następnie oceniono rozkład chorych na AERD i ATA w powyższych grupach rozkładu stężeń LTE<sub>4</sub> i stwierdzono, że rozpoznanie AERD względem ATA zwiększa się istotnie wraz ze wzrostem stężenia LTE<sub>4</sub> w moczu. U pacjentów ze stężeniem LTE<sub>4</sub> w moczu >341,0 pg/mg kreatyniny szansa ta wzrastała o 80%. Natomiast u pacjentów ze stężeniem LTE<sub>4</sub> przekraczającym 780,0 pg/mg kreatyniny AERD rozpoznawano ponad 5-krotnie częściej niż ATA. Stąd też, wartość tę uznano za punkt odcięcia tzw. wysokich stężeń LTE<sub>4</sub>. W drugiej metodzie, na podstawie analizy obszaru pod krzywą ROC stwierdzono, iż wartością graniczną stężenia LTE<sub>4</sub> w moczu, która najlepiej różnicuje grupy chorych na AERD i na ATA była wartość równa 800,0 pg/mg kreatyniny. Zatem przyjęto, że wartości stężenia LTE<sub>4</sub> >800,0 pg/mg kreatyniny (stężenia wysokie) określały dodatni wynik testu, natomiast wartości stężenia LTE<sub>4</sub> ≤800,0 pg/mg kreatyniny (stężenia niskie) określały wynik ujemny. Bardzo zbliżona

wartość punktu odcięcia dla wysokich stężeń LTE<sub>4</sub> w moczu uzyskana na podstawie dwóch różnych metod statystycznych dała gruntowne podstawy, aby w dalszych obliczeniach wartość stężenia LTE<sub>4</sub> w moczu równą 800,0 pg/mg kreatyniny przyjąć jako granicę, powyżej której wynik testu określono jako dodatni, natomiast wartości stężenia LTE<sub>4</sub> ≤800,0 pg/mg kreatyniny określono jako wynik ujemny.

W niniejszej pracy postanowiono zbadać, czy na podstawie wartości stężeń LTE<sub>4</sub> w moczu, jako pojedynczego parametru, można poprawnie zakwalifikować chorych do grup AERD i ATA. W badanej grupie chorych na astmę, którzy mieli wysokie stężenia LTE<sub>4</sub> w moczu, chorzy na AERD stanowili 72% (PPV). Natomiast w badanej grupie chorych na astmę z niskimi stężeniami LTE<sub>4</sub> w moczu, chorzy na ATA stanowili 61% (NPV). Takie wyniki wskazują na słabą wartość predykcyjną stężeń LTE<sub>4</sub> w moczu jako zmiennej dyskryminującej populację chorych na AERD i na ATA. Następnie postanowiono odnieść wyniki uzyskane w niniejszym badaniu do całej populacji chorych na astmę przy założeniu, że częstość występowania AERD w populacji astmatyków wynosi 7,4% [30]. W tej sytuacji dodatnia wartość predykcyjna dla rozpoznania AERD znacznie zmalała (do 16%), co wskazuje, że wysokie wartości stężenia LTE<sub>4</sub> w moczu nie są wystarczająco dobrym parametrem do potwierdzenia AERD. Natomiast znacząco wzrosła ujemna wartość predykcyjna testu (do 96%), co oznacza, że niskie wartości stężenia LTE<sub>4</sub> w moczu mogą być przydatne do wykluczenia rozpoznania AERD. Należy przy tym zaznaczyć, iż ogólna wartość diagnostyczna testu zdefiniowanego w oparciu o wartość stężenia LTE<sub>4</sub> w moczu była przeciętna (obszar pod krzywą ROC = 0,70). Czulość i swoistość dla powyższego testu wyniosła odpowiednio: 49% i 81%. Odnosząc się do powyższych wartości można stwierdzić, iż wysokie stężenie LTE<sub>4</sub> w moczu nie jest wystarczająco dobrym wskaźnikiem diagnostycznym potwierdzającym rozpoznanie AERD, który mógłby znaleźć zastosowanie w praktyce klinicznej.

W badaniu Celejewskiej-Wójcik i wsp. [97], które było prowadzone w tym samym laboratorium i przy użyciu tej samej metodyki laboratoryjnej, jednak z udziałem wielokrotnie mniejszej liczby chorych (8 chorych na AERD i 16 chorych na ATA), wartość stężenia LTE<sub>4</sub> w moczu, która najlepiej dyskryminowała między chorymi na AERD i na ATA, wynosiła 859,0 pg/mg kreatyniny. Natomiast czulość i swoistość testu wynosiły odpowiednio: 87,5% i 93,75%, zaś obszar pod krzywą ROC – 0,86. Powyższe wyniki wskazują na znacznie lepszą wartość dyskryminującą testu, niż wyniki uzyskane w niniejszym badaniu. Takie rozbieżności mogą wynikać z różnego doboru klinicznego chorych w każdym z badań, a także z różnej liczebności badanych grup. W cytowanej

pracy wszyscy chorzy, zarówno na AERD jak i na ATA, mieli przewlekłe zapalenie zatok z polipami lub bez polipów, ponieważ byli kierowani z Kliniki Otolaryngologii przed planowanym zabiegiem endoskopowej operacji zatok. Natomiast uczestnicząca w niniejszym badaniu grupa astmatyków obejmowała całe spektrum kliniczne chorych na astmę, zróżnicowanych pod względem ciężkości choroby, jak również obecności zapalenia zatok i polipów nosa. Ponadto, w porównaniu z cytowanym powyżej badaniem, była ona ponad 20-krotnie liczniejsza (łącznie 486 vs. 24 chorych). Te dwa fakty sprawiają, że wyniki uzyskane w niniejszym badaniu należy uznać za bardziej wiarygodne.

W badaniu Sanaka i wsp. [165], w którym do oznaczania LTE<sub>4</sub> w pojedynczej próbce moczu również stosowano metodę ELISA, wartość stężenia LTE<sub>4</sub> w moczu najlepiej dyskryminująca pomiędzy chorymi na AERD i na ATA wynosiła 274,0 pg/mg kreatyniny, a czułość i swoistość testu oceniono odpowiednio na: 90,2% i 50,6%. Dodatnia wartość predykcyjna testu wyniosła 86,8%. Znacznie wyższą czułość i niższą swoistość testu uzyskaną w cytowanym badaniu, w porównaniu z niniejszym badaniem, można próbować tłumaczyć 4-krotnie wyższą liczebnością grupy astmatyków objętych niniejszym badaniem (486 vs. 124 chorych). Należałoby też przypuszczać, że mogą istnieć jakieś różnice w charakterystyce klinicznej chorych uczestniczących w obu badaniach. Nie można tego porównać, gdyż w publikacji Sanaka i wsp. [165] nie zostały zamieszczone cechy kliniczne badanej populacji.

Yamaguchi i wsp. [167], celem określenia stężeń LTE<sub>4</sub> w moczu u chorych na AERD i na ATA zastosowali metodę EIA, a następnie, po puryfikacji – HPLC. Obszar pod wyznaczoną krzywą ROC wyniósł 0,788, a więc wartość ta była zbliżona do wyniku otrzymanego w niniejszej pracy. Niestety w cytowanym badaniu nie podano czułości, specyficzności, ani wartości stężenia LTE<sub>4</sub> w moczu, która najlepiej dyskryminuje pomiędzy chorymi na AERD i na ATA.

Ciekawe i nowatorskie podejście do oceny przydatności diagnostycznej pomiaru LTE<sub>4</sub> w moczu w rozpoznawaniu AERD zaproponowali w ostatnio opublikowanej pracy Divekar i wsp. [168]. Zamiast pojedynczej próbki moczu opierali się oni na 24-godzinnej zbiorce moczu, w którym mierzono stężenie LTE<sub>4</sub>. Na podstawie krzywej ROC ustalono, iż stężenie LTE<sub>4</sub> w 24-godzinnej zbiorce moczu, które najlepiej dyskryminowało między chorymi na AERD i na ATA wyniosło 166,0 pg/mg kreatyniny. Czuość i swoistość powyższego badania została określona odpowiednio na: 76% i 89%. Należy podkreślić zasadnicze różnice metodologiczne pomiędzy powyżej cytowanym a niniejszym badaniem. Divekar i wsp. [169] nie tylko, że wykorzystywali 24-godzinną zbiórkę moczu,



ale także do oznaczania stężenia LTE<sub>4</sub> w moczu stosowali chromatografię cieczową – spektrometrii mas (HPLC-MS). Dlatego też bezpośrednie porównania wyników nie są możliwe. Brak obecnie badań porównujących wyniki stężeń LTE<sub>4</sub> oznaczanych w pojedynczej próbce moczu i w 24-godzinnej zbiorce moczu, chociaż obliczanie stężenia LTE<sub>4</sub> w przeliczeniu na kreatyninę uznane jest za metodę mającą zniwelować różnice w dobowych wahaniami wydzielanego moczu. Warto również nadmienić, iż liczba chorych uczestniczących w wyżej wymienionym badaniu nie była zbyt wysoka (16 chorych na AERD i 37 chorych na ATA). Dlatego też potwierdzenie powyższego doniesienia wymaga dalszych badań.

W metaanalizie 10 badań dotyczących pomiaru stężeń LTE<sub>4</sub> w moczu, Hagan i wsp. [169] porównywali różne metody oznaczania LTE<sub>4</sub> w moczu i ich przydatność w różnicowaniu pomiędzy AERD i ATA. Stwierdzili oni, iż przy użyciu metody EIA (Cayman) czułość testu wynosi 76%, specyficzność – 79%, natomiast dodatnia wartość predykcyjna – 73%, a ujemne wartość predykcyjna – 82%. Jak dotąd, powyższa praca pozostaje jedynie doniesieniem konferencyjnym i brak obszerniejszej publikacji na ten temat uniemożliwia szczegółową analizę powyższych danych.

Aktualnie istnieją dowody, że nie tylko astma, jako choroba, ale także AERD, jako jej fenotyp jest heterogenna pod względem cech klinicznych i wartości stężeń LTE<sub>4</sub> w moczu [170]. Ponieważ czułość i swoistość testu nie określają wprost prawdopodobieństwa wystąpienia choroby u indywidualnego pacjenta, co jest istotne z klinicznego punktu widzenia, dlatego w niniejszym badaniu obliczono również iloraz wiarygodności (Likelihood Ratio, LR). Jest to miara, która pozwala oszacować indywidualne prawdopodobieństwo rozpoznania choroby po uwzględnieniu wyniku testu. W niniejszym badaniu LR<sup>+</sup> wyniósł 2,57, co oznacza, że prawdopodobieństwo, iż pozytywny wynik testu (LTE<sub>4</sub> >800,0 pg/mg kreatyniny) zostanie przypisany osobie rzeczywiście chorej na AERD jest 2,57 razy większe niż prawdopodobieństwo, iż pozytywny wynik testu otrzyma osoba rzeczywiście chorująca na ATA. Niestety taka wartość LR wskazuje, że przydatność pomiaru stężenia LTE<sub>4</sub> w pojedynczej próbce moczu, jako parametru pozwalającego na rozpoznanie AERD jest niska. Przyjmuje się bowiem, że test jest przydatny klinicznie, jeśli wartość LR<sup>+</sup> zbliża się do 10.

#### **5.4. Analiza zmiennych w zależności od wartości stężeń LTE<sub>4</sub> w moczu w obu grupach chorych na astmę**

W niniejszym badaniu w grupie chorych na AERD stwierdzono istotny związek pomiędzy objawami ze strony górnych dróg oddechowych a stężeniem LTE<sub>4</sub> w moczu. Wraz ze wzrostem stężenia LTE<sub>4</sub> w moczu znamienne wzrastał odsetek chorych z objawami ze strony górnych dróg oddechowych, a także chorych zgłaszających kiedykolwiek obecność polipów nosa. Nasilenie objawów ze strony górnych dróg oddechowych może niejako odzwierciedlać nasilenie procesów zapalnych w zmienionej, przerośniętej błonie śluzowej zatok przynosowych i nosa. Niemniej w badaniu ten Brinke i wsp. [146] część chorych z nasilonym zajęciem zatok przynosowych nie zgłaszała z tego powodu dolegliwości. Yamaguchi i wsp. [171] wykazali, iż eozynofilowe zapalenie górnych oddechowych związane jest z produkcją znacznych ilości CysLT. Higashi i wsp. [172] obserwowali silną zależność między stężeniem LTE<sub>4</sub> w moczu i stopniem nasilenia zapalenia eozynofilowego w tkankach górnych dróg oddechowych. Higashi i wsp. [93] wykazali również, iż po operacyjnym usunięciu polipów nosa i po oczyszczeniu zatok przynosowych ze zmienionej zapalnie tkanki dochodzi do znamienego spadku stężenia LTE<sub>4</sub> w moczu z jednoczesnym zmniejszeniem dolegliwości zarówno ze strony górnych jak i dolnych dróg oddechowych. Powyższe dane potwierdzają, iż przerośnięta, zmieniona zapalnie błona śluzowa zatok obocznych nosa u chorych na AERD stanowi istotne źródło LTE<sub>4</sub> oraz przyczynia się do powstawania uciążliwych objawów klinicznych. Co więcej, badanie Higashi i wsp. [93] wykazało wysoką podstawową produkcję CysLT także u chorych na astmę z przewlekłym eozynofilowym zapaleniem zatok i z polipami nosa, nawet bez towarzyszącej nadwrażliwości na aspirynę. Usunięcie polipów nosa u tych chorych również prowadziło do obniżenia stężenia LTE<sub>4</sub> w moczu [93]. Z kolei Micheletto i wsp. [96] stwierdzili bezpośrednią zależność pomiędzy stężeniem LTE<sub>4</sub> w moczu u chorych na AERD a parametrami uzyskanymi w rinomanometrii akustycznej. Autorzy ci wykazali, iż stężenie LTE<sub>4</sub> w moczu rośnie wraz ze wzrostem oporów w jamie nosowej i jest odwrotnie proporcjonalne do jej objętości. Dane te wydają się wskazywać, iż podwyższone stężenie LTE<sub>4</sub> w moczu nie jest bezpośrednio związane z samym fenotypem AERD, ale z nasileniem zapalenia eozynofilowego w zatokach obocznych nosa i z formowaniem się polipów nosa.

W niniejszym badaniu wzrost stężenia LTE<sub>4</sub> w moczu był również istotnie związany ze zwiększonym odsetkiem chorych na AERD stosujących glikokortykosteroidy donosowe, poddanych zabiegom polipektomii, jak również z samą liczbą wykonanych

polipektomii. Powyższe obserwacje, wydają się jeszcze raz potwierdzać silny związek pomiędzy produkcją CysLT a obecnością procesu zapalnego w górnych drogach oddechowych. We wspomnianym wcześniej badaniu Higashi i wsp. [93] wykazano, iż usunięcie polipów nosa prowadzi do zmniejszenia stężenia LTE<sub>4</sub> w moczu. Niemniej u chorych na AERD szybko dochodzi do ponownego formowania się polipów nosa i nawrotu objawów. Dlatego też w tej grupie chorych zabiegi polipektomii powtarzane są czasem wielokrotnie, celem przynajmniej czasowego uzyskania poprawy klinicznej.

Tylko w grupie chorych na AERD uczestniczących w niniejszym badaniu wraz ze wzrostem stężenia LTE<sub>4</sub> w moczu wzrastała eozynofilia krwi obwodowej. Ten Brinke i wsp. [146] stwierdzili silną zależność pomiędzy występowaniem ciężkiej astmy oskrzelowej wraz ze współistniejącym zajęciem górnych dróg oddechowych a podwyższoną eozynofilią krwi obwodowej. Higashi i wsp. [172] wykazali natomiast korelację między stężeniami CysLT i eozynofilią w płwocinie uzyskanej od chorych na astmę. Yamaguchi i wsp. [173] obserwowali wyższą eozynofilię krwi obwodowej u chorych na AERD i na ATA w porównaniu z grupą kontrolną osób zdrowych. Niemniej w powyższym badaniu nie stwierdzono korelacji pomiędzy eozynofilią krwi obwodowej a stężeniem LTE<sub>4</sub> w moczu. Warto podkreślić, iż w obu wyżej wymienionych badaniach u wszystkich chorych na astmę – zarówno AERD jak i ATA – współwystępowało przewlekłe zapalenie zatok przynosowych, co mogło mieć istotny wpływ na uzyskane wyniki. Poza tym badane grupy nie były zbyt liczne. Należy również pamiętać o potencjalnym wpływie stosowania systemowych kortykosteroidów na wysokość eozynofilii we krwi obwodowej, przez co – zależnie od doboru populacji – nie wszystkie badania można bezpośrednio porównać.

Rola całkowitego IgE w patogenezie astmy oskrzelowej jest złożona i zależy od fenotypu/endotypu choroby. U chorych na astmę atopową patomechanizm działania IgE związany jest z odpowiedzią immunologiczną mediowaną przez tę immunoglobulinę. W badaniu prowadzonym u dzieci przez Chiu i wsp. [174] wykazano, iż od 2 roku życia występuje zależność pomiędzy stężeniem całkowitego IgE, występowaniem chorób alergicznych a stężeniem LTE<sub>4</sub> w moczu. Na podstawie analizy krzywej ROC ustalono, iż stężenie LTE<sub>4</sub> w moczu wynoszące 500 pg/mg kreatyniny najlepiej dyskryminowało pomiędzy wysokimi ( $\geq 100$  kU/l), a niskimi stężeniami całkowitego IgE ( $< 100$  kU/L) (AUC = 0,66; CI95%: 0,51-0,77). W niniejszym badaniu tylko w grupie chorych na AERD stwierdzono istotny, pozytywny związek pomiędzy stężeniem całkowitego IgE w surowicy a stężeniem LTE<sub>4</sub> w moczu. Powiązanie stężeń całkowitego IgE w surowicy z produkcją

CysLT u chorych na AERD jest niezależne od występowania atopii u danego pacjenta i wydaje się odzwierciedlać wpływ superantygenów bakteryjnych i kolonizacji dróg oddechowych przez *Staphylococcus aureus*. W dotychczasowych badaniach stwierdzono związek pomiędzy stężeniem IgE skierowanej przeciwko enterotoksynie *Staphylococcus aureus* (SAE IgE), stężeniem całkowitego IgE we krwi obwodowej a nasileniem eozynofilowego zapalenia dróg oddechowych. Badania Yoo i wsp. [149] potwierdzają silny związek pomiędzy stężeniem całkowitego IgE a stężeniem SAE IgE w surowicy krwi chorych na astmę. Chorzy na AERD z wysokimi stężeniami SAE IgE wykazywali podwyższone wartości eozynofilii bezwzględnej i całkowitego IgE we krwi obwodowej [149]. Perez-Novo i wsp. [175] stwierdzili, iż w tkankach polipów nosa produkcja CysLT, LTB<sub>4</sub> i LXA<sub>4</sub> jest powiązana z ekspresją SAE IgE. Przy wysokich stężeniach SAE IgE stężenie wspomnianych eikozanoidów wzrastało. Ponadto stężenie SAE IgE korelowało ze stężeniami ECP i IL-5, będącymi markerami nasilenia zapalenia eozynofilowego w drogach oddechowych [110]. W ten sposób kolonizacja dróg oddechowych i produkcja enterotoksyn przez *Staphylococcus aureus* może wpływać na amplifikację reakcji zapalnych oraz nasilić objawy chorobowe.

W niniejszym badaniu w grupie chorych na ATA wyższe stężenie LTE<sub>4</sub> w moczu było związane z cięższym przebiegiem astmy wyrażonym częstszymi zaostrzeniami wymagającymi hospitalizacji oraz ze stosowaniem wyższych dawek glikokortykosteroidów wziewnych odzwierciedlających wyższy stopień ciężkości astmy. W przedziale wysokiego stężenia LTE<sub>4</sub> w moczu znalazło się istotnie więcej chorych na ATA stosujących doustne glikokortykosteroidy, a więc z ciężką postacią astmy i jednocześnie najmniej chorych pozostających bez leczenia glikokortykosteroidami, a więc z astmą sporadyczną. Wyjaśnieniem powyższej obserwacji może być fakt, że w grupie chorych na AERD, w porównaniu z chorymi na ATA, było ogólnie więcej chorych z ciężką postacią astmy, którzy niejako „rozmieścili się” równomiernie we wszystkich przedziałach stężeń LTE<sub>4</sub> w moczu. Należy mieć na uwadze, iż w myśl aktualnego traktowania astmy, jako zespołu chorobowego składającego się z różnych fenotypów, grupa chorych na ATA uczestnicząca w niniejszym badaniu była względnie heterogenna. To, co wyróżniało tych chorych na astmę, to dobra tolerancja NLPZ. Dlatego też wykazanie określonych zależności w tej grupie chorych jest trudne. W badaniu Higashi i wsp. [93] porównano stężenia LTE<sub>4</sub> w moczu w zależności od stopnia ciężkości astmy i stwierdzono, iż chorzy na AERD z umiarkowaną i ciężką postacią astmy wykazywali znamienne wyższe stężenia LTE<sub>4</sub> w moczu niż chorzy na ATA z tym samym stopniem

ciężkości astmy. Równocześnie w grupie chorych na ATA zaobserwowano wyraźną, aczkolwiek nieznamienną statystycznie tendencję do wzrostu stężeń LTE<sub>4</sub> w moczu wraz ze wzrostem stopnia ciężkości astmy. Rola CysLT w innych fenotypach astmy niż AERD nie jest jeszcze do końca poznana. Coraz więcej prac wskazuje na ich istotną funkcję w utrzymywaniu przewlekłych reakcji zapalnych w drogach oddechowych, zwłaszcza w zapaleniu eozynofilowym, w procesie remodelingu dróg oddechowych, a także w astmie ciężkiej [26,176]. Nie bez wpływu na stężenia LTE<sub>4</sub> w moczu pozostają także niektóre choroby współwystępujące, np. choroby alergiczne, układowe choroby naczyń, otyłość, czy też palenie tytoniu [171,177,178,179]. Wiele wskazuje, iż LTE<sub>4</sub> w moczu może stanowić nieinwazyjny marker stresu oksydacyjnego zapalnie zmienionych tkanek [180].

### **5.5 Analiza przydatności wybranych zmiennych klinicznych i laboratoryjnych w rozpoznawaniu AERD w modelach regresji jedno i wielowymiarowej**

W niniejszej pracy za pomocą regresji jednowymiarowej zidentyfikowano 14 zmiennych, które istotnie wpływały na szansę rozpoznania AERD. Spośród nich ostatecznie wybrano 6 niezależnych parametrów, które uznano za najbardziej znaczące w przypadku potencjalnego rozpoznawania AERD: zaostrzenia astmy wymagające interwencji lekarskiej/czas trwania astmy, objawy ze strony górnych dróg oddechowych występujące kiedykolwiek, polipy nosa, FEV<sub>1</sub>% wartości należnej, FEV<sub>1</sub>%FVC <70% po leku rozszerzającym oskrzela, eozynofilię bezwzględną >400 komórek/ml. Natomiast Chang i wsp. [181] w analizie regresji jednowymiarowej zmiennych wpływających na rozpoznanie AERD za najistotniejsze uznali: wiek, polipy nosa, przewlekłe zapalenie zatok obocznych nosa, FEV<sub>1</sub>% wartości należnej, nadreaktywność oskrzeli oceniana w teście prowokacyjnym z metacholiną, występowanie pokrzywek oraz dodatni wywiad w kierunku reakcji nadwrażliwości na NLPZ. W powyższym badaniu nadwrażliwość na NLPZ podawana przez chorego w wywiadzie okazała się najistotniejszym parametrem w rozpoznawaniu AERD (czułość 64,7%; specyficzność 92% oraz dodatnia wartość prognostyczna 56,9%). W badaniu Kaspra i wsp. [27] dotyczącym polskiej populacji chorych na AERD stwierdzono, iż szansa rozpoznania AERD wzrasta 30-krotnie, jeśli chory na astmę podaje w wywiadzie reakcje nadwrażliwości po przyjęciu NLPZ. Niemniej ze względu na ryzyko zarówno nadmiernej, jak i zbyt słabej rozpoznawalności AERD tą drogą, opieranie się wyłącznie na dodatnim wywiadzie w kierunku nadwrażliwości na NLPZ jest niewystarczające i konieczne jest uwzględnianie również innych czynników. W niniejszej pracy wszyscy włączeni do badania chorzy na AERD zgłaszali reakcje

nadwrażliwości ze strony oskrzeli po przyjęciu NLPZ, dlatego też czynnika tego nie uwzględniano w dalszej analizie.

W niniejszym badaniu na podstawie analizy wielowymiarowej ostatecznie ustalono, iż najistotniejszymi, niezależnymi czynnikami wpływającymi na rozpoznanie AERD są 4 parametry, a mianowicie: polipy nosa (OR=7,55), objawy ze strony górnych dróg oddechowych występujące kiedykolwiek (OR=7,06), zaostrzenia astmy wymagające interwencji lekarskiej/czas trwania astmy (OR=1,20) oraz FEV<sub>1</sub>% wartości należnej (OR=0,98). Uzyskany model A poprawnie klasyfikował 81% pacjentów do grupy AERD.

Przewlekłe zapalenie zatok przynosowych i polipy nosa stanowią jeden z elementów definiujących triadę aspirynową opisaną przez Samtera i Beersa [17] w 1967 r. W niniejszej pracy wszystkie parametry powiązane z zajęciem górnych dróg oddechowych w sposób istotny zwiększały szansę rozpoznania AERD. W analizie regresji jednowymiarowej szansę tę najbardziej, bo aż ponad 18-krotnie zwiększało występowanie kiedykolwiek objawów ze strony górnych dróg oddechowych. Natomiast współwystępowanie polipów nosa zwiększało szansę rozpoznania AERD niemal 14-krotnie. Podobne wyniki otrzymali Chang i wsp. [181] stosując analizę regresji wielowymiarowej. Stwierdzili bowiem, iż czynnikami które odgrywają największą rolę w rozpoznawaniu AERD są: nadwrażliwość na NLPZ zgłaszana przez chorego w wywiadzie (OR=23,9), przewlekłe zapalenie zatok przynosowych (OR=4,28), polipy nosa (OR=2,4) oraz logarytm wartości PC<sub>20</sub> dla testu nadreaktywności z metacholiną (OR=0,4). Wyżej opracowany model poprawnie diagnozował 78,7% chorych na AERD, natomiast 81% chorych na ATA charakteryzowało się wynikiem ujemnym testu; obszar pod krzywą ROC dla tego modelu był wysoki i wyniósł 0,88. Natomiast w niniejszej pracy na podstawie analizy krzywej ROC stwierdzono, iż opracowany model A wykazywał się czułością rzędu 81% i swoistością 77%, a obszar pod krzywą ROC wynosił 0,843 (95%CI: 0,81-0,88). Wartości te były porównywalne ze wspomnianymi już wynikami Chang i wsp. [181]. Wartość diagnostyczna testu uwzględniającego wyłącznie parametry kliniczne okazała się więc dobra.

Liczne badania potwierdzają, iż nasilenie procesów zapalnych w górnych drogach oddechowych jest niezależnym czynnikiem zwiększającym szansę rozpoznania AERD. Mascia i wsp. [26] stworzyli klasyfikację służącą do rozpoznania AERD w oparciu o nasilenie zmian w TK zatok obocznych nosa. Analiza krzywej ROC – wyznaczonej w oparciu o dane uzyskane w TK – cechowała się dużym polem pod krzywą ROC (AUC =

0,85). Również w badaniu populacji tureckiej, Bavbek i wsp. [139] na podstawie modelu regresji wielowymiarowej stwierdzili, iż najistotniejsze czynniki różnicujące chorych na AERD od chorych na ATA to: polipy nosa (OR =7,04), przewlekłe zapalenie zatok i błony śluzowej nosa (OR =1,71), a także rodzinne występowanie reakcji nadwrażliwości na NLPZ (OR =3,75). Natomiast Dursun i wsp. [161], stosując analizę regresji wielowymiarowej, stwierdzili, iż największy wpływ na rozpoznanie AERD mają: upośledzenie węchu (OR=4,12), wiek poniżej 40. roku życia (OR=2,67) oraz wielokrotne reakcje po przyjęciu NLPZ w wywiadzie (OR=2,19). Badanie to potwierdza, iż AERD najczęściej rozwija się w 3 i 4 dekadzie życia. Niemniej należy pamiętać, iż choroba ta może również zaczynać się przed 18 rokiem życia.

W niniejszej pracy, jednowymiarowa analiza regresji wykazała, że szansę rozpoznania AERD istotnie zwiększała również liczba wykonanych polipektomii i stosowanie donosowych glikokortykosteroidów. Tych parametrów nie uwzględniano jednakże w analizie wielowymiarowej, gdyż uznano, iż w dużej mierze mogły one zależeć od innych czynników, jak na przykład decyzji lekarzy prowadzących chorego, czy dostępności do leczenia zabiegowego.

W niniejszej pracy stwierdzono, że większa liczba zaostrzeń astmy przeliczona na czas jej trwania zwiększała szansę rozpoznania AERD o 33% względem rozpoznania ATA. Chorzy na AERD wymagali niemal 3-krotnie częściej hospitalizacji w OIT z powodu ciężkich zaostrzeń astmy niż chorzy na ATA, a także 1,71 razy częściej niż chorzy na ATA stosowali doustne glikokortykosteroidy w celu kontroli objawów choroby. Na podstawie metaanalizy wybranych prac porównujących wybrane parametry kliniczne u chorych na AERD i ATA, Morales i wsp. [182] uzyskali zbliżone wyniki. Stwierdzili oni, że chorzy na AERD mieli o 50% większą szansę rozpoznania astmy ciężkiej, a prawdopodobieństwo wystąpienia astmy źle kontrolowanej było niemal 2-krotnie większe niż u chorych na ATA. Autorzy ci ustalili, iż u chorych na AERD istnieje większe ryzyko występowania zaostrzeń astmy (OR= 1,59), hospitalizacji (OR= 1,37) oraz wizyt ambulatoryjnych z powodu zaostrzeń astmy (OR= 1,79) niż u chorych na ATA. Również w badaniu COREA, dotyczącym populacji koreańskiej, stwierdzono częstsze występowanie zaostrzeń astmy wymagających interwencji lekarskiej w grupie chorych na AERD niż w grupie chorych na ATA [184]. Podobnie Vally i wsp. [28], stosując analizę regresji wielowymiarowej, zidentyfikowali zaostrzenia astmy w czasie roku poprzedzającego badanie (OR=1,2) jako niezależny czynnik wpływający na rozpoznanie AERD.

Cięższą klinicznie postać astmy u chorych na AERD potwierdzają również wyniki badań spirometrycznych. W niniejszej pracy, stwierdzenie  $FEV_1\%FVC$  po podaniu leku rozszerzającego oskrzela poniżej 70%, mogące świadczyć o utrwalonej obturacji oskrzeli, niemal dwukrotnie zwiększało szansę rozpoznania AERD. Natomiast wzrost  $FEV_1\%$  wartości należnej o 1% zmniejszał istotnie tę szansę o 2%. Ten drugi parametr okazał się silnym predyktorem rozpoznania AERD, gdyż zachował istotność również w wielowymiarowej analizie regresji. W badaniu TENOR [3], stwierdzono częstsze występowanie bardziej nasilonej obturacji dróg oddechowych u chorych na AERD w porównaniu z ATA. Autorzy powyższej pracy sugerują, iż w tym fenotypie/endotypie astmy dochodzi do włóknienia i remodelingu dróg oddechowych, a AERD jest czynnikiem ryzyka wystąpienia utrwalonej obturacji oskrzeli.

W niedawno opublikowanym badaniu Cahill i wsp. [184] przeszukano elektroniczne bazy danych pacjentów przy zastosowaniu specjalnie opracowanego algorytmu informatycznego, który miał na celu zidentyfikowanie przypadków współwystępowania astmy, polipów nosa oraz reakcji po przyjęciu NLPZ w wywiadzie. Dodatnia wartość predykcyjna powyższej metody wyniosła 78,4%, gdy uwzględniono jakiegokolwiek reakcje nadwrażliwości po przyjęciu NLPZ. Natomiast po uwzględnieniu tylko reakcji nadwrażliwości ze strony układu oddechowego wartość ta wzrosła do 88,7%. Pokazuje to po raz kolejny, że w rozpoznaniu AERD niewątpliwie istotną rolę odgrywają podawane w wywiadzie reakcje nadwrażliwości na NLPZ, a zwłaszcza silne, kilkakrotnie powtarzające się reakcje ze strony układu oddechowego [161]. W celu określenia przydatności oznaczania stężenia  $LTE_4$  w moczu uwzględniono ten parametr w analizie regresji wielowymiarowej. Analiza otrzymanego w ten sposób modelu B wykazała, iż uwzględnienie wartości wysokiego stężenia  $LTE_4$  w moczu ( $>800,0$  pg/mg kreatyniny) nie zmienia w sposób istotny statystycznie wartości predykcyjnej wielowymiarowego modelu diagnostycznego. Chociaż stężenie  $LTE_4$  w moczu okazało się niezależnym pojedynczym parametrem mającym wpływ na rozpoznanie AERD (OR = 1,94), to jednak jego wartość diagnostyczna nie jest duża (czułość 49%, dodatni wskaźnik wiarygodności testu 2,57). Należy mieć na uwadze, że wysokie stężenia  $LTE_4$  w moczu u chorych na AERD są silnie związane z częstszym występowaniem objawów ze strony górnych dróg oddechowych oraz polipów nosa, a parametry te istotnie wpływają na rozpoznanie AERD. W analizie regresji jednowymiarowej zwiększały one szansę rozpoznania AERD odpowiednio 18,14 i 13,89 razy. Dlatego też dołączenie wartości wysokiego stężenia  $LTE_4$  w moczu w modelu B nie



zmieniło w sposób istotny wartości diagnostycznych testu, a krzywe ROC wyznaczone dla obu modeli były niemal identyczne.

Od lat poszukiwane są parametry, które w sposób jednoznaczny identyfikowałyby chorych na AERD. Jako potencjalne markery AERD badano m. in. szereg wariacji genetycznych. Badania Sanaka i wsp. [89] wykazały istotną różnicę w częstości występowania polimorfizmu genu LTC<sub>4</sub>S u chorych na AERD w porównaniu z chorymi na ATA. Niemniej kolejne badania, przeprowadzone w innych populacjach chorych sugerowały, iż polimorfizm ten związany jest raczej z ciężką astmą eozynofilową niż z AERD *per se* [185,186]. Podobnie, badania transkryptomu, markerów aktywacji mastocytów, eozynofilów, neutrofilów, płytek krwi, szeregu cytokin, czy innych pochodnych kwasu arachidonowego nie znalazły jak dotąd praktycznego zastosowania w rozpoznawaniu AERD. Pewne nadzieje można wiązać nie z pojedynczym, a raczej z pewną konstelacją markerów. Na przykład Yamaguchi i wsp. [167] stwierdzili, że iloraz stężeń LTE<sub>4</sub> i 15-epi-lipoksyny w moczu jest lepszym predyktorem rozpoznania AERD wśród chorych na astmę (obszar pod krzywą ROC wyniósł aż 0,977), niż każdy z tych markerów traktowany z osobna. Tak więc poszukiwanie markerów umożliwiających jednoznaczną identyfikację chorych na AERD trwa nadal.

## 6. WNIOSKI

1. Chorzy na AERD – w porównaniu z chorymi na ATA – cechują się cięższym przebiegiem choroby, ponieważ: (a) mają częściej zaostrzenia astmy, w tym ciężkie, wymagające pobytu na OIT, (b) wymagają stosowania wyższych dawek glikokortykosteroidów wziewnych do leczenia przewlekłego astmy, (c) mają częściej objawy ze strony górnych dróg oddechowych oraz polipy nosa, (d) wymagają z tego powodu częstszego stosowania glikokortykosteroidów donosowych oraz leczenia operacyjnego, (e) mają cięższą obturację oskrzeli, a ponadto mają (f) wyższą eozynofilię krwi obwodowej oraz (g) wyższe stężenia LTE<sub>4</sub> w moczu.
2. Szansa rozpoznania AERD istotnie wzrasta wraz ze wzrostem stężenia LTE<sub>4</sub> w moczu, przy czym wartością najlepiej różnicującą obie grupy chorych jest stężenie LTE<sub>4</sub> w moczu wynoszące 800,0 pg/mg kreatyniny w pomiarach wykonanych metodą ELISA.
3. U chorych na AERD wysokie stężenie LTE<sub>4</sub> w moczu (powyżej 800,0 pg/mg kreatyniny) jest związane z: (a) częstszym występowaniem objawów ze strony górnych dróg oddechowych oraz polipów nosa, (b) częstszym leczeniem glikokortykosteroidami donosowymi oraz operacyjnym usuwaniem polipów nosa, (c) wyższą eozynofilią krwi obwodowej, (d) wyższym stężeniem całkowitego IgE w surowicy krwi.
4. Natomiast u chorych na ATA wysokie stężenie LTE<sub>4</sub> w moczu (powyżej 800,0 pg/mg kreatyniny) jest związane z: (a) częstszymi zaostrzeniami astmy wymagającymi hospitalizacji, ale nie na OIT, (b) przewlekłym stosowaniem wyższych dawek glikokortykosteroidów wziewnych, co odzwierciedla wyższy stopień ciężkości astmy.
5. Oznaczanie stężenia LTE<sub>4</sub> w moczu jest niezależnym pojedynczym parametrem mającym wpływ na rozpoznanie AERD (OR = 1,94), aczkolwiek jego wartość diagnostyczna nie jest duża (czułość 49%, dodatni wskaźnik wiarygodności testu 2,57).
6. Najważniejszymi predyktorami zwiększającymi szansę rozpoznania AERD u chorych na astmę są: (a) objawy ze strony górnych dróg oddechowych, (b) występowanie polipów nosa, (c) zaostrzenia astmy oraz (d) obturacja oskrzeli. Dołączenie wartości stężenia LTE<sub>4</sub> w moczu do powyższych predyktorów klinicznych poprawia nieistotnie wartość predykcyjną wielowymiarowego modelu diagnostycznego.

## 7. STRESZCZENIE

**Wstęp:** Astma oskrzelowa to choroba o złożonych i zróżnicowanych patomechanizmach, co znajduje odzwierciedlenie w szerokim spektrum manifestacji klinicznych oraz odmiennej odpowiedzi na stosowane leczenie. Jak dotąd, brak jednego, stałego i mierzalnego parametru potwierdzającego jej rozpoznanie. Postęp badań nad biologią astmy wskazuje, iż jest to raczej zespół chorobowy składający się z wielu jednostek nozologicznych. Dlatego też w celu szczegółowego zidentyfikowania poszczególnych endotypów astmy trwają prace mające na celu powiązanie danych klinicznych i dokładnych mechanizmów molekularnych leżących u jej podłoża. Jednym z fenotypów i zarazem endotypów astmy oskrzelowej jest astma aspirynowa (AERD). Ten wariant astmy charakteryzuje zespół objawów klinicznych dotyczący górnych i dolnych dróg oddechowych, na który składają się: 1) astma oskrzelowa, 2) przewlekły nieżyt nosa i zatok przynosowych (o cechach przewlekłego zapalenia eozynofilowego), 3) często z towarzyszącymi polipami nosa i zatok oraz 4) krzyżowa reakcja nadwrażliwości na aspirynę i inne NLPZ. Trwają prace mające na celu określenie biomarkerów, które pozwalałyby na potwierdzenie tego fenotypu/endotypu astmy. Wiele badań wskazuje na istotną funkcję metabolitów kwasu arachidonowego – a szczególnie leukotrienów i prostaglandyn – w rozwoju AERD. Wielokrotnie wykazano znamienne wyższe średnie stężenia LTE<sub>4</sub> w moczu (hiperleukotrienuria) w warunkach spoczynkowych u chorych na AERD w porównaniu z chorymi na astmę dobrze tolerującymi aspirynę (ATA) i osobami zdrowymi. Były to jednakże tylko różnice pomiędzy średnimi, natomiast w obrębie poszczególnych grup obserwowano nakładanie się wyników. Ponadto, dotychczasowe badania obejmowały stosunkowo nieliczne grupy chorych, nie przekraczające liczby kilkudziesięciu.

**Założenia i cele pracy:** Rozpoznanie AERD opiera się przede wszystkim na charakterystycznym wywiadzie klinicznym. Niemniej uzyskanie pewnego rozpoznania wiąże się z koniecznością wykonania testu prowokacyjnego z aspiryną. Metoda ta jest czasochłonna, wymaga hospitalizacji chorego i nadzoru doświadczonego personelu medycznego ze względu na ryzyko wystąpienia reakcji ogólnoustrojowych. Ponadto chorzy z ciężką, sterydozależną astmą nie kwalifikują się do tego badania. W chwili obecnej żaden z proponowanych testów *in vitro* nie znalazł zastosowania w codziennej diagnostyce AERD. Celem niniejszej pracy było określenie przydatności oznaczania stężenia LTE<sub>4</sub> w moczu metodą ELISA w diagnozowaniu AERD. Oprócz pomiaru tego

eikozanoidu w moczu, przeanalizowano szereg parametrów klinicznych i laboratoryjnych, celem weryfikacji ich roli w rozpoznawaniu powyższego fenotypu/endotypu astmy.

**Materiał i metody:** Badaniem objęto 3 grupy osób obu płci w wieku powyżej 18 lat: chorzy na AERD (n = 247), chorzy na ATA (n = 239) oraz osoby zdrowe stanowiące grupę kontrolną (n = 95). Pacjenci z dwóch pierwszych grup byli rekrutowani spośród chorych pozostających pod opieką Przychodni Przyklinicznej Kliniki Pulmonologii II Katedry Chorób Wewnętrznych im. Prof. Andrzeja Szczeklika UJ CM w Krakowie lub spośród pacjentów hospitalizowanych w Oddziale Klinicznym Pulmonologii tejże Katedry. Ze wszystkimi pacjentami został przeprowadzony szczegółowy wywiad w oparciu o przygotowany kwestionariusz. Wykonywano również: spirometrię z testem odwracalności obturacji oskrzeli, testy skórne z alergenami wziewnymi, oznaczenie IgE całkowitego i eozynofilii bezwzględnej we krwi obwodowej oraz pomiar stężenia LTE<sub>4</sub> w moczu metodą ELISA.

**Wyniki:** Wykazano, że chorzy na AERD – w porównaniu z chorymi na ATA – cechują się cięższym przebiegiem choroby, ponieważ: (a) mają częściej zaostrzenia astmy, w tym ciężkie, wymagające pobytu na OIT, (b) wymagają stosowania wyższych dawek glikokortykosteroidów wziewnych do leczenia przewlekłego astmy, (c) mają częściej objawy ze strony górnych dróg oddechowych oraz polipy nosa, (d) wymagają z tego powodu częstszego stosowania glikokortykosteroidów donosowych oraz leczenia operacyjnego, (e) mają cięższą obturację oskrzeli, (f) wyższą eozynofilię krwi obwodowej oraz (g) wyższe stężenia LTE<sub>4</sub> w moczu. Na podstawie dwóch różnych metod statystycznych określono graniczną wartość stężenia LTE<sub>4</sub> w moczu, która najlepiej dyskryminowała pomiędzy rozpoznaniem AERD i ATA. Wykazano, że szansa rozpoznania AERD istotnie wzrasta wraz ze wzrostem stężenia LTE<sub>4</sub> w moczu, przy czym wartością najlepiej różnicującą obie grupy chorych na astmę jest stężenie LTE<sub>4</sub> w moczu wynoszące 800,0 pg/mg kreatyniny. W oparciu o wartości stężeń LTE<sub>4</sub> w moczu osób zdrowych uzyskano trzy przedziały tych wartości (niskie, średnie, wysokie), które następnie analizowano w aspekcie ich przydatności w rozpoznawaniu AERD. Oceniano, jaki wpływ mają rosnące wartości stężeń LTE<sub>4</sub> w moczu na wybrane parametry kliniczne i biochemiczne. U chorych na AERD wysokie stężenie LTE<sub>4</sub> w moczu (powyżej 800,0 pg/mg kreatyniny) jest związane z: (a) częstszym występowaniem objawów ze strony górnych dróg oddechowych oraz polipów nosa, (b) częstszym leczeniem glikokortykosteroidami donosowymi oraz operacyjnym usuwaniem polipów nosa, (c) wyższą eozynofilią krwi obwodowej, (d) wyższym stężeniem całkowitego IgE w surowicy

krwi. Natomiast u chorych na ATA wysokie stężenie LTE<sub>4</sub> w moczu jest związane z: (a) częstszymi zaostrzeniami astmy wymagającymi hospitalizacji, ale nie na OIT, (b) przewlekłym stosowaniem wyższych dawek glikokortykosteroidów wziewnych, co odzwierciedla wyższy stopień ciężkości astmy. Wykazano, że wartość stężenia LTE<sub>4</sub> w moczu jest niezależnym pojedynczym parametrem mającym wpływ na rozpoznanie AERD (OR = 1,94), chociaż jego wartość diagnostyczna nie jest duża (czułość 49%, dodatni wskaźnik wiarygodności testu 2,57). Budując następnie modele regresji jedno- i wielowymiarowej stwierdzono, iż najważniejszymi, niezależnymi predyktorami zwiększającymi szansę rozpoznania AERD są: (a) objawy ze strony górnych dróg oddechowych, (b) występowanie polipów nosa, (c) zaostrzenia astmy oraz (d) obturacja oskrzeli. Dołączenie wartości wysokiego stężenia LTE<sub>4</sub> w moczu do predyktorów klinicznych poprawia nieistotnie wartość predykcyjną wielowymiarowego modelu diagnostycznego.

**Wnioski:** Oznaczanie stężenia LTE<sub>4</sub> w moczu, jako pojedynczego parametru mającego wpływ na rozpoznanie AERD ma zbyt niską wartość diagnostyczną, by mogło mieć zastosowanie w codziennej praktyce klinicznej. Prócz zgłaszanych przez pacjenta typowych reakcji nadwrażliwości po zażyciu NLPZ, najważniejszymi predyktorami zwiększającymi szansę rozpoznania AERD są następujące parametry kliniczne: występowanie objawów ze strony górnych dróg oddechowych, występowanie polipów nosa, częste zaostrzenia astmy oraz nasilona obturacja oskrzeli.

## 8. SUMMARY

**Introduction:** Pathophysiology of bronchial asthma is complex. There is a high variability in presented symptoms, disease severity and response to treatment. Up to date, there is no available single, stable and measurable parameter, which confirms its diagnosis. New scientific data suggest that asthma is rather a disease syndrome than a single disease entity. Further studies are needed to combine clinical presentation (fenotype) and molecular bases (endotype) of different asthma variants. Aspirin exacerbated respiratory disease (AERD) is one of the more intriguing asthma fenotype/endotype. It is characterized by the presence of symptoms from upper and lower airways and coexistence of: 1) bronchial asthma, 2) chronic eosinophilic rhinosinusitis, 3) commonly with nasal polyps formation and 4) hypersensitivity to aspirin and other NSAIDs. There is an ongoing search for biomarkers that would allow for easy identification of AERD. Many studies point to arachidonic acid metabolites – especially leukotrienes and prostaglandins – as pivotal in development of the disease. It has been confirmed many times that patients with AERD (even under stable conditions) have higher concentrations of LTE<sub>4</sub> in urine (hyperleukotrienuria) than aspirin tolerant asthma (ATA) patients and healthy subjects. However, the differences were only found between the mean values. Due to the overlap of urinary LTE<sub>4</sub> concentrations in those 3 groups it was impossible to easily distinguish AERD patients from the others. Though conducted studies were promising, they were carried out only with a limited number of subjects, not exceeding tens of subjects.

**Background and aims of the study:** The diagnosis of AERD is principally based on typical history. Nevertheless, in order to obtain the firm diagnosis, performance of aspirin challenge is needed. Unfortunately, the procedure is time consuming, requires patients' hospitalization and supervising by skilled medical staff, because it carries a risk of developing systemic adverse reactions. Moreover, patients with severe, steroid dependent asthma do not qualify to this test. There are a few *in vitro* tests being developed, but none was useful enough to find its way in everyday diagnosis of AERD. The aim of this study was to evaluate the applicability of measurement of LTE<sub>4</sub> concentrations in urine by using ELISA method in diagnosis of AERD. In addition, an analysis of clinical and other laboratory data was carried out to verify their role in AERD diagnosis.

**Material and methods:** The study comprised 3 groups of subjects over 18 years of age: patients with AERD (n = 247), patients with ATA (n = 239) and healthy subjects (n = 95).

Asthma patients were recruited from patients treated at Pulmonology Clinic of the 2nd Department of Internal Medicine, Collegium Medicum, Jagiellonian University. A detailed medical questionnaire was carried out with all patients. In addition subjects underwent: spirometry with reversibility test, skin prick tests with common aeroallergens, measurement of total IgE and eosinophil count in blood, as well as LTE<sub>4</sub> concentration in urine by ELISA method.

**Results:** The study revealed that AERD patients – in comparison to ATA patients – had a more severe course of asthma, because they (a) had more frequent asthma exacerbations, therein severe, requiring hospitalization in the ICU, (b) needed higher doses of inhaled corticosteroids for disease control, (c) had more frequently symptoms caused by upper airway involvement and nasal polyps formation, (d) more frequently needed to use nasal corticosteroids and underwent polypectomies, (e) had more severe bronchial obstruction, and in addition, had (f) higher eosinophil count in peripheral blood and (g) higher concentrations of LTE<sub>4</sub> in urine. Using two different statistical methods, a threshold of LTE<sub>4</sub> concentration in urine, which best discriminated between AERD and ATA group was determined. It was shown that the odds of AERD diagnosis were significantly increasing along with rise of LTE<sub>4</sub> concentrations in urine and the value amounted 800,0 pg/mg creatinine discriminated the best two studied groups of asthma patients. Based on urinary LTE<sub>4</sub> concentrations of healthy control subjects 3 intervals of these concentrations were obtained (low, medium, high). They were subsequently analyzed with respect to their applicability of AERD diagnosis. An influence of rising urinary LTE<sub>4</sub> concentrations on selected clinical and laboratory data was investigated. In AERD patients high LTE<sub>4</sub> concentrations in urine (above 800,0 pg/mg creatinine) were associated with: (a) more frequent symptoms caused by upper airway involvement and nasal polyps formation, (b) more frequent nasal corticosteroids use and polypectomies, (c) higher eosinophil count in peripheral blood, (d) higher total IgE concentrations in serum. On the other hand, ATA patients with high LTE<sub>4</sub> concentrations in urine were found: (a) to have higher number of hospitalizations due to asthma exacerbations, but not in the ICU, (b) needed higher doses of inhaled corticosteroids to control asthma symptoms, which reflected more severe course of asthma. It was shown that measurement of LTE<sub>4</sub> concentrations in urine is an independent variable influencing the odds of AERD diagnosis (OR = 1.94), although its prognostic value is rather low (sensitivity = 49%, positive likelihood ratio = 2.57). Finally, the analysis of regression models identified the most important, independent predictors influencing the chances for AERD diagnosis as: (a) symptoms of upper airway involvement, (b) nasal polyps for-

mation, (c) frequency of asthma exacerbations and (d) bronchial obstruction. The addition of urinary LTE<sub>4</sub> concentrations to clinical predictors insignificantly improved predictive value of multivariate diagnostic model.

**Conclusions:** Measurements of LTE<sub>4</sub> concentrations in urine as a single parameter for AERD diagnosis has too low diagnostic value to be used in clinical practice. Next to typical history of hypersensitivity reactions to NSAIDs, the best clinical predictors of AERD diagnosis were the following parameters: symptoms caused by upper airway involvement, nasal polyps formation, frequent asthma exacerbations and bronchial obstruction.



## 9. PIŚMIENICTWO

1. Kowalski ML. Aspirin-sensitive rhinosinusitis and asthma. *Clin Allergy Immunol.* 2007;19:147-75.
2. Jarjour NN, Erzurum SC, Bleecker ER, Calhoun WJ, Castro M, Comhair SA, *et al.* NHLBI Severe Asthma Research Program (SARP). Severe asthma: lessons learned from the National Heart, Lung, and Blood Institute Severe Asthma Research Program. *Am J Respir Crit Care Med.* 2012 Feb 15;185(4):356-62.
3. Mascia K, Haselkorn T, Deniz YM, Miller DP, Bleecker ER, Borish L; TENOR Study Group. Aspirin sensitivity and severity of asthma: evidence for irreversible airway obstruction in patients with severe or difficult-to-treat asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2005 Nov;116(5):970-5.
4. The ENFUMOSA cross-sectional European multicentre study of the clinical phenotype of chronic severe asthma. European Network for Understanding Mechanisms of Severe Asthma. *Eur Respir J.* 2003 Sep;22(3):470-7.
5. Wenzel SE. Asthma: defining of the persistent adult phenotypes. *Lancet.* 2006 Aug 26;368(9537):804-13.
6. Bateman ED, Boushey HA, Bousquet J, Busse WW, Clark TJ, Pauwels RA, *et al.* GOAL Investigators Group. *Am J Respir Crit Care Med.* 2004 Oct 15;170(8):836-44.
7. Bousquet J, Mantzouranis E, Cruz AA, Aït-Khaled N, Baena-Cagnani CE, Bleecker ER, *et al.* Uniform definition of asthma severity, control, and exacerbations: document presented for the World Health Organization Consultation on Severe Asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2010 Nov;126(5):926-38.
8. Anderson GP. Endotyping asthma: new insights into key pathogenic mechanisms in a complex, heterogeneous disease. *Lancet.* 2008 Sep 20;372(9643):1107-19.
9. D'Amato G, Stanzola A, Sanduzzi A, Liccardi G, Salzillo A, Vitale C, *et al.* Treating severe allergic asthma with anti-IgE monoclonal antibody (omalizumab): a review. *Multidiscip Respir Med.* 2014 Apr 15;9(1):23.
10. Hambly N, Nair P. Monoclonal antibodies for the treatment of refractory asthma. *Curr Opin Pulm Med.* 2014 Jan;20(1):87-94.
11. Morishima Y, Ano S, Ishii Y, Ohtsuka S, Matsuyama M, Kawaguchi M, *et al.* Th17-associated cytokines as a therapeutic target for steroid-insensitive asthma. *Clin Dev Immunol.* 2013;2013:609395. doi: 10.1155/2013/609395.

12. Haldar P, Pavord ID, Shaw DE, Berry MA, Thomas M, Brightling CE, *et al.* Cluster analysis and clinical asthma phenotypes. *Am J Respir Crit Care Med.* 2008 Aug 1;178(3):218-24.
13. Moore WC, Meyers DA, Wenzel SE, Teague WG, Li H, Li X, *et al.* National Heart, Lung, and Blood Institute's Severe Asthma Research Program. Identification of asthma phenotypes using cluster analysis in the Severe Asthma Research Program. *Am J Respir Crit Care Med.* 2010 Feb 15;181(4):315-23.
14. Fitzpatrick AM, Teague WG, Meyers DA, Peters SP, Li X, Li H, *et al.* National Institutes of Health/National Heart, Lung, and Blood Institute Severe Asthma Research Program. Heterogeneity of severe asthma in childhood: confirmation by cluster analysis of children in the National Institutes of Health/National Heart, Lung, and Blood Institute Severe Asthma Research Program. *J Allergy Clin Immunol.* 2011 Feb;127(2):382-389.e1-13.
15. Brasier AR, Victor S, Boetticher G, Ju H, Lee C, Bleecker ER, *et al.* Molecular phenotyping of severe asthma using pattern recognition of bronchoalveolar lavage-derived cytokines. *J Allergy Clin Immunol.* 2008 Jan;121(1):30-37.e6.
16. Widal F, Abrami P, Lermoyez J. Anaphylaxie et idiosyncrasie. *Presse Med.* 1922;30:281-93.
17. Samter M, Beers RF Jr. Concerning the nature of the intolerance to aspirin. Clinical studies and consideration of its pathogenesis. *J Allergy.* 1967;40:281-93.
18. Samter M, Beers RF Jr. Intolerance to aspirin. Clinical studies and consideration of its pathogenesis. *Ann Intern Med.* 1968 May;68(5):975-83.
19. Kowalski ML, Makowska JS, Blanca M, Bavbek S, Bochenek G, Bousquet J, *et al.* Hypersensitivity to nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) – classification, diagnosis and management: review of the EAACI/ENDA(#) and GA2LEN/HANNA\*. *Allergy.* 2011 Jul;66(7):818-29.
20. Lee RU, Stevenson DD. Aspirin-exacerbated respiratory disease: evaluation and management. *Allergy Asthma Immunol Res.* 2011 Jan;3(1):3-10.
21. Jenkins C, Costello J, Hodge L. Systematic review of prevalence of aspirin induced asthma and its implications for clinical practice. *BMJ.* 2004 February 21; 328(7437):434.
22. Debley JS, Carter ER, Gibson RL, Rosenfeld M, Redding GJ. The prevalence of ibuprofen-sensitive asthma in children: a randomized controlled bronchoprovocation challenge study. *J Pediatr.* 2005 Aug;147(2):233-8.

23. Stevenson DD, Szczeklik A. Clinical and pathologic perspectives on aspirin sensitivity and asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2006 Oct;118(4):773-86.
24. Szczeklik A, Nizankowska E, Duplaga M. Natural history of aspirin-induced asthma. AIANE Investigators. European Network on Aspirin-Induced Asthma. *Eur Respir J*. 2000 Sep;16(3):432-6.
25. Berges-Gimeno MP, Simon RA, Stevenson DD. The natural history and clinical characteristics of aspirin-exacerbated respiratory disease. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2002 Nov;89(5):474-8.
26. Mascia K, Borish L, Patrie J, Hunt J, Phillips CD, Steinke JW. Chronic hyperplastic eosinophilic sinusitis as a predictor of aspirin-exacerbated respiratory disease. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2005 Jun;94(6):652-7.
27. Kasper L, Sladek K, Duplaga M, Bochenek G, Liebhart J, Gladysz U, *et al*. Prevalence of asthma with aspirin hypersensitivity in the adult population of Poland. *Allergy*. 2003 Oct;58(10):1064-6.
28. Vally H, Taylor ML, Thompson PJ. The prevalence of aspirin intolerant asthma (AIA) in Australian asthmatic patients. *Thorax*. 2002 Jul;57(7):569-74.
29. Hedman J, Kaprio J, Poussa T, Nieminen MM. Prevalence of asthma, aspirin intolerance, nasal polyposis and chronic obstructive pulmonary disease in a population-based study. *Int J Epidemiol*. 1999 Aug;28(4):717-22.
30. Rajan JP, Wineinger NE, Stevenson DD, White AA. Prevalence of aspirin-exacerbated respiratory disease among asthmatic patients: A meta-analysis of the literature. *J Allergy Clin Immunol*. 2015 Mar;135(3):676-81.e1.
31. Samuelsson B. Leukotrienes: mediators of immediate hypersensitivity reactions and inflammation. *Science*. 1983 May 6;220(4597):568-75.
32. Samuelsson B. The discovery of the leukotrienes. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000 Feb;161(2 Pt 2):S2-6.
33. Peters-Golden M, Henderson WR Jr. Leukotrienes. *N Engl J Med*. 2007;357(18):1841-54.
34. Lewis RA, Austen KF, Soberman RJ. Leukotrienes and other products of the 5-lipoxygenase pathway. Biochemistry and relation to pathobiology in human diseases. *N Engl J Med*. 1990 Sep 6;323(10):645-55.
35. Fauler J, Neumann C, Tsikas D, Frölich J. Enhanced synthesis of cysteinyl leukotrienes in psoriasis. *J Invest Dermatol*. 1992 Jul;99(1):8-11.

36. De Caterina R, Zampolli A. From asthma to atherosclerosis-5-lipoxygenase, leukotrienes, and inflammation. *N Engl J Med*. 2004 Jan 1;350(1):4-7.
37. Funk CD. Prostaglandins and leukotrienes: advances in eicosanoid biology. *Science*. 2001 Nov 30;294(5548):1871-5.
38. Narayanankutty A, Reséndiz-Hernández JM, Falfán-Valencia R, Teran LM. Biochemical pathogenesis of aspirin exacerbated respiratory disease (AERD). *Clin Biochem*. 2013 May;46(7-8):566-78.
39. Brinckmann R, Schnurr K, Heydeck D, Rosenbach T, Kolde G, Kühn H. Membrane translocation of 15-lipoxygenase in hematopoietic cells is calcium-dependent and activates the oxygenase activity of the enzyme. *Blood*. 1998;91:64-74.
40. Hagmann W, Gao X, Zacharek A, Wojciechowski LA, Honn KV. 12-Lipoxygenase in Lewis lung carcinoma cells: molecular identity, intracellular distribution of activity and protein, and Ca(2+)-dependent translocation from cytosol to membranes. *Prostaglandins*. 1995;49:49-62.
41. Murphy RC, Gijón MA. Biosynthesis and metabolism of leukotrienes. *Biochem J*. 2007;405:379-95.
42. McDonald PP, McColl SR, Naccache PH, Borgeat P. Studies on the activation of human neutrophil 5-lipoxygenase induced by natural agonists and Ca<sup>2+</sup> ionophore A23187. *Biochem J*. 1991 December 1;280(Pt 2): 379-85.
43. Poeckel D, Funk CD. The 5-lipoxygenase/leukotriene pathway in preclinical models of cardiovascular disease. *Cardiovasc Res*. 2010;86:243-53.
44. Maltby NH, Taylor GW, Ritter JM, Moore K, Fuller RW, Dollery CT. Leukotriene C4 elimination and metabolism in man. *J Allergy Clin Immunol*. 1990 Jan;85(1 Pt 1):3-9.
45. Arm JP. Leukotriene generation and clinical implications. *Allergy Asthma Proc*. 2004 Jan-Feb;25(1):37-42.
46. Marcus AJ. Transcellular metabolism of eicosanoids. *Prog Hemost Thromb*. 1986;8: 127-42.
47. Dahinden CA, Clancy RM, Gross M, Chille. Leukotriene C4 production by murine mast cells: evidence of a role for extracellular leukotriene A4. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1985 Oct;82(19):6632-6.
48. Im DS. New intercellular lipid mediators and their GPCRs: an update. *Prostaglandins Other Lipid Mediat*. 2009 Sep;89(3-4):53-6.

49. Capra V. Molecular and functional aspects of human cysteinyl leukotriene receptors. *Pharmacol Res.* 2004 Jul;50(1):1-11.
50. Bäck M, Dahlén SE, Drazen JM, Evans JF, Serhan CN, Shimizu T, *et al.* International Union of Basic and Clinical Pharmacology. LXXXIV: leukotriene receptor nomenclature, distribution, and pathophysiological functions. *Pharmacol Rev.* 2011 Sep;63(3):539-84.
51. Singh RK, Tandon R, Dastidar SG, Ray A. A review on leukotrienes and their receptors with reference to asthma. *J Asthma.* 2013 Nov;50(9):922-31.
52. Rovati GE, Capra V. Cysteinyl-leukotriene receptors and cellular signals. *ScientificWorldJournal.* 2007 Sep 1;7:1375-92.
53. Lynch KR, O'Neill GP, Liu Q, Im DS, Sawyer N, Metters KM, *et al.* Characterization of the human cysteinyl leukotriene CysLT1 receptor. *Nature.* 1999 Jun 24; 399(6738):789-93.
54. Sarau HM, Ames RS, Chambers J, Ellis C, Elshourbagy N, Foley JJ, *et al.* Identification, molecular cloning, expression, and characterization of a cysteinyl leukotriene receptor. *Mol Pharmacol.* 1999 Sep;56(3):657-63.
55. Takasaki J, Kamohara M, Matsumoto M, Saito T, Sugimoto T, Ohishi T, *et al.* The molecular characterization and tissue distribution of the human cysteinyl leukotriene CysLT(2) receptor. *Biochem Biophys Res Commun.* 2000 Aug 2;274(2):316-22.
56. Heise CE, O'Dowd BF, Figueroa DJ, Sawyer N, Nguyen T, Im DS, *et al.* Characterization of the human cysteinyl leukotriene 2 receptor. *J Biol Chem.* 2000 Sep 29;275(39):30531-6.
57. Cornejo-García JA, Perkins JR, Jurado-Escobar R, García-Martín E, Agúndez JA, Viguera E, *et al.* Pharmacogenomics of Prostaglandin and Leukotriene Receptors. *Front Pharmacol.* 2016 Sep 21;7:316.
58. Bäck M, Powell WS, Dahlén SE, Drazen JM, Evans JF, Serhan CN, *et al.* Update on leukotriene, lipoxin and oxoeicosanoid receptors: IUPHAR Review 7. *Br J Pharmacol.* 2014 Aug;171(15):3551-74.
59. Laidlaw TM, Boyce JA. Cysteinyl leukotriene receptors, old and new; implications for asthma. *Clin Exp Allergy.* 2012 Sep;42(9):1313-20.
60. Ogawa Y, Calhoun WJ. The role of leukotrienes in airway inflammation. *J Allergy Clin Immunol.* 2006 Oct;118(4):789-98.

61. Yang HS, Wang L, Yang W, Guan JT, Ma JY, Su Y. [Effects of leukotriene receptor antagonists on vascular endothelial growth factor and its receptors in a sensitized rat model]. *Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi*. 2009 Mar;32(3):177-81.
62. O'Byrne PM, Gauvreau GM, Murphy DM. Efficacy of leukotriene receptor antagonists and synthesis inhibitors in asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2009 Sep;124(3):397-403.
63. Lex C, Zacharasiewicz A, Payne DN, Wilson NM, Nicholson AG, Kharitonov SA, *et al*. Exhaled breath condensate cysteinyl leukotrienes and airway remodeling in childhood asthma: a pilot study. *Respir Res*. 2006 Apr 7;7:63.
64. Aggarwal S, Moodley YP, Thompson PJ, Misso NL. Prostaglandin E2 and cysteinyl leukotriene concentrations in sputum: association with asthma severity and eosinophilic inflammation. *Clin Exp Allergy*. 2010 Jan;40(1):85-93.
65. Wenzel SE, Westcott JY, Larsen GL. Bronchoalveolar lavage fluid mediator levels 5 minutes after allergen challenge in atopic subjects with asthma: relationship to the development of late asthmatic responses. *J Allergy Clin Immunol*. 1991 Feb;87(2):540-8.
66. Hallstrand TS, Altemeier WA, Aitken ML, Henderson WR Jr. Role of cells and mediators in exercise-induced bronchoconstriction. *Immunol Allergy Clin North Am*. 2013 Aug; 33(3):313-28.
67. Lam S, Chan H, LeRiche JC, Chan-Yeung M, Salari H. Release of leukotrienes in patients with bronchial asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 1988 Apr;81(4):711-7.
68. Haeggström JZ. Leukotriene A4 hydrolase/aminopeptidase, the gatekeeper of chemotactic leukotriene B4 biosynthesis. *J Biol Chem*. 2004 Dec 3;279(49):50639-42.
69. Szczeklik A, Gryglewski RJ, Czerniawska-Mysik G. Relationship of inhibition of prostaglandin biosynthesis by analgesics to asthma attacks in aspirin-sensitive patients. *Br Med J*. 1975 Jan 11;1(5949):67-9.
70. Vane JR. Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. *Nat New Biol*. 1971 Jun 23;231(25):232-5.
71. Hersh EV, Lally ET, Moore PA. Update on cyclooxygenase inhibitors: has a third COX isoform entered the fray? *Curr Med Res Opin*. 2005 Aug;21(8):1217-26.
72. Gyllfors P, Bochenek G, Overholt J, Drupka D, Kumlin M, Sheller J, *et al*. Biochemical and clinical evidence that aspirin-intolerant asthmatic subjects tolerate the cyclooxygenase 2-selective analgetic drug celecoxib. *J Allergy Clin Immunol*. 2003 May;111(5):1116-21.

73. Brooks P, Emery P, Evans JF, Fenner H, Hawkey CJ, Patrono C, *et al.* Interpreting the clinical significance of the differential inhibition of cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2. *Rheumatology (Oxford)*. 1999 Aug;38(8):779-88.
74. Machado-Carvalho L, Martín M, Torres R, Gabasa M, Alobid I, Mullol J, *et al.* Low E-prostanoid 2 receptor levels and deficient induction of the IL-1 $\beta$ /IL-1 type I receptor/COX-2 pathway: Vicious circle in patients with aspirin-exacerbated respiratory disease. *J Allergy Clin Immunol*. 2016 Jan;137(1):99-107.e7.
75. Christie PE, Tagari P, Ford-Hutchinson AW, Charlesson S, Chee P, Arm JP, *et al.* Urinary leukotriene E4 concentrations increase after aspirin challenge in aspirin-sensitive asthmatic subjects. *Am Rev Respir Dis*. 1991 May;143(5 Pt 1):1025-9.
76. Gaber F, Daham K, Higashi A, Higashi N, Gülich A, Delin I, *et al.* Increased levels of cysteinyl-leukotrienes in saliva, induced sputum, urine and blood from patients with aspirin-intolerant asthma, *Thorax*. 2008 Dec;63(12):1076-82.
77. Ferreri NR, Howland WC, Stevenson DD, Spiegelberg HL. Release of leukotrienes, prostaglandins, and histamine into nasal secretions of aspirin-sensitive asthmatics during reaction to aspirin. *Am Rev Respir Dis*. 1988 Apr;137(4):847-54.
78. Sanak M, Gielicz A, Bochenek G, Kaszuba M, Nizankowska-Mogilnicka E, Szczeklik A. Targeted eicosanoid lipidomics of exhaled breath condensate provide a distinct pattern in the aspirin-intolerant asthma phenotype. *J Allergy Clin Immunol*. 2011 May;127(5):1141-7.e2.
79. Szczeklik A, Sladek K, Dworski R, Nizankowska E, Soja J, Sheller J, *et al.* Bronchial aspirin challenge causes specific eicosanoid response in aspirin sensitive asthmatics. *Am J Respir Crit Care Med*. 1996 Dec;154(6 Pt 1):1608-14.
80. Sestini P, Armetti L, Gambaro G, Pieroni MG, Refini RM, Sala A, *et al.* Inhaled PGE2 prevents aspirin-induced bronchoconstriction and urinary LTE<sub>4</sub> excretion in aspirin-sensitive asthma. *Am J Respir Crit Care Med*. 1996 Feb;153(2):572-5.
81. Varga EM, Jacobson MR, Masuyama K, Rak S, Till SJ, Darby Y, *et al.* Inflammatory cell populations and cytokine mRNA expression in the nasal mucosa in aspirin-sensitive rhinitis. *Eur Respir J*. 1999 Sep;14(3):610-5.
82. Jankowski R, Bouchoua F, Coffinet L, Vignaud JM. Clinical factors influencing the eosinophil infiltration of nasal polyps. *Rhinology*. 2002 Dec;40(4):173-8.
83. Kupczyk M, Kurmanowska Z, Kupryś-Lipińska I, Bocheńska-Marciniak M, Kuna P. Mediators of inflammation in nasal lavage from aspirin intolerant patients after aspirin challenge. *Respir Med*. 2010 Oct;104(10):1404-9.

84. Steinke JW, Payne SC, Borish L. Interleukin-4 in the Generation of the AERD Phenotype: Implications for Molecular Mechanisms Driving Therapeutic Benefit of Aspirin Desensitization. *J Allergy (Cairo)*. 2012;2012:182090.
85. Steinke JW, Liu L, Huyett P, Negri J, Payne SC, Borish L. Prominent role of IFN- $\gamma$  in patients with aspirin-exacerbated respiratory disease. *J Allergy Clin Immunol*. 2013 Oct;132(4):856-65.e1-3.
86. Kowalski ML, Lewandowska-Polak A, Woźniak J, Ptasińska A, Jankowski A, Wagrowska-Danilewicz M, *et al*. Association of stem cell factor expression in nasal polyp epithelial cells with aspirin sensitivity and asthma. *Allergy*. 2005 May;60(5):631-7.
87. Laidlaw TM, Kidder MS, Bhattacharyya N, Xing W, Shen S, Milne GL, *et al*. Cysteinyl leukotriene overproduction in aspirin-exacerbated respiratory disease is driven by platelet-adherent leukocytes. *Blood*. 2012 Apr 19;119(16):3790-8.
88. Cowburn AS, Sladek K, Soja J, Adamek L, Nizankowska E, Szczeklik A, *et al*. Overexpression of leukotriene C4 synthase in bronchial biopsies from patients with aspirin-intolerant asthma. *J Clin Invest*. 1998 Feb 15;101(4):834-46.
89. Sanak M, Pierzchalska M, Bazan-Socha S, Szczeklik A. Enhanced expression of the leukotriene C(4) synthase due to overactive transcription of an allelic variant associated with aspirin-intolerant asthma. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2000 Sep;23(3):290-6.
90. Smith CM, Hawksworth RJ, Thien FC, Christie PE, Lee TH. Urinary leukotriene E4 in bronchial asthma. *Eur Respir J*. 1992;5:693-9.
91. Kumlin M, Dahlén B, Björck T, Zetterström O, Granström E, Dahlén SE. Urinary excretion of leukotriene E4 and 11-dehydro-thromboxane B2 in response to bronchial provocations with allergen, aspirin, leukotriene D4, and histamine in asthmatics. *Am Rev Respir Dis*. 1992 Jul;146(1):96-103.
92. Oosaki R, Mizushima Y, Mita H, Shida T, Akiyama K, Kobayashi M. Urinary leukotriene E4 and 11-dehydrothromboxane B2 in patients with aspirin-sensitive asthma. *Allergy*. 1997 Apr;52(4):470-3.
93. Higashi N, Taniguchi M, Mita H, Osame M, Akiyama K. A comparative study of eicosanoid concentrations in sputum and urine in patients with aspirin-intolerant asthma. *Clin Exp Allergy*. 2002;32:1484-90.
94. Bochenek G, Nagraba K, Nizankowska E, Szczeklik A. A controlled study of 9 $\alpha$ ,11 $\beta$ -PGF<sub>2</sub> (a prostaglandin D<sub>2</sub> metabolite) in plasma and urine of patients



- with bronchial asthma and healthy controls after aspirin challenge. *J Allergy Clin Immunol.* 2003;111:743-9.
95. Higashi N, Tanigushi M, Mita H, Kawagishi Y, Ischii T, Osame M, *et al.* Clinical features of asthmatic patients with increased urinary leukotriene E<sub>4</sub> excretion (hyperleukotrienuria): Involvement of chronic hyperplastic rhinosinusitis with nasal polyposis. *J Allergy Clin Immunol.* 2004;113:277-83.
  96. Micheletto C, Visconti M, Tognella S, Facchini FM, Dal Negro RW. Aspirin induced asthma (AIA) with nasal polyps has the highest basal LTE<sub>4</sub> excretion: a study vs AIA without polyps, mild topic asthma, and normal controls. *Eur Ann Allergy Clin Immunol.* 2006;38:20-3.
  97. Celejewska-Wójcik N, Mastalerz L, Wójcik K, Nieckarz R, Januszek R, Hartwicz P, *et al.* Incidence of aspirin hypersensitivity in patients with chronic rhinosinusitis and diagnostic value of urinary leukotriene E<sub>4</sub>. *Pol Arch Med Wewn.* 2012;122(9):422-7.
  98. Pezato R, Świerczyńska-Krępa M, Niżankowska-Mogilnicka E, Holtappels G, De Ruyck N, Sanak M, *et al.* Systemic expression of inflammatory mediators in patients with chronic rhinosinusitis and nasal polyps with and without Aspirin Exacerbated Respiratory Disease. *Cytokine.* 2016 Jan; 77:157-67.
  99. Cai C, Yang J, Hu S, Zhou M, Guo W. Relationship between urinary cysteinyl leukotriene E<sub>4</sub> levels and clinical response to antileukotriene treatment in patients with asthma. *Lung.* 2007 Mar-Apr;185(2):105-12.
  100. Corrigan C, Mallett K, Ying S, Roberts D, Parikh A, Scadding G, *et al.* Expression of the cysteinyl leukotriene receptors cysLT(1) and cysLT(2) in aspirin-sensitive and aspirin-tolerant chronic rhinosinusitis. *J Allergy Clin Immunol.* 2005 Feb;115(2):316-22.
  101. Picado C, Fernandez-Morata JC, Juan M, Roca-Ferrer J, Fuentes M, Xaubet A, *et al.* Cyclooxygenase-2 mRNA is downexpressed in nasal polyps from aspirin-sensitive asthmatics. *Am J Respir Crit Care Med.* 1999 Jul;160(1):291-6.
  102. Pierzchalska M, Szabó Z, Sanak M, Soja J, Szczeklik A. Deficient prostaglandin E<sub>2</sub> production by bronchial fibroblasts of asthmatic patients, with special reference to aspirin-induced asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2003 May;111(5):1041-8.
  103. Adamusiak AM, Stasikowska-Kanicka O, Lewandowska-Polak A, Danilewicz M, Wagrowska-Danilewicz M, Jankowski A, *et al.* Expression of arachidonate metabolism enzymes and receptors in nasal polyps of aspirin-hypersensitive asthmatics. *Int Arch Allergy Immunol.* 2012;157(4):354-62.

104. Mastalerz L, Sanak M, Gawlewicz-Mrocza A, Gielicz A, Cmiel A, Szczeklik A. Prostaglandin E2 systemic production in patients with asthma with and without aspirin hypersensitivity. *Thorax*. 2008 Jan;63(1):27-34.
105. Kowalski ML, Pawliczak R, Wozniak J, Siuda K, Poniatowska M, Iwaszkiewicz J, *et al*. Differential metabolism of arachidonic acid in nasal polyp epithelial cells cultured from aspirin-sensitive and aspirin-tolerant patients. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000 Feb;161(2 Pt 1):391-8.
106. Ying S, Meng Q, Scadding G, Parikh A, Corrigan CJ, Lee TH. Aspirin-sensitive rhinosinusitis is associated with reduced E-prostanoid 2 receptor expression on nasal mucosal inflammatory cells. *J Allergy Clin Immunol*. 2006 Feb;117(2):312-8.
107. Kohyama K, Hashimoto M, Abe S, Kodaira K, Yukawa T, Hozawa S, *et al*. Thromboxane A2 receptor +795T>C and chemoattractant receptor-homologous molecule expressed on Th2 cells -466T>C gene polymorphisms in patients with aspirin-exacerbated respiratory disease. *Mol Med Rep*. 2012 Feb;5(2):477-82.
108. Laidlaw TM, Boyce JA. Platelets in patients with aspirin-exacerbated respiratory disease. *J Allergy Clin Immunol*. 2015 Jun;135(6):1407-14.
109. Kowalski ML, Cieślak M, Pérez-Novo CA, Makowska JS, Bachert C. Clinical and immunological determinants of severe/refractory asthma (SRA): association with Staphylococcal superantigen-specific IgE antibodies. *Allergy*. 2011 Jan;66(1):32-8.
110. Bachert C, Zhang N, Holtappels G, De Lobel L, van Cauwenberge P, Liu S, *et al*. Presence of IL-5 protein and IgE antibodies to staphylococcal enterotoxins in nasal polyps is associated with comorbid asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2010 Nov;126(5):962-8, 968.e1-6.
111. Szczeklik A. Aspirin-induced asthma as a viral disease. *Clin Allergy*. 1988 Jan;18(1):15-20.
112. Wos M, Sanak M, Soja J, Olechnowicz H, Busse WW, Szczeklik A. The presence of rhinovirus in lower airways of patients with bronchial asthma. *Am J Respir Crit Care Med*. 2008 May 15;177(10):1082-9.
113. Bochenek G, Nizankowska-Mogilnicka E. Aspirin-exacerbated respiratory disease: clinical disease and diagnosis. *Immunol Allergy Clin North Am*. 2013 May;33(2):147-61.
114. Nizankowska-Mogilnicka E, Bochenek G, Mastalerz L, Swierczyńska M, Picado C, Scadding G, *et al*. EAACI/GA2LEN guideline: aspirin provocation tests for diagnosis of aspirin hypersensitivity. *Allergy*. 2007 Oct;62(10):1111-8.

115. Nizankowska E, Bestyńska-Krypel A, Cmiel A, Szczeklik A. Oral and bronchial provocation tests with aspirin for diagnosis of aspirin-induced asthma. *Eur Respir J*. 2000 May;15(5):863-9.
116. Milewski M, Mastalerz L, Nizankowska E, Szczeklik A. Nasal provocation test with lysine-aspirin for diagnosis of aspirin-sensitive asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 1998 May;101(5):581-6.
117. Velazquez JR, Teran. Aspirin-Intolerant Asthma: A Comprehensive Review of Biomarkers and Pathophysiology profil. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2013 Aug;45(1):75-86.
118. Sanz ML, Gamboa PM, Antépara I, Uasuf C, Vila L, Garcia-Avilés C, *et al*. Flow cytometric basophil activation test by detection of CD63 expression in patients with immediate-type reactions to betalactam antibiotics. *Clin Exp Allergy*. 2002 Feb;32(2):277-86.
119. Gamboa P, Sanz ML, Caballero MR, Urrutia I, Antépara I, Esparza R, *et al*. The flow-cytometric determination of basophil activation induced by aspirin and other non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) is useful for in vitro diagnosis of the NSAID hypersensitivity syndrome. *Clin Exp Allergy*. 2004 Sep;34(9):1448-57.
120. de Weck AL, Sanz ML. Cellular allergen stimulation test (CAST) 2003, a review. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2004;14(4):253-73.
121. Burastero SE, Paolucci C, Breda D, Monasterolo G, Rossi RE, Vangelista L. Unreliable measurement of basophil maximum leukotriene release with the Bühlmann CAST 2000 enzyme-linked immunosorbent assay kit. *Clin Vaccine Immunol*. 2006 Mar;13(3):420-2.
122. Schäfer D, Maune S. Pathogenic Mechanisms and In Vitro Diagnosis of AERD. *J Allergy (Cairo)*. 2012;2012:789232.
123. Kowalski ML, Ptasinska A, Jedrzejczak M, Bienkiewicz B, Cieslak M, Grzegorzczak J, *et al*. Aspirin-triggered 15-HETE generation in peripheral blood leukocytes is a specific and sensitive Aspirin-Sensitive Patients Identification Test (ASPITest). *Allergy*. 2005 Sep;60(9):1139-45.
124. Baenkler HW. Salicylate intolerance: pathophysiology, clinical spectrum, diagnosis and treatment. *Dtsch Arztebl Int*. 2008 Feb;105(8):137-42.
125. Williams WR, Pawlowicz A, Davies BH. Aspirin-sensitive asthma: significance of the cyclooxygenase-inhibiting and protein-binding properties of analgesic drugs. *Int Arch Allergy Appl Immunol*. 1991;95(4):303-8.

126. Williams WR, Pawlowicz A, Davies BH. In vitro tests for the diagnosis of aspirin-sensitive asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 1990 Oct;86(4 Pt 1):445-51.
127. Kupczyk M, Kurmanowska Z, Kupryś-Lipińska I, Bocheńska-Marciniak M, Kuna P. Mediators of inflammation in nasal lavage from aspirin intolerant patients after aspirin challenge. *Respir Med.* 2010 Oct;104(10):1404-9.
128. Global Strategy for Asthma Management and Prevention, Global Initiative for Asthma (GINA) 2015. Pobrano z: <http://www.ginasthma.org/> 2015.
129. Nathan RA, Sorkness CA, Kosinski M, Schatz M, Li JT, Marcus P, *et al.* Development of the asthma control test: a survey for assessing asthma control. *J Allergy Clin Immunol.* 2004;113:59-65.
130. Landau LI, Morgan W, McCoy KS, Taussig LM. Gender related differences in airway tone in children. *Pediatr Pulmonol.* 1993 Jul;16(1):31-5.
131. Pergola C, Dodt G, Rossi A, Neunhoeffler E, Lawrenz B, Northoff H, *et al.* ERK-mediated regulation of leukotriene biosynthesis by androgens: A molecular basis for gender differences in inflammation and asthma. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2008 December 16;105(50):19881-6.
132. Szczeklik W, Sanak M, Szczeklik A. Functional effects and gender association of COX-2 gene polymorphism G-765C in bronchial asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2004 Aug;114(2):248-53.
133. Portelli M, Sayers I. Genetic basis for personalized medicine in asthma. *Exp Rev Respir Med.* 2012 Apr;6(2):223-36.
134. Miranda C, Busacker A, Balzar S, Trudeau J, Wenzel SE. Distinguishing severe asthma phenotypes: role of age at onset and eosinophilic inflammation. *J Allergy Clin Immunol.* 2004 Jan;113(1):101-8.
135. Henderson WR Jr, Chi EY, Bollinger JG, Tien YT, Ye X, Castelli L, *et al.* Importance of group X-secreted phospholipase A2 in allergen-induced airway inflammation and remodeling in a mouse asthma model. *J Exp Med.* 2007 Apr 16;204(4):865-77.
136. Mudd PA, Katial RK, Alam R, Hohensee S, Ramakrishnan V, Kingdom TT. Variations in expression of matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in nasal mucosa of aspirin-sensitive versus aspirin-tolerant patients with nasal polyposis. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2011 Oct;107(4):353-9.

137. Pasaje CF, Kim JH, Park BL, Cheong HS, Kim MK, Choi IS, *et al.* A possible association of EMID2 polymorphisms with aspirin hypersensitivity in asthma. *Immunogenetics*. 2011 Jan;63(1):13-21.
138. Ellis AK, Keith PK. Nonallergic rhinitis with eosinophilia syndrome and related disorders. *Clin Allergy Immunol*. 2007;19:87-100.
139. Bavbek S, Dursun B, Dursun E, Korkmaz H, Sertkaya Karasoy D. The prevalence of aspirin hypersensitivity in patients with nasal polyposis and contributing factors. *Am J Rhinol Allergy*. 2011;25(6):411-5.
140. Awad OG, Lee JH, Fasano MB, Graham SM. Sinonasal outcomes after endoscopic sinus surgery in asthmatic patients with nasal polyps: a difference between aspirin-tolerant and aspirin-induced asthma? *Laryngoscope*. 2008 Jul;118(7):1282-6.
141. Håkansson K, Bachert C, Konge L, Thomsen SF, Pedersen AE, Poulsen SS, *et al.* Airway Inflammation in Chronic Rhinosinusitis with Nasal Polyps and Asthma: The United Airways Concept Further Supported. *PLoS One*. 2015 Jul 1;10(7):e0127228.
142. Fokkens WJ, Lund VJ, Mullol J, Bachert C, Alobid I, Baroody F, *et al.* EPOS 2012: European position paper on rhinosinusitis and nasal polyps 2012. A summary for otorhinolaryngologists. *Rhinology*. 2012 Mar;50(1):1-12.
143. Kim JE, Kountakis SE. The prevalence of Samter's triad in patients undergoing functional endoscopic sinus surgery. *Ear Nose Throat J*. 2007 Jul;86(7):396-9.
144. Ellis AG. The pathological anatomy of bronchial asthma. *Am J Med Sci*. 1908;86:407.
145. Bresciani M, Paradis L, Des RA, Vernhet H, Vachier I, Godard P, *et al.* Rhinosinusitis in severe asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2001;107:73-80.
146. ten Brinke A, Grootendorst DC, Schmidt JT, De Bruïne FT, van Buchem MA, Sterk PJ, *et al.* Chronic sinusitis in severe asthma is related to sputum eosinophilia. *J Allergy Clin Immunol*. 2002 Apr;109(4):621-6.
147. Rosenberg HF, Dyer KD, Foster PS. Eosinophils: changing perspectives in health and disease. *Nat Rev Immunol*. 2013 Jan;13(1):9-22.
148. Soyka MB, Wawrzyniak P, Eiwegger T, Holzmann D, Treis A, Wanke K, *et al.* Defective epithelial barrier in chronic rhinosinusitis: the regulation of tight junctions by IFN- $\gamma$  and IL-4. *J Allergy Clin Immunol*. 2012 Nov;130(5):1087-1096.e10.
149. Yoo HS, Shin YS, Liu JN, Kim MA, Park HS. Clinical significance of immunoglobulin E responses to staphylococcal superantigens in patients with aspirin-exacerbated respiratory disease. *Int Arch Allergy Immunol*. 2013;162(4):340-5.

150. Burrows B, Martinez FD, Halonen M, Barbee RA, Cline MG. Association of asthma with serum IgE levels and skin-test reactivity to allergens. *N Engl J Med.* 1989 Feb 2;320(5):271-7.
151. Gergen PJ, Arbes SJ Jr, Calatroni A, Mitchell HE, Zeldin DC. Total IgE levels and asthma prevalence in the US population: results from the National Health and Nutrition Examination Survey 2005-2006. *J Allergy Clin Immunol.* 2009 Sep;124(3):447-53.
152. Sears MR, Burrows B, Flannery EM, Herbison GP, Hewitt CJ, Holdaway MD. Relation between airway responsiveness and serum IgE in children with asthma and in apparently normal children. *N Engl J Med.* 1991 Oct 10;325(15):1067-71.
153. Szeffler SJ, Wenzel S, Brown R, Erzurum SC, Fahy JV, Hamilton RG, *et al.* Asthma outcomes: biomarkers. *J Allergy Clin Immunol.* 2012 Mar;129(3 Suppl):S9-23.
154. Bachert C, Zhang N. Chronic rhinosinusitis and asthma: novel understanding of the role of IgE 'above atopy'. *J Intern Med.* 2012 Aug;272(2):133-43.
155. Bochenek G, Nizankowska E, Szczeklik A. The atopy trait in hypersensitivity to nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Allergy.* 1996 Jan;51(1):16-23.
156. World Health Organisation: Data and statistics. 2012. Pobrano z: <http://www.who.un.org.pl/aktualnosci.php?news=92>
157. Fuhlbrigge A, Reed ML, Stempel DA, Ortega HO, Fanning K, Stanford RH. The status of asthma control in the U.S. adult population. *Allergy Asthma Proc.* 2009 Sep-Oct;30(5):529-33.
158. Demoly P, Annunziata K, Gubba E, Adamek L. Repeated cross-sectional survey of patient-reported asthma control in Europe in the past 5 years. *Eur Respir Rev.* 2012 Mar 1;21(123):66-74.
159. Pleskow WW, Stevenson DD, Mathison DA, Simon RA, Schatz M, Zeiger RS. Aspirin-sensitive rhinosinusitis/asthma: spectrum of adverse reactions to aspirin. *J Allergy Clin Immunol.* 1983 Jun;71(6):574-9.
160. Jenkins C, Costello J, Hodge L. Systematic review of prevalence of aspirin induced asthma and its implications for clinical practice. *BMJ.* 2004 Feb 21;328(7437):434.
161. Dursun AB, Woessner KA, Simon RA, Karasoy D, Stevenson DD. Predicting outcomes of oral aspirin challenges in patients with asthma, nasal polyps, and chronic sinusitis. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2008 May;100(5):420-5.
162. Kumlin M. Measurements of leukotrienes in the urine: strategies and applications. *Allergy.* 1997;52:124-35.

163. Asano K, Lilly CM, O'Donnell WJ, Israel E, Fischer A, Ransil BJ, *et al.* Diurnal variation of urinary leukotriene E<sub>4</sub> and histamine excretion rates in normal subjects and patients with mild-to-moderate asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 1995 Nov;96(5 Pt 1):643-51.
164. Sampson AP, Castling DP, Green CP, Price JF. Persistent increase in plasma and urinary leukotrienes after acute asthma. *Arch Dis Child.* 1995 Sep;73(3):221-5.
165. Sanak M, Bochenek G, Faber J, Plutecka H, Szczeklik A. Elevated urinary leukotriene E excretion in asthma: a comparison of HPLC-mass spectrometry and ELISA. *Allergy.* 2010;65:663-4.
166. Kumlin M, Stensvad F, Larsson L, Dahlén B, Dahlén SE. Validation and application of a new simple strategy for measurements of urinary leukotriene E<sub>4</sub> in humans. *Clin Exp Allergy.* 1995;25:467-79.
167. Yamaguchi H, Higashi N, Mita H, Ono E, Komase Y, Nakagawa T, *et al.* Urinary concentrations of 15-epimer of lipoxin A(4) are lower in patients with aspirin-intolerant compared with aspirin-tolerant asthma. *Clin Exp Allergy.* 2011 Dec;41(12):1711-8.
168. Divekar R, Hagan J, Rank M, Park M, Volcheck G, O'Brian E, *et al.* Diagnostic utility of urinary LTE<sub>4</sub> in asthma, allergic rhinitis, chronic rhinosinusitis, nasal polyps, and aspirin sensitivity. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2016 Jul-Aug;4(4):665-70.
169. Hagan JB, Laidlaw TM, Divekar R, O'Brian E, Kita H, Volcheck GW, *et al.* The diagnostic testing accuracy of urinary leukotriene E<sub>4</sub> in determining aspirin intolerance in asthma: a systemic review and meta-analysis. *J Allergy Clin Immunol.* 2016 Feb; AB390 Abstracts (L4).
170. Bochenek G, Kuschill-Dziurda J, Szafraniec K, Plutecka H, Szczeklik A, Nizankowska-Mogilnicka E. Certain subphenotypes of aspirin-exacerbated respiratory disease distinguished by latent class analysis. *J Allergy Clin Immunol.* 2014 Jan;133(1):98-103.e1-6.
171. Yamaguchi M, Higashi N, Ono E, Mita H, Akiyama K. Hyperleukotrieneuria in patients with allergic and inflammatory disease. *Allergol.* 2008;57:313-20.
172. Higashi N, Taniguchi M, Mita H, Yamaguchi H, Ono E, Akiyama K. Aspirin-intolerant asthma (AIA) assessment using the urinary biomarkers, leukotriene E<sub>4</sub> (LTE<sub>4</sub>) and prostaglandin D<sub>2</sub> (PGD<sub>2</sub>) metabolites. *Allergol Int.* 2012 Sep;61(3):393-403.
173. Yamaguchi T, Ishii T, Yamamoto K, Higashi N, Taniguchi M, Okamoto M. Differences in urinary leukotriene E<sub>4</sub> levels and distribution of eosinophils between chronic

- rhinosinusitis patients with aspirin-intolerant and -tolerant asthma. *Auris Nasus Larynx*. 2016 Jun;43(3):304-8.
174. Chiu C-Y, Tsai M-H, Yao T-C, Tu Y-L, Hua M-C, Yeh K-W, *et al.* Urinary LTE<sub>4</sub> levels as a diagnostic marker for IgE-mediated asthma in preschool children: a birth cohort study. *PLoS ONE*. 2014 Dec;9(12):e115216.
175. Pérez-Novo CA, Kowalski ML, Kuna P, Ptasińska A, Holtappels G, van Cauwenberge P, *et al.* Aspirin sensitivity and IgE antibodies to *Staphylococcus aureus* enterotoxins in nasal polyposis: studies on the relationship. *Int Arch Allergy Immunol*. 2004 Mar;133(3):255-60.
176. Micheletto C, Visconti M, Trevisan F, Tognella S, Bertacco S, Dal Negro RW. The prevalence of nasal polyps and the corresponding urinary LTE<sub>4</sub> levels in severe compared to mild and moderate asthma. *Eur Ann Allergy Clin Immunol*. 2010 Jun;42(3):120-4.
177. Jang AS, Park JS, Park SW, Kim DJ, Uh ST, Seo KH, *et al.* Obesity in aspirin-tolerant and aspirin-intolerant asthmatics. *Respirology*. 2008 Nov;13(7):1034-8.
178. Eriksson J, Ekerljung L, Bossios A, Bjerg A, Wennergren G, Rönmark E, *et al.* Aspirin-intolerant asthma in the population: prevalence and important determinants. *Clin Exp Allergy*. 2015 Jan;45(1):211-9.
179. Chang JE, Ding D. Smoking, environmental tobacco smoke, and aspirin-exacerbated respiratory disease. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2012;108:14-9.
180. Seki K, Hisada T, Kawata T, Kamide Y, Dobashi K, Yamada M, *et al.* Oxidative stress potentially enhances FcεRI-mediated leukotriene C<sub>4</sub> release dependent on the late-phase increase of intracellular glutathione in mast cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2013 Sep 27;439(3):357-62.
181. Chang HS, Park JS, Jang AS, Park SW, Uh ST, Kim YH, *et al.* Diagnostic value of clinical parameters in the prediction of aspirin-exacerbated respiratory disease in asthma. *Allergy Asthma Immunol Res*. 2011 Oct;3(4):256-64.
182. Morales DR, Guthrie B, Lipworth BJ, Jackson C, Donnan PT, Santiago VH. NSAID-exacerbated respiratory disease: a meta-analysis evaluating prevalence, mean provocative dose of aspirin and increased asthma morbidity. *Allergy*. 2015 Jul;70(7):828-35.
183. Moon JY, Kim SH, Kim TB, Kim SH, Chang YS, Lee JH, *et al.* COREA study group. Aspirin-intolerant asthma in the Korean population: prevalence and characteristics based on a questionnaire survey. *Respir Med*. 2013 Feb;107(2):202-8.



184. Cahill KN, Johns CB, Cui J, Wickner P, Bates DW, Laidlaw TM, *et al.* Automated identification of an aspirin-exacerbated respiratory disease cohort. *J Allergy Clin Immunol.* 2016 Jul 25. pii: S0091-6749(16)30700-X. doi: 10.1016/j.jaci.2016.05.048. [Epub ahead of print].
185. Van Sambeek R, Stevenson DD, Baldasaro M, Lam BK, Zhao J, Yoshida S, *et al.* 5' flanking region polymorphism of the gene encoding leukotriene C4 synthase does not correlate with the aspirin-intolerant asthma phenotype in the United States. *J Allergy Clin Immunol.* 2000 Jul;106(1 Pt 1):72-6.
186. Kawagishi Y, Mita H, Taniguchi M, Maruyama M, Oosaki R, Higashi N, *et al.* Leukotriene C4 synthase promoter polymorphism in Japanese patients with aspirin-induced asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2002 Jun;109(6):936-42.

## 10. SPIS TABEL

Tabela 1. Zestawienie wybranych publikacji dotyczących porównania stężeń LTE <sub>4</sub> w moczu u chorych na AERD i ATA .....	26
Tabela 2. Ogólna charakterystyka badanych: płeć, wiek, BMI.....	40
Tabela 3. Czas trwania, wiek wystąpienia pierwszych objawów i zaostrzenia astmy .....	41
Tabela 4. Stopnie kontroli astmy wg ACT.....	42
Tabela 5. Stosowane leczenie astmy .....	44
Tabela 6. Objawy ze strony górnych dróg oddechowych, polipy nosa.....	44
Tabela 7. Leczenie związane z zajęciem górnych dróg oddechowych .....	45
Tabela 8. Parametry funkcji płuc .....	46
Tabela 9. Ogólna charakterystyka badanych: eozynofilia bezwzględna, IgE całkowite, alergiczne testy skórne.....	47
Tabela 10. Stężenia LTE <sub>4</sub> w moczu u chorych na AERD, ATA i u osób zdrowych (N).....	47
Tabela 11. Przynależność chorych na AERD i na ATA do poszczególnych grup wyznaczonych przez rozkład kwartylowy stężenia LTE <sub>4</sub> w moczu .....	49
Tabela 12. Szansa rozpoznania AERD względem ATA związana ze stężeniem LTE <sub>4</sub> w moczu w przedziałach zmienności LTE <sub>4</sub> wyznaczonych na podstawie grupy osób zdrowych.....	49
Tabela 13. Wartości diagnostyczne testu rozpoznającego AERD w oparciu o stężenie LTE <sub>4</sub> w moczu .....	51
Tabela 14. Porównanie wieku i BMI w grupach stężenia LTE <sub>4</sub> w moczu.....	52
Tabela 15. Występowanie zaostrzeń u chorych na astmę w grupach stężenia LTE <sub>4</sub> w moczu .....	53
Tabela 16. Stopnie kontroli astmy wg ACT w grupach stężeń LTE <sub>4</sub> w moczu .....	54
Tabela 17. Stosowane leczenie i stopnie ciężkości astmy w grupach stężeń LTE <sub>4</sub> w moczu.....	54
Tabela 18. Objawy ze strony górnych dróg oddechowych i polipy nosa w grupach stężeń LTE <sub>4</sub> w moczu .....	55
Tabela 19. Leczenie związane z zajęciem górnych dróg oddechowych w grupach stężeń LTE <sub>4</sub> w moczu .....	56
Tabela 20. Parametry funkcji płuc w grupach stężeń LTE <sub>4</sub> w moczu.....	57
Tabela 21. Eozynofilia bezwzględna, IgE całkowitego i wyniki alergicznych testów skórnych dla AERD, ATA i N w grupach stężeń LTE <sub>4</sub> w moczu .....	58

Tabela 22. Porównanie wybranych parametrów w grupach o wysokich stężeniach LTE <sub>4</sub> w moczu (>800,0 pg/mg kreatyniny) pomiędzy chorymi na AERD i na ATA.....	59
Tabela 23. Szansa wystąpienia AERD w zależności od potencjalnych czynników ryzyka na podstawie jednowymiarowej regresji logistycznej.....	60
Tabela 24. Szansa wystąpienia AERD na podstawie wielowymiarowej regresji logistycznej – model końcowy A .....	61
Tabela 25. Szansa wystąpienia AERD na podstawie wielowymiarowej regresji logistycznej – model końcowy B .....	62
Tabela 26. Kolejność włączania zmiennych do modelu metodą regresji logistycznej krokowej ....	62
Tabela 27. Porównanie krzywych ROC modeli A i B utworzonych w oparciu o wskaźniki (score) na podstawie wielowymiarowej analizy regresji logistycznej .....	64

## 11. SPIS RYCIN

Rysunek 1. Szlaki przemian enzymatycznych kwasu arachidonowego (AA). Według A. Narayanankutty i wsp. [38].....	15
Rysunek 2. Biosynteza leukotrienów. Według D. Poeckel i CD. Funk [43] .....	16
Rysunek 3. Patomechanizm ostrej reakcji po przyjęciu aspiryny i innych NLPZ u chorych na AERD.....	21
Rysunek 4. Stężenie LTE <sub>4</sub> w moczu u chorych na AERD, ATA i u osób zdrowych (N).....	48
Rysunek 5. Podział na 4 grupy wyznaczone przez rozkład kwartylowy i rozkład wartości stężeń LTE <sub>4</sub> w moczu osób zdrowych .....	48
Rysunek 6. Krzywa ROC dla stężenia LTE <sub>4</sub> w moczu dyskryminująca chorych na AERD i na ATA .....	50
Rysunek 7. Porównanie krzywych ROC dla modeli A i B utworzonych w oparciu o wskaźniki (score) na podstawie wielowymiarowej analizy regresji logistycznej .....	63
Rysunek 8. Porównanie rozpoznania AERD względem ATA w oparciu o wskaźniki (score) zbudowane na podstawie wielowymiarowej regresji logistycznej dla modelu A i B .....	65