

A 524026

II

ROZPRAWY HABILITACYJNE UNIWERSYTETU JAGIELLOŃSKIEGO
COLLEGIUM MEDICUM
WYDZIAŁ LEKARSKI

LUCYNA MASTALERZ

PODOBIENSTWA
ZABURZEŃ EIKOZANOIDÓW
W SKÓRNEJ I OSKRZELOWEJ
POSTACI NADWRAŻLIWOŚCI
NA ASPIRYNĘ



WYDAWNICTWO UNIWERSYTETU JAGIELLOŃSKIEGO

PODOBIE STWA
ZABURZE EIKOZANOIDÓW
W SKÓRNEJ I OSKRZELOWEJ
POSTACI NADWRA LIWO CI
NA ASPIRYN



II Katedra Chorób Wewnętrznych
Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego
Klinika Pulmonologii

Kierownik Katedry: Prof, dr hab. med. Andrzej Szczeklik
Kierownik Kliniki: Prof, dr hab. med. Ewa Niankowska-Mogilnicka

ROZPRAWY HABILITACYJNE UNIWERSYTETU JAGIELLOŃSKIEGO
COLLEGIUM MEDICUM
WYDZIAŁ LEKARSKI

LUCYNA MASTALERZ

PODOBIEŃSTWA
ZABURZEŃ EIKOZANOIDÓW
W SKÓRNEJ I OSKRZELOWEJ
POSTACI NADWRAŹLIWOŚCI
NA ASPIRYN

WYDAWNICTWO UNIWERSYTETU JAGIELLOŃSKIEGO

RECENZENT WYDAWNICZY

Prof, dr hab. med. Iwona Florentyna Grzelewska-Rzymowska
Uniwersytet Medyczny w Łodzi

© Copyright by Lucyna Mastalerz
All rights reserved
Wydanie I. Kraków 2004

OPRACOWANIE REDAKCYJNE

Dorota W gierska

Zdj cie na str. 2

Stanisław Markowski

ISBN 83-233-1928-6

www.wuj.pl

Wydawnictwo Uniwersytetu Jagiello skiego
Redakcja: ul. Karmelicka 27/4, 31-131 Kraków
tel. (012) 423-31-87, tel./fax (012) 423-31-60
Dystrybucja: ul. Bydgoska 19 C, 30-056 Kraków
tel. (012) 638-77-83, (012) 636-80-00 w. 2022
fax (012) 423-31-60, (012) 636-80-00 w. 2023
tel. kom. 0506-006-674, e-mail: wydaw@if.uj.edu.pl
Konto: BPH PBK SA IV/O Kraków nr 62 1060 0076 0000 3200 0047 8769

*Panu Profesorowi Andrzejowi Szczekliki
składam serdeczne podziękowanie za ogromną wyrozumiałość,
inspirację i cenne rady udzielone mi podczas pisania tej pracy*

*Dziękuję Pani Profesor Ewie Niankowskiej-Mogilnickiej
za trud włożony w moje kształcenie w dziedzinie alergologii i pulmonologii*

SPIS TRECI

WYKAZ SKRÓTÓW.....

WST P.....

Astma oskrzelowa z nadwra liwo ci na aspiryn	
Historia nadwra liwo ci na aspiryn	
Definicja, obraz kliniczny, rozpoznanie i leczenie astmy aspirynowej.....	
Mechanizmy patogenetyczne astmy aspirynowej w wietle przemian kwasu arachi-	
donowego.....	
Zmienno genetyczna białek zaangażowanych w biosyntezy eikozanoidów.....	
Pokrzywkowo-obrz kowa posta nadwra liwo ci na aspiryn	
Obraz kliniczny i patomechanizm pokrzywki aspirynowej.....	
Patogeneza przewlekłej pokrzywki idiopatycznej.....	
Rólne formy nadwra liwo ci na aspiryn	

ZAŁO ENIA I CEL PRACY.....

MATERIAŁ I METODY.....

Zasady kwalifikacji chorych do badania.....	
Osoby badane.....	
Metody badania.....	
Doustny test prowokacyjny z aspiryn	
Ocena stopnia ci ko ci zmian skórnych.....	
Pomiar nat onej obj to ci wydechowej pierwszosekundowej (FEV ₁).....	
Oznaczenie st enia LTE ₄ w moczu.....	
Oznaczenie st enia trwałego metabolitu PGD ₂ (9a,11-PPGF ₂) w surowicy.....	
Oznaczenie st enia tryptazy w surowicy.....	
Genotypowanie polimorfizmu genu syntazy LTC ₄	
Test skórny z aspiryn	
Test ródski z własną surowic (autologiczny).....	
Opracowanie statystyczne.....	

WYNIKI.....

Reakcja kliniczna na doustną prowokację aspiryn	
Wydalenie LTE ₄ z moczem.....	

Stężenie trwałego metabolitu PGD ₂ (9a, 11 pPGF ₂) w surowicy.....	37
Tryptaza w surowicy.....	39
Genotypowanie polimorfizmu regionu promotorowego syntazy LTC ₄	39
Testy skórne z aspiryn i własny surowic	40
DYSKUSJA.....	41
Podział chorych na grupy w zależności od wyniku testu prowokacyjnego z aspiryn	41
Podobieństwo zaburzeń przemiany leukotrienów i prostaglandyn w astmie i pokrzywce aspirynowej.....	42
Polimorfizm genetyczny syntazy LTC ₄ i jego związek z fenotypem pokrzywki.....	45
Przypuszczalne patomechanizmy przewlekłej pokrzywki idiopatycznej indukowanej aspiryn	46
WNIOSKI.....	49
STRESZCZENIE.....	51
PI MIENNICTWO.....	53

WYKAZ SKRÓTÓW

AIA	astma aspirynowa (<i>aspirin-induced asthma</i>)
AIANE	Europejska Sieć Aspirynowa (<i>European Network on Aspirin-Induced Asthma</i>)
AIU	pokrzywka aspirynowa (<i>aspirin-induced urticaria</i>)
ASA	aspiryna, kwas acetylosalicylowy (<i>acetylsalicylic acid</i>)
ASST	test autologiczny różdkórny z własn surowic (<i>autologous serum skin test</i>)
CIU	przewlekła pokrzywka idiopatyczna (<i>chronic idiopathic urticaria</i>)
C0X-1	cyklooksyzgenaza 1
C0X-2	cyklooksyzgenaza 2
CysLT1	recepcor leukotrienów cysteinylowych 1
CysLT2	recepcor leukotrienów cysteinylowych 2
cys-LT	leukotrieny cysteinylowe
9a,II3PGF ₂	trwały metabolit prostaglandyny D ₂
FceR1a	podjednostka a receptora dla IgE o wysokim powinowactwie
FEV ₁	natona objętość wydechowa pierwszosekundowa
GC-NICI-MS	chromatografia gazowa i spektrometria mas, technik ujemnej jonizacji chemicznej
GLM	model liniowy (<i>General Linear Model</i>)
IgE	immunoglobulina E
IgG	immunoglobulina G
l t a ₄	leukotrien A ₄
l t b ₄	leukotrien B ₄
l t c ₄	leukotrien C ₄
LTC ₄ S	syntaza leukotrienu C ₄
l t d ₄	leukotrien D ₄
l t e ₄	leukotrien E ₄
NSLPZ	niesteroidowe leki przeciwzapalne
8-epi-PGF _{2a}	8-epi-prostaglandyna F _{2a}
PASI	skala zmian skórnych (<i>Psoriasis Area and Severity Index</i>)
PD	dawka prowokacyjna (<i>provocation dose</i>)
pg d ₂	prostaglandyna D ₂
pg e ₂	prostaglandyna E ₂
pg f ₂	prostaglandyna F ₂

5-LO	5-lipoksygenaza
15-HETE	kwasy 15-hydroksoeikozatetraenowe
PGF _{2a}	prostaglandyna F _{2a}
SNP	polimorfizm pojedynczego nukleotydu (<i>single nucleotide polymorphism</i>)
SP-1	czynnik transkrypcyjny SP-1
TLC	chromatografia cienkowarstwowa
TXB ₂	tromboksan B ₂

WST P

Astma oskrzelowa z nadwra liwo ci na aspiryn

Historia nadwra liwo ci na aspiryn

Właściwość przeciwbólowe, przeciwzapalne i przeciwgorączkowe salicylanów, stosowanych pod postacią wywarów z kory wierzby i soku z topoli, znane są od czasów Hipokratesa [145]. Jednak dopiero w 1763 roku Edward Stone przeprowadził pierwsze badanie z grup kontrolną, które wskazywało na skuteczność leczenia zapalenia stawów wyściągami z kory wierzby [125]. Trzeba było kolejnych stu lat, aby z tego wyściogu wyizolować glikozyd i opracować syntezę chemiczną salicylanu sodu [67, 145].

Aspiryna (kwas acetylosalicylowy) została zsyntetyzowana w 1897 roku przez Feliksa Hoffmana. Inspiracją do poszukiwania przez niego dobrego leku przeciwbólowego była chęć pomocy ojcu, który cierpiał przez wiele lat na gorączkę stawową i nie mógł znieść gorzkiego w smaku kwasu salicylowego [145]. W dwa lata później rozpoczęła produkcję aspiryny firma Bayer. Od tej pory aspiryna zastąpiła gorzki kwas salicylowy i stała się najczęstszym lekiem na świecie, dostępnym bez recepty [22]. W kilka lat później, w 1902 roku, polski lekarz Hirschberg opisał pierwszego chorego, u którego po przyjęciu tabletki aspiryny wystąpił obrzęk naczyń ruchomy [46]. W 1911 roku Gilbert przedstawił pierwszego chorego na astmę oskrzelową, u której aspiryna wywołała silny napad duszności [30]. Do historii związanej z nadwrażliwością na aspirynę przeszedł rok 1922, w którym to Widal opisał zespół kliniczny zwany „triadą aspirynową”. Zespół ten charakteryzuje się polipami nosa, astmą oskrzelową oraz nadwrażliwością na aspirynę. Autor ten zauważył również, że po silnej reakcji nadwrażliwość na aspirynę ponownie jej przyjęcie w dwa dni później nie powoduje już tak groźnych objawów klinicznych [152].

W literaturze polskiej pierwszy opis tego zespołu pochodzi z 1925 roku i został przedstawiony przez krakowskiego lekarza Wieruchowskiego [153].

Wiele doniesień dotyczących obserwacji i charakterystyki klinicznej chorych na astmę oskrzelową z nadwrażliwością na aspirynę zaczęło się pojawiać w drugiej połowie lat 60. XX wieku. Już wtedy Samter i Beers sugerowali nieimmunologiczny charakter reakcji nadwrażliwość na aspirynę [105]. Uważali oni, że mechanizm nadwrażliwość na aspirynę związany jest z paradoksalną stymulacją przez ten lek zmienionych

w następnym czasie choroby receptorów bradykininowych. Jednak ze względu na duże podobieństwo objawów nadwrażliwości na aspiryn do odczynów alergicznych typu natychmiastowego przez długi czas podejrzewano patomechanizm immunologiczny. Hipoteza ta jest jednak mało prawdopodobna, ponieważ nie wykryto specyficznych przeciwciał typu IgE przeciwko aspirynie, a także ze względu na znaczne różnice w strukturze chemicznej leków wywołujących objawy nadwrażliwości [19],

Przełomowe odkrycie sir J. Vane'a w 1971 roku pozwoliło zrozumieć mechanizm działania aspiryny i innych niesteroidowych leków przeciwzapalnych [146], Vane wykazał, że aspiryna hamuje aktywność cyklooksygenazy, kluczowego enzymu w produkcji prostaglandyn, które są mediatorami zapalenia i bólu. Za odkrycie to J. Vane otrzymał w 1982 roku Nagrodę Nobla w dziedzinie medycyny.

W latach 90. XX wieku odkryto istnienie dwóch izoform cyklooksygenazy: COX-1 i COX-2. Kolejne lata przyniosły zsyntetyzowanie i wprowadzenie do leczenia selektywnych inhibitorów COX-2 [41, 123, 134, 155], Wąg odkrycia selektywnych inhibitorów COX-2 doceniła światowa Organizacja Zdrowia, zaliczając je do nowej grupy leków zwanej koksymbami.

Definicja, obraz kliniczny, rozpoznanie i leczenie astmy aspirynowej

Astma aspirynowa (*aspirin-induced asthma* - AIA) to zespół kliniczny, w którym po zażyciu aspiryny (*acetylsalicylic acid* - ASA) lub innego niesteroidowego leku przeciwzapalnego (NSLPZ), będącego inhibitorem cyklooksygenazy, dochodzi do napadu duszności z towarzyszącym wodnistym wydzielinom z nosa, przekrwieniem spojówek oraz zaczerwienieniem skóry. Spotyka się ją u około 10% dorosłych chorych na astmę oskrzelową [23, 52, 72, 99, 135, 143], natomiast o wiele rzadziej u dzieci [48]. Astma aspirynowa występuje częściej u kobiet niż u mężczyzn (2,3:1) i ma u nich cięższy przebieg [135].

Obraz kliniczny omawianego zespołu przeledzono na podstawie obserwacji i leczenia 500 chorych na astmę aspirynową z 10 krajów europejskich, leczonych w ramach Europejskiej Sieci Aspirynowej (*European Network on Aspirin-Induced Asthma* - AIANE). Zwykle pierwszym objawem pojawiającym się około 30. roku życia jest eozynofilowe zapalenie błony śluzowej nosa z obfitym wodnistym wydzielinom. Ma ono charakter uporczywy, często prowadzi do wykształcenia polipów nosa. Z upływem miesięcy, a nieraz i lat (1-5 lat) rozwija się astma oskrzelowa i nadwrażliwość na aspirynę, która pojawia się zwykle po wystąpieniu astmy oskrzelowej, nierzadko jednak pierwszy napad duszności wyzwolony jest zażyciem aspiryny [135].

Podobne obserwacje poczyniono ostatnio u 300 chorych w Stanach Zjednoczonych Ameryki, gdzie choroba rozpoczynała się średnio w 34. roku życia, częściej u kobiet (57%) niż u mężczyzn (43%), choć przebieg kliniczny u obu płci był podobny [8].

Przedstawiciele łódzkiej szkoły profesora Jerzego Rońckiego, która wiele wniosła do badań nad astmą aspirynową, tak opisują ten rodzaj astmy: chorzy cierpią na szczególnie ciężką, zwykle steroidozależną astmę oskrzelową z wyraźną tendencją do rozwijania się stanów astmatycznych. Badania francuskie przeprowadzone na dużej grupie chorych na astmę oskrzelową, u których rozwinął się stan astmatyczny wymagający sztucznej wentylacji płuc, wykazały, że aż 25% z nich było nadwrażliwych na aspirynę [71].

U chorych na astmę aspirynową, mimo przewlekłego leczenia przeciwzapalnego i rozszerzającego oskrzela, średnie wartości FEV₁ wahały się w granicach 50-80% wartości normalnych u 40% chorych, u około 15% zaś były nawet niższe niż 50%. Zaś takie same zmiany astmy aspirynowej przemawiają stwierdzone w tomografii komputerowej płuc zmiany typu zgrubienia ściany oskrzeli oraz dyskretne zwłóknienia w obrębie mięśni [135],

Istnieją również dane dotyczące występowania atopii u chorych na astmę aspirynową. Generalnie można przyjąć, że podwyższony poziom IgE w surowicy oraz dodatni wynik testów skórnych jest częstszy wśród chorych z nadwrażliwością na NSLPZ w porównaniu z populacją ogólną [12],

W badaniach dodatkowych uwagę zwraca wzrost eozynofili w krwi obwodowej [76], w popłuczynach z nosa [55], w popłuczynach oskrzelowo-płuczkowych [119] oraz w wycinkach z błony śluzowej oskrzeli [16, 83],

Do tej pory nie ma żadnych testów *in vitro*, które umożliwiłyby ustalenie rozpoznania AIA. Podejrzanie astmy aspirynowej może nasunąć dobrze zebrany wywiad. Jednak pewne rozpoznanie nadwrażliwości na aspirynę i inne NSLPZ jest możliwe dopiero na podstawie dodatniego wyniku testu prowokacyjnego z aspiryną [87]. Wyróżniamy pięć rodzajów testów prowokacyjnych z aspiryną: doustny, wziewny (inhalacyjny), donosowy, dołyński oraz dooskrzelowy. Dołyński test prowokacyjny stosowany jest prawie wyłącznie w Japonii [81]. Natomiast test donosowy z aspiryną lizynową ma raczej charakter badania przesiewowego, często nie można go wykonać ze względu na polipy nosa. Jako kryterium dodatniego testu donosowego przyjmuje się zwykle zmniejszenie przepływu nosowych o co najmniej 40% w badaniu rymanometrycznym [75, 80],

Opisano wiele schematów inhalacyjnych i doustnych prób ekspozycyjnych ze wzrastającymi dawkami aspiryny oraz zasady bezpiecznego ich przeprowadzania i interpretacji. Test inhalacyjny z aspiryną lizynową może być przeprowadzony w ciągu jednego dnia, jest dość bezpieczny, zwykle nie wywołuje objawów ogólnych, jedynie reakcje ze strony drzewa oskrzelowego [87]. Natomiast test doustny pomimo wielu ograniczeń pozostaje nadal „złotym standardem” w diagnostyce nadwrażliwości na aspirynę. W naszym ośrodku opracowano metodę wykonywania testu doustnego w warunkach pojedynczo lepszej próby, z użyciem placebo, w ciągu dwóch kolejnych dni ze wzrastającymi dawkami aspiryny, a do jej dawki kumulacyjnej wynoszącej 500 mg. Za dodatni wynik, zarówno doustnego, jak i inhalacyjnego testu prowokacyjnego z aspiryną, przyjmuje się spadek wartości FEV₁ o 20% lub więcej [87],

W celach badawczych stosuje się wziewne lub dooskrzelowe podanie aspiryny lizynowej, połączone z oceną zmian błony śluzowej oskrzeli oraz składu komórkowego płynu oskrzelowo-płuczkowego [83, 119, 142],

Leczenie chorych na astmę aspirynową przebiega zgodnie z ogólnie przyjętymi zasadami postępowania w astmie. Ze względu na obecność eozynofilowego zapalenia błony śluzowej nosa ważne jest donosowe leczenie kortykosteroidami [74]. Panuje pewien optymizm w leczeniu tego typu astmy lekami antyleukotrienowymi, zarówno inhibitorami ich syntezy (zileuton), jak i antagonistami receptorów cysteininowych (montelukast, pranlukast, zafirlukast) [17, 18, 77, 139],

W badaniach polsko-szwedzkich w czasie leczenia 40 chorych na astmę aspirynową inhibitorem 5-LO (zileutonem) w dawce 2400 mg/d obserwowano poprawę wartości spirometrycznych, mniejsze zużycie [V_{mimetyk} na danie, zmniejszenie nieswoistej

nadreaktywność oskrzeli na histaminę oraz poprawę objawów nosowych [18]. Podobnie antagonistą receptora leukotrienowego MK-0679 powodował wzrost wartości FEV₁ w grupie AIA [17],

Nie wykazano przewagi terapeutycznej antagonisty receptora leukotrienowego w grupie chorych na astmę aspirynową w porównaniu z chorymi na astmę oskrzelową dobrze tolerującymi aspirynę [73, 76, 98, 132]. Natomiast uwagę zwraca fakt, że chorzy na astmę oskrzelową ze „zmutowanym” allelem C syntazy LTC₄ odpowiadają lepiej na leczenie antyleukotrienne [3, 76, 104, 150].

Unikanie aspiryny i innych NSLPZ hamujących COX-1 (tab. 1) jest niezwykle ważne w zapobieganiu groźnym dla życia reakcjom poaspirynowym [137, 138]. Inhibitory COX-2 są dobrze tolerowane i stanowią ogromny szansę dla omawianych chorych [123, 134],

Istnieje również możliwość uzyskania tolerancji na aspirynę u chorych na AIA [56],

Tabela 1

Lista najważniejszych NSLPZ przeciwwskazanych w nadwrażliwości na aspirynę
(na podstawie 138. pozycji piśmiennictwa)

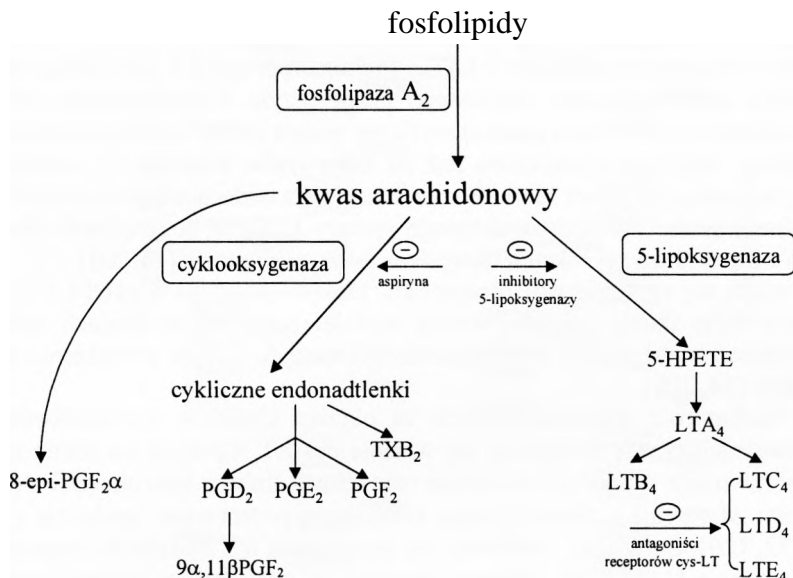
Nazwa rodzajowa	Nazwa handlowa
kwas acetylosalicylowy	Aspirin, Alkacyl, Alka-Seltzer, Anapiryna, Aspegic, Aspisol, Upsarin C
ibuprofen	Advil, Brüten, Dolgit, Ibuprofen, Mobilat,
naproksen	Anapran, Apranax, Naprosyn, Naproxen
ketoprofen	Profenid
fenoprofen	Fenoprofen
kwas tiaprofenowy	Surgam
indometacyna	Metindol, Indocid, Indomed
sulindak	Sulindac
tolmetyna	Tolmetin, Tolectin
diklofenak	Diclofenac, Voltaren, Feloran, Majamil, Naklofen, Rewodina
piroksykam	Feldene, Piroxicam
kwas mefenamowy	Mefacit, Ponstan, Ponstyl
metamizol	Analgin, Baralgin, Noramidopyrine, Novalgin
aminofenazon	Aminofenazon, Cofedon
fenylbutazon	Rheumopyrin, Butazolidin, Phenylbutazone
propyfenazon	Fenquill, Pabialgin, Saridon
oksyfenbutazon	Oxybutazone, Tanderil
klofezon	Perclusone

Mechanizmy patogenetyczne astmy aspirynowej w świetle przemian kwasu arachidonowego

Najbardziej popularną teorię powstawania astmy aspirynowej jest teoria cyklooksygenazowa [128], zgodnie z którą skurcz oskrzeli nie jest reakcją immunologiczną, ale jest związany z farmakologicznym hamowaniem przez aspirynę i inne NSLPZ aktywności COX, kluczowego enzymu w cyklu przemian kwasu arachidonowego.

Pod wpływem COX z kwasu arachidonowego wytwarzane są cykliczne endonadtlenki. W zależności od znajdujących się w poszczególnych tkankach izomeraz i re-

duktaz cykliczne endonadtlenki s przekształcane w prostaglandyny: D_2 (PGD_2), E_2 (PGE_2), F_2a (PGF_2a) (rys. 1). Zarówno PGD_2 , jak i jej trwały metabolit $9\alpha,11\beta PGF_2$ oraz PGF_2a silnie kurczą oskrzela [114]. U chorych na astm aspirynow zaobserwowano wzrost wydalania trwałego metabolitu PGD_2 z moczem po prowokacji aspiryn [11, 90], przy czym wzrost ten nie korelował w czasie ze wzrostem LTE_4 [11].



Rys. 1. Schemat przemiany kwasu arachidonowego do prostaglandyn i leukotrienów

Prostaglandyna E_2 rozszerza oskrzela, zapobiega degranulacji komórek tucznych, hamuje uwalnianie mediatorów chemicznych - w tym leukotrienów - ze stymulowanych komórek [97]. Można przypuszczać, że usunięcie PGE_2 ułatwia biosyntezy leukotrienów, prawdopodobnie przez odblokowanie mechanizmów hamujących ich syntezę [126, 127, 130]. Dzięki swoim właściwościom PGE_2 chroni oskrzela przed skurczem indukowanym aspiryną [92, 115, 131].

Pewnym przełomem w zrozumieniu mechanizmu działania aspiryny było odkrycie dwóch izoform cyklooksygenazy: COX-1 i COX-2, kodowanych przez dwa różne geny [117, 118], COX-1 (postać konstytutywna) syntetyzowana jest w wielu tkankach oraz komórkach, prawdopodobnie odpowiada za fizjologiczną produkcję prostaglandyn. W stanie zapalnym dochodzi pod wpływem cytokin oraz czynników wzrostu do indukcji swoistego genu dla syntezy COX-2 (postać indukowana) w jądrze komórkowym, a w konsekwencji do pojawienia się prozapalnych prostaglandyn [118]. NSLPZ wykazują różną siłę działania w stosunku do poszczególnych izoform COX, wśród których aspiryna blokuje nieodwracalnie COX-1 poprzez acetylację seryny. W rezultacie u chorych na astm aspirynow dochodzi najprawdopodobniej do zablokowania syntezy PGE_2 i zniesienia jej hamującego wpływu na biosyntezy leukotrienów cysteinylowych (cys-LT) [126].

Kowalski i wsp. zaobserwowali, że komórki nabłonka z usuniętych chirurgicznie polipów nosa chorych na AIA produkują mniej PGE_2 niż komórki chorych na astm oskrzelową dobrze tolerującą aspirynę [57]. Leukocyty krwi obwodowej chorych na astm aspirynową generują więcej 15-HETE (kwas 15-hydroksyeikozatetraenowy) pod wpływem aspiryny, a mizoprostol (syntetyczny analog PGE_i) hamuje to uwalnianie [58].

Leukotrieny cysteinylowe to mieszanina pochodnych epoksydu kwasu arachidonowego sprężyniętych z glutationem przez resztę siarkową cysteiny. Należy do nich LTC_4 , z którego po hydrolizie ostatniego aminokwasu - glutaminy - powstaje LTD_4 , a następnie po odszczepieniu glicyny - LTE_4 . Prekursorem cys-LT jest LTA_4 , produkt pośredni kwasu arachidonowego utlenionego przez enzym 5-lipoksygenazę (rys. 1). LTA_4 jest sprężynięty z glutationem przez specyficzny enzym zwany syntazą leukotrienu C_4 (LTC_4S), którego ekspresja ograniczona jest do kilku typów komórek, tj. mastocytów, eozynofili, makrofagów, płytek krwi i komórek nabłonka oddechowego oraz ródźbłonki naczyniowej. Zaobserwowano związek ekspresji syntazy LTC_4 w eozynofiliach obecnych w wycinkach z błony śluzowej oskrzeli chorych na astm aspirynową [16,103].

Cys-LT wiąże się ze swoistymi receptorami leukotrienowymi: CysLT1 i CysLT2 [42, 65], wywołując skurcz oskrzeli, wzrost wydzielania śluzu w drogach oddechowych oraz rozszerzenie i wzrost przepuszczalności naczyń, a także pobudzenie migracji eozynofili [84, 109].

Spośród mediatorów odpowiedzialnych za objawy kliniczne nadwrażliwości na aspirynę najważniejszą rolę przypisuje się właśnie cys-LT. Chorych na astm aspirynową - w porównaniu z chorymi na astm oskrzelową dobrze tolerującą aspirynę oraz z osobami zdrowymi - charakteryzuje zwiększona podstawowa produkcja cys-LT [14, 15, 61,78, 120]. Co więcej, obserwuje się zwiększone ich wydalanie z moczem po prowokacji aspiryną [14, 15, 61, 87], jak również po miejscowym podaniu aspiryny lizynowej na błonę śluzową oskrzeli [83]. Ostatnio wykazano, że również w kondensacie powietrza wydechowego u chorych na AIA podstawowe stężenie cys-LT jest większe niż u chorych na astm dobrze tolerującą aspirynę [2].

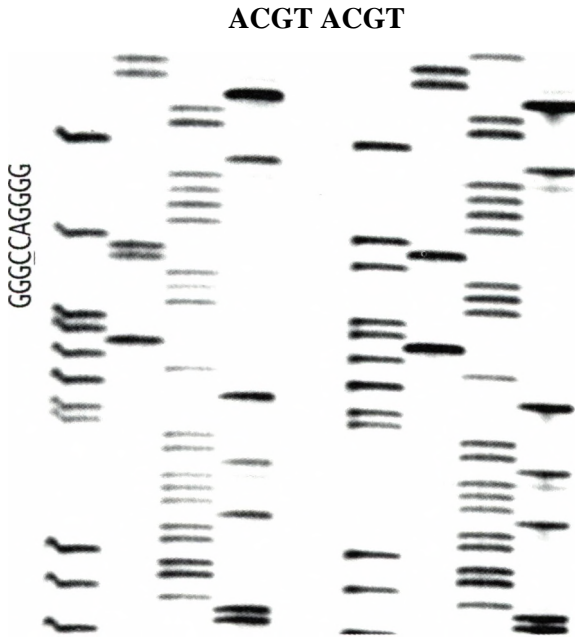
Istnieją przesłanki zarówno do wiadczalnej, jak i klinicznej, aby sądzić, że cys-LT oprócz znanego działania bronchospastycznego mogą również partycypować w rozwoju niedokrwienia mięśnia sercowego [43, 136, 151].

Mediatorami modyfikującymi procesy zapalenia, zależne od cys-LT, są **lipoksyny**. Powstają one wskutek sekwencyjnego utlenienia kwasu arachidonowego przez dwie lipoksygenazy (5-, 12- lub 15-lipoksygenazy). Lipoksyny są specyficznymi antagonistami czynnościowymi cys-LTs. Fenotyp astmy aspirynowej charakteryzuje zmniejszona biosynteza lipoksyn przez eozynofile krwi obwodowej i przez stymulowaną krew pełną w porównaniu z chorymi na astm dobrze tolerującą aspirynę [106, 107].

Zmienne genetyczne białek zaangażowanych w biosyntezę eikozanoidów

Zmienne genetyczne dwóch spośród białek zaangażowanych w biosyntezę eikozanoidów na szlaku 5-LO wzbudziła szczególne zainteresowanie. W obrębie genu 5-LO stwierdzono polimorfizm regionu promotorowego, który polega na różnej liczbie powtórzeń 6-nukleotydowej sekwencji wiązanej z czynnikiem transkrypcyjnym SP-1 [21]. Polimorfizm ten nie wykazuje związku z astmą, lecz miałby się przyczyniać do szybszego rozwoju miażdżycy [24]. Inny dialleliczny polimorfizm ($4_{44}\text{A}/_{444}\text{C}$) genu syntazy LTC_4

(rys. 2) jest spowodowany zmianą pojedynczego nukleotydu, znajdującego się w odległości 444 zasad przed miejscem startu translacji [106, 110]. Transwersja adeniny do cytozyny powoduje zmianę powinowactwa tego regionu promotorowego do czynników transkrypcyjnych i umiarkowany wzrost ekspresji enzymu u nosicieli allelu .444C.



Bibl. Jag.

Rys. 2. Porównanie sekwencji wariantu allelicznego -444C z częściej występującym allelem -444A genu LTC4S. Autoradiogram elu, na którym rozdzielono produkty sekwencjonowania metodą terminacji dideoksynukleotydu według M. Sanaka. Rysunek zamieszczono za zgodą autora ze 106. pozycji piśmiennictwa

Wykazano asocjacje genetyczne między nosicielstwem allelu .444C genu LTC4S a ciężkimi, steroidozależnymi astmami aspirynowymi. Nie ma natomiast takiego związku w łagodnie przebiegającej postaci astmy aspirynowej [106]. Badania Sayersa i wsp. wskazują na związek między nosicielstwem allelu .444C genu LTC4S a niższymi wartościami FEV₁ u chorych na astmę [113]. Opisano również umiarkowany wzrost ekspresji mRNA dla LTC4S u nosicieli allelu -444c [108]. Ponadto w grupie AIA nosiciele allelu .444C genu LTC4S wydalały więcej LTE₄ z moczem po testie prowokacyjnym z aspiryną [108]. W badaniach amerykańskich dotyczących polimorfizmu genu LTC4S chorych na astmę Van Sambeek i wsp. nie stwierdzili związku z chorobą z allele .444C genu LTC4S wśród 61 chorych na astmę aspirynową [147]. Człowiek allelicznie odbiegał jednak od wartości oczekiwanych, wyliczonych na podstawie prawa Hardy'ego i Weinberga [111]. W badaniu tym nie analizowano również cech klinicznych astmy, nie dokonywano więc porównania między stopniem ciężkości choroby a częstotliwością nosicielstwa allelu .444C genu w tej populacji.

Pokrzywkowo-obrzękowa postać nadwrażliwości na aspirynę

Obraz kliniczny i patomechanizm pokrzywki aspirynowej

Aspiryna oraz inne NSLPZ mogą wywoływać wysiew blizn pokrzywkowych zlokalizowanych głównie na twarzy, owłosionej skórze głowy, szyi i górnej części klatki piersiowej, często połączony z obrzękiem naczyń ruchomym. Ten charakterystyczny typ pokrzywki (*aspirin-induced urticaria* — AIU) nazywany jest pokrzywkowo-obrzękową formą nadwrażliwości na aspirynę lub potocznie pokrzywką aspirynową. Występuje zwykle między 20. a 50. rokiem życia, częściej u kobiet. Pojawia się najczęściej po upływie 15-120 minut od momentu przyjęcia aspiryny, a niekiedy nawet dopiero po kilku godzinach. Objawy utrzymują się zwykle około godziny, a czasami nawet kilka dni [36, 39, 116]. Skórna postać nadwrażliwości na aspirynę występuje u około 0,3% ogólnej populacji, a aspiryna zajmuje pierwsze miejsce wśród innych NSLPZ odpowiedzialnych za wywołanie pokrzywki [124]. Niektóre dodatki do żywności mogą wywoływać lub nasilać pokrzywkę aspirynową [100]. Do najważniejszych należą: rodki smakowe, konserwanty oraz barwniki azowe.

Około 20-40% chorych z przewlekłą pokrzywką idiopatyczną (*chronic idiopathic urticaria* - CIU) miewa wysiew blizn po przyjęciu aspiryny lub innych NSLPZ [36, 124]. Ten typ pokrzywki ma szczególnie uporczywy charakter, wielu chorych cierpi na spontaniczne lub prowokowane przez NSLPZ zmiany skórne, które są trudne do leczenia i utrzymują się latami [39, 47, 148].

Opisano pojedyncze przypadki rodzinnego występowania pokrzywki aspirynowej [82] oraz współistnienia oskrzelowej i skórnej postaci nadwrażliwości na aspirynę [39, 79]. Istnieją różne odmiany pokrzywki aspirynowej. Bardzo rzadko występuje postać pokrzywki, w której zmiany skórne i/lub obrzęk naczyń ruchomy pojawiają się wyłącznie po przyjęciu aspiryny lub innych NSLPZ. Reakcja ta ma gwałtowny przebieg, często zagrażający życiu [36, 53, 124]. Drugą odmianą to przewlekła pokrzywka indukowana lub nasilana przez aspirynę, w której zmiany pojawiają się nie tylko po NSLPZ, ale także spontanicznie, niezależnie od nich [124].

Nadwrażliwość na aspirynę (w tym postać skórna), według wytycznych Europejskiej Akademii Alergologii i Immunologii Klinicznej z 2001 roku, zaliczana jest do niealergicznego nadwrażliwości na aspirynę [49].

Patomechanizm pokrzywki aspirynowej jest ciągle niejasny. Od wielu lat ukazują się prace, w których sugeruje się podobny mechanizm skórnej i oskrzelowej postaci nadwrażliwości na aspirynę [35, 36]. Jednak do tej pory nie opublikowano przekonujących badań, które mogłyby potwierdzić te hipotezy.

Przeprowadzone do tej pory badania nie potwierdziły podłoża immunologicznego związanego z IgE w patogenezie przewlekłej pokrzywki aspirynowej [59, 149]. Ta postać nadwrażliwości na aspirynę nie wiąże się również z niedoborem inhibitora dla CI esterazy w surowicy [40]. Sugeruje się natomiast aktywację skórnych komórek tucznych, a dowodem na to ma być wzrost aktywności chemotaktycznej neutrofilów w surowicy (wskaźnik degranulacji komórki tucznej) w czasie pokrzywki wywołanej aspiryną [37, 38].

Pierwsze obserwacje dotyczące bezpieczeństwa stosowania koksylbów u chorych na pokrzywkę aspirynową były obiecujące [25, 96, 112]. W większej liczbie jednak zostały

przeprowadzone u chorych, u których nadwrażliwość nie była potwierdzona testem prowokacyjnym z aspiryną. Ostatnie badania wykonane na doświadczonej grupie chorych na pokrzywkę aspirynową, potwierdzone testem prowokacyjnym z aspiryną, przeprowadzone metodą podwójnie ślepej próby z użyciem placebo, wykazały bezpieczeństwo stosowania koksycybów w tej grupie chorych. Jednak do wyników tych należy podchodzić z dużą ostrożnością, ponieważ niektórzy klinicycy sugerują sporadyczne występowanie pokrzywki po doustnym podaniu selektywnych inhibitorów COX-2. W badaniach tych nie obserwowano wzrostu stężenia LTE_4 w moczu po prowokacji rofekoksycybem i celekoksycybem, natomiast wydalanie tego eikozanoidu z moczem wzrastało po prowokacji aspiryną [155]. Zwiększone wydalanie cys-LT z moczem obserwowano również w innych chorobach skóry, między innymi w zaostrzeniach atopowego zapalenia skóry [1].

Nie badano jeszcze wpływu polimorfizmu genetycznego enzymów biorących udział w przemianach kwasu arachidonowego na wystąpienie reakcji skórnej po aspirynie u chorych z przewlekłą pokrzywką idiopatyczną. Torres-Galvan i wsp. badali natomiast polimorfizm genetyczny syntazy LTC_4 u 58 chorych z obrzękiem naczyńioruchowym okolicy oczodołowej indukowanym aspiryną. W grupie tej nie wykazano związku między wystąpieniem obrzęku naczyńioruchowego a obecnością pozytywnego allelu $-444C$ [144].

Patogeneza przewlekłej pokrzywki idiopatycznej

Przewlekłą pokrzywkę idiopatyczną można rozpoznać na podstawie wysiewu blaszek pokrzywkowych, z towarzyszącym niekiedy obrzękiem naczyńioruchowym i widocznymi zmianami skóry, utrzymującym się codziennie przez okres co najmniej 6 tygodni [9, 50, 51]. U niektórych chorych na przewlekłą pokrzywkę idiopatyczną aspiryna indukuje lub nasila zmiany skórne.

Patogeneza przewlekłej pokrzywki idiopatycznej pozostaje nadal niejasna [34]. Za pomocą dodatniego testu ródkórnego z własną surowicą Grattan i wsp. (w 1986 r.) wykazali istnienie „czynnika” odpowiedzialnego za degranulację mastocytów skórnych i uwalnianie histaminy [32]. Kilka lat później badacze brytyjscy pod kierunkiem Greavesa zidentyfikowali „czynniki” wywołujące dodatnie odczyny skórne jako auto-przeciwciała klasy IgG [44].

U niektórych chorych istnieją dowody na autoimmunologiczne tło tej choroby [6, 27, 28, 33, 44, 54, 86, 101]. U około 30-50% chorych z tymi odmianami pokrzywki obecne są auto-przeciwciała klasy IgG przeciwko podjednostce α receptora dla IgE o wysokim powinowactwie (FceR1a) na mastocytach lub rzadziej przeciwciała klasy IgG przeciwko samej IgE [28, 86, 101]. Ich obecność można zwykle potwierdzić *in vivo* testem autologicznym ródkórnym z własną surowicą (*autologous serum skin test* - ASST); czułość testu wynosi około 69%, specyficzność około 71% [102]. Co ciekawe, również u niektórych chorych z przewlekłą pokrzywką indukowaną aspiryną stwierdzono dodatnie testy ródkórne z własną surowicą [5]. Jednak ich związek z obecnością tego rodzaju auto-przeciwciał nie jest jasny.

Różne formy nadwrażliwości na aspiryn

Pokrzywka jest obok astmy aspirynowej najwastniejszą formą nadwrażliwości na aspiryn. Ich współistnienie jest możliwe, jednak nie jest częste. Obok pokrzywki i astmy aspirynowej wyróżniają się także inne formy nadwrażliwości na aspiryn (tab. 2) [122],

Tabela 2

Klasyfikacja reakcji na aspiryn i inne NSLPZ (wg 122. pozycji pi miennictwa)

Opis reakcji	Manifestacja kliniczna choroby podstawowej	Reakcje krzyżowe	Terminologia
nieżyt błony śluzowej nosa i astma indukowane przez NSLPZ	astma/polipy nosa/zapalenie zatok	obecne	nietolerancja nadwrażliwości objawy indukowane aspiryn
pokrzywka/obrzęk naczynioruchowy indukowane przez NSLPZ	przewlekła pokrzywka idiopatyczna	obecne	ostra/przewlekła pokrzywka obrzęk naczynioruchowy
pokrzywka/obrzęk naczynioruchowy indukowane przez jeden lek	0	brak	ostra pokrzywka/obrzęk naczynioruchowy
pokrzywka/obrzęk naczynioruchowy indukowane przez wiele leków	0	obecne	ostra pokrzywka
reakcja anafilaktyczna indukowana przez jeden lek	0	brak	reakcja anafilaktyczna
mieszane reakcje indukowane przez jeden lub wiele NSLPZ	astma/nieżyt błony śluzowej nosa pokrzywka lub brak	brak/obecne	astma i pokrzywka

ZAŁOŻENIA I CEL PRACY

U niektórych chorych na przewlekłą pokrzywkę idiopatyczną występują objawy nadwrażliwości na aspirynę i inne NSLPZ hamujące cyklooksygenazę [36, 124]. W celu bliższego poznania patomechanizmów skórnej postaci nadwrażliwości na aspirynę postanowiono prześledzić zarówno zaburzenia przemiany eikozanoidów szlaku cyklooksygenazy, jak i 5-lipoksygenazy, w oskrzelowej i skórnej postaci nadwrażliwości na aspirynę. Ponadto starano się przybliżyć odpowiedź na pytanie o udział komórek tucznych w skórnej postaci nadwrażliwości na aspirynę.

Zasadnicze pytanie, na które szukano odpowiedzi, było następujące:

Czy istnieje wspólny mechanizm, na drodze którego NSLPZ wywołują reakcje nadwrażliwości, manifestujące się bądź to jako astma oskrzelowa, bądź pokrzywka?

Celem przeprowadzonych badań było uzyskanie odpowiedzi na następujące pytania:

1. Czy chorych z pokrzywką aspirynową charakteryzuje podobna nadprodukcja leukotrienów cysteinylowych jak chorych na astmę aspirynową?
2. Czy stężenie trwałego metabolitu PGD_2 (9a, 11 ($3PGF_2$)) w surowicy jest podobne po prowokacji aspiryną w obu postaciach nadwrażliwości na aspirynę?
3. Jakie jest podstawowe stężenie tryptazy w surowicy u chorych na pokrzywkę aspirynową w porównaniu z chorymi na przewlekłą pokrzywkę idiopatyczną dobrze tolerującymi aspirynę?
4. Czy istnieje asocjacja genetyczna pomiędzy nosicielstwem allelu .444C syntazy leukotrienu C_4 a skórnej postaci nadwrażliwości na aspirynę?

Uzasadnienie podjęcia decyzji badania polimorfizmu genetycznego syntazy LTC_4 w pokrzywce aspirynowej było następujące: 1) biosynteza leukotrienów cysteinylowych kontrolowana jest przez LTC_4S [63, 64], 2) w czasie napadów astmy indukowanych aspiryną obserwuje się wzrost wydalania leukotrienów cysteinylowych z moczem [14, 15, 61, 87, 129], 3) w polskiej populacji czysto wariantu allelicznego .444C genu LTC_4S jest zwiększona w ciężkiej postaci astmy aspirynowej [106].

MATERIAŁ I METODY

Zasady kwalifikacji chorych do badania

Na 4 tygodnie przed rozpoczęciem właściwych badań spośród chorych na przewlekłą pokrzywkę idiopatyczną wybrano tych, którzy byli w okresie remisji choroby, tzn. nie mieli żadnych objawów skórnych, natomiast mogli przyjmować leki. Wszyscy chorzy podawali w wywiadach występowanie pokrzywki po zażyciu aspiryny lub innych NSLPZ, jednak nigdy nie wykonywano u nich testów prowokacyjnych z aspiryną. Grupa ta liczyła 80 osób. Spośród 80 chorych na przewlekłą pokrzywkę idiopatyczną 46 nie zażywało żadnych leków, 21 przyjmowało doustne antyhistaminiki, 13 - doustne leki antyleukotrienowe.

Po 2 tygodniach obserwacji chorym odstawiono wszystkie leki i włączano diety eliminacyjne, pozbawione naturalnych salicylanów i substancji zdolnych do wywołania z nimi reakcji krzyżowych [100],

U 6 chorych po odstawieniu leków antyhistaminowych i włączeniu diety eliminacyjnej występowała pokrzywka. Osoby te nie wzięły udziału w dalszych badaniach.

Przed przystąpieniem do właściwych badań u wszystkich chorych wykluczono inne przyczyny przewlekłej pokrzywki zgodnie z obowiązującymi wytycznymi [50],

Osoby badane

Badanie zostało przeprowadzone u 74 chorych (55 kobiet i 19 mężczyzn, w wieku 32-51 lat, średnia wieku 44,5 roku) na przewlekłą pokrzywkę idiopatyczną. Wszyscy chorzy podawali w wywiadzie występowanie zmian skórnych po zażyciu aspiryny lub innych NSLPZ, bez objawów astmy, polipów nosa czy reakcji anafilaktycznej. Czas trwania choroby wynosił od 6 miesięcy do 6 lat, średnio 2 lata.

Rozpoznanie przewlekłej pokrzywki idiopatycznej ustalono na podstawie występowania pokrzywki, z towarzyszącym niekiedy obrzękiem naczyń nerzuchowym, codziennie - przez okres co najmniej 6 tygodni [9, 50, 51],

Grupę kontrolną stanowiło 48 zdrowych ochotników (35 kobiet, 13 mężczyzn, w wieku 30-48 lat, średnia wieku 43 lata), rekrutujących się spośród pracowników

II Katedry Chorób Wewnętrznych CM UJ w Krakowie. Były to osoby bez dodatniego wywiadu w kierunku pokrzywki, astmy czy chorób atopowych. Rutynowe badania lekarskie nie wykazały u nich odchyleń od normy. Grupa ta służyła do porównania podstawowego wydalania LTE_4 z moczem oraz podstawowego stężenia $9\alpha,\text{lipPGF}_2$ i tryptazy w surowicy. Przez przynajmniej 14 dni przed rozpoczęciem badania zdrowi nie przyjmowali żadnych leków, w tym również aspiryny i innych NSLPZ hamujących cyklooksygenazę.

Wszystkie osoby, które brały udział w badaniach, wyraziły pisemnie, wiadomo zgodę na badania i zapoznały się z ich celem i założeniami. Projekt badania został zatwierdzony przez Komisję Bioetyczną Uniwersytetu Jagiellońskiego; nr zgody: KBET/240/B/2002 i KBET/41 I/B/2003.

Metody badania

Badanie przeprowadzono metodą pojedynczo lepej próby z użyciem placebo. Doustny test prowokacyjny z aspiryną wykonano w czasie 2 kolejnych dni. W pierwszym dniu badania chorzy otrzymywali doustnie 3 kapsułki placebo co godzinę. W drugim dniu badania podawano im doustnie aspirynę we wzrastających dawkach 71, 117 i 312 mg, również co godzinę. Prowokację aspiryną przerywano w chwili, gdy wystąpiły jakiegokolwiek objawy ze strony skóry i/lub innych narządów (skurcz oskrzeli, wydzielina z nosa, łzawienie) lub w godzinę po podaniu maksymalnej przewidzianej dla testu dawki aspiryny (dawka kumulacyjna 500 mg).

Pomiary wartości FEV₁ oraz nasilenie zmian skórnych mierzono wyjściowo tuż przed rozpoczęciem testu prowokacyjnego z aspiryną (wartość podstawowa), a następnie co 30 minut w czasie testu i przez 6 godzin od momentu zakończenia próby z aspiryną czy placebo.

U chorych z dodatnią reakcją skórą na aspirynę pobrano mocz na oznaczenie LTE_4 przed rozpoczęciem testu prowokacyjnego z aspiryną (wartość podstawowa), w czasie wystąpienia pierwszych objawów ze strony skóry i/lub innych narządów (czas 0), a następnie w 2. i 4. godzinie po wystąpieniu reakcji klinicznej. U chorych z ujemnym testem prowokacyjnym z aspiryną, u których nie wystąpiły żadne objawy kliniczne w godzinę po ostatniej dawce aspiryny, mocz zbierany był na początku badania, w godzinę po ostatniej dawce aspiryny (czas 0) oraz w 2 i 4 godziny później.

Próbki krwi do oznaczenia stężenia trwałego metabolitu PGD_2 ($9\alpha, 11\text{PPGF}_2$) były pobierane przed rozpoczęciem testu prowokacyjnego z aspiryną (wartość podstawowa), w czasie wystąpienia objawów skórnych (czas 0) i po 60, 120 oraz 240 minutach od wystąpienia reakcji klinicznej. U chorych, u których nie obserwowano objawów ze strony skóry, próbki krwi pobierano przed rozpoczęciem testu prowokacyjnego z aspiryną (wartość podstawowa), w godzinę po ostatniej dawce aspiryny (czas 0), a następnie po 60, 120 i 240 minut później.

U 36 chorych (18 z wynikiem dodatnim i 18 z wynikiem ujemnym testu z aspiryną) i 48 zdrowych ochotników oznaczono podstawowe stężenie tryptazy w surowicy.

Natomiast próbki krwi do izolacji DNA pobrano u 71 chorych (29 reagujących pozytywnie i 42 reagujących negatywnie na doustną prowokację z aspiryną). Trzech chorych nie wyraziło zgody na badania genetyczne.

Wszystkim chorym wykonano testy skórne: 1) z aspiryną lizynową, 2) z własną surowicą.

Doustny test prowokacyjny z aspiryną

Test doustny z aspiryną przeprowadzono według zmodyfikowanej metody opisanej przez Ni ankowską i wsp. za pomocą pojedynczo lepej próby z użyciem placebo, w ciągu 2 kolejnych dni [87]. W pierwszym dniu badania chorzy otrzymywali doustnie placebo, 3 kapsułki co godzinę. W drugim dniu badania poszczególne wzrastające dawki aspiryny 71, 117 i 312 mg (do osiągnięcia kumulacyjnej dawki 500 mg) podawane były podobnie jak placebo, również co godzinę (tab. 3). Aspiryna i placebo miały postać identycznych kapsułek.

Próba doustna z aspiryną była wykonywana tylko u tych chorych, którzy nie mieli żadnych objawów skórnych i aktualne FEV₁ > 80% w stosunku do wartości należącej. FEV₁ mierzono, a objawy ze strony skóry oceniano co 30 minut w czasie trwania testów i przez 6 godzin po ich zakończeniu. Prowokację przerywano w chwili wystąpienia jakichkolwiek objawów ze strony skóry i/lub innych narządów (np. duszność, nieżyt nosa, łzawienie), a także gdy FEV₁ obniżyło się o 20% lub więcej w stosunku do wartości wyjściowej (próba dodatnia). Dawki kumulacyjnej aspiryny, która powodowała odpowiedź ze strony skóry w postaci pokrzywki, wykorzystano do dalszych obliczeń statystycznych jako tzw. dawki prowokacyjnej aspiryny. Natomiast w przypadku osób, które nie miały żadnych reakcji ze strony narządów w godzinę po podaniu ostatniej dawki aspiryny przewidzianej w teście (500 mg), próbę uznawano za ujemną.

Tabela 3

Zmodyfikowana metoda doustnego testu prowokacyjnego z aspiryną

Godzina	1. dzień	2. dzień dawka aspiryny (mg)	Dawka kumulacyjna aspiryny (mg)
9.00	placebo	71	71
10.00	placebo	117	188
11.00	placebo	312	500

Ocena stopnia i kierunku zmian skórnych

Zmiany skórne oceniano na podstawie zmodyfikowanej skali PASI (*Psoriasis Area and Severity Index*), w której zsumowanie zastąpiło przez wid (tab. 4) [29]. Stopień nasilenia widu, rumienia i białka oceniano w skali 0-4, natomiast powierzchnię zaję-

tej skóry - w skali 0-6. Zgodnie z zasadami skali PASI wymienione objawy odnoszono do poszczególnych części ciała: głowy, tułowia, kończyn górnych i dolnych, a następnie mnożono przez współczynnik powierzchni. Wskaźnik równy 10 lub przekraczający tę wartość ($PASI > 10$) przyjęto jako duży (ciężki) stopień nasilenia zmian skórnych.

Tabela 4

Schemat zmodyfikowanej skali PASI [29]

Punktacja	Stopień nasilenia						
	0	1	2	3	4	5	6
wid	brak	nieznaczny	umiarkowany	ciężki	bardzo ciężki	—	—
rumień	brak	nieznaczny	umiarkowany	ciężki	bardzo ciężki	-	-
ból	brak	nieznaczny	umiarkowany	ciężki	bardzo ciężki	—	-
powierzchnia (%)	0	<10	10-30	30-50	50-70	70-90	90-100

Głowa (G)**Tułów (T)**

<p>punktacja</p> <p>wid</p> <p>rumień</p> <p>ból</p> <p>suma</p> <p>x powierzchnia</p> <p>=</p> <p>x0,1 =</p>	<p>punktacja</p> <p>wid</p> <p>rumień</p> <p>ból</p> <p>suma</p> <p>x powierzchnia</p> <p>=</p> <p>x0,3 =</p>
--	--

Kończyny dolne (KD)**Kończyny górne (KG)**

<p>punktacja</p> <p>wid</p> <p>rumień</p> <p>ból</p> <p>suma</p> <p>x powierzchnia</p> <p>=</p> <p>x0,2 =</p>	<p>punktacja</p> <p>wid</p> <p>rumień</p> <p>ból</p> <p>suma</p> <p>x powierzchnia</p> <p>=</p> <p>x0,4 =</p>
--	--

wskaźnik ciężkości = $/G/OD + /T/DCJD + /KG/DDD + /KD/DDD =$

zakres wartości: 0,00-72,00 (0,00 - bez zmian skórnych)

Pomiar natężenia objętościowego wydechowej pierwszosekundowej (FEV1)

Pomiary FEV₁ wykonano spirometrem komputerowym - pneumotachografem (Pneumoscreen, E. Jaeger, Niemcy). Wartości należne FEV₁ dla poszczególnych badanych obliczono, uwzględniając ich płeć, wiek i wzrost z nomogramów opracowanych na spotkaniu roboczym Europejskiej Wspólnoty Węgla i Stali i opublikowanych w czasopiśmie „Bulletin Européen de Physiopathologie Respiratoire” (1983, 19, supl. 5).

Oznaczenie stężenia LTE₄ w moczu

Pierwsza próbka moczu do oznaczenia LTE₄ (wartość podstawowa) pochodziła z 2-godzinnej zbiórki moczu. Chorzy oddawali mocz o tej samej godzinie rano w celu uniknięcia ewentualnego wpływu pory dnia na badany parametr. Kolejna próbka moczu (czas 0) została pobrana w chwili wystąpienia reakcji skórnej, a w przypadku braku reakcji na aspiryn - w godzinę po ostatniej dawce aspiryny. Następne próbki pochodziły z 2-godzinnej zbiórki moczu, prowadzonej przez 4 godziny od momentu zakończenia testu prowokacyjnego. Mocz był odwirowywany przy obrotach 1000 x g przez 10 minut w temperaturze +4°C. Po odwirowaniu supernatant przechowywano w temperaturze -80°C. Stężenie LTE₄ oznaczano techniką immunoenzymatyczną ELISA (zestaw firmy Cayman Chemical, Ann Arbor, Mich, USA) [62].

Stężenie LTE₄ w moczu zostało wyrażone w pikogramach na miligram kreatyniny (pg/mg kreatyniny).

Oznaczenie stężenia trwałego metabolitu PGD₂ (9a,11PPGF₂) w surowicy

Stężenie 9a,lipPGF₂ w surowicy było oznaczone metodą chromatografii gazowej i spektrometrii mas, techniką ujemnej jonizacji chemicznej (GC-NICI-MS, Hewlett Packard, Palo Alto, CA, USA). Po ekstrakcji próbki przy użyciu Sep-Paka Cis i derywatywacji 9a,lipPGF₂ do pentafluorobenzylowego estru próbek oczyszczano metodą chromatografii cienkowarstwowej (TLC). Oczyszczona substancja ulegała derywatywacji do trimetylosililowego eteru. Tak przygotowana próbka była następnie analizowana za pomocą chromatografii gazowej i spektrometrii mas [88].

Oznaczenie stężenia tryptazy w surowicy

Stężenie tryptazy w surowicy było oznaczone metodą immunofluorescencji enzymatycznej (Uni-CAP 100 Tryptase system; Pharmacia Upjohn Diagnostics, Uppsala, Szwecja) i zostało wyrażone w mikrogramach na litr (pg/l).

Genotypowanie polimorfizmu genu syntazy LTC₄

Polimorfizm pojedynczego nukleotydu (*single nucleotide polymorphism* - SNP) syntazy LTC₄ znajdujący się w odległości 444 zasad przed miejscem startu translacji genotypowano w sposób opisany przez Sanaka [106, 110],

Test skórny z aspiryn

Test wykonano według własnej modyfikacji, używając aspiryny lizynowej (Aspi-sol; Bayer AG, Leverkusen, Niemcy). W testach punktowych typu „prick” stosowano następujące stężenia kwasu acetylosalicylowego: 0,001%; 0,01%; 0,1%; 1,0%. Jeśli reakcja ze strony skóry była ujemna, wówczas podawano kwas acetylosalicylowy różdkórnice we wzrastających stężeniach: 0,0001%; 0,001%; 0,01%; 0,1%. Równocześnie wykonano kontrolę z solą fizjologiczną i histaminą.

Test różdkórny z własną surowicą (autologiczny)

Test autologiczny wykonano metodą opracowaną przez Greavesa [33]. Chorym pobierano 5 ml krwi żyłnej, którą pozostawiano przez 30 minut w temperaturze pokojowej. Następnie próbkę krwi wirowano przez 15 minut z prędkością 3000 obrotów na minutę. Własną surowicę chorego w ilości 0,05 ml natychmiast po odwirowaniu wstrzykiwano różdkórnice w wyprostną powierzchnię przedramienia. Równocześnie nie wykonywano kontroli ujemnej, wstrzykując różdkórnice 0,05 ml soli fizjologicznej. Dodatkowo wykonano test punktowy z histaminą. Rednicę błędną oceniano po 15, 30 i 60 minutach. Za dodatni wynik testu uznawano rednicę błędną powstałą w miejscu wstrzyknięcia surowicy w odległości 1,5 mm od rednicy błędną powstałą w miejscu wstrzyknięcia soli fizjologicznej.

Opracowanie statystyczne

Analizę statystyczną przeprowadzono za pomocą programu Statistica™ 5.5 PL firmy StatSoft. Charakterystykę opisów badanych grup oparto na statystykach porządkowych: medianie jako miarę tendencji centralnej oraz dolnego i górnego kwartyla, których odległość jest porządkową miarą rozrzutu.

Wpływ zmiennych jakościowych (czynników) i ilościowych (zmiennych towarzyszących) z uwzględnieniem ich interakcji na zmienną ilościową (odpowiedź) w warunkach

kach eksperymentu kontrolowanego badano za pomoc ogólnego modelu liniowego GLM (General Linear Model) obejmujcego jako przypadki, szczególnie analiz wariacji (ANOVA) i analiz kowariancji (ANCOVA).

Kluczowe w tej analizie zało enie jednorodno ci wariacji w grupach weryfikowano testem Bartletta. W przypadku niejednorodno ci wariacji dokonywano transformacji logarytmicznej stabilizuj cej wariancj .

Do porówna wielokrotnych u yto testu *post hoc* Tukeya, a dla grup o ró nej liczebno ci - wariantu Spjotvolla-Stoline'a. Zwi zki pomi dzy zmiennymi jako ciowymi badano za pomoc testu χ^2 Pearsona. Dla zmiennych dychotomicznych u yto ponadto testu dokładnego Fishera. Poziom istotno ci testów ustalono jako $\alpha = 0,05$.

WYNIKI

Reakcja kliniczna na doustną prowokację aspiryn

U żadnego z 74 chorych nie obserwowano objawów klinicznych zarówno ze strony skóry, jak i innych narządów podczas prowokacji placebo. Spośród wszystkich chorych, u których wykonano doustny test prowokacyjny z aspiryną 30 osób (40,5%) zareagowało dodatnio, tzn. wystąpiła u nich pokrzywka i/lub obrzęk naczyń ruchomych. Pozwoliło to podzielić wszystkich chorych na dwie grupy: 1) z dodatnim wynikiem testu prowokacyjnego z aspiryną tj. z pokrzywką aspirynową oraz 2) z ujemnym wynikiem testu prowokacyjnego z aspiryną. Nie było różnic istotnych statystycznie co do płci, wieku, czasu trwania pokrzywki i atopii między chorymi, którzy zareagowali dodatnio na aspirynę (n = 30), a chorymi, u których nie wystąpiła żadna reakcja kliniczna (n = 44) (tab. 5).

Tabela 5

Charakterystyka badanych grup (mediana 25-75%)

	Chorzy		Zdrowi (n = 48)
	Dodatnia próba aspirynowa (n = 30)	Ujemna próba aspirynowa (n = 44)	
płeć (kobieta/mężczyzna)	23/7	32/12	35/13
wiek (lata)	48 (34-52)	42 (28-49)	43 (30-48)
całkowite IgE w surowicy (IU/ml)	132,5 (64,6-233)	93,0(31,4-324,5)	-
czas trwania pokrzywki (lata)	2 (1-5)	2 (0,5-6)	-
stężenie LTE ⁴ w moczu (pg/mg kreatyniny)	535,5 (270,0-1026)	285,5 (178,0-390,0)	110,0 (58,0-152,0)
stężenie 9α,11-PPGF ₂ w surowicy (pg/ml)	4,85 (3,80-6,10)	4,25 (3,05-6,04)	4,55 (2,9-6,0)
stężenie tryptazy w surowicy (pg/ι)	7,8 (6,13-10,9) (n = 18)	4,98 (1,97-7,65) (n = 18)	4,47 (3,51-5,65)

Objawy ze strony skóry w grupie AIU wystąpiły po podaniu 71 mg aspiryny u 1 chorego, u 9 chorych po otrzymaniu 188 mg, a u pozostałych 20 chorych po podaniu całkowitej dawki kumulacyjnej aspiryny, tj. 500 mg. Dużym stopniem nasilenia zmian skórnych PASI > 10 obserwowano u 11 chorych na pokrzywkę aspirynową u pozostałych 19 osób zmiany skórne oceniono w skali PASI jako lekkie lub średnie (PASI < 10).

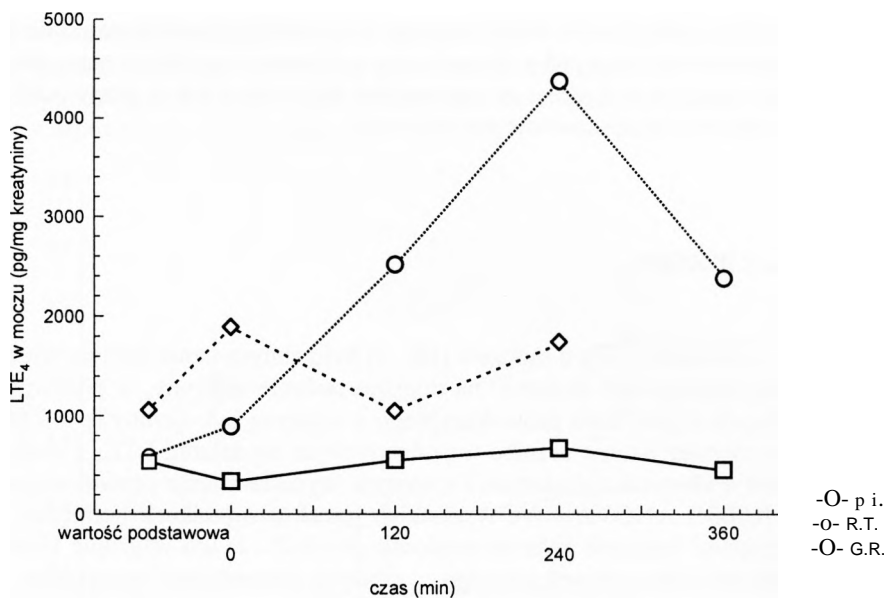
Na zdjęciu (rys. 3) przedstawiono 27-letniego mężczyznę (D.G.), u którego wystąpiła pokrzywka po prowokacji aspiryn. Pokrzywka została potwierdzona w badaniu histopatologicznym skóry [154]. Dawka prowokacyjna aspiryny u tego chorego wyniosła 188 mg. Maksymalne nasilenie zmian w skali PASI oceniono na 38,4.



Rys. 3. Chory D.G., 27-letni mężczyzna z objawami pokrzywki indukowanej aspiryn

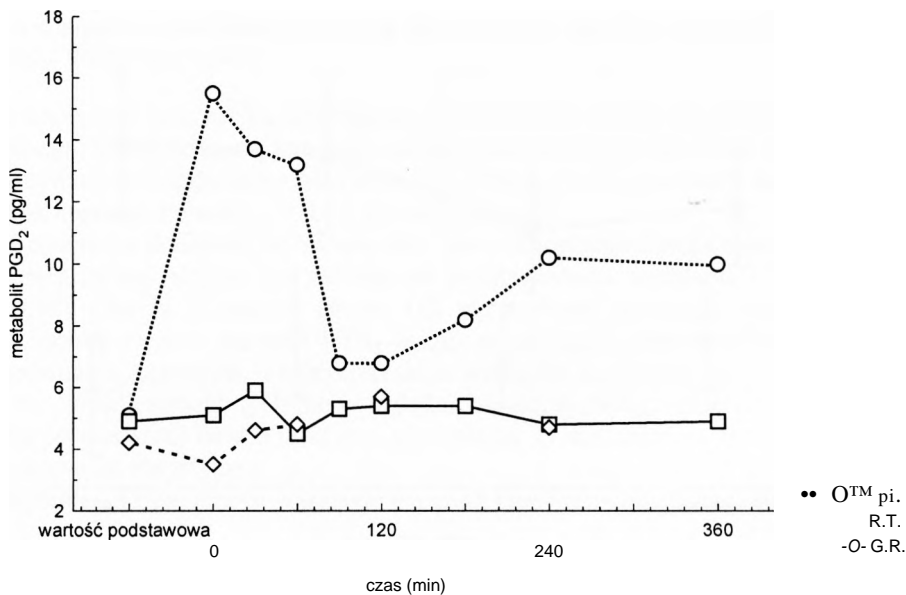
Spśród 30 chorych, u których wynik doustnego testu prowokacyjnego z aspiryn był dodatni, 27 osób nie zgłaszało żadnych objawów ze strony innych narządów oprócz skóry i przez cały czas trwania badania wartości FEV₁ były u nich prawidłowe. Natomiast u trzech chorych (u jednego po 188 mg, a u dwóch po 500 mg aspiryny) wystąpiło łzawienie, wodnista wydzielina z nosa i duszność. Obserwowano u nich spadek wartości FEV₁, o 20% lub więcej w stosunku do wartości wyjściowych. W badaniu przedmiotowym nad obu polami płucnymi wydech był przedłużony oraz słyszalne były wistoty. Objawy oskrzelowe poprzedziły rozwój zmian skórnych.

Podstawowe wydalanie LTE₄ z moczem u 3 chorych, którzy ujawnili podwójną reakcję po aspirynie, tj. oskrzelową i skórny, było następujące: 592, 538 i 1095 pg/mg kreatyniny. Natomiast najwyższe wartości LTE₄ w moczu po prowokacji aspiryn wynosiły odpowiednio: 4375, 676 i 1819 pg/mg kreatyniny (rys. 4).



Rys. 4. Wydalanie LTE₄ z moczem, podstawowe i po prowokacji aspiryn , u 3 chorych (P.I., R.T., G.R.) z podwójn , oskrzelow i skórń postaci nadwra liwo ci na aspiryn

Podstawowe st enie 9a,lipPGF₂ w surowicy u tych 3 chorych było nast puj ce: 5,1, 4,9 i 4,2 pg/ml, najwy sze warto ci po prowokacji aspiryn wynosiły odpowiednio: 15,5, 5,9 i 5,7 pg/ml (rys. 5).

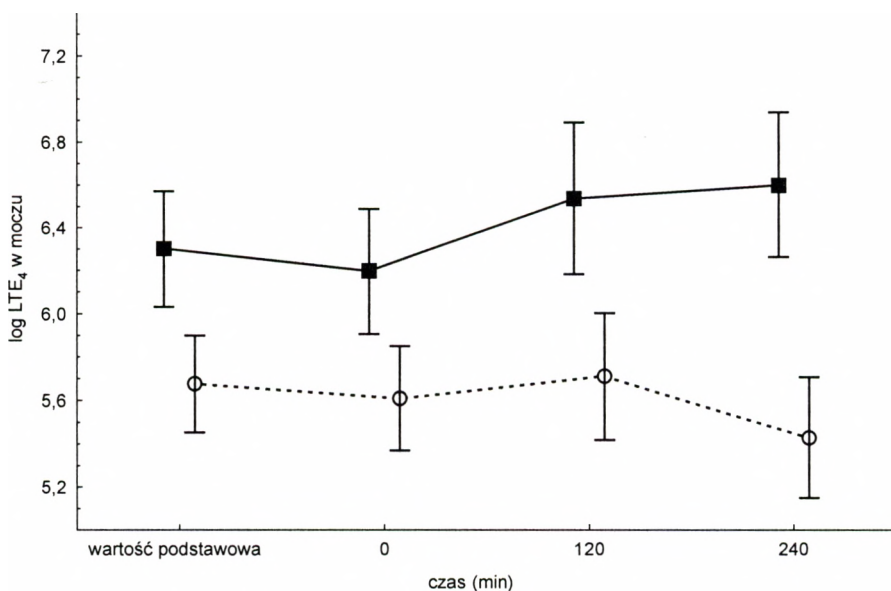


Rys. 5. St enie trwałego metabolitu PGD₂ w surowicy, podstawowe i po prowokacji aspiryn , u 3 chorych (P.I., R.T., G.R.) z podwójn , oskrzelow i skórń postaci nadwra liwo ci na aspiryn

Chorzy reagujący oskrzelowo i skórnie na aspiryn zostali zakwalifikowani do grupy chorych na przewlekłą pokrzywkę idiopatyczną z dodatnim wynikiem testu prowokacyjnego. Dalsza analiza wykazała, że ewentualne odrzucenie ich z grupy AIU nie wpływało na jakościowe wnioski statystyczne.

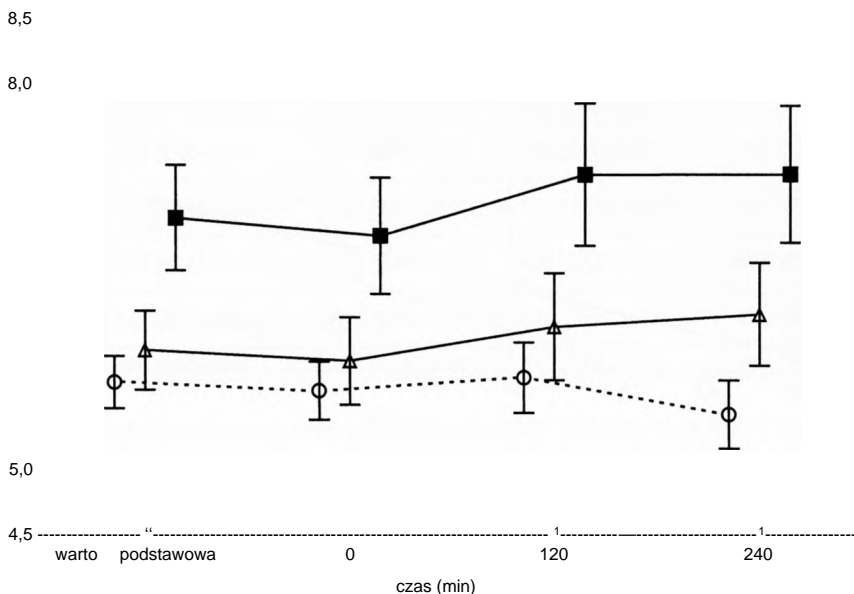
Wydalenie LTE₄ z moczem

Podstawowe wydalenie LTE₄ z moczem (tab. 5) było statystycznie istotnie większe u chorych, którzy zareagowali dodatnio na doustne podanie aspiryny, w porównaniu z chorymi, u których wynik testu prowokacyjnego z aspiryn był ujemny ($p = 0,005$). Zaobserwowano również istotne różnice w podstawowym wydalaniu LTE₄ z moczem między zdrowymi a chorymi z dodatnim i ujemnym wynikiem testu prowokacyjnego z aspiryn ($p = 0,0001$; ANOVA). We wszystkich trzech przypadkach pomiędzy poszczególnymi grupami istotną była na poziomie $p < 0,05$. Tylko w grupie chorych z dodatnim wynikiem testu prowokacyjnego z aspiryn stwierdzono zwiększone wydalenie LTE₄ z moczem w 2. (tendencja, $p = 0,07$) i 4. (istotnie statystycznie, $p = 0,03$) godzinie od chwili zakończenia próby, w porównaniu z wartościami podstawowymi. W grupie chorych z ujemnym wynikiem testu prowokacyjnego z aspiryn nie tylko nie obserwowano wzrostu, lecz występował istotny spadek stężenia LTE₄ w moczu w 4. godzinie obserwacji w porównaniu z wartościami podstawowymi; $p = 0,03$ (rys. 6).



Rys. 6. Wydalenie LTE₄ z moczem, podstawowe i po prowokacji aspiryn, w grupie chorych na przewlekłą pokrzywkę aspirynową (■ - AIU) i w grupie chorych na przewlekłą pokrzywkę idiopatyczną z ujemnym wynikiem testu prowokacyjnego z aspiryn (○ - CIU)

Podstawowe wydalanie LTE_4 z moczem było istotnie większe u chorych z pokrzywką aspirynową potwierdzoną testem prowokacyjnym i $PASI > 10$ w porównaniu z chorymi z $PASI < 10$, ($p = 0,002$) i chorymi z ujemnym wynikiem testu prowokacyjnego z aspiryn ($p < 0,001$) (rys. 7).

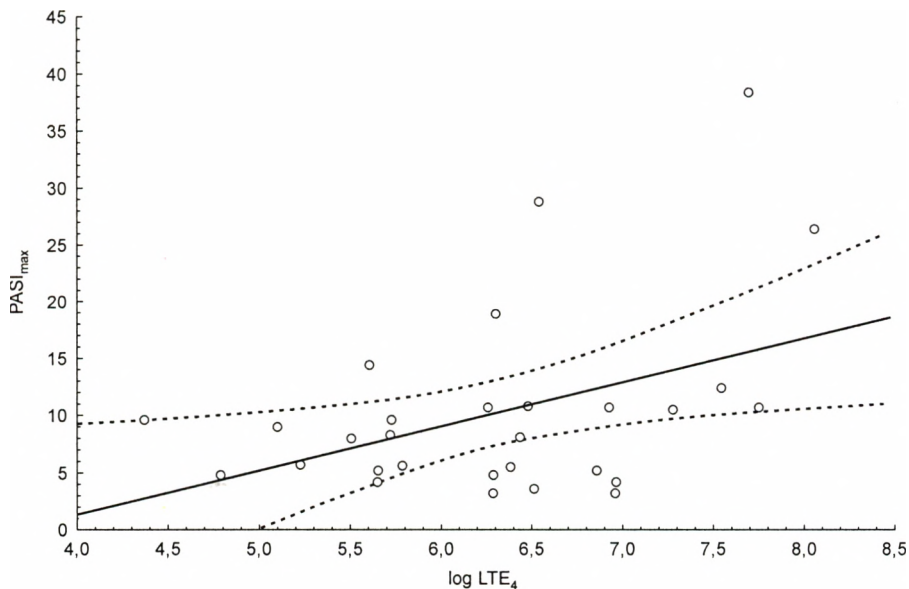


Rys. 7. Wydalanie LTE_4 z moczem, podstawowe i po prowokacji aspiryn, w grupie chorych na pokrzywkę aspirynową (AIU) w zależności od wartości $PASI$ (■ - $PASI > 10$, ▲ - $PASI < 10$) oraz u chorych na przewlekłą pokrzywkę idiopatyczną z ujemnym wynikiem testu prowokacyjnego z aspiryn (○ - CIU)

U chorych z pokrzywką aspirynową, potwierdzoną testem prowokacyjnym, zaobserwowano słabą, dodatnią korelację między podstawowym stężeniem LTE_4 w moczu a maksymalnym nasileniem zmian skórnych ($PASI_{max}$) po prowokacji aspiryn (współczynnik korelacji Persony; $r = 0,42$, $p = 0,02$), (rys. 8).

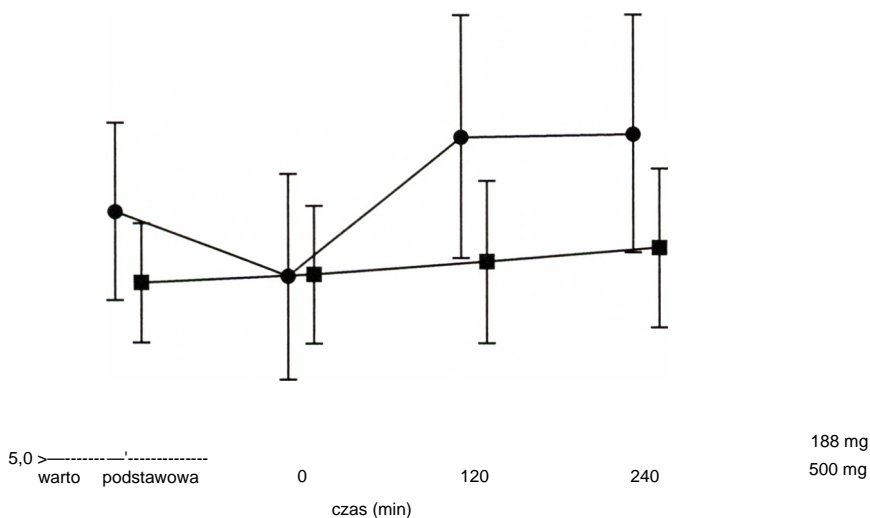
U chorych z dodatnim wynikiem testu prowokacyjnego dawka aspiryny, po której wystąpiły zmiany skórne, nie zależała od podstawowego wydalania LTE_4 z moczem ($p = 0,18$). Chorzy, u których dawka 188 mg aspiryny wywołała reakcję kliniczną, mieli istotnie wyższe wartości LTE_4 w moczu po tej dawce prowokacyjnej z aspiryn w porównaniu z chorymi, u których reakcja wystąpiła po 500 mg ($p = 0,01$; ANOVA) (rys. 9). W obliczeniach tych nie uwzględniono jednej osoby, u której pokrzywka wystąpiła po pierwszej dawce aspiryny, wynoszącej 71 mg; decyzja ta nie wpływała na wnioskowanie statystyczne.

Stężenie LTE_4 w moczu wyrażone w pg/mg kreatyniny przedstawiono w tabeli 6.



Rys. 8. Dodatnia korelacja pomiędzy nasileniem zmian skórnych ($PASI_{max}$) a podstawowym wydalaniem LTE_4 z moczem u chorych z pokrzywką aspirynową (AIU)

8,5



Rys. 9. Wydalanie LTE_4 z moczem, podstawowe i po prowokacji aspiryn, w grupie chorych na pokrzywkę aspirynową (AIU) w zależności od dawki prowokacyjnej aspiryny (● - dawka aspiryny 188 mg, ■ - dawka aspiryny 500 mg)

Tabela 6

Wydalanie LTE₄ z moczem, podstawowe i po prowokacji aspiryn , w grupie chorych na pokrzywk aspirynow (AIU) i w grupie chorych na przewlekł pokrzywk idiopatyczn z ujemnym wynikiem testu prowokacyjnego z aspiryn (CIU)

Chorzy	Wydalanie LTE ₄ z moczem (pg/mg kreatyniny)			
	Warto podstawowa	0 min	120 min	240 min
AIU (n = 30)	536 (270-1026)	506 (260-126)	633 (333-212)	571 (353-226)
PASI < 10 (n = 19)	326 (246-624)	331 (222-615)	555 (218-827)	461 (280-753)
PASI > 10 (n = 11)	1118(546-2201)	833 (488-2537)	1212 (335-4680)	689 (459-011)
PD = 188 mg (n = 9)	624 (558-1052)	523 (260-1142)	827 (555-2566)	675 (590-4166)
PD = 500 mg (n = 20)	542 (259-985)	520 (291-1110)	575 (262-1118)	472 (297-989)
CIU (n =44)	286 (178-390)	275(174-389)	310(172-522)	212 (150-332)

Grup AIU podzielono w zale no ci od: warto ci PASI (PASI > 10, PASI < 10) oraz dawki prowokacyjnej (PD) aspiryny (dawka aspiryny 188 mg, dawka aspiryny 500 mg). Warto ci w tabeli podano jako median (dolny kwartył [25%] i górny kwartył [75%]).

St enie trwałego metabolitu PGD₂ (9a,113PGF₂) w surowicy

Podstawowe st enie 9a,l ipPGF₂ w surowicy nie ró niło si w sposób istotny statystycznie mi dzy chorymi z dodatnim wynikiem a chorymi z ujemnym wynikiem testu prowokacyjnego z aspiryn (p = 0,41; ANOVA) (tab. 5).

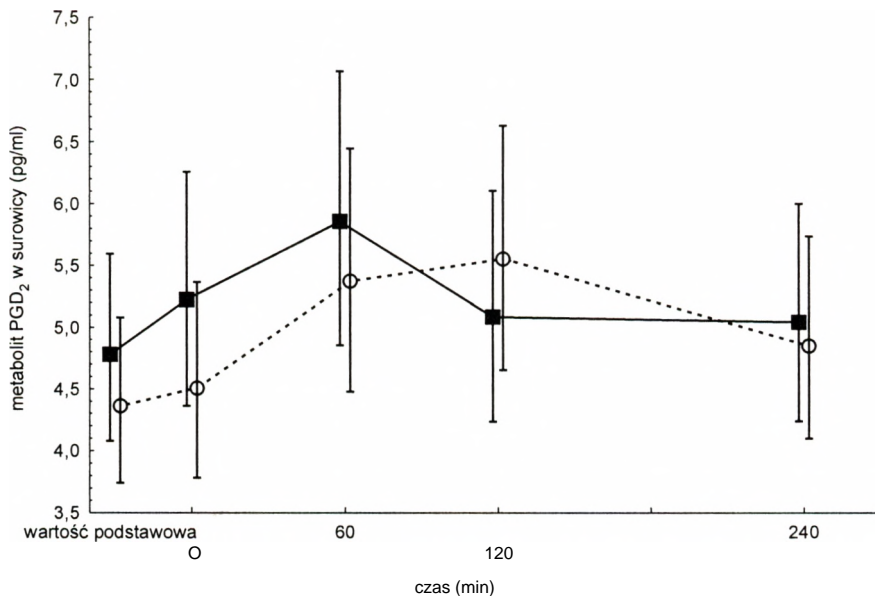
U chorych z dodatnim testem prowokacyjnym st enie 9a,lipPGF₂ w surowicy wzrastało w sposób istotny statystycznie po podaniu aspiryny (p = 0,03; ANOVA). Najwy szy wzrost 9a,lipPGF₂ w surowicy obserwowano w 60. minucie od momentu wyst pienia reakcji klinicznej (p = 0,001; analiza kontrastów), powrócił on do warto ci wyj ciowej w godzin pó niej.

Podobnie u chorych z ujemnym testem prowokacyjnym z aspiryn st enie 9a,lipPGF₂ w surowicy równie wzrastało w sposób istotny statystycznie po aspirynie (p < 0,001; ANOVA). Jednak najwy szy wzrost obserwowano w 120. minucie (p < 0,001; analiza kontrastów) od momentu zako czenia testu prowokacyjnego z aspiryn i powróciło do warto ci wyj ciowej w dwie godziny pó niej (rys. 10).

Nie było zwi zku pomi dzy dawek prowokacyjn aspiryny a st eniem 9a,l ipPGF₂ -podstawowym i po prowokacji u chorych z pokrzywk aspirynow (p = 0,74; ANOVA).

U chorych z pokrzywk aspirynow potwierdzone testem prowokacyjnym i PASI > 10 w porównaniu z chorymi z PASI < 10 zaobserwowano tendencj do wi kszych podstawowych warto ci st enia 9a,l ipPGF₂ w surowicy (p = 0,07).

St enia trwałego metabolitu PGD₂ w surowicy wyra one w pg/ml przedstawiono w tabeli 7.



Rys. 10. Stężenie trwałego metabolitu PGD₂ w surowicy w grupie chorych na pokrzywkę aspirynową (■ - AIU) i w grupie chorych na przewlekłą pokrzywkę idiopatyczną z ujemnym wynikiem testu prowokacyjnego z aspiryną (○ - CIU)

Tabela 7

Stężenie trwałego metabolitu PGD₂ w surowicy, podstawowe i po prowokacji aspiryną, w grupie chorych na pokrzywkę aspirynową (AIU) i w grupie chorych na przewlekłą pokrzywkę idiopatyczną z ujemnym wynikiem testu prowokacyjnego z aspiryną (CIU)

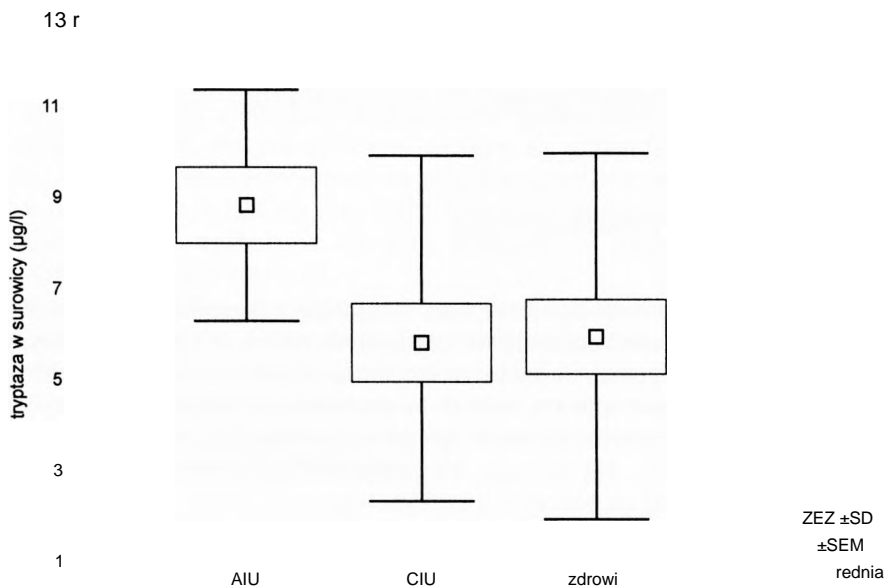
Chorzy	Stężenie trwałego metabolitu PGD ₂ w surowicy (pg/ml)				
	Wartość podstawowa	0 min	60 min	120 min	240 min
AIU (n = 30)	4,85 (3,8-6,1)	5,2 (3,5-6,4)	5,5 (4,2-7,5)	5,4 (3,8-6,8)	5,0 (3,8-6,5)
PASI < 10 (n = 19)	4,3 (3,2-5,1)	4,9 (3,2-6,0)	4,8 (3,7-7,3)	4,3 (3,3-5,8)	4,7 (3,5-6,0)
PASI > 10 (n = 11)	5,6 (4,7-7,4)	5,3 (5,0-6,8)	5,1 (5,5-9,4)	6,6 (5,3-8,5)	5,8 (4,6-6,9)
PD = 188 mg (n = 9)	4,9 (3,2-6,1)	5,1 (3,8-5,5)	5,0 (4,5-7,9)	5,4 (3,8-7,9)	4,5 (3,8-6,7)
PD = 500 mg (n = 20)	4,8 (3,8-5,7)	5,2 (3,4-6,5)	5,5 (4,1-7,4)	5,4 (3,8-6,6)	5,3 (4,0-6,4)
CIU (n = 44)	4,3 (3,1-6,0)	4,4 (3,4-6,5)	4,8 (3,5-8,7)	5,0 (3,6-9,5)	4,7 (3,3-6,8)

Grupę AIU podzielono w zależności od wartości PASI (PASI > 10, PASI < 10) oraz dawki prowokacyjnej (PD) aspiryny (dawka aspiryny 188 mg, dawka aspiryny 500 mg). Wartości w tabeli podano jako medianę (dolny kwartyl [25%] i górny kwartyl [75%]).

Tryptaza w surowicy

Podstawowe stężenie tryptazy w surowicy (tab. 5) było istotnie wyższe u chorych, którzy zareagowali dodatnio na doustne podanie aspiryny w porównaniu z chorymi, u których test prowokacyjny z aspiryną był ujemny ($p = 0,04$), i z osobami zdrowymi ($p = 0,03$). Natomiast nie zaobserwowano różnic między chorymi z ujemnym wynikiem testu prowokacyjnego z aspiryną a zdrowymi ($p = 0,9$) (rys. 11).

Podstawowe stężenie tryptazy w surowicy korelowało z podstawowym stężeniem LTE_4 w moczu tylko w grupie AIU ($R = 0,55$; $p = 0,02$). W żadnej z grup nie było związku między podstawowym stężeniem tryptazy a podstawowym stężeniem trwałego metabolitu PGD_2 w surowicy (AIU $r = -0,19$; $p = 0,44$ oraz CIU $r = 0,07$; $p = 0,78$). Maksymalne natężenie zmian skórnych w skali PASI również nie korelowało z podstawowym stężeniem tryptazy w surowicy chorych na pokrzywkę aspirynową ($r = -0,02$; $p = 0,94$).



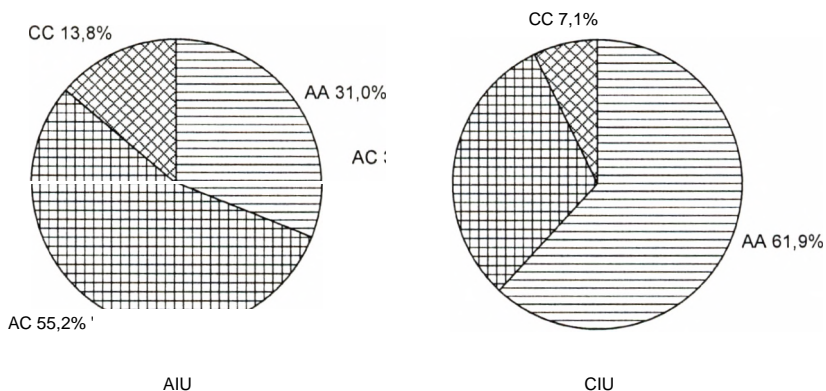
Rys. 11. Podstawowe stężenie tryptazy w surowicy w trzech grupach: 1) AIU - pokrzywka aspirynowa, 2) CIU - przewlekła pokrzywka idiopatyczna z dobrą tolerancją aspiryny, 3) zdrowi

Genotypowanie polimorfizmu regionu promotorowego syntazy LTC₄

W grupie 71 chorych 35 (49,3%) osób było homozygotami allelu AA, 29 osób (40,8%) heterozygotami (AC), a 7 (9,9%) osób homozygotami dla $-444C$ allelu CC.

Dystrybucja polimorfizmu syntazy LTC₄ u chorych z dodatnim testem prowokacyjnym z aspiryną ($n = 29$) była następująca: 31% (AA), 55,2% (AC) i 13,8% (CC). Natomiast u chorych z ujemnym testem prowokacyjnym z aspiryną ($n = 42$): 61,9% (AA), 31% (AC) i 7,1% (CC) (rys. 12).

Czsto .44C pozytywnego genotypu LTC4S (AC, CC) była istotnie wi ksza u chorych na pokrzywk , którzy zareagowali dodatnio na prowokacj aspiryn w porównaniu z chorymi, u których test prowokacyjny z aspiryn był ujemny ($q = 0,414$ vs $q = 0,226$; $p = 0,016$, Fisher).



Rys. 12. Dystrybucja polimorfizmu syntazy LTC4 w grupie AIU i CIU

Testy skórne z aspiryn i własn surowic

U wszystkich chorych testy punktowe oraz ródskóme z aspiryn były ujemne, niezale nie od tego czy reagowali oni dodatnio, czy ujemnie na doustne podanie aspiryny.

W grupie chorych na pokrzywk aspirynow test ródskórny z własn surowic był dodatni u 64% chorych, natomiast u chorych na przewlekł pokrzywk idiopatyczn - tylko u 27%. Badane grupy ró niły si w sposób istotny statystycznie wynikiem testu autologicznego; $p = 0,01$. Na rysunku 13 przedstawiono dodatni test ródskórny z własn surowic u chorej na pokrzywk aspirynow .



Rys. 13. Dodatni autologiczny test ródskórny u chorej z pokrzywk aspirynow

DYSKUSJA

Zaburzenia przemiany eikozanoidów w skórnej postaci nadwrażliwości na aspiryn starano się prześledzić na podstawie badania metabolitów kwasu arachidonowego, zarówno na szlaku cyklooksygenazowym, jak i 5-lipooksygenazowym. Oceniano wydalanie LTE_4 z moczem oraz stężenie trwałego metabolitu PGD_2 w surowicy - w warunkach podstawowych i po prowokacji aspiryn. Celowo wybrano te eikozanoidy, gdy wydalanie LTE_4 z moczem odzwierciedla ogólnoustrojową produkcję leukotrienów cysteinylowych, których głównym źródłem są eozynofile, mastocyty i bazofile [35, 84, 109]. W astmie aspirynowej na udział eozynofili wskazywało zwiększenie w nich ekspresja LTC_4S [16, 103]. Natomiast podwyższone stężenie trwałego metabolitu PGD_2 i tryptazy w surowicy wskazuje na zaangażowanie mastocytów w reakcjach nadwrażliwości [11].

U progu XXI wieku odczytano sekwencję 3 miliardów nukleotydów składających się na genom człowieka. Odkrycie to doprowadziło do szybkiego rozwoju badań nad wpływem wariantów polimorficznych, na przykład niektórych enzymów na fenotyp choroby. W tym aspekcie badanie polimorfizmu genetycznego syntazy LTC_4 w pokrzywce aspirynowej było celowe, ponieważ biosynteza leukotrienów cysteinylowych jest kontrolowana przez LTC_4S [63, 64].

Podział chorych na grupy w zależności od wyniku testu prowokacyjnego z aspiryn

U wszystkich chorych ($n = 74$) rozpoznano przewlekłą pokrzywkę idiopatyczną i odnotowano w wywiadach nadwrażliwość na aspiryn. Jednak tylko u 40,5% spośród nich wystąpiła zmiana skórna po prowokacji aspiryn. Wskazuje to w sposób jasny na fakt, że aktualne rozpoznanie nadwrażliwości na aspiryn można ustalić na podstawie dodatnich testów prowokacyjnych z aspiryn. Rola wywiadu jest zasadnicza w podejrzeniu i późniejszym ustaleniu rozpoznania nadwrażliwości na aspiryn. Trudno również wykluczyć, że stopień nadwrażliwości może się wahać na przestrzeni czasu i w pewnych okresach życia chorzy mogą mieć ujemne, a w innych dodatnie wyniki testów prowokacyjnych z aspiryn. Istnieje także możliwość tylko i wyłącznie zastrzeżenia istniejących już zmian skórnych przez aspiryn, a nie wywoływania ich w okresie remisji choroby. W badaniach przedstawionych w niniejszej pracy wszyscy

chorzy byli w okresie całkowitej remisji choroby. Przesłanki te mają ważne implikacje kliniczne i wskazują na ostrość stosowania leków blokujących COX u chorych, którzy w wywiadzie podają uczulenie na aspirynę.

Podwójna, oskrzelowa i skórna reakcja na aspirynę u 3 spośród 30 chorych na pokrzywkę aspirynową (10%), potwierdza możliwość równoczesnego wystąpienia obu postaci klinicznych nadwrażliwości [122].

Podobieństwo zaburzeń przemiany leukotrienów i prostaglandyn w astmie i pokrzywce aspirynowej

Do tej pory niewiele było wiadomości na temat klinicznej przydatności i oznaczenia mediatorów eikozanoidowych dla rozpoznania, a nawet wykrycia predyspozycji do reakcji nadwrażliwości na NSLPZ.

W przeprowadzonych w niniejszej pracy badaniach podstawowe wydalanie LTE₄ z moczem było istotnie większe u chorych z pokrzywką aspirynową w porównaniu zarówno z chorymi, u których test prowokacyjny z aspiryną był ujemny, jak i z osobami zdrowymi. Stwierdzono wzrost wydalania LTE₄ z moczem po prowokacji tylko w grupie chorych z dodatnim testem prowokacyjnym z aspiryną. Podobnie Di Lorenzo i wsp. ostatnio zmierzili wydalanie LTE₄ z moczem u 5 chorych na pokrzywkę aspirynową w porównaniu z 10 chorymi na przewlekłą pokrzywkę idiopatyczną, dobrze tolerującymi aspirynę. Nie zauważyli oni różnic w podstawowym wydalaniu LTE₄ z moczem w obu badanych grupach, natomiast stwierdzenie to wzrastało po prowokacji aspiryną tylko u chorych z nadwrażliwością na aspirynę [20]. Była to mała grupa, licząca tylko 5 chorych, i stąd najprawdopodobniej wynika różnica dotyczące podstawowego wydalania LTE₄ z moczem.

Podobny wzrost syntezy cys-LT, określanych jako „nadprodukcja substancji bronchospastycznych” - pochodnych kwasu arachidonowego, obserwujemy w astmie aspirynowej [14, 15, 45, 61, 87]. W świetle wyników przedstawionych w tej pracy cys-LT odgrywa zasadniczą rolę nie tylko w skurczu oskrzeli, ale również w powstawaniu zmian skórnych indukowanych aspiryną.

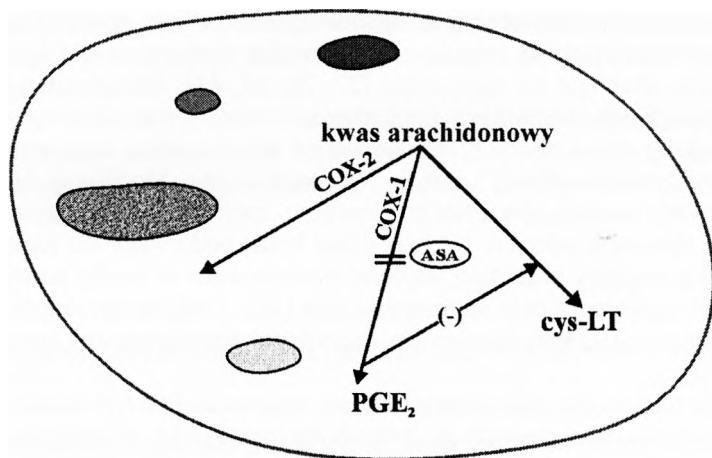
Co więcej, w grupie chorych na pokrzywkę aspirynową podstawowe wydalanie LTE₄ z moczem było istotnie większe u chorych z bardzo silną reakcją skórą w porównaniu z chorymi, u których obserwowano niewielkie zmiany skórne po prowokacji aspiryną. Byłoby podstawowe wydalanie LTE₄ z moczem będzie jednym z wielu innych jeszcze nieznanych czynników, na podstawie których można będzie przewidzieć natężenie reakcji skórnej po aspirynie. Przypuszczenie to wymaga potwierdzenia w badaniach na dużej grupie chorych.

Po prowokacji aspiryną istotnie większe wartości LTE₄ w moczu mieli chorzy z dodatnimi próbami prowokacyjnymi, u których mniejsza dawka kumulacyjna aspiryny, tj. 188 mg, wywoływała reakcję kliniczną w porównaniu z osobami, u których reakcja skórna wystąpiła po 500 mg. Ciekawe, że osoby „bardziej wrażliwe” na aspirynę, a więc reagujące na jej mniejsze dawki pokrzywką, wydalają więcej LTE₄ z moczem po prowokacji aspiryną. Obserwacja ta może wskazywać w sposób pośredni na zmie-

nion aktywno COX w stosunku do aspiryny. Poza tym podstawowe wydalanie LTE_4 z moczem nie korelowało z dawk kumulacyjn aspiryny wywołuj c pokrzywk .

Głównym ródlem cys-LT, ko cowych metabolitów przemian kwasu arachidonowego na szlaku 5-lipoksygenazowym, s eozynofile, mastocyty i bazofile [84, 109]. W warunkach *in vitro* uwalnianie cys-LT z leukocytów krwi obwodowej jest zale ne od biosyntezy PGE_2 , której ilo zmniejsza si pod wpływem NSLPZ [13]. Zaobserwowano, e fibroblasty dróg oddechowych u chorych na AIA maj mniej z zdolno do wytwarzania PGE_2 ni komórki chorych na astm dobrze toleruj cych aspiryn [94]. Mo na przypuszcza, e miejscowy niedobór PGE_2 , wywołany przez aspiryn, usuwa mechanizm hamuj cy biosyntezy cys-LT i pozwala na ich nadprodukcj [60, 126, 130]. Hipotez t wspiera fakt, e PGE_2 chroni oskrzela przed skurczem indukowanym aspiryn [92, 115, 131] i zapobiega wzrostowi LTE_4 w moczu [115]. Do tej pory nie badano jeszcze ewentualnego korzystnego wpływu prostaglandyn E (np. mizoprostolu - doustnego analogu PGE^A na wyst powanie zmian skórnych po aspirynie.

Podobie stwo astmy i pokrzywki aspirynowej si ga patomechanizmu obydwu reakcji nadwra liwo ci na NSLPZ, przejawiaj cego si nadprodukcj cys-LT. W obu postaciach nadwra liwo ci na aspiryn bezpo rednim czynnikiem wyzwalaj cym objawy kliniczne jest zahamowanie aktywno ci COX-1, przy jednoczesnej dobrej tolerancji wybiórczych inhibitorów COX-2 [85, 91, 134, 155]. Komórkami krytycznymi dla tych niepo danych reakcji s w płucach eozynofile i mastocyty, a w skórze przypuszczalnie tylko mastocyty, chocia pewne znaczenie mog odgrywa te bazofile i komórki Langerhansa prezentuj ce antygen. Na rysunku 14 przedstawiono proponowany komórkowy patomechanizm nadwra liwo ci na aspiryn .



Rys. 14. Proponowany komórkowy patomechanizm nadwra liwo ci na aspiryn

Innym eikozanoidem badanym w pokrzywce aspirynowej był trwały metabolit PGD_2 w surowicy, który jest produktem przemian kwasu arachidonowego na szlaku cyklooksygenazowym. Prostaglandyny nie s magazynowane w organizmie, tworzą si w miar potrzeb *ex tempore* i s bardzo szybko metabolizowane i nieczynniane [114]. W laboratorium II Katedry Chorób Wewn trznych Collegium Medicum Uniwersytetu

Jagiellońskiego wdrożono nowoczesne metody analityczne, oparte na technikach spektrometrii mas sprężonej z chromatografią gazową i wysoko sprawną chromatografią cieczą, które pozwalają oznaczyć prostaglandyny w próbkach biologicznych, w tym również trwałe metabolity PGD_2 .

Zarówno PGD_2 , jak i jej trwałe metabolity $9\alpha,11\text{-lipPGF}_2$, silnie kurczą oskrzela. U chorych na astmę aspirynową zaobserwowano wzrost uwalniania $9\alpha,11\text{-IPPGF}_2$ tak do moczu [11, 90], jak i do surowicy po prowokacji aspiryną, co mogłoby wskazywać na aktywację mastocytów płucnych [11]. Podobne obserwacje poczyniono w niniejszej pracy w odniesieniu do chorych na pokrzywkę aspirynową. Stężenie $9\alpha,11\text{-lipPGF}_2$ w surowicy w warunkach podstawowych nie różniło się w sposób istotny między chorymi na pokrzywkę aspirynową a chorymi na przewlekłą pokrzywkę idiopatyczną, dobrze tolerującymi aspirynę. W obu badanych grupach, niezależnie od wyniku próby prowokacyjnej, stężenie $9\alpha,11\text{-lipPGF}_2$ w surowicy wzrastało po aspirynie. Nasuwa się pytanie, dlaczego niezależnie od tego czy aspiryna wywołuje reakcje skórne, czy nie, obserwuje się po niej wzrost uwalniania PGD_2 do krwi. Różnica dotyczy jedynie czasu, w którym nastąpił maksymalny wzrost stężenia $9\alpha,11\text{-IPPGF}_2$ w surowicy od momentu wystąpienia reakcji klinicznej (AIU) lub podania całkowitej dawki kumulacyjnej aspiryny (CIU). W grupie AIU wzrost ten obserwowany jest o godzinę wcześniej w porównaniu z grupą CIU. Wskazuje to na zasadniczy udział mastocytów w patogenezie tej choroby. To mastocyty są głównym źródłem komórkowym PGD_2 [10, 70], chociaż niewielkie ilości mogą być uwalniane przez makrofagi płucne [66] i płytki krwi [89]. Ponadto syntezę PGD_2 wykryto w skórze, macicy, mięśniach szkieletowych i rdzeniu nerek [31].

Jednym z wielu mechanizmów aktywowania mastocytów i uwalniania z nich PGD_2 mogą być autoprzeciwciała obecne u niektórych chorych na przewlekłą pokrzywkę idiopatyczną. Przeciwciała te reagują z podjednostką α receptora dla IgE o wysokim powinowactwie, obecnym na mastocycie [27, 28, 34, 44]. Receptor ten znajduje się również na bazofilach, komórkach Langerhansa i aktywowanych eozynofilach [95]. Aspiryna mogłaby u tych chorych, niezależnie od wyniku próby aspirynowej, spełniać rolę substancji „wspomagającej” reakcję immunologiczną. Możliwość analogicznego procesu aktywacji mastocytów i/lub eozynofilów, zachodzącego w płucach i przejawiającego się skurczem oskrzeli, nie była dotychczas pod uwagę ani nie była badana. Koncepcje tak mogłyby pośrednio wspierać obserwowane w astmie aspirynowej podprogowo przebiegające procesy autoimmunizacji [133, 140], jej sporadyczne skojarzenia z autoimmunologicznym zapaleniem naczyń i charakterystyczny wzrost przeciwciał IgG4 [133].

Istnieje również możliwość spontanicznego uwalniania PGD_2 z mastocytów, czego nie można wykluczyć u chorych na przewlekłą pokrzywkę idiopatyczną. Zjawisko takie obserwuje się w mastocytozie [7]. Choroba ta charakteryzuje się proliferacją tkankowych mastocytów i wydalaniem dużej ilości prostaglandyn z moczem.

Wyniki badań przedstawione w tej pracy sugerują, że izolowany wzrost trwałego metabolitu PGD_2 w surowicy po aspirynie nie jest wystarczającym czynnikiem do wywołania objawów skórnych. U chorych na pokrzywkę aspirynową najprawdopodobniej współistnieje wiele innych czynników (oprócz np. autoimmunologicznych) wywołujących nadwrażliwość na aspirynę.

Uwalnianie mediatorów z mastocytów na drodze niezależnej od IgE mogą stymulować: anafilatoksyny (C3a, C4a, C5a), jonofory wapnia, hiperosmolarność, kodeina,

morfiny, substancja P, gastryna, ATP [70]. Odpowiedź na te czynniki jest uzależniona od populacji mastocytów. Przykładem może być C5a, która działa na ludzkie mastocyty pochodzenia skórnoego, ale nie działa na mastocyty płucne. Reakcja ta odbywa się poprzez receptor związany z białkiem G, co aktywuje fosfolipazę C i doprowadza do przejściowego wzrostu stężenia wewnątrzkomórkowych jonów Ca^{+2} [68]. Zwykle konieczne jest wcześniejsze uwrażliwienie komórki przez cytokiny, na przykład IL-4. Można przypuszczać, że u chorych na astmę i pokrzywkę aspirynową NSLPZ mogłyby odgrywać rolę substancji „dodatkowej” uwrażliwiającej komórki na czynniki powodujące nieimmunologiczną degranulację.

Analiza indywidualnych chorych zarówno na astmę [129], jak i pokrzywkę aspirynową wykazała, że stężenie trwałego metabolitu PGD_2 w surowicy zwykle wzrasta po prowokacji aspiryną, choć nie jest to regułą. Dlaczego aspiryna, która jest inhibitorem COX, miałaby powodować wzrost stężenia PGD_2 ? Można przypuszczać, że u chorych z nadwrażliwością na aspirynę istnieje zmieniona odpowiedź COX na działanie aspiryny. U niektórych chorych aspiryna stymuluje syntezę PGD_2 , natomiast u innych nie wpływa na jej produkcję, a nawet jest w stanie ją zahamować. Wynika to może ze zmiany genów kodujących COX na przykład pod wpływem długotrwałej infekcji wirusowej lub innych nieznanymi czynników.

Tryptaza uwalniana jest do surowicy głównie z mastocytów i w niewielkiej ilości z bazofilów. Enzym ten uwrażliwia niegładkie na histaminę, pobudza chemotaksję eozynofili, stymuluje fibroblasty i włóknienie, inaktywuje fibrynogen [68]. Związane zatem, podstawowe stężenie tryptazy w surowicy u chorych na pokrzywkę aspirynową [155] może wskazywać na stałą „podprogową” aktywację tych komórek. Podobne obserwacje poczyniono w naszej katedrze u chorych na astmę aspirynową [11]. Co więcej, u tych chorych zaobserwowano wzrost uwalniania tryptazy do surowicy po prowokacji aspiryną [11]. Takie badania nie były prowadzone u chorych na pokrzywkę aspirynową.

Podstawowe stężenie tryptazy w surowicy u chorych na pokrzywkę aspirynową korelowało dodatkowo z podstawowym stężeniem LTE_4 w moczu. Sugeruje to podobne pochodzenie leukotrienów cysteinylowych i tryptazy. Źródłem tych dwóch substancji mogłyby być mastocyty.

Polimorfizm genetyczny syntazy LTC₄ i jego związek z fenotypem pokrzywki

Ta część badań zmierzała do ustalenia genetycznej podatności na reakcję nadwrażliwości na NSLPZ. Odkryty w naszym laboratorium polimorfizm syntazy leukotrienu C_4 wydaje się jednym z determinantów genetycznych występowania astmy aspirynowej w polskiej populacji [110].

U chorych na pokrzywkę aspirynową stwierdzono znamienne częściej nosicielstwo allelu $-444C$ genu LTC₄S, w porównaniu z chorymi na przewlekłą pokrzywkę idiopatyczną, dobrze tolerującymi aspirynę. Podobnie w tej samej postaci astmy aspirynowej, wymagającej przewlekłej doustnej kortykosteroidoterapii, stwierdzono asocjacje genetyczne z allelem $-444C$ genu LTC₄S. Nie wykazano natomiast podobnej zależności

mi dzy ci ko ci choroby a nosicielstwem allelu .444C w ród chorych na astm , dobrze toleruj cych aspiryn [106, 110],

U chorych na lekk astm aspirynow nie obserwowano zwi kszonego uwalniania leukotrienów cysteinylowych z aktywowanych leukocytów krwi obwodowej [93].

Nosicielstwo allelu .444C genu LTC4S zwi zane jest ze zwi kszon biosyntezy cys-LT przez aktywowane eozynofile krwi [104] oraz dobr odpowiedzi kliniczn na leczenie antagonistami receptorów leukotrienowych u chorych na astm aspirynow [3, 76, 104],

U chorych na pokrzywk aspirynow , którzy nie dziedzicz wariantu allelicznego .444C genu LTC4S i nie odpowiadaj na prowokacj aspiryn wzrostem wydalania LTE_4 w moczu, wysiew b bli pokrzywkowych mo e zale e od innych mediatorów ni cys-LT, na przykład histaminy, tryptazy czy prostaglandyn. Hipotez t dodatkowo mo e wspiera obserwacja własna dotycz ca braku odpowiedzi klinicznej u cz ci chorych na leki antyleukotrienne, przy dobrej odpowiedzi na leki antyhistaminowe. Istnieje jednak pewien optymizm, co do skutecznego leczenia przewlekłej pokrzywki lekami antyleukotrienowymi [4, 26].

Przypuszczalne patomechanizmy przewlekłej pokrzywki idiopatycznej indukowanej aspiryn

Mechanizm wyst powania zmian skórnych po aspirynie u chorych z przewlekł pokrzywk idiopatyczn nadal nie jest w pełni poznany. Ujemne wyniki testów skórnych z aspiryn wykluczaj patomechanizm immunologiczny, zale ny od IgE. Patogeneza pokrzywki aspirynowej wydaje si mie bezpo redni zwi zek z zahamowaniem przez aspiryn COX-1, bior cej udział w syntezie prostanoidów [146]. Na udział COX-1, a nie COX-2, w patogenezie pokrzywki aspirynowej wskazuje dobra tolerancja koksylów przez chorych na AIU [155], Zahamowanie COX-1 przez aspiryn prowadzi najprawdopodobniej do zmniejszonej produkcji PGE_2 i pozbawienia jej hamuj cego wpływu na produkcj cys-LT. Hipotez t wzmacnia fakt nadprodukcji cys-LT u chorych na pokrzywk aspirynow [20, 79], Ponadto stwierdzono, e podanie ródskórne cys-LT mo e wywoła b bel pokrzywkowy, obrz k i zaczerwienienie skóry [121], Najprawdopodobniej w pokrzywce aspirynowej zasadnicz rol odgrywa mastocyt, który jest głównym ródłem mediatorów uwalnianych w czasie reakcji skórnej indukowanej aspiryn . Nale do nich cys-LT, PGD_2 i tryptaza [69].

Co ciekawe, opisano pierwsze przypadki przewlekłej pokrzywki idiopatycznej indukowanej aspiryn z dodatnim testem ródskórnym, z własn surowic [5], Obserwacj t potwierdzaj wyniki bada przedstawione w niniejszej pracy, w której a 64% chorych miało dodatnie testy ródskórne z własn surowic . By mo e u niektórych chorych reakcja autoimmunologiczna prowadzi do uwolnienia mediatorów, w tym histaminy, tryptazy, leukotrienów i prostaglandyn z mastocytów, a nast pnie do wyst pienia pokrzywki. Jednak wynik testu z własn surowic nie jest dodatni u wszystkich chorych i nie w pełni wiadomo, jaki „czynnik” wywołuje dodatnie odzyny skórne.

Pewne znaczenie w skórnej postaci nadwrażliwości na aspirynę może mieć również przewlekła infekcja wirusowa, na przykład szerząca się wzdłuż włókien nerwowych w skórze, lub inne „czynniki”, które znoszą immunosupresyjne i hamujące właściwości PGE_2 na uwalnianie mediatorów z komórek. Czynniki te mogą również wpływać na zmianę genów kodujących COX, co prowadzi do zmienionej odpowiedzi tego enzymu na działanie aspiryny.

WNIOSKI

1. Patomechanizm skórnej i oskrzelowej postaci nadwrażliwości na aspiryn jest podobny. Wiąże się on z zahamowaniem aktywności COX przez aspiryn, co prowadzi do wyrzutu leukotrienów cysteinylowych z komórek, który znajduje odbicie we wzroście stężenia LTE_4 w moczu.

2. Wydalanie LTE_4 w moczu, zarówno podstawowe, jak i po prowokacji aspiryn, jest większe u chorych na pokrzywkę aspirynową niż u chorych na przewlekłą pokrzywkę idiopatyczną, dobrze tolerujących aspiryn. Podobne obserwacje poczyniono u chorych na astmę aspirynową.

3. Stopień nasilenia reakcji skórnej po aspirynie wykazuje dodatni związek z podstawowym wydalaniem LTE_4 w moczu.

4. Po prowokacji aspiryn stężenie trwałego metabolitu PGD_2 w surowicy wzrasta zarówno u chorych na przewlekłą pokrzywkę idiopatyczną, niezależnie od wyniku testu prowokacyjnego z aspiryn, jak i u chorych na astmę, co sugeruje aktywację mastocytów.

5. Podstawowe stężenie tryptazy w surowicy jest istotnie większe u chorych na pokrzywkę aspirynową, w porównaniu z chorymi na przewlekłą pokrzywkę idiopatyczną, dobrze tolerującymi aspiryn, co dodatkowo wskazuje na aktywację mastocytów.

6. Nadwrażliwość na aspiryn wykazuje związek z polimorfizmem regionu promotorowego syntazy LTC_4 . Człowiek o wariantu allelicznym -444C genu LTC4S jest większa u chorych na pokrzywkę aspirynową niż u chorych na przewlekłą pokrzywkę idiopatyczną, dobrze tolerujących aspiryn. Podobna, zwiększona człowiek o wariantu allelicznym -444C występuje u chorych na astmę aspirynową o ciężkim przebiegu.

STRESZCZENIE

Wst p: Aspiryna (kwas acetylosalicylowy), tak jak inne niesteroidowe leki przeciwzapalne (NSLPZ) blokują cyklooksigenazę, może wywołać reakcję nadwrażliwości zarówno u chorych na astmę oskrzelową, jak i u chorych na przewlekłą pokrzywkę idiopatyczną. Wcześniejsze doniesienia dotyczące dobrej tolerancji koksylów przez chorych z nadwrażliwością na aspirynę sugerują udział inhibitorów COX-1, a nie COX-2 w powstawaniu tej reakcji.

Cel pracy: Celem badania była próba odpowiedzi na pytanie: czy istnieje i jaki jest wspólny mechanizm, na drodze którego NSLPZ wywołują reakcje nadwrażliwości, manifestujące się jako astma oskrzelowa, b d jako pokrzywka?

Materiał i metody: Doustny test prowokacyjny z aspiryną z użyciem placebo wykonano u 74 chorych na przewlekłą pokrzywkę idiopatyczną, którzy podawali w wywiadach uczulenie na aspirynę. Stężenie LTE₄ w moczu mierzone było metodą ELISA, a stężenie trwałego metabolitu PGD₂ w surowicy - metodą GC-NIC1-MS. Wydalanie LTE₄ z moczem oraz stężenie trwałego metabolitu PGD₂ w surowicy mierzone były jako wartości podstawowe i po teście prowokacyjnym z aspiryną. Natomiast stężenie tryptazy w surowicy oznaczono tylko w warunkach podstawowych. U chorych genotypowano polimorfizm pojedynczego nukleotydu syntazy LTC₄, znajdujący się w odległości 444 zasad przed miejscem startu translacji.

Wyniki: U 30 spośród 74 chorych na przewlekłą pokrzywkę idiopatyczną doustny test prowokacyjny z aspiryną był dodatni, tzn. wystąpiła u nich pokrzywka, czsto z towarzyszącym obrzękiem naczyń ruchomym. U tych chorych wydalanie LTE₄ z moczem, zarówno podstawowe, jak i po prowokacji aspiryną, było istotnie większe w porównaniu z chorymi, u których wynik testu prowokacyjnego z aspiryną był ujemny. Stopień nasilenia reakcji skórnej po aspirynie dodatnio korelował z podstawowym wydalaniem LTE₄ z moczem. Stężenie trwałego metabolitu PGD₂ w surowicy wzrosło po prowokacji aspiryną u chorych na przewlekłą pokrzywkę zarówno z dodatnim, jak i z ujemnym testem prowokacyjnym. Podstawowe stężenie tryptazy w surowicy było istotnie większe u chorych na pokrzywkę aspirynową w porównaniu z chorymi dobrze tolerującymi aspirynę i zdrowymi. Czsto wariantu allelicznego -444C genu LTC4S była zwiększona u chorych na pokrzywkę aspirynową.

Wnioski: Chorych na przewlekłą pokrzywkę idiopatyczną z nadwrażliwością na aspirynę charakteryzują podobne zaburzenia przemiany eikozanoidów, jak chorych na astmę aspirynową.

PI MIENNICTWO

1. Adamek-Guzik T., Guzik T.J., Czemiawska-Mysik G., Korpanty G., Mastalerz L., Radwan J., Szczeklik A.: Urinary leukotriene levels are increased during exacerbations of atopic eczema/dermatitis syndrome: relation to clinical status. *Allergy*, 2002, 57, 732-736.
2. Antczak A., Montuschi P., Kharitonov S., Górski P., Barnes P.J.: Increased exhaled cysteinyl-leukotrienes and 8-isoprostane in aspirin-induced asthma. *Am. J. Resp. Crit. Care Med.*, 2002, 166, 301-306.
3. Asano K., Shiomi T., Hasegawa N., Nakamura H., Kudo H., Matsuzaki T., Hukano H., Fukunaga K., Suzuki Y., Kanazawa M., Yamaguchi K.: Leukotriene C4 synthase gene A (-444)C polymorphism and clinical response to a CYS-LT(I) antagonist, pranlukast, in Japanese patients with moderate asthma. *Pharmacogenetics*, 2002, 12, 565-570.
4. Asero R.: Leukotriene receptor antagonists may prevent NSAID-induced exacerbations in patients with chronic urticaria. *Ann. Allergy Asthma Immunol.*, 2000, 85, 156-157.
5. Asero R., Tedeschi A., Lorini M.: Autoreactivity is highly prevalent in patients with multiple intolerances to NSAIDs. *Ann. Allergy Asthma Immunol.*, 2002, 88, 468—472.
6. Asero R., Tedeschi A., Lorini M., Salimbeni R., Zanoletti T., Miadonna I.A.: Chronic urticaria: novel clinical and serological aspects. *Clin. Exp. Allergy*, 2001, 31, 1105-1110.
7. Bazan-Socha S., Rudzki Z., Maciejewicz J., Witko T., Szczeklik A.: Ró nopostaciowo kliniczna w dwóch przypadkach mastocytozy układowej. *Pol. Arch. Med. Wewn.*, 2001, 4, 311-315.
8. Berges-Gimeno M.P., Simon R.A., Stevenson D.D.: The natural history and clinical characteristics of aspirin-exacerbated respiratory disease. *Ann. Allergy Asthma Immunol.*, 2002, 89, 474—478.
9. Bindslev-Lensen C., Finzi A., Greaves M., Camarasa J., Ortonne J.P., Schöpf E., Tennstedt D.: Chronic urticaria: diagnostic recommendations. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.*, 2000, 14, 175-180.
10. Bingham C.O. 3rd, Austen K.F.: Mast-cell responses in the development of asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2000, 105, S527-534.
11. Bochenek G., Nagraba K., Ni ankowska E., Szczeklik A.: A controlled study of 9 α ,11 β -PGF₂ (a prostaglandin D₂ metabolite) in plasma and urine of patients with bronchial asthma and healthy controls after aspirin challenge. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2003, 111, 743-749.
12. Bochenek G., Ni ankowska E., Szczeklik A.: The atopy trait in hypersensitivity to nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Allergy*, 1996, 51, 16-23.
13. Qelik G., Bavbek S., Misirligil Z., Meili M.: Release of cysteinyl leukotrienes with aspirin stimulation and the effect of prostaglandin E₂ on this release from peripheral blood leucocytes in aspirin-induced asthmatic patients. *Clin. Exp. Allergy*, 2001, 31, 1615-1622.

14. Christie P.E., Tagari P., Ford-Hutchinson A.W., Black C., Markendorf A., Schmitz-Schumann M., Lee T.H.: Urinary leukotriene E₄ after lysine-aspirin inhalation in asthmatic subjects. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 1992, 146, 1531-1534.
15. Christie P.E., Tagari P., Ford-Hutchinson A.W., Charlesson S., Chee P., Arm J.P., Lee T.H.: Urinary leukotriene E₄ concentrations increase after aspirin challenge in aspirin-sensitive asthmatic subjects. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 1991, 143, 1025-1029.
16. Cowburn A.S., Sladek K., Soja J., Adamek L., Nizankowska E., Szczeklik A., Lam B.K., Penrose J.F., Austen K.F., Holgate S.T., Sampson A.P.: Overexpression of leukotriene C₄ synthase in bronchial biopsies from patients with aspirin-intolerant asthma. *J. Clin. Invest.*, 1998, 101, 834-846.
17. Dahlén B., Margolskee D.J., Zetterstrom O., Dalhén S.-E.: Effect of the leukotriene receptor antagonist MK-0679 on baseline pulmonary function in aspirin sensitive asthmatic subjects. *Thorax*, 1993, 48, 1205-1210.
18. Dahlén B., Nizankowska E., Szczeklik A., Zetterstrom O., Bochenek G., Kumlin M., Mastalerz L., Pinis G., Swanson L.J., Boodhoo T.I., Wright S., Dubé L.M., Dahlén S.-E.: Benefits from adding the 5-lipoxygenase inhibitor zileuton to conventional therapy in aspirin-intolerant asthmatics. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 1998, 157, 1187-1194.
19. De Week A.L.: Immunological effects of aspirin anhydride, a contaminant of commercial acetylsalicylic acid preparations. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.*, 1971, 41, 393-418.
20. Di Lorenzo G., Pacor M.L., Vignola A.M., Profita M., Esposito-Pellitteri M., Biasi D., Corrocher R., Caruso C.: Urinary metabolites of histamine and leukotrienes before and after placebo-controlled challenge with ASA and food additives in chronic urticaria patients. *Allergy*, 2002, 57, 1180-1186.
21. Drazen J.M., Yandava C.N., Dube L., Szczerback N., Hippensteel R., Pillari A., Israel E., Schork N., Silverman E.S., Katz D.A., Drajesk J.: Pharmacogenetic association between ALOX5 promoter genotype and the response to anti-asthma treatment. *Nat. Genet.*, 1999, 22, 168-170.
22. Dreser H.: Pharmacologisches über Aspirin (Acetylsalicyl-saure). *Pfluger's Arch. Gesamte Physiol. Menschen Tiere*, 1899, 76, 306-318.
23. Droszcz W. (red.): Astma oskrzelowa. Warszawa, PZWL, 1995.
24. Dwyer J.H., Allayee H., Dwyer K.M., Fan J., Wu H., Mar R., Lusic A.J., Mehrabian M.: Arachidonate 5-lipoxygenase promoter genotype, dietary arachidonic acid, and atherosclerosis. *N. Engl. J. Med.*, 2004, 350, 29-37.
25. Enrique E., Cisteró-Bahima A., San Miguel-Moncin M.M., Alonso R.: Rofecoxib should be tried in NSAID hypersensitivity. *Allergy*, 2000, 55, 1090.
26. Erbagci Z.: The leukotriene receptor antagonist montelukast in the treatment of chronic idiopathic urticaria: a single-blind, placebo-controlled, crossover clinical study. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2002, 110, 484-488.
27. Ferrer M., Kinét J.P., Kaplan A.P.: Comparative studies of functional and binding assays for IgG anti-FcεRIα (α-subunit) in chronic urticaria. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1998, 101, 672-676.
28. Fiebiger E., Maurer D., Holub H., Reininger B., Hartmann G., Woisetschlager M., Kinet J.-P., Stingl G.: Serum IgG autoantibodies directed against the α chain of FcεRI: a selective marker and pathogenetic factor for a distinct subset of chronic urticaria patients? *J. Clin. Invest.*, 1995, 96, 2606-2612.
29. Fredriksson T., Pettersson U.: Severe psoriasis - oral therapy with a new retinoid. *Dermatologica*, 1978, 157, 238-244.
30. Gilbert G.B.: Unusual idiosyncrasy to aspirin. *JAMA*, 1911, 56, 1262.
31. Giles H., Leff P.: The biology and pharmacology of PGD₂. *Prostaglandins*, 1988, 35, 277-300.

32. Grattan C.E.H., Wallington T.B., Warin R.P., Kennedy C.T., Bradfield J.W.: A serological mediator in chronic idiopathic urticaria - a clinical, immunological and histological evaluation. *Br. J. Dermatol.*, 1986, 114, 583-590.
33. Greaves M.: Chronic urticaria. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2000, 105, 664—672.
34. Greaves M.W.: Pathophysiology of chronic urticaria. *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 2002, 127, 3-9.
35. Gryglewski R.J., Szczeklik A., Czerniawska-Mysik G.: Aspirin sensitivity: other drugs. *Ann. Intern. Med.*, 1975, 82, 286-287.
36. Grzelewska-Rzymowska I. (red.): Pokrzywka: atopowe zapalenie skóry. Warszawa 1998.
37. Grzelewska-Rzymowska I.: Serum neutrophil chemotactic activity (NCA) during aspirin-induced urticaria and angioedema. *Allergol. Immunopathol.*, 1988, 16, 231-236.
38. Grzelewska-Rzymowska I., Szmidt M., Grzegorzczak J., Ro niecki J.: Aktywno chemo-taktyczna surowicy dla granulocytów po aspirynie u chorych z pokrzywkowo-obrz kow postaci nadwra liwo ci na aspiryn znajduj cych si w stanie tolerancji na ten lek. *Pneumonol. Alergol. Pol.*, 1993, 61, 357-361.
39. Grzelewska-Rzymowska I., Szmidt M., Ro niecki J.: Pokrzywka z nadwra liwo ci na aspiryn ; studium kliniczne. *Pneumonol. Alergol. Pol.*, 1993, 61, 24—28.
40. Grzelewska-Rzymowska I., Szmidt M., Ro niecki J., Ruta U.: Zachowanie si inhibitora Cl esterazy u osób z pokrzywkowo-obrz kow postaci nadwra liwo ci na aspiryn . *Pneumonol. Alergol. Pol.*, 1993, 61, 352-357.
41. Hawkey C.J.: COX-2 inhibitors. *Lancet*, 1999, 353, 307-314.
42. Heise C.E., O'Dowd B.F., Figueroa D.J., Sawyer N., Nguyen T., Im D.-S., Stocco R., Bellefeuille J.N., Abramovitz M., Cheng R., Williams D.L. Jr, Zeng Z., Liu Q., Ma L., Clements M.K., Coulombe N., Liu Y., Austin C.P., George S.R., O'Neill G.P., Metters K.M., Lynch K.R., Evans J.F.: Characterization of the human cysteinyl leukotriene 2 receptor. *J. Biol. Chem.*, 2000, 275, 30531-30536.
43. Helgadóttir A., Manolescu A., Thorleifsson G., Gretarsdóttir S., Jonsdóttir H., Thorsteinsdóttir U., Samani N.J., Gudmundsson G., Grant S.F.A., Thorgeirsson G., Sveinbjornsdóttir S., Valdimarsson E.M., Matthiasson S.E., Johannsson H., Gudmundsdóttir O., Gurney M.E., Sainz J., Thorhallsdóttir M., Andresdóttir M., Frigge M.L., Topol E.J., Kong A., Gudnason V., Hakonarson H., Gulcher J.R., Stefansson K.: The gene encoding 5-lipoxygenase activating protein confers risk of myocardial infarction and stroke. *Nat. Genet.*, 2004, 36, 233-239.
44. Hide M., Francis D.M., Grattan C.E.H., Hakimi J., Kochan J.P., Greaves M.W.: Autoantibodies against the high-affinity IgE receptor as a cause of histamine release in chronic urticaria. *N. Engl. J. Med.*, 1993, 328, 1599-1604.
45. Higashi N., Taniguchi M., Mita H., Kawagishi Y., Ishii T., Higashi A., Osame M., Akiyama K.: Clinical features of asthmatic patients with increased urinary leukotriene E4 excretion (hyperleukotrienuria): Involvement of chronic hyperplastic rhinosinusitis with nasal polyposis. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2004, 113, 277-283.
46. Hirschberg J.: Mittheilung uber einen Fali von Nebenwirkung des Aspirin. *Dtsch Med. Wschr.*, 1902, 28, 416.
47. James J., Warin R.P.: Chronic urticaria: the effect of aspirin. *Br. J. Dermatol.*, 1970, 82, 204-205.
48. Jenkins C., Costello J., Hodge L.: Systematic review of prevalence of aspirin induced asthma and its implications for clinical practice. *Br. Med. J.*, 2004, 328, 434-437.
49. Johansson S.G.O., Hourihane J.O.B., Bousquet J., Brujnzeel-Koomen C., Droborg S., Haahtela T., Kowalski M.L., Mygind N., Ring J., van Cauwenberge P., van Hage-Hamsten M., Wuthrich B.: A revised nomenclature for allergy: an EAACI position statement from the EAACI nomenclature task force. *Allergy*, 2001, 56, 813-824.

50. Joint Task Force on Practice Parameters representing the American Academy of Allergy, Asthma and Immunology, the American College of Allergy, Asthma and Immunology and the Joint Council of Allergy, Asthma and Immunology: The diagnosis and management of urticaria: a practise parameter. *Ann. Allergy Asthma Immunol.*, 2000, 85, 532-544.
51. Kaplan A.P.: Clinical practice. Chronic urticaria and angioedema. *N. Engl. J. Med.*, 2002, 346, 175-179.
52. Kasper L., Śladek K., Duplaga M., Bochenek G., Liebhart J., Gładysz ŁJ., Małolepszy J., Szczeklik A.: Prevalence of asthma with aspirin hypersensitivity in the adult population of Poland. *Allergy*, 2003, 58, 1064-1066.
53. Katz Y., Goldberg N., Kivity S.: Localized periorbital edema induced by aspirin. *Allergy*, 1993, 48, 366-369.
54. Kikuchi Y., Kaplan A.P.: Mechanisms of autoimmune activation of basophils in chronic urticaria. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2001, 107, 1056-1062.
55. Kowalski M.L., Grzegorzczak J., Wojciechowska B., Poniatowska M.: Intranasal challenge with aspirin induces cell influx and activation of eosinophils and mast cells in nasal secretions of ASA-sensitive patients. *Clin. Exp. Allergy*, 1996, 26, 807-814.
56. Kowalski M.L., Grzelewska-Rzymowska I., Ro niecki J., Szmidi M.: Aspirin tolerance induced in aspirin-sensitive asthmatics. *Allergy*, 1984, 39, 171-178.
57. Kowalski M.L., Pawliczak R., Wozniak J., Siuda K., Poniatowska M., Iwaszkiewicz J., Kornatowski T., Kaliner M.A.: 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, 161, 391-398.
58. Kowalski M.L., Ptasicka A., Bienkiewicz B., Pawliczak R., DuBuske I.: Differential effects of aspirin and misoprostol on 15-hydroxyeicosatetraenoic acid generation by leukocytes from aspirin-sensitive asthmatic patients. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2003, 112, 505-512.
59. Krilis S., Gregson R.P., Basten A., Baldo B.A.: Investigation of the possible involvement of IgE anti-salicyloyl antibodies in patients with urticaria. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.*, 1981, 64, 293-301.
60. Kuehl F.A. Jr, Dougherty H.W., Ham E.A.: Interactions between prostaglandins and leukotrienes. *Biochem. Pharmacol.*, 1984, 33, 1-5.
61. Kumlin M., Dahlen B., Björck T., Zetterstrom O., Granstrom E., Dahlen S.-E.: 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, 146, 96-103.
62. Kumlin M., Stensvad F., Larsson L., Dahlen B., Dahlen S.-E.: Validation and application of a new simple strategy for measurements of urinary leukotriene E₄ in humans. *Clin. Exp. Allergy*, 1995, 25, 467-479.
63. Lam B.K., Penrose J.F., Freeman G.J., Austen K.F.: Expression cloning of a cDNA for human leukotriene C₄ synthase, an integral membrane protein conjugating reduced glutathione to leukotriene A₄. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1994, 91, 7663-7667.
64. Lam B.K., Penrose J.F., Rokach J., Xu K., Baldasaro M.H., Austen K.F.: Molecular cloning, expression and characterization of mouse leukotriene C₄ synthase. *Eur. J. Biochem.*, 1996, 238, 606-612.
65. Lynch K.R., O'Neill G.P., Liu Q., Im D.-S., Sawyer N., Metters K.M., Coulombe N., Abramovitz M., Figueroa D.J., Zeng Z., Connolly B.M., Bai C., Austin C.P., Chateaufort A., Stocco R., Greig G.M., Kargman S., Hooks S.B., Hosfield E., Williams D.L. Jr, Ford-Hutchinson A.W., Caskey C.T., Evans J.F.: Characterization of the human cysteinyl leukotriene CysLT₁ receptor. *Nature*, 1999, 399, 789-793.

66. MacDermot J., Kelsey C.R., Waddell K.A., Richmond R., Knight R.K., Cole P.J., Dollery C.T., Landon D.N., Blair I.A.: Synthesis of leukotriene B₄ and prostanoids by human alveolar macrophages: analysis by gas chromatography/mass spectrometry. *Prostaglandins*, 1984, 27, 163-179.
67. MacLagan T.J.: The treatment of acute rheumatism by salicylin. *Lancet*, 1876, 342-383.
68. Malolepszy J. (red.): Choroby alergiczne i astma. Wrocław, Volumed, 1996.
69. Marone G.: The role of mast cell and basophil activation in human allergic reactions. *Eur. Respir. J.*, 1989, Suppl. 6, 446s-455s.
70. Marone G., Lichtenstein L.M., Galli S.J.: Mast cells and basophils. San Diego, Academic Press, 2000.
71. Marquette C.H., Saulnier F., Leroy O., Wallaert B., Chopin C., Demaro J.M., Durocher A., Tonnel A.B.: Long-term prognosis for near fatal asthma. A 6-year follow-up study of 145 asthmatic patients who underwent mechanical ventilation for a near-fatal attack of asthma. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 1992, 146, 76-81.
72. Mastalerz L.: Astma aspirynowa: obraz kliniczny, patogeneza i leczenie. *Pol. Arch. Med. Wewn.*, 2004, 2, 251-257.
73. Mastalerz L., Gawlewicz-Mroccka A., Nizankowska E., Cmiel A., Szczeklik A.: Protection against exercise-induced bronchoconstriction by montelukast in aspirin-sensitive and aspirin-tolerant patients with asthma. *Clin. Exp. Allergy*, 2002, 32, 1360-1365.
74. Mastalerz L., Milewski M., Duplaga M., Nizankowska E., Szczeklik A.: Intranasal fluticasone propionate for chronic eosinophilic rhinitis in patients with aspirin-induced asthma. *Allergy*, 1997, 52, 895-900.
75. Mastalerz L., Nizankowska E.: Testy prowokacyjne donosowe. *Pneumonol. Alergol. Pol.*, 1996, 64, 229-234.
76. Mastalerz L., Nizankowska E., Sanak M., Mejza F., Pierzchalska M., Bazan-Socha S., Bestynska-Krypel A., Cmiel A., Szczeklik A.: Clinical and genetic features underlying the response of patients with bronchial asthma to treatment with a leukotriene receptor antagonist. *Eur. J. Clin. Invest.*, 2002, 32, 949-955.
77. Mastalerz L., Sanak M., Szczeklik A.: Pharmacological inhibitors of cysteinyl leukotrienes biosynthesis: therapeutic implications. *Curr. Med. Chem. Antiinflam. Antiallergy Agents*, 2004,3, 157-165.
78. Mastalerz L., Sanak M., Szczeklik A.: Serum interleukin-5 in aspirin-induced asthma. *Clin. Exp. Allergy*, 2001, 31, 1036-1040.
79. Mastalerz L., Setkowicz M., Sanak M., Szczeklik A.: Hypersensitivity to aspirin: common eicosanoid alterations in urticaria and asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2004, 113, 771-775.
80. 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, 101,581-586.
81. Mita H., Endoh S., Kudoh M., Kawagishi Y., Kobayashi M., Taniguchi M., Akiyama K.: Possible involvement of mast-cell activation in aspirin provocation of aspirin-induced asthma. *Allergy*, 2001,56, 1061-1067.
82. Moore-Robinson M., Warin R.P.: Effect of salicylates in urticaria. *Br. Med. J.*, 1967, 4, 262-264.
83. Nasser S., Christie P.E., Pfister R., Sousa A.R., Walls A., Schmitz-Schumann M., Lee T.H.: Effect of endobronchial aspirin challenge on inflammatory cells in bronchial biopsy samples from aspirin-sensitive asthmatic subjects. *Thorax*, 1996, 51, 64—70.
84. Nasser S.M., Lee T.H.: Leukotrienes and aspirin-sensitive asthma. W: Szczeklik A., Gryglewski R.J., Vane J. (red.): Eicosanoids, aspirin and asthma. New York, Marcel Dekker, 1998,317-333.

85. Nettis E., Di P.R., Ferrannini A., Tursi A.: Tolerability of Rofecoxib in patients with cutaneous adverse reactions to nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 2002, 88, 331-334.
86. Niimi N., Francis D.M., Kermani F., O'Donnell B.F., Hide M., Kobza A., Winkelmann R.K., Greaves M.W., Barr R.M.: Dermal mast cell activation by autoantibodies against the high affinity IgE receptor in chronic urticaria. *J. Invest. Dermatol.*, 1996, 106, 1001-1006.
87. Ni ankowska E., Besty ska-Krypel A., Cmiel A., Szczeklik A.: Oral and bronchial provocation tests with aspirin for diagnosis of aspirin-induced asthma. *Eur. Respir. J.*, 2000, 15, 863-869.
88. Obata T., Nagakura T., Kammuri M., Masaki T., Maekawa K., Yamashita K.: Determination of 9 alpha, 11 beta-prostaglandin F₂ in human urine and plasma by gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. B. Biomed. Appl.*, 1994, 655, 173-178.
89. Oelz O., Oelz R., Knapp H.R., Sweetman B.J., Oates J.A.: Biosynthesis of prostaglandin D₂. 1. Formation of prostaglandin D₂ by human platelets. *Prostaglandins*, 1977, 13, 225-2'34.
90. O'Sullivan S., Dahlen B., Dahlen S.-E., Kumlin M.: Increased urinary excretion of the prostaglandin D₂ metabolite 9a, 11 p-prostaglandin F₂ after aspirin challenge supports mast cell activation in aspirin-induced airway obstruction. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1996, 98, 421—432.
91. Pacor M.L., Di Lorenzo G., Biasi D., Barbagallo M., Corrocher R.: Safety of rofecoxib in subjects with a history of adverse cutaneous reactions to aspirin and/or non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Clin. Exp. Allergy*, 2002, 32, 397-400.
92. Pavord I.D., Tattersfield A.E.: Bronchoprotective role for endogenous prostaglandin E₂. *Lancet*, 1995, 345, 436-438.
93. Pierzchalska M., Mastalerz L., Sanak M., Zazula M., Szczeklik A.: A moderate and unspecific release of cysteinyl leukotrienes by aspirin from peripheral blood leucocytes precludes its value for aspirin sensitivity testing in asthma. *Clin. Exp. Allergy*, 2000, 30, 1785-1791.
94. Pierzchalska M., Szabó Z., Sanak M., Soja J., Szczeklik A.: Deficient prostaglandin E₂ production by bronchial fibroblasts of asthmatic patients, with special reference to aspirin-induced asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2003, 111, 1041-1048.
95. Ptak W., Ptak M.: Podstawy immunologii. Kraków, Wyd. UJ, 1999.
96. Quiralte J., Saenz de San Pedro B., Florido J.J.F.: Safety of selective cyclooxygenase-2 inhibitor rofecoxib in patients with NSAID-induced cutaneous reactions. *Ann. Allergy Asthma Immunol.*, 2002, 89, 63-66.
97. Raud J., Dahlen S.-E., Sydbom A., Lindbom L., Hedqvist P.: Enhancement of acute allergic inflammation by indomethacin is reversed by prostaglandin E₂: apparent correlation with in vivo modulation of mediator release. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1988, 85, 2315-2319.
98. Robinson D.S., Campbell D., Barnes P.J.: Addition of leukotriene antagonists to therapy in chronic persistent asthma: a randomised double-blind placebo-controlled trial. *Lancet*, 2001, 357, 2007-2011.
99. Rogala E. (red.): Zarys alergologii klinicznej. Katowice, AM, 1994.
100. Rudzki E., Rebandel P.: Skuteczno diety aspirynowej. *Przegl. Dermatol.*, 2000, 1, 19-21.
101. Sabroe R.A., Fiebiger E., Francis D.M., Maurer D., Seed P.T., Stat C., Grattan C.E.H., Kobza Black A., Stingl G., Greaves M.W., Barr R.M.: Classification of anti-FceRI and anti-IgE autoantibodies in chronic idiopathic urticaria and correlation with disease severity. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2002, 110, 492-499.
102. Sabroe R.A., Grattan C.E.H., Francis D.M., Barr R.M., Kobza Black A., Greaves M.W.: The autologous serum skin test: a screening test for autoantibodies in chronic idiopathic urticaria. *Br. J. Dermatol.*, 1999, 140, 446-452.
103. Sampson A.P., Cowburn A.S., Sładek K., Adamek L., Ni ankowska E., Szczeklik A., Lam B.K., Penrose J.F., Austen K.F., Holgate S.T.: Profound overexpression of leukotriene C₄

- synthase in bronchial biopsies from aspirin-intolerant asthmatic patients. *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 1997, 113, 355-357.
104. Sampson A.P., Siddiqui S., Buchanan D., Howarth P.H., Holgate S.T., Holloway J.W., Sayers I.: Variant LTC₄ synthase allele modifies cysteinyl leukotriene synthesis in eosinophils and predicts clinical response to zafirlukast. *Thorax*, 2000, 55, S28-S31.
 105. Samter M., Beers R.F. Jr: Intolerance to aspirin: clinical studies and consideration of its pathogenesis. *Ann. Intern. Med.*, 1968, 68, 975-983.
 106. Sanak M.: Zmienne genetyczna syntazy leukotrienu C₄ w astmie oskrzelowej. Rozprawa habilitacyjna, Kraków 2001.
 107. Sanak M., Levy B.D., Clish C.B., Chiang N., Gronert K., Mastalerz L., Serhan C.N., Szczeklik A.: Aspirin-tolerant asthmatics generate more lipoxins than aspirin-intolerant asthmatics. *Eur. Respir. J.*, 2000, 16, 44-49.
 108. Sanak M., Pierzchalska M., Bazan-Socha S., Szczeklik A.: Enhanced expression of the leukotriene C₄ synthase due to overactive transcription of an allelic variant associated with aspirin-intolerant asthma. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 2000, 23, 290-296.
 109. Sanak M., Sampson A.P.: Biosynthesis of cysteinyl-leukotrienes in aspirin-intolerant asthma. *Clin. Exp. Allergy*, 1999, 29, 306-313.
 110. Sanak M., Simon H.-U., Szczeklik A.: Leukotriene C₄ synthase promoter polymorphism and risk of aspirin-induced asthma. *Lancet*, 1997, 350, 1599-1600.
 111. Sanak M., Szczeklik A.: Leukotriene C₄ synthase polymorphism and aspirin-induced asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2001, 107, 561-562.
 112. Sanchez-Borges M., Capriles-Hulett A., Caballero-Fonseca F., Pérez C.R.: Tolerability to new COX-2 inhibitors in NSAID-sensitive patients with cutaneous reactions. *Ann. Allergy Asthma Immunol.*, 2001, 87, 201-204.
 113. Sayers I., Barton S., Rorke S., Beghé B., Hayward B., Van Eerdewegh P., Keith T., Clough J.B., Ye S., Holloway J.W., Sampson A.P. and Holgate S.T.: Allelic association and functional studies of promoter polymorphism in the leukotriene C₄ synthase gene (LTC4S) in asthma. *Thorax*, 2003, 58, 417-424.
 114. Schrör K., Smith III E.F.: Dictionary of prostaglandins and related compounds. München, Medikon Veri., 1990.
 115. Sestini P., Armetti L., Gámbaro G., Pieroni M.G., Refini R.M., Sala A., Vaghi A., Folco G.C., Bianco S., Robuschi M.: Inhaled PGE₂ prevents aspirin-induced bronchoconstriction and urinary LTE₄ excretion in aspirin-sensitive asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 1996, 153, 572-575.
 116. Setkowicz M., Mastalerz L., Szczeklik A.: Aspiryna, eikozanoidy i przewlekła pokrzywka idiopatyczna. *Przegl. Dermatol.*, 2003, 3/90, 159-167.
 117. Simmons D.L., Levy D.B., Yannoni Y., Erickson R.L.: Identification of a phorbol ester-repressible v-src-inducible gene. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1989, 86, 1178-1182.
 118. Simon L.S.: Role and regulation of cyclooxygenase-2 during inflammation. *Am. J. Med.*, 1999, 106, 37S-42S.
 119. Sladek K., Dworski R., Soja J., Sheller J.R., Ni ankowska E., Oates J.A., Szczeklik A.: Eicosanoids in bronchoalveolar lavage fluid of aspirin-intolerant patients with asthma after aspirin challenge. *Jw. J. Respir. Crit. Care Med.*, 1994, 149, 940-946.
 120. Smith C.M., Hawksworth R.J., Thien F.C.K., Christie P.E., Lee T.H.: Urinary leukotriene E₄ in bronchial asthma. *Eur. Respir. J.*, 1992, 5, 693-699.
 121. Soter N.A., Lewis R.A., Corey E.J., Austen K.F.: Local effects of synthetic leukotrienes (LTC₄, LTD₄, LTE₄, LTB₄) in human skin. *J. Investig. Dermatol.*, 1983, 80, 115-119.
 122. Stevenson D.D., Sanchez-Borges M., Szczeklik A.: Classification of allergic and pseudoallergic reactions to drugs that inhibit cyclooxygenase enzymes. *Ann. Allergy Asthma Immunol.*, 2001, 87, 177-180.

123. Stevenson D.D., Simon R.A.: Lack of cross-reactivity between rofecoxib and aspirin in aspirin-sensitive patients with asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2001, 108, 47-51.
124. Stevenson D.D., Simon R.A.: Sensitivity to aspirin and nonsteroidal antiinflammatory drugs. W: Middleton E. Jr, Reed C.E., Ellis E.F., Adkinson N.F. Jr, Yunginger J.W., Busse W.W. (red.): *Allergy: principles and practice*. T. 2. Wyd. 4. St Louis, Mosby, 1993, 1747-1765.
125. Stone E.: An account of the success of the bark of the willow in the cure of the agues. *Philos. Trans. R. Soc. Lond.*, 1763, 53, 195-200.
126. Szczeklik A.: Aspirin-induced asthma as a viral disease. *Clin. Allergy*, 1988, 18, 15-20.
127. Szczeklik A.: Prostaglandin E₂ and aspirin-induced asthma. *Lancet*, 1995, 345, 1056.
128. Szczeklik A.: The cyclooxygenase theory of aspirin-induced asthma. *Eur. Respir. J.*, 1990, 3, 588-593.
129. Szczeklik A., Dworski R., Mastalerz L., Prokop A., Sheller J.R., Ni ankowska E., Cmiel A., Oates J.A.: Salmeterol prevents aspirin-induced attacks of asthma and interferes with eicosanoid metabolism. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 1998, 158, 1168-1172.
130. Szczeklik A., Gryglewski R.J., Czerniawska-Mysik G.: Relationship of inhibition of prostaglandin biosynthesis by analgesics to asthma attacks in aspirin-sensitive patients. *Br. Med. J.*, 1975, 1, 67-69.
131. Szczeklik A., Mastalerz L., Ni ankowska E., Cmiel A.: Protective and bronchodilator effects of prostaglandin E and salbutamol in aspirin-induced asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 1996, 153, 567-571.
132. Szczeklik A., Mastalerz L., Ni ankowska E., Sanak M.: Montelukast for persistent asthma. *Lancet*, 2001, 358, 1456-1457.
133. Szczeklik A., Musiał J., Pulka G.: Autoimmune vasculitis and aortic stenosis in aspirin-induced asthma (AIA). *Allergy*, 1997, 52, 352-354.
134. Szczeklik A., Ni ankowska E., Bochenek G., Nagraba K., Mejza F., Wierczyńska M.: Safety of a specific COX-2 inhibitor in aspirin-induced asthma. *Clin. Exp. Allergy*, 2001, 31, 219-225.
135. Szczeklik A., Ni ankowska E., Duplaga M.: Natural history of aspirin-induced asthma. AIANE Investigators. European Network on Aspirin-Induced Asthma. *Eur. Respir. J.*, 2000, 16, 432-436.
136. Szczeklik A., Ni ankowska E., Mastalerz L., Bochenek G.: Myocardial ischemia possibly mediated by cysteinyl leukotrienes. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2002, 109, 572-573.
137. Szczeklik A., Ni ankowska E., Mastalerz L., Szabo Z.: Analgesics and asthma. *Am. J. Ther.*, 2002, 9, 233-243.
138. Szczeklik A., Ni ankowska E., Sanak M.: New insights into the pathogenesis and management of aspirin-induced asthma. C/w. *Asthma Rev.*, 1998, 2, 79-86.
139. Szczeklik A., Ni ankowska E., Sanak M., Mastalerz L., Bazan-Socha S.: Leukotrienes and antileukotriene drugs in bronchial asthma with special reference to aspirin intolerance. *Eur. Respir. Rev.*, 2000, 10, 280-282.
140. Szczeklik A., Ni ankowska E., Serafin A., Dyczek A., Duplaga M., Musiał J.: Autoimmune phenomena in bronchial asthma with special reference to aspirin intolerance. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 1995, 152, 1753-1756.
141. Szczeklik A., Schmitz-Schumann M., Ni ankowska E., Milewski M., Roehlig F., Virchow C.: Altered distribution of IgG subclasses in aspirin-induced asthma: high IgG4, low IgG1. *Clin. Exp. Allergy*, 1992, 22, 283-287.
142. Szczeklik A., Śladek K., Dworski R., Ni ankowska E., Soja J., Sheller J., Oates J.: Bronchial aspirin challenge causes, specific eicosanoid response in aspirin-sensitive asthmatics. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1996, 154, 1608-1614.
143. Szczeklik A., Stevenson D.D.: Aspirin-induced asthma: advances in pathogenesis, diagnosis, and management. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2003, 111, 913-921.

144. Torres-Galvan M.J., Ortega N., Sanchez-Garcia F., Blanco C., Carillo T., Quiralte J.: LTC₄-synthase A-444C polymorphism: lack of association with NSAID-induced isolated periorbital angioedema in a Spanish population. *Ann. Allergy Asthma Immunol.*, 2001, 87, 506-510.
145. Vane J.R., Botting R.M.: The history of aspirin. W: Vane J.R., Botting R.M. (red.): Aspirin and other salicylates. London, Chapman & Hall Medical, 1992, 3-16.
146. Vane J.R.: Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. *Nature New Biol.*, 1971, 231, 232-235.
147. Van Sambeek R., Stevenson D.D., Baldasaro M., Lam B.K., Zhao J., Yoshida S., Yandora C., Drazen J.M., Penrose J.F.: 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, 106, 72-76.
148. Warin R.P.: The effects of aspirin in chronic urticaria. *Br. J. Dermatol.*, 1960, 72, 350-351.
149. Weltman J.K., Szaro R.P., Settupane G.A.: An analysis of the role of IgE in intolerance to aspirin and tartrazine. *Allergy*, 1978, 33, 273-281.
150. Whelan G.J., Blake K., Kissoon N., Duckworth L.J., Wang J., Sylvester J.E., Lima J.J.: Effect of montelukast on time-course of exhaled nitric oxide in asthma: Influence of LTC₄ Synthase A-⁴⁴⁴C polymorphism. *Pediatr. Pulmonol.*, 2003, 36, 413-420.
151. Wickelgren I.: Heart disease: gene suggests asthma drugs may ease cardiovascular inflammation. *Science*, 2004, 303, 941.
152. Widal F., Abrami P., Lermoyez J.: Anaphylaxie et idiosyncrasie. *Press Medical*, 1922, 30, 189-193.
153. Wierzuchowski M.: Do ylne stosowanie peptonu w dychawicy oskrzelowej. *Pol. Arch. Med. Wewn.*, 1925, 2, 42-76.
154. Zembowicz A., Mastalerz L., Setkowicz M., Radziszewski W., Szczeklik A.: Histological spectrum of cutaneous reactions to aspirin in chronic idiopathic urticaria. *J. Cutan. Pathol.*, 2004, 31, 323-329.
155. Zembowicz A., Mastalerz L., Setkowicz M., Radziszewski W., Szczeklik A.: Safety of cyclooxygenase 2 inhibitors and increased leukotriene synthesis in chronic idiopathic urticaria with sensitivity to nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Arch. Dermatol.*, 2003, 139, 1577-1582.

VNIV, A.A. | afcU⁺
CHACO⁺IENSIS

ISBN 83-233-1928-6



9 788323 1319283