

Astım Tanısında Biomarkırlar

Biomarkers in Asthma Diagnosis

Dr. Emel KURT

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, Eskişehir

ÖZET

Astımın hem teşhis hem de takibinde kullanılacak özel serum biyomarkırı yoktur. Havayollarında eozinofil sayısı ile eozinofil ürünü olan nitrik oksit, oksidatif stres ürünleri, sitokin ve sisteinil lökotrienler ile daha çok klinik ciddiyet takibi yapılabilmektedir. Havayollarında biyomarkır çalışması özel teknik, laboratuvar ve finans gerektirmesi nedeniyle rutin kullanımdan uzaktır. Ancak özel çalışma amaçlı kullanılabilirler.

Anahtar Kelimeler: Astım, tanı, biyomarkır

SUMMARY

There is no specific serum biomarker to use in diagnosis and follow-up of asthmatic patients. Particularly clinical severity can be followed-up with the help of eosinophil numbers and their products nitric oxide, oxidative burst products, cytokines and cysteinil leukotriens in the airways. Due to the requirement of special technical, laboratory and financial support studies of airways biomarkers are remote from rutin use. However, they can be used for some special investigations.

Keywords: Asthma, diagnosis, biomarkers

Yazışma Adresi / Address for Correspondence

Prof. Dr. Emel KURT
Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, Eskişehir

e-posta: dremelkurt@yahoo.com

DOI: 10.5152/gghs.2015.046

Güncel Göğüs Hastalıkları Serisi 2015; 3 (2): 164-168

GİRİŞ

Astım genel tanım olarak epizodik geri dönüşümlü havayolu daralması ile seyreden kronik havayolu inflamasyonu olarak tanımlanmaktadır. Astım tanısı klinik olarak uyumlu semptomlarla beraber akciğer fonksiyonlarındaki değişikliklerle tanımlanır. Astımın tanısının en temel özelliği olan havayolu inflamasyonunun özelliklerinden faydalanılarak gösterilmesine yönelik çalışmalar son yıllarda giderek daha fazla yer almaktadır. Klinik özelliklerin ortaya konularak yapıldığı tanı ve tedavi takibi çalışmalarına ek olarak astım tanısında daha objektif ölçülebilen inflamatuvar belirteçlerin ortaya konulmasına yönelik çalışmaların sıklığı giderek artmaktadır. Astımın tanı ve takibinde kullanılan inflamatuvar belirteçler temelde havayollarında ölçülmekle beraber diğer vücut örneklerinde yapılan çalışmalar da vardır. Aşağıda bu biyomarkırların değişik örneklerdeki çalışmalarına yer verilmektedir.

KANDA BİOMARKIRLAR VE ASTIM

Kanda eozinofil ve IgE, yıllardan beri çalışılan ölçümü basit markırlar olarak yer almaktadır. Serum IgE seviyesi sadece astım değil allerjik rinit, gıda allerjisi ve allerjik cilt hastalıkları gibi birçok allerjik hastalıkta artış göstermektedir⁽¹⁾. Serum total IgE seviyesi allerjik hastalıklar dışında parazitik enfestasyonlar başta olmak üzere birçok hastalıkta da artabileceği için tanıda kullanımı kısıtlanmaktadır. Bununla beraber Allerjik Bronkopulmoner Aspergillozis fenotipinde tanı ve tedavi takibinde kullanımı önemli hale gelmektedir⁽²⁾. Serum total IgE seviyesinin ölçümü bunun dışında astım fenotiplerini ayırmada yetersiz görünmektedir. Serum total IgE seviyesi astımın klinik ciddiyeti ile daha çok ilgili görünmektedir. Ancak bu da tüm astım fenotiplerinde ve her zaman işe yaramamaktadır.

Allerjen spesifik IgE ölçümü allerjik fenotipi ayırmada daha yararlı görünmektedir. Allerjen spesifik IgE'nin gösterilmesi allerji deri testleri ile yapılabileceği gibi serum spesifik IgE de gösterilmektedir.

Astımın en sık görülen fenotipi eozinofilik astım tanısına kan eozinofil sayısı ile ulaşılamamaktadır. Kanda eozinofil seviyeleri değişiklik göstermektedir. Kanda eozinofil artışı astımda klinik ciddiyetle ilgili bulunmasına ve tedavi cevabı ile ilişkili bulunmasına rağmen tanıda kullanımı kısıtlıdır⁽³⁾.

Astımda en genel fenotipin eozinofilik astım olduğu düşünüldüğünde kanda eozinofillere ait belirteçlerin gösterilmesinin tanıda kullanılabilmesi düşünülebilir. Astımlılarda eozinofillerden kaynaklanan mediatörler ve bazı inflamatuvar sitokinlerle ilgili yapılan çalışmalarda klinik ciddiyet ve bazı fenotiplerle ilişkisine bakılmıştır. Bunların içinde en çok çalışılanlar serum

eozinofilik katyonik protein ve eozinofilik kaynaklı nörotoksin seviyesidir. Bu markırların serumda artışı astımda klinik ciddiyet ile ilişkili bulunmuştur^(4,5).

Astımlılarda serumda diğer inflamatuvar belirteçler de çalışılmıştır. Allerjik astım fenotipinde patogeneze önemli rolü olan Th-17 hücreler ve bunun sitokin göstergesi olan IL-23'ün serumda allerjik astımlılarda artmış olduğu, bu artışın FEV₁ ile ilişkisi gösterilmiştir⁽⁶⁾.

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda serum belirteçlerinden eozinofilik inflamasyonla en ilişkili bulunanın serum periostin seviyesi olduğu gösterilmiştir⁽⁷⁾. Serum periostin seviyesi yıllık FEV düşüşü ile ilişkili ve önemli bir prognostik etmen olarak bildirilmektedir⁽⁷⁾. Serum periostin seviyeleri serum ve balgamda eozinofil sayısı ile IgE seviyesi ile de ilişkili bulunmuştur⁽⁸⁾.

Osteopontin astımlılarda inflamatuvar markır olarak çalışılmış bir diğer parametredir. Serum osteopontin seviyesi astımlılarda klinik ciddiyetle ilişkili bulunmuştur⁽⁹⁾. Ancak serum periostin seviyesi astım kliniği ile daha fazla ilişkili bir parametre olarak kabul edilmektedir⁽¹⁰⁾.

HAVAYOLLARINDA BİOMARKIRLAR VE ASTIM

Astımın en sık görülen fenotipi olan eozinofilik astım tipi havayollarında eozinofil artışının gösterilmesi ile konulmaktadır. Astımda havayollarında eozinofil artışı olduğu bu artışın klinikle uyumlu olduğu uzun süredir bilinmektedir⁽¹¹⁾. Eozinofilik astım fenotipi için balgamda %3 üzerinde eozinofil görülmesi ile tanı konulmaktadır⁽¹²⁾.

Astımlı hava yollarında eozinofilik inflamasyonun göstergelerinden birisi nitrik oksittir. Nitrik oksitin eksale edilen soluk havasında ölçümü ile ilgili çalışmalar son yıllarda giderek artmaktadır. Soluk havasında nitrik oksit seviyesi havayollarındaki eozinofil sayısı, klinik semptomlar ve steroid cevabı ile ilişkili bulunmuştur^(13, 14). Nitrik oksit metabolizmasının ürünleri olan nitrit ve nitrat seviyelerinin eksale soluk havasında artışı astımlılarda klinik ciddiyetle ve atopi ile ilişkili görülmektedir^(15, 16).

Astımlı hastalarda hava yollarındaki inflamasyonun diğer bir göstergesi oksidatif stres mekanizması ürünleri olan H₂O₂, 8-izoprostan, malondialdehit ve lipid peroksidasyon ürünü olan tiyobarbitürik asit reaktif ürünleri astımlılarda klinik ciddiyetle ilişkilidir⁽¹⁷⁾.

Eksale soluk havasının pH'nın asidik tarafa kayması hava yolu inflamasyonunda görülmektedir. Astımlılarda pH klinik olarak ciddi astım ve atakta asidik olarak yer değiştirmektedir. Takip parametresi olarak faydalı ve basit bir parametre olarak görülmektedir^(16, 17). Astımlılarda havayolu inflamasyonunu göstermede eksale nitrik oksit ve atakla ilişkili bir belirteç olarak

kullanılabileceği bildirilmesine rağmen rutinde kullanılması için henüz erken gibi görünmektedir⁽¹⁷⁾.

Eksale soluk havasında astımlılarda hava yolu inflamatuvar hücrelerinden kaynaklanan sitokinler de çalışılmıştır. Bu sitokinlerin en önemlileri IL-4, IL-8, IL-17, RANTES, TNF-alfa, TGF-beta ve eotaksin gibi sitokinler de astımlılarda artmış bulunmuştur⁽¹⁸⁾. Bunların içinde RANTES ve eotaksin klinik ciddiyetle ve pulmoner fonksiyonlarla ilişkisi daha belirgin görünmektedir^(19, 20).

Bunun dışında eksale soluk havasında adenozin seviyesinde artış astımda egzersizle tetiklenen astım fenotipinde ayırt edici özelliğe sahip görünmektedir⁽²¹⁾.

Araşidonik asit metabolizmasının ürünleri olan prostaglandinler, tromboksanlar ve sisteinil lökotrienler de astımlılarda eksale soluk havasında çalışılmıştır. Bu sisteinil lökotrienler özellikle LTC4, LTD4 ve LTE4 astımda hava yolu inflamasyonu ile ilişkili olup, özellikle egzersizle tetiklenen astım ve aspirinle tetiklenen astım fenotipinde klinik uyumlu bulunmuştur⁽²²⁻²⁴⁾. Sisteinil lökotrienlerden potent bir mediatör olan LTE4'ün eksale edilen havada artmış olması astımlılarda bronş aşırı duyarlılığı ile ilişkili bulunmuştur⁽²⁵⁾.

Bir nötrofil kemoatraktanı olan LTB4 astımlılarda eksale soluk havası örneklerinde artmış olarak bulunmuştur⁽²⁶⁾. Eksale edilen soluk havasında ölçülen sisteinil lökotrien ve LTB4 seviyelerinin astımlılarda klinik ciddiyet ile korele olduğu da tespit edilmiştir⁽²⁷⁾.

Vücutta en fazla bulunan prostanoid PGE2'dir. PGE2 inflamasyonda rol alan önemli bir mediatördür, epitel-endotel- düz kas hücreleri ile monosit ve makrofajlardan kaynaklanır. PGE2 hem inflamatuvar hem de antiinflamatuvar etkileri olan bir mediatördür. Astımlılarda bronkokonstriksiyonu düzelttiğini gösteren çalışmaların tersine inflamatuvar etkileri de olduğu belirtilen bir mediatördür^(28, 29). Özellikle alerjik fenotip astımda, astımlı olmayan atopiklerle kıyaslandığında eksale soluk havasında olduğunu gösteren çalışmalar vardır⁽³⁰⁾.

İNDÜKTE BALGAMDA BIOMARKIRLAR

Astımlılarda hava yollarındaki inflamasyonu ve bununla ilgili markırları ölçmenin bir yolu invaziv girişimler olan bronş biyopsisi veya bronkoalveoler lavaj (BAL) çalışmalarıdır. Bronş biyopsileri veya BAL çalışmaları ile hava yollarındaki inflamatuvar hücreleri göstermek, sayısını tespit etmek, BAL ile çözünebilir markırları ölçmek mümkündür^(31, 32). Ancak bu işlemlerin rutin klinikte kullanımı hem zor hem de bronkoscopi işleminin kendisi astımlı hastalarda sıkıntı verici olmaktadır. Bunun yerine hava yolu inflamasyonunu değerlendirmede indükte balgam örneklerinin hücre analizi ile balgam süpernatantında bakılan sito-

kin ve mediatör seviyeleri ile de bilgi edinilmektedir. İndükte balgam hücre incelemesi ile astım fenotiplerinin ayırt edilmesi tekniğin önemini arttırmaktadır. Astımda indükte balgamda hücre incelemesi ile eozinofilik, nötrofilik, miks tip ve pauci-granülositik alt fenotip ayrımı yapılması imkanı olmaktadır⁽³³⁾. Eozinofilden zengin inflamasyonu olan olguların steroide iyi cevaplı olduğu ve hücre incelemesinin prognozu da belirleyebileceği bilinmektedir⁽³⁴⁾.

İndükte balgam süpernatantlarında en çok çalışılan belirteçlerden birisi eozinofillerin granül ürünleri olan eozinofilik katyonik protein (ECP)'dir. ECP çok çalışılmasına rağmen astım tanısı için spesifik bir markır olarak görülmemektedir. Hava yolu inflamasyonu ile korele olmakla beraber bronş aşırı duyarlılığı ile ilişkili görünmemektedir⁽³⁵⁾. Diğer alerjik hastalıklarda da yüksek olabileceğinden astım tanısı için diyagnostik kabul edilmemektedir. Ancak tanı hastalarda tedavi takibi için kullanılması önerilmektedir⁽³⁵⁾.

Astımda Th-2 tipi inflamasyonun önemli göstergesi olan IL-13 astımlıların indükte balgamında kontrolü zor olun grupta daha fazla tespit edilmiştir⁽³⁶⁾. IL-13'ün astım ve alerjik inflamasyon patogenezinde önemli rolü olduğu bilinmesine rağmen astım tanısında kullanılması günümüzde söz konusu değildir. Astımlılarda indükte balgam süpernatantlarında astımlılarda normal kişilerle kıyaslandığında ECP, IL-4, IL-5, TNF-alfa, IL-6 ve IL-12 gibi sitokinler de çalışılmış olup daha yüksek seviyelerde olduğu belirtilmiştir⁽¹⁸⁾. Ancak bu tetkiklerin tanı amaçlı kullanımı yine uzak gibi görünmektedir.

Astımlı hastalarda indükte balgam örneklerinde eozinofil sayısı LTD4 ve LTE4 seviyeleri ile korelasyon göstermektedir ve inflamasyonu belirleyebileceği belirtilmektedir⁽³⁷⁾. Aspirin duyarlı astım fenotipi olan astımlılarda ise indükte balgamda LTD4, LTE4 ve PGD2 seviyeleri daha yüksek bulunmuştur⁽³⁷⁾. Aynı araştırmacılar aspirinle bronşiyal provokasyon uyguladıkları hastalarda, provokasyon sonrası obstrüksiyon gelişen hastalarda PGE2 seviyesinde düşme, LTD4 ve LTE4 seviyelerinde artış olduğunu göstermişler, aspirin duyarlı astımda gelişen bronş daralmasının bu araçlarla ortaya çıktığını öne sürmüşlerdir. Çalışmanın sonucuna göre, indükte balgamda eikozanoid seviyelerinin aspirin ile tetiklenen bronş daralmasını belirleyebileceği tahmin edilmektedir.

İDRARDA BIOMARKIRLAR

Astımlılarda havayolu inflamasyonunun önemli göstergeleri olan lökotrien seviyeleri idrarda da noninvaziv olarak ölçülebilmektedir. Üriner LTE4 seviyesi sisteinil lökotrien aktivitesinin göstergesidir. Astımlı hastalarda akciğer fonksiyonları ile korele olduğu belirtilmiştir⁽³⁸⁾. İdrarda LTE4 seviyeleri astım ataklarının

da, aspirin ve alerjen provokasyon testlerinden sonra artmaktadır⁽³⁹⁾.

SONUÇ

1. Astımda serum, eksale hava veya indükte balgamda bakılan biomarkırların tanıda kullanımı günümüzde gerek uygulama sorunları, standardizasyonlarının olmayışı ve pahalı oluşları nedeniyle rutinde kullanımdan uzaktır.
2. Balgamda eozinofil sayısı eozinofilik fenotip tanısında, spesifik IgE tespitleri alerjik fenotip tanısında önem kazanmaktadır.
3. Biomarkırlar daha çok özel takip çalışmalarında kullanılabilirler.

KAYNAKLAR

1. Gould HJ, Sutton BJ. IgE in allergy and asthma today. *Nat Rev Immunol* 2008; 8: 205-17.
2. Soubani AO, Chandrasekar PH. Spectrum of pulmonary aspergilosis. *Chest* 2002; 121: 1988-99.
3. Szefer SJ, Wenzel S, Brown R, Erzurum SC, Fahy JV, Hamilton RG, et al. Asthma outcomes: biomarkers. *J Allergy Clin Immunol* 2012; 129: 9-23.
4. Kim CK, Callaway Z, Fletcher R, Koh YY. Eosinophil derived neurotoxin in childhood asthma: correlation with disease severity. *J Asthma* 2010; 47: 568-73.
5. Venge P, Bystrom J, Carlson M, Håkansson L, Karawajczyk M, Peterson C, et al. Eosinophil cationic protein (ECP): molecular and biological properties and the use of ECP as a marker of eosinophil activation in disease. *Clin Exp Allergy* 1999; 29: 1172-86.
6. Ciprandi G, Cuppari C, Salpietro Am, Tosca MA, Rigoli L, Grasso L, et al. Serum IL-23 strongly and inversely correlates with FEV1 in asthmatic children. *In Arch Allergy Immunol* 2012; 159: 183-6.
7. Kanemitsu, Y, Matsimoto H, Izuhara K, Tohda Y, Kita H, Horiguchi T, et al. Increased periostin associates with greater airflow limitation in patients receiving inhaled corticosteroids. *J Allergy Clin Immunol* 2013; 132: 305-12.
8. Jia G, Erickson RW, Choy DF, Mosesova S, Wu LC, Solberg OD, et al; Bronchoscopic Exploratory Research Study of Biomarkers in Corticosteroid-refractory Asthma (BOBCAT) Study Group. Periostin is a systemic biomarker of eosinophilic airway inflammation in asthmatic patients. *J Allergy Clin Immunol* 2012; 130: 647-54.
9. Takahashi A, Kurokawa M, Konno S, Ito K, Kon S, Ashino S, et al. Osteopontin is involved in migration of eosinophils in asthma. *Clin Exp Allergy* 2009; 39: 1152-9.
10. Kim MA, Shin YS, Pham LD, Park HS. Adult asthma biomarkers. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2014; 14: 49-54.

11. Bousquet j, Chanez P, Lacoste JY, Barnéon G, Ghavanian N, Enander I, et al. Eosinophilic inflammation in asthma. *N Eng J Med* 1990; 323: 1033-9.
12. Green RH, Brightling CE, Mc Kenna S, Hargadon B, Parker D, Bradding P, et al. Asthma exacerbations and sputum eosinophil counts; a randomised controlled trial. *Lancet* 2002; 360: 1715-21.
13. Smith AD, Cowan JO, Brassett KP, Filsell S, McLachlan C, Monti-Sheehan G, et al. Exhaled nitric oxide: a predictor of steroid response. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 172: 453-9.
14. Berry MA, Shaw DE, Green RH, Brightling CE, Wardlaw AJ, Pavord ID. The use of exhaled nitric oxide concentration to identify eosinophilic airway inflammation: an observational study in adults with asthma. *Clin Exp Allergy* 2005; 35: 1175-9.
15. Ganas K, Loukides S, Papatheodorou G, Panagou P, Kallogeropoulos N. Total nitrite/nitrate in expired breath condensate of patients with asthma. *Respir Med* 2001; 95: 649-54.
16. Ratnawati R, Morten J, Henry RL, Thomas PS. Exhaled breath condensate nitrite/nitrate and pH in relation to pediatric asthma control and exhaled nitric oxide. *Pediatr Pulmonol* 2006; 41: 929-36.
17. Kostikas K, Koutsokera A, Papiris S, Gourgoulis KI, Loukides S. Exhaled breath condensate in patients with asthma: implications for application in clinical practice. *Clin Exp Allergy* 2008; 38: 557-65.
18. Fatemi F, Sadroddiny E, Gheibi A, Mohammadi Farsani T, Kardar GA. Biomolecular markers in assessment and treatment of asthma. *Respirology* 2014; 19: 514-23.
19. Robroeks CM, Jobsis Q, Damoiseaux JG, Heijmans PH, Rosias PP, Hendriks HJ, et al. Cytokines in exhaled breath condensate of children with asthma and cystic fibrosis. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2006; 96: 349-55.
20. Ko FW, Lou CY, Leung TF, Wong GW, Lam CW, Lai CK, et al. Exhaled breath condensate levels of eotaxin and macrophage derived cytokine in stable adult asthma patients. *Clin Exp Allergy* 2006; 36: 44-51.
21. Csoma Z, Huszar E, Vizi E, Vass G, Szabó Z, Herjavec I, et al. Adenosine level in exhaled breath increases during exercise induced bronchoconstriction. *Eur Respir J* 2005; 25: 873-8.
22. Antczak A, Montuschi P, Kharitonov S, Gorski P, Barnes PJ. Increased exhaled cysteinil leukotrienes and 8-isoprostane in aspirin induced asthma. *Am Respir Crit Care Med* 2002; 166: 301-6.
23. Baraldi E, Carraro S, Alinovi R, Pesci A, Ghio L, Bodini A, et al. Cysteinil leukotrienes and 8-isoprostane in exhaled breath condensate of children with asthma exacerbation. *Thorax* 2003; 58: 505-9.
24. Carraro S, Corradi M, Zancorato S, Alinovi R, Pasquale MF, Zacchello F, et al. Exhaled breath condensate cysteinyl leukotrienes are increased in children with exercise-induced bronchoconstriction. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 115: 764-70.

25. Shibata A, Katsunuma T, Tumikawa M, Tan A, Yuki K, Akashi K, et al. Increased leukotriene E4 in the exhaled breath condensate of children with mild asthma. *Chest* 2006; 130: 1718-22.
26. Montuschi P, Martello S, Felli M, Mondino C, Barnes PJ, Chiarotti M, et al. Liquid chromatography/ mass spectrometry analysis of exhaled leukotriene B4 in asthmatic children. *Respir Res* 2005; 6: 119.
27. Failla M, Crimi N, Vancheri C. Exhaled bronchial cysteinyl leukotrienes in allergic patients. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2007; 7: 25-31.
28. Pavord ID, Wisniewski A, Mather R, Wahedna I, Knox AJ, Tattersfield AE, et al. Effect of inhaled PGE2 on bronchial reactivity to sodium metabisulphite and methacholine in patients with asthma. *Thorax* 1991; 46: 633-7.
29. Sastre B, del Pozo V. Role of PGE2 in asthma and nonasthmatic bronchitis. *Med Inflamm* 2012; 2012: 645383.
30. Mondino C, Ciabattani G, Koch P, Pistelli R, Trové A, Barnes PJ, et al. Effects of inhaled corticosteroids on exhaled leukotrienes and prostanoids in asthmatic children. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 114: 761-7.
31. Baena-Cagnani CA, Rossi GA, Canonica GW. Airway remodeling in children: When does it start? *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2007; 7: 196-200.
32. Brightling CE, Symon FA, Birring SS, Bradding P, Pavord ID, Wardlaw AJ. Th2 cytokine expression in bronchoalveolar lavage fluid T lymphocytes and bronchial submucosa is a feature of asthma and eosinophilic bronchitis. *J Allergy Clin Immunol* 2002; 110: 899-905.
33. Simpson JL, Scott R, Boyle MJ, Gibson PG. Inflammatory subtypes in asthma: Assessment and identification using induced sputum. *Respirology* 2006; 11: 54-61.
34. Bacci E, Cianchetti S, Bartoli M, Dente FL, Di Franco A, Vagaggini B, et al. Low sputum eosinophils predict the lack of response to inhaled beclomethasone in symptomatic asthmatic patients. *Chest* 2006; 129: 565-72.
35. Koh GC, Shek LP, Goh DY, Van Bever H, Koh DS. Eosinophil cationic protein: is it useful in asthma? A systematic review. *Respir Med* 2007; 101: 696-705.
36. Saha SK, Berry MA, Parker D, Siddiqui S, Morgan A, May R, et al. Increased sputum and bronchial biopsy IL-13 expression in severe asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2008; 121: 685-91.
37. Mastalerz L, Celejewska-Wójcik N, Wójcik K, Gielicz A, Januszek R, Cholewa A, et al. Induced sputum eicosanoids during aspirin bronchial challenge of asthmatic patients with aspirin hypersensitivity. *Allergy* 2014; 69: 1150-9.
38. Green SA, Malice MP, Tanaka W, Tozzi CA, Reiss TF. Increase in urinary LTE4 levels in acute asthma: correlation with airflow limitation. *Thorax* 2004; 59: 100-4.
39. Daftern PJ, Muilenburg D, Hugli TE, Stevenson DD. Association of urinary LTE4 excretion during aspirin challenge with severity of respiratory responses. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 104: 559-64.