

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ- ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ
ΩΤΟΡΙΝΟΛΑΡΥΓΓΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ**

ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΑΝΑΠΛΗΡΩΤΗΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΓΕΩΡΓΙΟΣ ΒΕΛΕΓΡΑΚΗΣ

**Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΤΟΠΙΚΗΣ Ή ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΗΣ ΧΟΡΗΓΗΣΗΣ
ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΩΝ ΣΧΗΜΑΤΩΝ ΣΤΟ ΒΛΕΝΝΟΓΟΝΟ ΤΟΥ
ΜΕΣΟΥ ΩΤΟΣ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΠΡΟΚΛΗΣΗ IN VIVO ΦΛΕΓΜΟΝΗΣ**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

**ΘΕΟΓΝΩΣΙΑΣ Σ. ΧΕΙΜΩΝΑ
ΙΑΤΡΟΥ ΩΤΟΡΙΝΟΛΑΡΥΓΓΟΛΟΓΟΥ**

ΗΡΑΚΛΕΙΟ 2007

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

**Ε. ΧΕΛΙΔΟΝΗΣ
Γ. ΒΕΛΕΓΡΑΚΗΣ
Ι. ΠΑΝΑΓΙΩΤΙΔΗΣ**

**ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ
ΑΝΑΠΛΗΡΩΤΗΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ
ΕΠΙΚΟΥΡΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ**

ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

**Ε. ΧΕΛΙΔΟΝΗΣ
Ν. ΣΙΑΦΑΚΑΣ
Α. ΤΟΣΚΑ
Γ. ΒΕΛΕΓΡΑΚΗΣ
Χ. ΛΙΟΝΗΣ
Ε. ΣΤΑΘΟΠΟΥΛΟΣ
Ι. ΠΑΝΑΓΙΩΤΙΔΗΣ**

**ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ
ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ
ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ
ΑΝΑΠΛΗΡΩΤΗΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ
ΑΝΑΠΛΗΡΩΤΗΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ
ΑΝΑΠΛΗΡΩΤΗΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ
ΕΠΙΚΟΥΡΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ**

**Αφιερώνεται στην οικογένειά μου
με αγάπη και ευγνωμοσύνη**

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ.....	ΣΕΛ. 9	
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ		
1. ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΑΝΑΤΟΜΙΑΣ ΚΑΙ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ ΤΟΥ		
ΜΕΣΟΥ ΩΤΟΣ.....	ΣΕΛ. 11	
2. Η ΠΑΘΟΓΕΝΕΣΗ ΤΗΣ ΕΚΚΡΙΤΙΚΗΣ ΜΕΣΗΣ ΩΤΙΤΙΔΑΣ.....		ΣΕΛ. 17
2.1. Σύσταση του υγρού της ΕΜΩ.....	ΣΕΛ. 18	
3. ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΑ ΤΩΝ ΑΛΛΕΡΓΙΚΩΝ ΠΑΘΗΣΕΩΝ		
ΤΟΥ ΑΝΩΤΕΡΟΥ ΑΝΑΠΝΕΥΣΤΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ.....	ΣΕΛ. 19	
3.1. Γενικά.....	ΣΕΛ. 19	
3.2. Κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος.....	ΣΕΛ. 19	
3.3. Μόρια του ανοσοποιητικού συστήματος: αντιγόνα και αντισώματα.....	ΣΕΛ. 23	
3.4. Μη ειδικόι μεσολαβητές: κυτταροκίνες	ΣΕΛ. 24	
3.5. Παράγωγα αραχιδονικού οξέος.....	ΣΕΛ. 26	
3.6. Συμπλήρωμα.....	ΣΕΛ. 29	
3.7. Αντιδράσεις υπερευαισθησίας.....	ΣΕΛ. 31	
4. ΑΛΛΕΡΓΙΚΗ ΝΟΣΟΣ ΚΑΙ ΜΕΣΟ ΟΥΣ.....		ΣΕΛ. 34
4.1. Θέσεις-στόχοι της αντίδρασης υπερευαισθησίας μέσω IgE (αντίδραση τύπου I) και μέση ωτίτιδα.....	ΣΕΛ. 34	
4.2. Η σχέση ιών –αλλεργίας στην εμφάνιση μέσης ωτίτιδας.....	ΣΕΛ. 37	
4.3. Ο ρόλος της τροφικής αλλεργίας στην εκκριτική μέση ωτίτιδα.....	ΣΕΛ. 38	
5. Ο ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΙΣΤΑΜΙΝΗΣ		
ΚΑΙ ΟΙ ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΣΥΝΕΠΕΙΕΣ		
ΤΗΣ ΑΠΕΛΕΥΘΕΡΩΣΗΣ ΤΗΣ.....		ΣΕΛ. 40
5.1. Χημεία- Βιοσύνθεση- Κατανομή- Μεταβολισμός Ισταμίνης.....	ΣΕΛ. 40	
5.2. Δράση της ενδογενούς ισταμίνης.....	ΣΕΛ. 42	
5.3. Φαρμακολογικές επιδράσεις της ισταμίνης.....	ΣΕΛ. 44	
6. ΟΥΣΙΕΣ ΜΕ ΑΝΤΙΙΣΤΑΜΙΝΙΚΗ- ΑΝΤΙΦΛΕΓΜΟΝΩΔΗ ΔΡΑΣΗ.....		ΣΕΛ. 46
6.1. H ₁ Ανταγωνιστές.....	ΣΕΛ. 46	
6.2. H ₂ Ανταγωνιστές.....	ΣΕΛ. 53	
6.3. Κορτικοστεροειδή.....	ΣΕΛ. 54	

6.4. Μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη (NSAIDs).....	ΣΕΛ. 60
6.5. Ανταγωνιστές σύνθεσης και δράσης λευκοτριενίων.....	ΣΕΛ. 62
7. ΕΝΔΟΤΥΜΠΑΝΙΚΗ ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ....	ΣΕΛ. 64
7.1. Εφαρμογές της ενδοτυμπανικής έγχυσης φαρμακευτικών ουσιών.....	ΣΕΛ. 65
8. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΟΝΤΕΛΟ.....	ΣΕΛ. 69
8.1. Στοιχεία ανατομίας κουνελιού (<i>Oryctolagus Cuniculus</i>).....	ΣΕΛ. 69
8.2. Στοιχεία ιστολογίας μέσου ωτός κουνελιού.....	ΣΕΛ. 75
8.3. Η σημασία της μελέτης της μέσης ωτίτιδας σε πειραματόζωα.....	ΣΕΛ. 77
8.4. Μελέτες σε μοντέλα πειραματοζώων που αφορούν τη συσχέτιση μέσης ωτίτιδας και αλλεργικής/ ανοσολογικής νόσου.....	ΣΕΛ. 77
8.5. Πειραματικά μοντέλα εκκριτικής μέσης ωτίτιδας	ΣΕΛ. 80
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	
ΣΚΟΠΟΣ.....	ΣΕΛ. 82
ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ.....	ΣΕΛ. 82
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	ΣΕΛ. 91
ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	ΣΕΛ.115
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	ΣΕΛ. 122
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	ΣΕΛ.124
ABSTRACT.....	ΣΕΛ.125
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ.....	ΣΕΛ. 126
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	ΣΕΛ. 132

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η εκκριτική μέση ωτίτιδα (ΕΜΩ) αποτελεί ένα συχνό νόσημα της παιδικής ηλικίας, η αιτιοπαθογένεια του οποίου είναι πολυπαραγοντική. Ο βλεννογόνος του μέσου ωτός, ως επέκταση του αναπνευστικού επιθηλίου, παρουσιάζει ιδιαίτερα ανοσολογικά χαρακτηριστικά. Οι ανοσολογικές απαντήσεις του βλεννογόνου της τυμπανικής κοιλότητας, παίζουν σημαντικό ρόλο στην άμυνα του ξενιστή εναντίον των παθογόνων που ενέχονται στη φλεγμονή του μέσου ωτός. Από την άλλη πλευρά είναι δυνατόν, οι ανοσολογικές αντιδράσεις να συμμετέχουν στη δημιουργία της ΕΜΩ μέσω της αλληλεπίδρασης μεταξύ αντιγόνων και ειδικών αντισωμάτων, οδηγώντας σε φλεγμονή και συλλογή υγρού στην κοιλότητα του μέσου ωτός. Το ποσοστό των παιδιών με αλλεργία και ΕΜΩ φτάνει έως και 35% και ενώ ορισμένοι συγγραφείς θεωρούν τα αερομεταφερόμενα αλλεργιογόνα ως κύριους υπεύθυνους παράγοντες, άλλοι υποστηρίζουν ότι σημαντικότερο ρόλο στην εμφάνιση ΕΜΩ είναι η αλλεργία σε τροφές. Ένας από τους μηχανισμούς εμφάνισης ΕΜΩ είναι, το μέσο ουσ να αποτελεί θέση “στόχο” της αλλεργικής αντίδρασης.

Η παρούσα πειραματική μελέτη, στοχεύει στη διερεύνηση της επίδρασης διαφόρων αντιφλεγμονωδών ουσιών μετά από τοπική ή συστηματική χορήγηση, σε μοντέλο φλεγμονής μέσου ωτός κουνελιών. Η φλεγμονή προκαλείται *in vitro* με ενδοτυμπανική έγχυση ισταμίνης. Είναι γνωστό, ότι η ισταμίνη είναι ένας προσχηματισμένος διαβιβαστής της φλεγμονής, ο οποίος βρίσκεται αποθηκευμένος στα μαστοκύτταρα, και η απελευθέρωσή του, σαν αποτέλεσμα αντίδρασης του αντιγόνου με ανοσοσφαιρίνες IgE επί της επιφάνειας των μαστοκυττάρων, παίζει κεντρικό ρόλο στην αντίδραση άμεσης υπερευαισθησίας και γενικά στις αλλεργικές αντιδράσεις.

Η μελέτη περιλαμβάνει το «Γενικό Μέρος» όπου περιγράφεται αδρά η ανατομία και η φυσιολογία του μέσου ωτός, αναφέρονται στοιχεία της παθογένειας της ΕΜΩ, και αναλύεται η ανοσολογία των αλλεργικών παθήσεων του ανώτερου αναπνευστικού συστήματος. Επιπλέον, περιγράφεται ο φυσιολογικός ρόλος της ισταμίνης και οι παθοφυσιολογικές συνέπειες της απελευθέρωσής της και αναλύεται η δράση ουσιών με αντιισταμινική/ αντιφλεγμονώδη δράση. Τέλος, γίνεται αναφορά στη σημασία

της χρήσης πειραματικών μοντέλων, για τη μελέτη της μέσης ωτίτιδας και περιγράφονται ανατομικά και ιστολογικά στοιχεία του πειραματικού μοντέλου που χρησιμοποιήθηκε.

Στο «Ειδικό Μέρος» περιγράφεται με λεπτομέρεια το υλικό και η μέθοδος που ακολουθήθηκε στη μελέτη, αναλύονται στατιστικά τα αποτελέσματα, ενώ στη συζήτηση ερμηνεύονται τα συμπεράσματα που προέκυψαν.

Οφείλω ιδιαίτερη ευγνωμοσύνη στον Καθηγητή Εμμανουήλ Χελιδόνη για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε στην ολοκλήρωση της παρούσας μελέτης. Με τη γνώση, την εμπειρία του αλλά και τη συνεχή προσφορά του προς τους νεότερους, αποτέλεσε για μένα πηγή έμπνευσης για την επιλογή της συγκεκριμένης ειδικότητας. Ευχαριστώ θερμά τον Αναπληρωτή Καθηγητή Γεώργιο Βελεγράκη για την αμέριστη βοήθειά του, κατανόηση και υπομονή σε όλη τη διάρκεια της εκπόνησης της παρούσας μελέτης. Ευχαριστώ ιδιαίτερα τον Επίκουρο Καθηγητή Ιωάννη Παναγιωτίδη, για την άριστη συνεργασία και τις εύστοχες παρατηρήσεις του στο παρόν κείμενο.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω το φίλο και συνάδελφο Χαρίτωνα Παπαδάκη, Διευθυντή ΩΡΛ, για την πολύτιμη βοήθειά του στο πειραματικό μέρος της μελέτης, τον κτηνίατρο Εμμανουήλ Σουρανάκη για τις συμβουλές του και την προμήθεια ειδικών κτηνιατρικών σκευασμάτων, τους συναδέλφους Χαράλαμπο Μαμουλάκη, ουρολόγο MSc βιοστατιστικής Πανεπιστημίου Αθηνών, και Ανδρέα Μανιό πλαστικό χειρουργό, για τη βοήθειά τους στη στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων καθώς και τη φιλόλογο Σοφία Βλατάκη για την επιμέλεια του κειμένου.

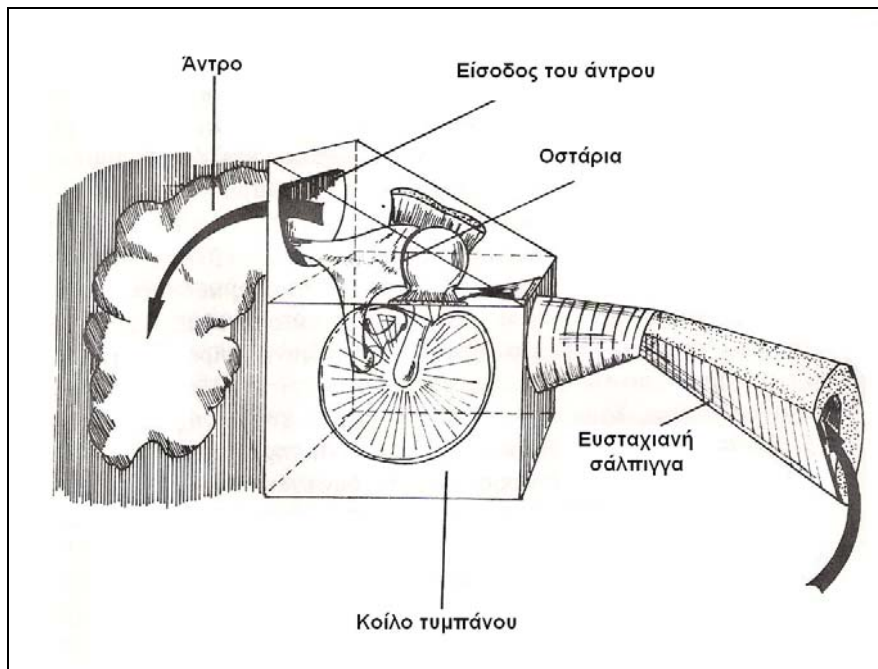
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΑΝΑΤΟΜΙΑΣ ΚΑΙ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ ΤΟΥ ΜΕΣΟΥ ΩΤΟΣ

Το μέσο ους αποτελείται από το κοίλο του τυμπάνου, το μαστοειδές άντρο και την ευσταχιανή σάλπιγγα (ΕΣ). Τα στοιχεία αυτά σχηματίζουν έναν συνεχή, ακανόνιστου σχήματος αεροφόρο χώρο, ο οποίος βρίσκεται κυρίως εντός του κροταφικού οστού (Εικ. 1)

Το κοίλο του τυμπάνου βρίσκεται στην κεντρική θέση και επικοινωνεί με το έξω ους δια της τυμπανικής μεμβράνης. Το έσω τοίχωμα του κοίλου του τυμπάνου αντιστοιχεί στο έξω τοίχωμα του οστέινου λαβυρίνθου, όπου υπάρχουν η ωοειδής και η στρογγύλη θυρίδα. Το πρόσθιο τοίχωμα εμφανίζει προς τα άνω το τυμπανικό στόμιο της ΕΣ, ενώ το οπίσθιο τοίχωμα αντιστοιχεί στην είσοδο του μαστοειδούς άντρου. Το κοίλο του τυμπάνου περικλείει την αλυσίδα των ακουστικών οσταρίων, που είναι κατά σειρά από τα έξω προς τα μέσα η σφύρα, ο άκμονας και ο αναβολέας. Η σφύρα συνέχεται με τη λαβή της στον τυμπανικό υμένα, ενώ η βάση του αναβολέα αποφράσσει την ωοειδή θυρίδα. Οι μύες του κοίλου του τυμπάνου είναι ο μυσ ο τείνων το τύμπανο και ο μυσ του αναβολέα (Μπαλατσούρας, 2000 · Χελιδόνης, 2002). Η λειτουργία των μυών αυτών είναι κατά κάποιο τρόπο προστατευτική του ωτός.

Οι δονήσεις του τυμπανικού υμένα εξαιτίας της επίδρασης του ηχητικού ερεθίσματος μεταφέρονται μέσω της οστικής αλυσίδας στην περίλεμφο του λαβυρίνθου. Η μεγαλύτερη επιφάνεια του τυμπανικού υμένα (κατά 15 φορές περίπου) σε σχέση με την επιφάνεια της ωοειδούς θυρίδας, σε συνδυασμό με το μηχανικό αποτέλεσμα της δράσης της ακουστικής αλυσίδας, ενισχύουν τον ήχο που φθάνει στην ωοειδή θυρίδα κατά 17 περίπου φορές. Το κέρδος από την ενίσχυση αυτή μπορεί να φθάσει τα 26-28 dB (Yost, 2000 · Χελιδόνης, 2002).



Εικ. 1. Οι κοιλότητες του μέσου ωτός. Ο αερισμός επιτυγχάνεται με την ενεργητική διάνοιξη της ευσταχιανής σάλπιγγας (τροποποίηση από: Ηλιάδης Θ, Κεκές Γ. Κλινική ακουσολογία. Εκδόσεις Τριανταφύλλου, Θεσσαλονίκη, 1986).

Το επιθήλιο του μέσου ωτός είναι επίπεδο κυβοειδές και αποτελεί συνέχεια του επιθηλίου του ανώτερου αναπνευστικού συστήματος (Browning, 1987). Κροσσωτά κύτταρα εμφανίζονται κυρίως πλησίον του τυμπανικού στομίου της ΕΣ και στο υποτύμπανο, ενώ ελαττώνονται βαθμιαία προς τη μαστοειδή απόφυση. Η κατανομή των κροσσωτών κυττάρων διαφέρει φυσιολογικά μεταξύ των ατόμων. Η ύπαρξη των κροσσών μπορεί να επιβεβαιωθεί παρακολουθώντας τη μετανάστευση που συμβαίνει με την είσοδο ξένου σώματος στο μέσο ους, καθώς αυτό διέρχεται δια μέσου της ΕΣ προς το ρινοφάρυγγα (Sade, 1966).

Τρία είδη επιθηλιακών κυττάρων συναντώνται στο βλεννοπερίοστεο του μέσου ωτός: α) τα κροσσωτά κύτταρα που είναι κυβοειδή ή κυλινδρικά, β) τα μη κροσσωτά κύτταρα που είναι επίσης κυβοειδή ή κυλινδρικά ή πλακώδη, αλλά κυρίως επίπεδα, γίνονται δε κυβοειδή ή πλακώδη καθώς πλησιάζουν προς τη μαστοειδή απόφυση και γ) τα βασικά κύτταρα, που βρίσκονται στη βασική μεμβράνη κάτω από τα κροσσωτά και τα μη κροσσωτά κύτταρα και χρησιμεύουν πιθανά ως πρόδρομα κύτταρα.

Η υποεπιθηλιακή στιβάδα είναι ένα λεπτό στρώμα μεταξύ περισσέου και βασικής μεμβράνης. Περιέχει ίνες κολλαγόνου, ινοβλάστες, τριχοειδή και νευρικά νημάτια που αποτελούν κλάδους του τυμπανικού πλέγματος του γλωσσοφαρυγγικού νεύρου.

Το μαστοειδές άντρο αποτελεί το οπίσθιο τμήμα του μέσου ωτός. Ευρίσκεται προς τα πίσω κα έξω της τυμπανικής κοιλότητας, αποτελώντας επέκταση του επιτυμπανίου χώρου άλλοτε άλλου μεγέθους. Περιβάλλεται από μαστοειδείς κυπέλες και χρησιμεύει σαν χώρος εναποθήκευσης αέρα. Ο βλεννογόνος του είναι συνέχεια του βλεννογόνου του μέσου ωτός, γι' αυτό μία φλεγμονή της κοιλότητας του μέσου ωτός μπορεί εύκολα να μεταδοθεί στο μαστοειδές άντρο.

Η ευσταχιανή ή ακουστική σάλπιγγα (ΕΣ) περιγράφηκε αρχικά από τον Eustachius το 1563, από τον οποίο έλαβε και την ονομασία της. Είναι οστεοχόνδρινος αεραγωγός σωλήνας που φέρνει σε επικοινωνία το κοίλο του τυμπάνου με το ρινοφάρυγγα. Έχει μήκος 36 mm στους ενήλικες, ενώ στα παιδιά είναι βραχύτερη και φαρδύτερη, η δε πορεία της είναι περισσότερο οριζόντια. Έχει δύο μοίρες: την οστέινη προς το κοίλο του τυμπάνου με μήκος 12 mm και τη χόνδρινη προς το ρινοφάρυγγα με μήκος 24 mm. Η περιοχή συνένωσης των δύο μοιρών καλείται ισθμός, είναι δε το στενότερο τμήμα της ΕΣ, με μήκος περίπου 2 mm και εύρος 1 mm (Μπαλατσούρας, 2000). Τα τοιχώματα του αυλού της σάλπιγγας συμπίπτουν και τον κλείνουν, απομακρύνονται δε και τον ανοίγουν μόνο κατά την κατάποση ή τη δοκιμασία Valsalva.

Ο αυλός της ΕΣ επαλείφεται από βλεννογόνο, ο οποίος παρουσιάζει πτυχές κατά το φαρυγγικό και το τυμπανικό στόμιο. Στην οστέινη μοίρα της το επιθήλιο είναι λεπτό και αποτελείται από χαμηλό κυλινδρικό κροσσωτό επιθήλιο, το οποίο βρίσκεται επί ενός βασικού υμένα, που είναι σταθερά προσκολλημένος στο περίοστεο. Στη χόνδρινη μοίρα το επιθήλιο είναι ψευδοπολύστοιβο και αποτελείται από υψηλά κυλινδρικά κύτταρα, πολλά εκ των οποίων είναι κροσσωτά. Ο βασικός υμένας εδώ είναι πιο σύνθετος και φέρει μικτούς βλεννογονίους αδένες και διάσπαρτα καλυκοειδή

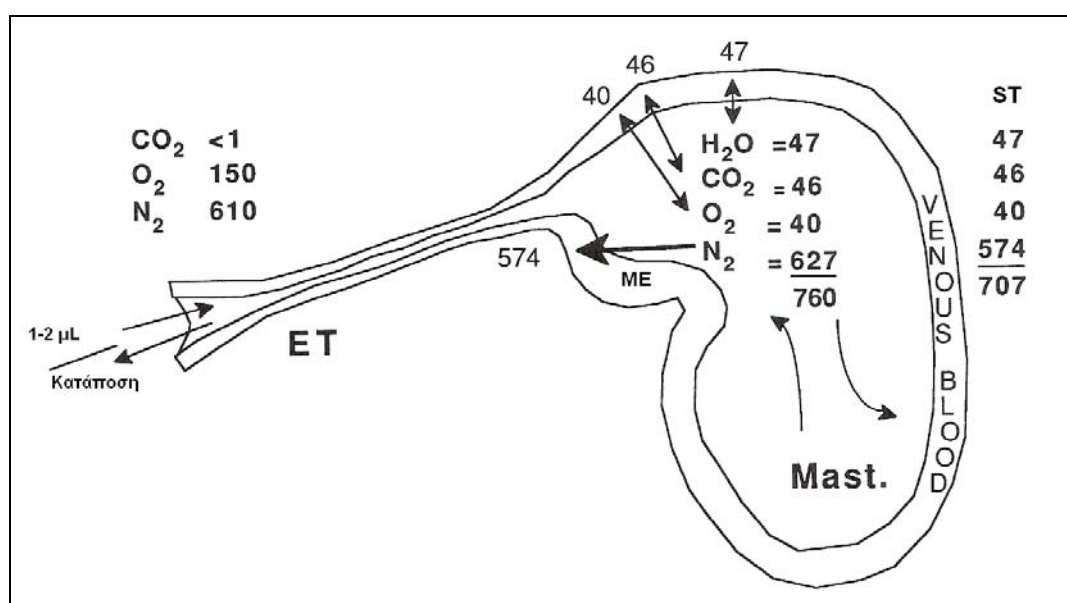
βλεννοπαραγωγά κύτταρα. Ο Gerlach το 1874 περιέγραψε τη σαλπινγική αμυγδαλή στη χόνδρινη μοίρα της ΕΣ, σήμερα όμως η ύπαρξή της από κάποιους αμφισβητείται, παρότι συναντώνται αθροίσεις λεμφικού ιστού στο φαρυγγικό στόμιο και διάσπαρτα λεμφοζίδια καθ' όλο το μήκος της σάλπιγγας.

Η φυσιολογία της ΕΣ κατέχει σπουδαιότατη θέση στη μελέτη της σχέσης αλλεργίας και εκκριτικής μέσης ωτίτιδας, δεδομένου ότι η δυσλειτουργία αυτής αποτελεί το σπουδαιότερο ενδογενή παράγοντα για την παθολογία του μέσου ωτός. Οι τρεις κυριότερες λειτουργίες της ΕΣ είναι (Bluestone, 1991): (1) Η εξισορρόπηση της πίεσης μεταξύ ρινοφάρυγγα και κοιλότητας του μέσου ωτός, (2) η προστασία του μέσου ωτός από τις εκκρίσεις και τις πιέσεις του ήχου από το ρινοφάρυγγα και (3) η παροχέτευση προς το ρινοφάρυγγα των εκκρίσεων του μέσου ωτός.

Κατά την ιδανική λειτουργία της ΕΣ επιτυγχάνεται μία διαλείπουσα διάνοιξη του στομίου της, προκαλώντας διακυμάνσεις πίεσης στο μέσο ους. Αυτό επιτυγχάνεται με τη λειτουργία του τείνοντα την υπερώα μυός (Χελιδόνης, 1990). Το μεσοδιάστημα μεταξύ των ανοιγμάτων της σάλπιγγας εξαρτάται από τη διαφορά πιέσεων μεταξύ του ρινοφάρυγγα και της κοιλότητας του μέσου ωτός. Αυτή η διαφορά πιέσεων δημιουργείται με την απορρόφηση του αέρα του μέσου ωτός, καταλήγοντας στην ανάπτυξη αρνητικής πίεσης στο μέσο ους. Όταν η ΕΣ λειτουργεί φυσιολογικά, η συχνή διάνοιξή της πρακτικά εξισορροπεί τις διαφορές πιέσεων μεταξύ του μέσου ωτός και του ρινοφάρυγγα.

Το μέσο ους μπορεί να παρομοιαστεί με ένα στείρο θύλακο γεμάτο αέρα, ο οποίος καθορίζεται από τη διπλής κατεύθυνσης ανταλλαγή αερίων α) δια του βλεννογόνου του μέσου ωτός, β) μέσω της ΕΣ και γ) μεταξύ μέσου ωτός και μαστοειδών κυψελών. Είναι ουσιαστικά ανοσο-ανεπαρκές, μια και σε φυσιολογική κατάσταση υγιών ατόμων περιέχει πολύ λίγα λεμφοκύτταρα ή άλλα ανοσολογικώς δραστικά κύτταρα. Ο αέρας που περιέχεται στο μέσο ους διαφέρει από τον ατμοσφαιρικό αέρα. Στην πραγματικότητα, τα αέρια του μέσου ωτός είναι παρόμοια με εκείνα του μικτού φλεβικού αίματος και έτσι η

μερική πίεση του οξυγόνου στο μέσο ους είναι σημαντικά μικρότερη από αυτήν της ατμόσφαιρας, ενώ η μερική πίεση του διοξειδίου του άνθρακα μεγαλύτερη. Οι περισσότεροι από τους νόμους των αερίων μπορούν να εφαρμοστούν για το οξυγόνο, το διοξείδιο του άνθρακα και το άζωτο που αποτελούν τα κύρια αέρια του μέσου ωτός. Με κάθε κατάποση εισάγεται στο μέσο ους μόνο 1 έως 2 μL αέρα μέσω της ΕΣ (Εικ. 2). Συμπερασματικά, αν κατά τη διάρκεια ενός 24ώρου υπολογίσουμε ότι συμβαίνουν 100 έως 200 καταποτικές κινήσεις, η ποσότητα αέρα που εισέρχεται μέσω της ΕΣ στο μέσο ους σε μία ημέρα είναι περίπου 1 έως 2 mL .



Εικ. 2. Σχηματικό διάγραμμα της ανταλλαγής αερίων στο μέσο ους. ΕΣ: ευσταχιανή σάλπιγγα, Mast: μαστοειδείς κυψέλες, ME: βλεννογόνος μέσου ωτός, ST: ιστοί γύρω από την κοιλότητα του μέσου ωτός (τροποποίηση από Bernstein JM. Allergic disease and the middle ear. In: Allergy and immunology. An otolaryngic approach. Krouse J, Chadwick S, Cordon B, Derebery J. eds. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2002).

Το οξυγόνο και το διοξείδιο του άνθρακα έρχονται γρήγορα σε ισορροπία μεταξύ του βλεννογόνου και του κοίλου του μέσου ωτός, ενώ το άζωτο διαχέεται στο κοίλο του μέσου ωτός πολύ πιο αργά. Η περιεκτικότητα της κοιλότητας του μέσου ωτός σε άζωτο είναι πολύ μεγαλύτερη από ότι συμβαίνει στους γύρω ιστούς και έτσι η τελική μετακίνηση του αέρα από την κοιλότητα του μέσου ωτός αντανακλά την αργή αλλά σταθερή μετακίνηση των μορίων του αζώτου προς τους γύρω ιστούς (Mover-Lev, 1998). Το άνοιγμα λοιπόν της ΕΣ κατά την κατάποση παίζει σημαντικό ρόλο στην αναπλήρωση

της κοιλότητας του μέσου ωτός με άζωτο, ώστε να διατηρεί ατμοσφαιρική πίεση και να μην παρατηρείται εισολκή της τυμπανικής μεμβράνης.

Σε περίπτωση που μία αλλεργική αντίδραση προκαλέσει δυσλειτουργία της ΕΣ ως αποτέλεσμα οιδήματος ή απόφραξης από βλεννώδεις εκκρίσεις, δεν είναι εφικτή η εξισορρόπηση της ανταλλαγής αερίων γιατί δεν αντισταθμίζεται η αργή, αλλά συνεχόμενη μετακίνηση του αζώτου από την κοιλότητα του μέσου ωτός προς τους γύρω ιστούς (Bernstein,1994). Η κατάσταση περιπλέκεται περισσότερο όταν συνυπάρχει φλεγμονή και κατά συνέπεια αυξημένη αιματική ροή στο βλεννογόνο του μέσου ωτός. Η φλεγμονή αυξάνει την ταχύτητα διάχυσης του αζώτου και γίνεται γρηγορότερη η μετακίνησή του προς τους γύρω ιστούς. Αν δεν δύναται να εξισορροπηθεί η πτώση της πίεσης στο μέσο ουσ μέσω της ΕΣ, δημιουργείται αρνητική πίεση και αρχίζει η παραγωγή στείρου διιδρώματος λόγω εξοίδησης του βλεννογόνου.

2. Η ΠΑΘΟΓΕΝΕΣΗ ΤΗΣ ΕΚΚΡΙΤΙΚΗΣ ΜΕΣΗΣ ΩΤΙΤΙΔΑΣ

Η εκκριτική μέση ωτίτιδα (ΕΜΩ) είναι η συχνότερη αιτία βαρηκοΐας στα παιδιά των αναπτυγμένων χωρών, προσβάλλοντας μέχρι και το 80% των παιδιών προσχολικής ηλικίας (Davidson, 1989).

Το μέσο ους παράγει συνεχώς βλέννη η οποία μεταφέρεται μέσω του κροσσώτου επιθηλίου στην ΕΣ και από εκεί στο ρινοφάρυγγα. Αυτό το συνεχές ρεύμα βλέννης αποτρέπει την άνοδο μικροβίων στο μέσο ους από την περιοχή του ρινοφάρυγγα, ενώ δρα επιπλέον σαν φυσικός φραγμός εμποδίζοντας την προσκόλληση των μικροβίων στο επιθήλιο του μέσου ωτός. Τα μέχρι τώρα δεδομένα υποστηρίζουν ότι η ΕΜΩ είναι πρωταρχικά μία φλεγμονώδης κατάσταση. Ιστολογικά, ο βλεννογόνος του μέσου ωτός παρουσιάζει πολλαπλασιασμό αγγείων και διήθηση από πλασματοκύτταρα και λεμφοκύτταρα. Επίσης εμφανίζεται μετάπλαση του επιθηλίου του μέσου ωτός σε εκκριτικού τύπου επιθήλιο με αύξηση των καλυκοειδών κυττάρων και των βλεννώδων αδένων. Οι ανοσοσφαιρίνες IgA και IgG βρίσκονται στο υγρό της ΕΜΩ σε μεγαλύτερη συγκέντρωση από αυτήν του πλάσματος.

Η παθογένεση τόσο της ΕΜΩ όσο και της οξείας μέσης ωτίτιδας (ΟΜΩ) είναι πολυπαραγοντική· η λοίμωξη και η απόφραξη της ΕΣ αποτελούν τα καλύτερα τεκμηριωμένα πρωτοπαθή αίτια αυτών (Bernstein, 1994). Μεταξύ των παραγόντων που οδηγούν σε φλεγμονή του μέσου ωτός περιλαμβάνονται η ιογενής φλεγμονή, η αλλεργική αντιδραστικότητα του ξενιστή, η υπερκατανάλωση αλλά και η άσκοπη χρήση αντιβιοτικών σκευασμάτων για ιογενείς λοιμώξεις του ανωτέρου αναπνευστικού συστήματος, καθώς και η γενετική προδιάθεση λόγω διαταραχών στην παραγωγή ανοσοσφαιρινών, κυρίως IgA και υποτάξεων της IgG (Bernstein, 2002). Ένας παράγοντας ο οποίος θεωρείται επίσης υπεύθυνος για την εμφάνιση υποτροπιάζουσας φλεγμονής στο μέσο ους, είναι το μικρό μέγεθος των μαστοειδών κυψελών. Μια πιθανή εξήγηση είναι ότι, το μικρό μέγεθος της μαστοειδούς δεν δρα επαρκώς σαν «ρυθμιστικός» χώρος, ώστε να παρέχει αέρα στον αττικό χώρο και το μέσο ους.

Η ρύθμιση του ανοσολογικού μηχανισμού στην αλλεργική αντίδραση του ανωτέρου αλλά και του κατωτέρου αναπνευστικού συστήματος, φαίνεται να αντανακλά στο είδος του T-κυττάρου το οποίο παρέχει την ειδική ανοσολογική «μνήμη». Έτσι, η απάντηση μέσω T-2 βοηθητικών κυττάρων (Th2) οδηγεί σε αλλεργική αντίδραση, σε αντίθεση με τη φαινομενική αδράνεια που παρατηρείται όταν η ανοσολογική «μνήμη» άγεται από T-1 βοηθητικά κύτταρα (Th1) (Holt, 1996). Φαίνεται λοιπόν, ότι σε ατοπικά άτομα η ειδική αλλεργική απάντηση πραγματοποιείται μέσω των CD4 Th2 κυττάρων, τα οποία εκκρίνουν ιντερλευκίνη 4 και 5 (IL-4 & IL-5) και δυνητικά προκαλούν απαντήσεις που χαρακτηρίζονται από την παρουσία IgE και ηωσινοφίλων. Από την άλλη πλευρά, τα μη-ατοπικά άτομα παρουσιάζουν ειδικά Th1 κύτταρα, τα οποία αντιδρώντας με το αλλεργιογόνο εκκρίνουν ιντερφερόνη γ (IFN-γ), με επακόλουθο την παραγωγή μικρής ποσότητας IgG (Mosmann, 1989). Το σημείο που πρέπει να διευκρινιστεί ως προς την αιτιολογία των αναπνευστικών αλλεργικών διαταραχών είναι το τι καθορίζει την εκτροπή προς Th1 ή Th2 της ειδικής προς τα αντιγόνα απάντησης των T-κυττάρων.

2.1. Σύσταση του υγρού της ΕΜΩ

Το δίδρωμα του μέσου ωτός στην ΕΜΩ αποτελείται από νερό, κύτταρα και κυτταρικά συγκρίμματα, ηλεκτρολύτες και διάφορα υψηλού μοριακού βάρους συστατικά. Αυτά περιλαμβάνουν βλέννες (mucins) (8-32% των μη-ωσμωτικών στερεών), πρωτεΐνες (12-16%), λιπίδια (37-40%), και DNA (2-15%). Άλλες ουσίες που έχουν αναγνωρισθεί στο υγρό της ΕΜΩ είναι προϊόντα μικροβίων, ανοσοσφαιρίνες, λυσοζύμη, λακτοφερρίνη, συστατικά συμπληρώματος, λευκοτριένια και κυτταροκίνες (Kubba, 2000).

Πολλά από αυτά τα συστατικά όπως το DNA, τα λιπίδια και κάποιες πρωτεΐνες, είναι παρόντα σαν αποτέλεσμα αποδόμησης του επιθηλίου, των φλεγμονωδών ή μικροβιακών κυττάρων. Οι βλέννες όμως είναι μεγάλα συμπλέγματα γλυκοπρωτεϊνών, τα οποία εκκρίνονται ενεργά στο υγρό της ΕΜΩ. Η πυκνότητα του υγρού της ΕΜΩ σχετίζεται με τη συγκέντρωση DNA και βλέννης. Οι βλέννες σχετίζονται με όλα τα επιθήλια του ανθρώπινου σώματος.

3. ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΑ ΤΩΝ ΑΛΛΕΡΓΙΚΩΝ ΠΑΘΗΣΕΩΝ ΤΟΥ ΑΝΩΤΕΡΟΥ ΑΝΑΠΝΕΥΣΤΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ

3.1. Γενικά

Το ανοσολογικό σύστημα είναι υπεύθυνο για την προστασία του οργανισμού έναντι εισβολής εξωγενών φλεγμονωδών και αλλεργικών παραγόντων. Για να επιτευχθεί αυτό είναι απαραίτητη η αναγνώριση και διαχωρισμός του «ιδίου» από το «ξένο» και η αντίδραση μόνο επί του δεύτερου. Ο αγγλικός όρος για τη λέξη ανοσία, immunity, προέρχεται από τη λατινική λέξη immunitas που αναφερόταν στην απαλλαγή των Ρωμαίων συγκλητικών από ποινικές διώξεις και φορολογία. Η ανάπτυξη λοιπόν ανοσίας, έχει την έννοια της «απαλλαγής» από νοσήματα και αλλεργικές καταστάσεις, αν και κάποιες φορές η αντίδραση του ανοσολογικού συστήματος χωρίς την επίδραση εξωγενούς παράγοντα μπορεί να προκαλέσει φλεγμονή και νόσημα (Hadley, 2002).

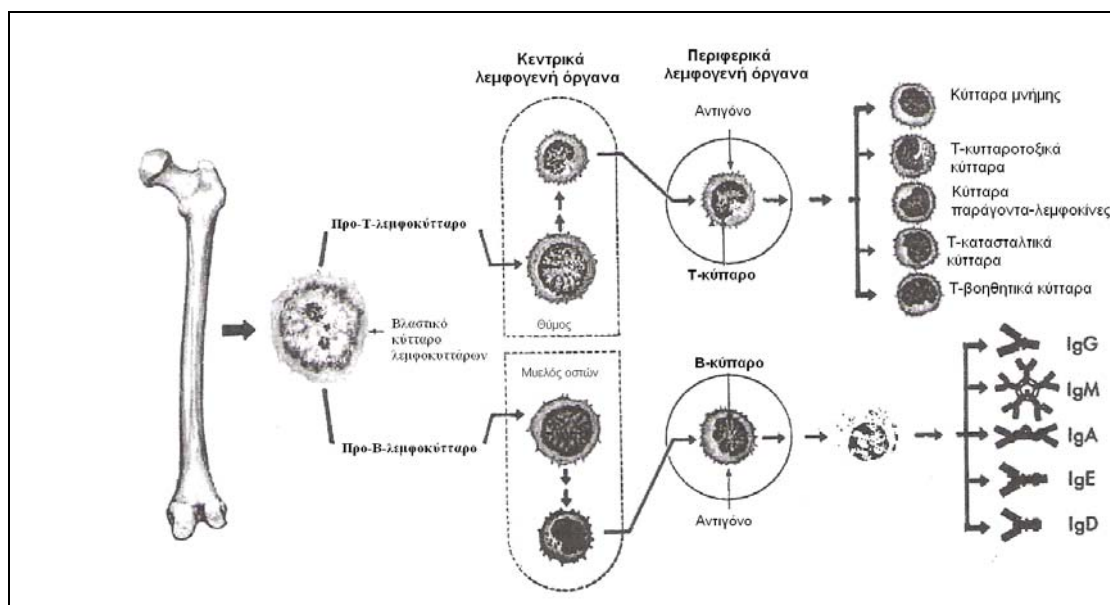
Υπάρχουν δύο κύριοι τύποι ανοσίας: ενδογενής και προσαρμοστική (ή επίκτητη) (Litman, 2005). Η ενδογενής ανοσία είναι η γενικευμένη απάντηση του οργανισμού σε εισβολή μικροβίων ή αλλεργιογόνων: η προστασία από τους επιθηλιακούς φραγμούς, η άμυνα πρώτης γραμμής με τη διαδικασία της φαγοκύττωσης, ή μία μη ειδική απάντηση/ ενεργοποίηση του συστήματος του συμπληρώματος. Η προσαρμοστική ανοσία αναφέρεται στην ικανότητα του οργανισμού να εμφανίζει ειδικές αντιδράσεις έναντι του εισβολέα μικροβίου ή αλλεργιογόνου. Αυτές οι ειδικές αντιδράσεις εξαρτώνται από τη δράση των T- και B-κυττάρων. Η έναρξη της προσαρμοστικής ανοσολογικής απάντησης απαιτεί έκθεση στο αντιγόνο, αναγνώριση αυτού από τα κύτταρα και επακόλουθο πολλαπλασιασμό των κυτταρικών σειρών για αύξηση του αριθμού των δραστικών κυττάρων. Η προσαρμοστική ανοσία χαρακτηρίζεται από μνήμη, η οποία σχετίζεται με τα T-κύτταρα και επιτρέπει στον οργανισμό ταχύτερη αντίδραση σε περίπτωση εκ νέου εισβολής του ίδιου αντιγόνου.

3.2. Κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος

Από τα πολυδύναμα μητρικά κύτταρα του μυελού των οστών προέρχονται τα κύτταρα του αίματος καθώς και τα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος (Rich, 1996). Κατά τη διάρκεια της αιμοποίησης αυτά τα πολυδύναμα κύτταρα

παράγουν δύο κυτταρικές σειρές: τα λεμφοειδή κύτταρα και τα μυελοειδή κύτταρα. Η μυελοειδής κυτταρική σειρά διαφοροποιείται σε ερυθροκύτταρα, βασεόφιλα, ηωσινόφιλα, ουδετερόφιλα και μονοκύτταρα. Από τη λεμφοειδή κυτταρική σειρά προέρχονται τα τρία διαφορετικά είδη λεμφοκυττάρων: T-λεμφοκύτταρα, B-λεμφοκύτταρα και τα NK-κύτταρα.

Τα λεμφοκύτταρα (Εικ. 3) είναι τα μόνα κύτταρα, που έχουν την ικανότητα να αναγνωρίζουν ειδικούς αντιγονικούς καθοριστές ή επιτόπους και έτσι είναι υπεύθυνα για τις ιδιότητες της μνήμης και της ειδικότητας της προσαρμοστικής ανοσολογικής απάντησης (Rich, 1996). Τα T-λεμφοκύτταρα παρουσιάζουν επιφανειακούς υποδοχείς που χαρακτηρίζονται ως α, β, γ και δ και με αυτό τον τρόπο διακρίνονται από τα B-κύτταρα. Αυτοί οι υποδοχείς ενώνονται με άλλα μόρια και αποτελούν τα συμπλέγματα διαφοροποίησης (cluster of differentiation) CD3, CD4, CD8 και άλλα, τα οποία διαφοροποιούν τα κύτταρα σε λειτουργικές ομάδες. Το CD3 υπάρχει σε όλα τα T-λεμφοκύτταρα, το CD4 υπάρχει στα T-βοηθητικά κύτταρα, ενώ το CD8 υπάρχει στα κατασταλτικά και τα κυτταροτοξικά T-λεμφοκύτταρα.



Εικ. 3. Ωρίμανση, διαφοροποίηση και ενεργοποίηση των λεμφοκυττάρων (τροποποίηση από Grimes D. Infectious diseases. St Louis: Mosby Year Book, 1991).

Τα T-βοηθητικά κύτταρα μπορούν να προκαλέσουν έναρξη μιας αντίδρασης· επίσης, βοηθούν τα B-κύτταρα και τα κυτταροτοξικά T-κύτταρα να

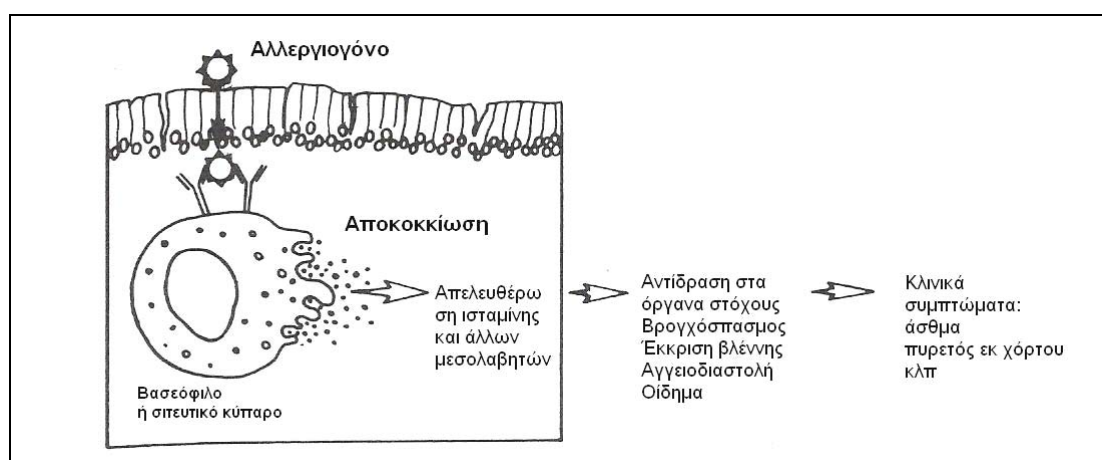
συμμετάσχουν στη φλεγμονώδη αντίδραση. Από τα T-βοηθητικά κύτταρα παράγονται κυτταροκίνες υπεύθυνες για τη ενεργοποίηση, πολλαπλασιασμό και διαφοροποίηση των κυττάρων. Αναλόγως των παραγόμενων κυτοκινών, τα κύτταρα διακρίνονται σε Th1 και Th2 (Abbas, 1996).

Τα κυτταροτοξικά T-λεμφοκύτταρα, έχουν άμεση κυτταροτοξική δράση επί άλλων κυττάρων, αλλά χρειάζονται βοήθεια από τα Th1 κύτταρα για να πολλαπλασιαστούν και να διαφοροποιηθούν. Τα κατασταλτικά T-λεμφοκύτταρα παρουσιάζουν μία αρνητική ρυθμιστική δράση στην ένταση της φλεγμονώδους απάντησης. Η κύρια λειτουργία των B-λεμφοκυττάρων είναι να παράγουν αντισώματα ως απάντηση σε εξωγενείς πρωτεΐνες βακτηρίων, ιών και όγκων. Και τα B-λεμφοκύτταρα διαφοροποιούνται υπό την επίδραση ειδικού αντιγόνου με τη βοήθεια των Th1 κυττάρων (McHeyzer-Williams L, 2006).

Το σύστημα των μονοπύρηνων φαγοκυττάρων έχει δύο λειτουργίες: απομάκρυνση συγκεκριμένων αντιγόνων μέσω των φαγοκυττάρων και παρουσίαση των αντιγόνων στα T-κύτταρα μέσω των αντιγονοπαρουσιαστικών κυττάρων (APCs, antigen-presenting cells) (Langermans, 1994). Τα APCs είναι ειδικά μακροφάγα τα οποία αναγνωρίζουν ξένες ουσίες ως αντιγόνα και τις «επεξεργάζονται» με ενζυματική διάσπαση. Στη συνέχεια τα αντιγονικά τμήματα ενώνονται στην επιφάνειά τους με συμπλέγματα ιστοσυμβατότητας I και II και παρουσιάζονται στα T- helper λεμφοκύτταρα.

Τα βασεόφιλα και τα σιτευτικά κύτταρα εμφανίζουν πολυάριθμους υποδοχείς για το Fc τμήμα της ανοσοσφαιρίνης E (IgE) και περιέχουν κοκκία, τα οποία περικλείουν ισταμίνη και άλλους χημικούς μεσολαβητές. Η παρουσία συμπλέγματος IgE-αντιγόνου-IgE επί της επιφάνειας ενός μαστοκυττάρου ή ενός βασεόφιλου κυττάρου αποτελεί το ερέθισμα για την αποκοκκίωσή του (Hadley, 2002). Με αυτό τον τρόπο απελευθερώνονται χημικοί διαβιβαστές, που είναι υπεύθυνοι για την άμεση αντίδραση υπερευαισθησίας (Εικ. 4).

Τα ηωσινόφιλα αποτελούν περίπου το 2% έως 5% των κοκκιοκυττάρων σε ένα μη αλλεργικό άτομο, αλλά μπορεί να αυξηθούν σε αριθμό σε αλλεργικές καταστάσεις. Τα ηωσινόφιλα παίζουν ρόλο στην όψιμη φάση της αντίδρασης υπερευαισθησίας. Προσελκύονται χημικά στον τόπο της φλεγμονής από χημειοτακτικούς παράγοντες και εκεί εκκρίνουν τα κοκκία τους, που περιέχουν ένζυμα και πρωτεολυτικούς παράγοντες όπως: η μείζων βασική πρωτεΐνη, η ηωσινοφιλική κατιονική πρωτεΐνη, η ηωσινοφιλική νευροτοξίνη και η ηωσινοφιλική υπεροξειδάση (Kariyawasam, 2006).



Εικ. 4. Αποκοκκίωση σιτευτικών κυττάρων και βασεόφιλων (τροποποίηση από Sheehan C. Clinical immunology: principles and laboratory diagnosis, 2nd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1997).

Τα ουδετερόφιλα είναι κύτταρα, ο πυρήνας των οποίων αποτελείται από 2 ή περισσότερους λοβούς και αποτελούν πάνω από το 95% των κυκλοφορούντων κοκκιοκυττάρων. Προσελκύονται στον τόπο της φλεγμονής από κυτταροκίνες και χρησιμοποιούν τις φαγοκυτταρικές ιδιότητές τους για να καταστρέψουν τα παθογόνα. Περιέχουν αντιβιοτικές πρωτεΐνες σε δύο είδη κοκκίων. Τα λυσοσώματα μέσα στα κοκκία περιέχουν υδρολάση, μυελοϋπεροξειδάση, μουραμιδάση, λακτοφερρίνη κλπ. Τα κοκκία απελευθερώνονται μετά από ενεργοποίηση από ανοσοσυμπλέγματα.

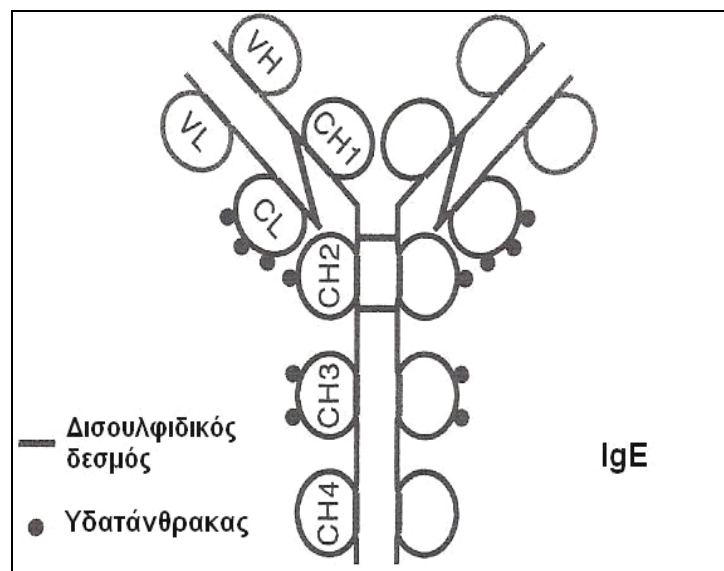
Τα αιμοπετάλια εκτός από την δράση τους στην πήξη του αίματος περιέχουν κοκκία, που απελευθερώνουν σεροτονίνη και ινωδογόνο, τα οποία μπορούν να ενεργοποιήσουν το συμπλήρωμα και να προκαλέσουν φλεγμονώδη αντίδραση.

3.3. Μόρια του ανοσοποιητικού συστήματος: αντιγόνα και αντισώματα

Τα αντιγόνα είναι ουσίες ικανές να προκαλέσουν ανοσολογική αντίδραση. Αντιδρούν με τα λεμφοκύτταρα και προκαλούν το σχηματισμό αντισωμάτων ή ευαισθητοποιημένων κυττάρων.

Τα αντισώματα είναι πρωτεΐνες της τάξεως των γ-σφαιρινών (ανοσοσφαιρινών), που παράγονται μετά από αντίδραση προκαλούμενη από το ανοσοποιητικό σύστημα. Κυκλοφορούν στον ορό και συνδέονται ειδικά με τα αντιγόνα, τόσο στη φάση της αναγνώρισης, όσο και στη δραστική φάση της χυμικής ανοσίας. Υπάρχουν πέντε τάξεις ανοσοσφαιρινών, οι οποίες διακρίνονται βάσει των αντιγονικών και δομικών χαρακτηριστικών τους (Rich, 1996). Παράγονται από τα Β-κύτταρα μετά τη μετατροπή τους σε πλασματοκύτταρα, τα οποία εκκρίνουν μία μόνο ειδική ανοσοσφαιρίνη για κάθε συγκεκριμένο αντιγόνο.

Οι ανοσοσφαιρίνες αποτελούνται από δύο όμοιες ελαφρές αλυσίδους (κ ή λ) και δύο όμοιες βαρείς αλυσίδους, οι οποίες καθορίζουν την τάξη τους (A, D, E, G και M).



Εικ. 5. Δομή της ανοσοσφαιρίνης E (τροποποίηση από Sharon J. Basic immunology. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1998).

3.4. Μη ειδικοί μεσολαβητές: κυτταροκίνες (cytokines)

Η αλληλεπίδραση μεταξύ των διάφορων κυττάρων του ανοσολογικού συστήματος συχνά προϋποθέτει την άμεση επαφή κυττάρου προς κύτταρο, αν και ένας από τους κύριους τρόπους επικοινωνίας, είναι η παραγωγή και έκκριση πρωτεϊνικών ορμονών που ονομάζονται κυτταροκίνες. Η επικοινωνία ανάμεσα στα T- κύτταρα, στα B-κύτταρα και τους εν δυνάμει χημικούς μεσολαβητές, ενισχύει τη δραστηριότητα των μακροφάγων. Οι κυτταροκίνες που παράγονται ειδικά από τα λεμφοκύτταρα ονομάζονται λεμφοκίνες, ενώ οι μεσολαβητές που δρουν μεταξύ των λευκοκυττάρων ονομάζονται ιντερλευκίνες (IL) (Hadley, 2002). Οι κυτταροκίνες παίζουν σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση του ανοσολογικού μηχανισμού γιατί ενισχύουν την κυτταρική αύξηση, διευθύνουν την ενεργοποίηση των κυττάρων, ενεργοποιούν τα μακροφάγα και καταστρέφουν αντιγόνα. Ασκούν τη βιολογική επίδρασή τους συνδεδεμένες με ειδικούς υποδοχείς της μεμβράνης του κυττάρου- στόχου. Οι περισσότερες κυτταροκίνες έχουν ορισμένα κοινά χαρακτηριστικά. Πρώτον, εμφανίζουν συχνά πλειοτροπική δραστηριότητα, δηλαδή η ίδια κυτταροκίνη έχει την ικανότητα να διεγείρει ορισμένους διαφορετικούς μεταξύ τους τύπους κυττάρων. Για παράδειγμα η IL-1 ενεργοποιεί τα T-κύτταρα, υποβοηθάει την ωρίμανση των προ-B-λεμφοκυττάρων, προάγει την οστεοκλαστική απορρόφηση των οστών και ενισχύει την έκφραση της κυτταρικής πρόσφυσης στο ενδοθήλιο των αγγείων. Δεύτερον, διαφορετικές κυτταροκίνες προκαλούν συχνά τις ίδιες βιολογικές απαντήσεις, όπως παρατηρείται στην περίπτωση των αντιικών ιδιοτήτων της ιντερφερόνης και του TNF (tumor necrosis factor). Τρίτον, ορισμένες κυτταροκίνες είναι δυνατόν να επηρεάζουν την παραγωγή άλλων κυτταροκινών. Έτσι, η IL-1 προάγει τη σύνθεση και έκκριση της IL-2 από τα NT λεμφοκύτταρα. Τέλος, οι κυτταροκίνες είναι δυνατό να εμφανίσουν συνέργεια ή ανταγωνισμό μεταξύ τους.

Η ιντερφερόνη είναι η πρώτη λεμφοκίνη, η οποία ανακαλύφθηκε στο υπερκείμενο κυτταρικής καλλιέργειας μολυσμένης από ιό. Τρεις τύποι ιντερφερόνης έχουν ταυτοποιηθεί: IFN-α, IFN-β, και IFN-γ. Οι IFN-α και IFN-β προκαλούν μείωση στον πολλαπλασιασμό ιών καθώς και διάφορων τύπων κυττάρων. Η IFN-γ παράγεται από ενεργοποιημένα T-κύτταρα, είναι δυνητικός ενεργοποιητής της φαγοκυτταρικής λειτουργίας των μονοπύρηνων και έχει

φαγοκυτταρική και μικροβιοκτόνο ικανότητα, καθώς και ικανότητα καταστροφής νεοπλασματικών κυττάρων. Η IFN- γ προκαλεί επίσης αυξημένη έκφραση μορίων κυτταρικής πρόσφυσης στα ενδοθηλιακά αγγειακά κύτταρα, που παίζουν ρόλο στη διακίνηση των φλεγμονωδών κυττάρων προς τις θέσεις φλεγμονής. Άλλες κυτταροκίνες δρουν ως αυξητικοί παράγοντες διαφόρων κυτταρικών σειρών. Αυτοί οι παράγοντες παράγονται από T-κύτταρα και αποτελούν ένα σύνδεσμο μεταξύ του λεμφογενούς και μυελογενούς αιμοποιητικού συστήματος (Rich, 1996).

Σήμερα είναι γνωστές περισσότερες από 20 κυτταροκίνες (πίνακας 1), οι οποίες βάσει των ιδιοτήτων τους μπορούν να διακριθούν σε τέσσερις κατηγορίες. Η πρώτη περιλαμβάνει κυτταροκίνες που λειτουργούν ως μεσολαβητές της ενδογενούς ανοσίας (IFN- α , IFN- β , TNF, IL-6). Μία δεύτερη ομάδα περιλαμβάνει κυτταροκίνες που ρυθμίζουν την ανάπτυξη και διαφοροποίηση των λεμφοκυττάρων (IL-2, IL-4, TGF- β). Η τρίτη ομάδα περιλαμβάνει κυτταροκίνες που ρυθμίζουν την αιμοποιητική δραστηριότητα του μυελού των οστών και στο σύνολό τους αναφέρονται με τον όρο CSF (colony-stimulating factor, GM-CSF, G-CSF, M-CSF, IL-3 IL-7). Τέλος στην τελευταία ομάδα ανήκουν κυτταροκίνες που εμφανίζουν την ιδιότητα ενεργοποίησης της φλεγμονώδους κυτταρικής απάντησης (IFN- γ , TNF- β).

Πίνακας 1. Κυτταροκίνες και βιολογικές τους ιδιότητες (τροποποίηση από Hadley J. Immunology of allergic upper respiratory disorders. In: Allergy and immunology. An otolaryngic approach. Krouze J, Chadwick S, Gordon B, Derebery J. (eds). Philadelphia: Lippincott Williams& Wilkins, 2002)

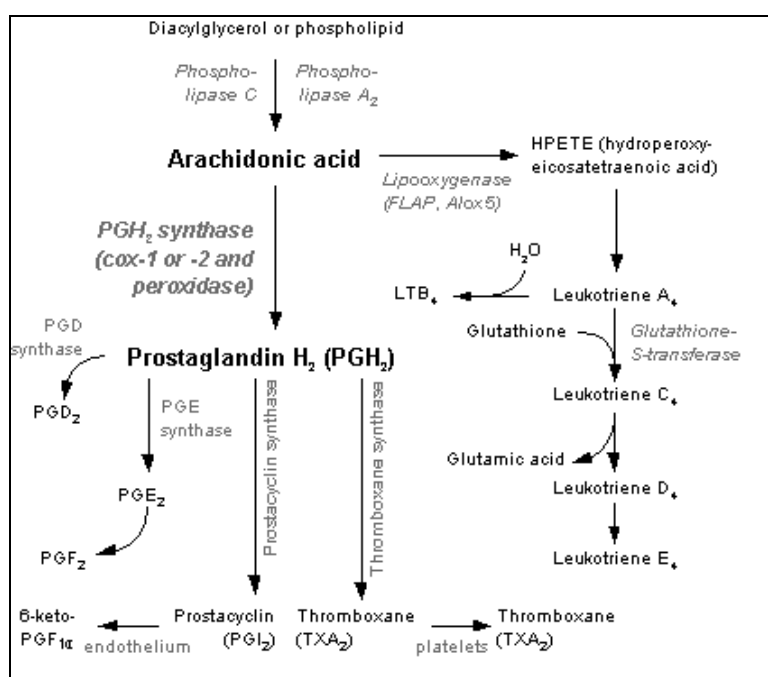
Κυτταροκίνη	Κυτταρική πηγή	Βασική λειτουργία
IL-1	Μακροφάγα	Διεγείρει αντιδράσεις οξείας φάσης. Προκαλεί γενική διέγερση του ανοσολογικού συστήματος. Αυξάνει την αιμοποίηση
IL-2	T κύτταρα	Προάγει την ανάπτυξη και τον πολλαπλασιασμό των T, B και NK κυττάρων. Υποβοηθάει την παραγωγή Ig από τα B λεμφοκύτταρα
IL-3	T κύτταρα	Προάγει την ανάπτυξη των αρχέγονων μυελοειδών κυττάρων του μυελού των οστών
IL-4	T κύτταρα, σιτευτικά κύτταρα	Αυξητικός παράγοντας για τα T κύτταρα και τα ενεργοποιημένα B κύτταρα. Προκαλεί μετατροπή της παραγωγής της IgM σε IgE από τα B λεμφοκύτταρα

IL-5	Μακροφάγα, Τ κύτταρα, ινοβλάστες	Διεγείρει την ανάπτυξη και διαφοροποίηση των ηωσινοφίλων. Προάγει την ανάπτυξη και τον πολλαπλασιασμό των ενεργοποιημένων Β κυττάρων
IL-6	Μακροφάγα, Τ και Β κύτταρα, ινοβλάστες	Προάγει την τελική διαφοροποίηση των Β λεμφοκυττάρων σε πλασματοκύτταρα. Υποκινεί τη σύνθεση πρωτεΐνης οξείας φάσης στα ηπατικά κύτταρα
IL-7	Μυελός των οστών, θύμος	Προάγει την ανάπτυξη αρχέγονων λεμφοειδών κυττάρων της Τ και Β κυτταρικής σειράς
IL-8	Μακροφάγα, μονοκύτταρα	Προάγει τη χημειοταξία και ενεργοποίηση των πολυμορφοπύρηνων
IL-9	T-helper κύτταρα	Προάγει την ανάπτυξη σιτευτικών κυττάρων.
IL-10	Τ κύτταρα, μακροφάγα	Αναστέλλει τη σύνθεση κυτοκινών. Αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό των T- helper κυττάρων
IL-12	Μονοπύρρηνα φαγοκύτταρα	Μεσολαβητής της ανοσολογικής απάντησης σε ενδοκυττάρια μικρόβια. Ενεργοποιεί τα NK κύτταρα, προάγει την παραγωγή IFN-γ
IL-15	Μονοπύρρηνα φαγοκύτταρα	Ενεργοποιεί τα NK κύτταρα σε απάντηση ιογενούς φλεγμονής
IL-18	Μακροφάγα	Προάγει την κυτταρική ανοσία. Υποβοηθάει την αντίδραση της IL-12 με τα NK κύτταρα για την παραγωγή IFN-γ
IFN-α	Λευκοκύτταρα	Προφυλάσσει έναντι σε ιογενή λοίμωξη. Αναστέλλει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό
IFN-β	Μακροφάγα, ινοβλάστες	Προφυλάσσει έναντι σε ιογενή λοίμωξη
IFN-γ	Τ κύτταρα, NK κύτταρα	Καταστρέφει νεοπλασματικά κύτταρα. Προάγει τις φλεγμονώδεις αντιδράσεις
G-CSF	Μονοκύτταρα, ινοβλάστες	Προάγει τη γένεση πολυμορφοπύρηνων από μητρικά κύτταρα του μυελού των οστών
GM-CSF	Τ κύτταρα, ινοβλάστες, μονοκύτταρα	Προάγει την ανάπτυξη και διαφοροποίηση κοκκιοκυττάρων και μονοπύρηνων φαγοκυττάρων από μητρικά κύτταρα του μυελού των οστών
M-CSF	Μονοκύτταρα, λεμφοκύτταρα, ινοβλάστες	Προάγει την ανάπτυξη και διαφοροποίηση μονοπύρηνων φαγοκυττάρων από μητρικά κύτταρα του μυελού των οστών
TGF-β	Τ κύτταρα	Προάγει την επούλωση τραυμάτων. Την αντίσταση σε νεοπλασματικό όγκο. Ανταγωνίζεται τη δράση των IL-2, IL-4 και IFN-γ
TNF-α	Τ κύτταρα	Αυξάνει την έκφραση μορίων κυτταρικής πρόσφυσης στο ενδοθήλιο των αγγείων. Προάγει την νέκρωση των όγκων. Ενεργοποιεί μονοπύρρηνα φαγοκύτταρα και πολυμορφοπύρρηνα. Έχει δραστηριότητα κατά των ιών.
TNF-β	Τ κύτταρα	Όπως ο TNF-α

3.5. Παράγωγα αραχιδονικού οξέος

Το αραχιδονικό οξύ είναι ένα ω-6 λιπαρό οξύ με χημικό τύπο $C_{20}H_{32}O_2$. Πρόκειται για ένα πολυακόρεστο λιπαρό οξύ, που βρίσκεται στα φωσφολιπίδια της κυτταρικής μεμβράνης (κυρίως στην φωσφατιδυλαιθανολαμίνη, φωσφατιδυλχολίνη, και φωσφατιδυλινοσιτόλες) και

απαντά σε αφθονία στον εγκέφαλο (Campbell, 1996). Είναι πρόδρομη ουσία για την παραγωγή των εικοσανοειδών (ενώσεις με 20 άτομα άνθρακα) δηλαδή των προσταγλανδινών, προστακυκλίνης και λευκοτριενίων (Samuelson, 1989) (Εικ. 6) και συμμετέχει στη διακυτταρική επικοινωνία ως δευτερεύων μεσολαβητής. Το αραχιδονικό οξύ απελευθερώνεται από το φωσφολιπιδικό μόριο δια των ενζύμων φωσφολιπάση A₂, C, και D (PLA₂, PLC, PLD). Τα ένζυμα ενεργοποιούνται από τη δράση νευροδιαβιβαστών όπως η σεροτονίνη, αλλά και από φλεγμονώδεις μεσολαβητές όπως η ισταμίνη ή η βραδυκίνη.



Εικ. 6. Μεταβολισμός αραχιδονικού οξέος.

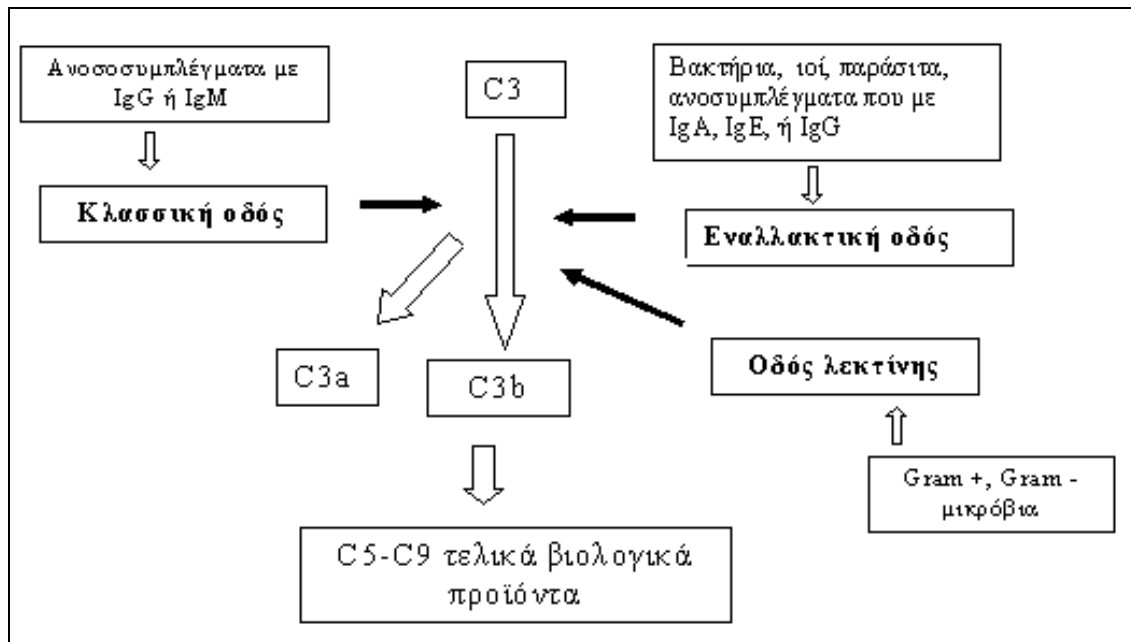
Λευκοτριένια: παράγονται ενδοκυττάρια από το αραχιδονικό οξύ μέσω της 5-λιποξυγενάσης (Samuelson, 1989). Η οδός της λιποξυγενάσης είναι ενεργή στα λευκοκύτταρα, συμπεριλαμβανομένων των σιτευτικών κυττάρων, ηωσινόφιλων, ουδετερόφιλων, μονοκυττάρων και βασεοφίλων. Όταν αυτά τα κύτταρα ενεργοποιούνται, το αραχιδονικό οξύ απελευθερώνεται από τα φωσφολιπίδια της κυτταρικής μεμβράνης και μέσω της πρωτεΐνης ενεργοποίησης της 5-λιποξυγενάσης (FLAP), μετατρέπονται από την 5-λιποξυγενάση στο ασταθές λευκοτριένιο A₄. Στα κύτταρα που υπάρχει η LTA₄ υδρολάση, όπως τα ουδετερόφιλα και τα μονοκύτταρα, το LTA₄ μετατρέπεται

σε LTB₄, η οποία είναι ένας ισχυρός χημειοτακτικός παράγοντας των ουδετερόφιλων. Στα κύτταρα που εκφράζουν την LTA₄ συνθετάση, όπως τα σιτευτικά κύτταρα και τα ηωσινόφιλα, το LTA₄ συνδέεται με γλουταθειόνη και σχηματίζει το πρώτο από τα κυστεϊνικά λευκοτριένια το LTC₄. Εξωκυτάρια, το LTC₄ μετατρέπεται ενζυματικά σε LTD₄ ή LTE₄ τα οποία διατηρούν τη βιολογική δραστηριότητα. Τα κυστεϊνικά λευκοτριένια δρουν μέσω των επιφανειακών κυτταρικών υποδοχέων τους, CysLT₁ και CysLT₂, στα κύτταρα-στόχους προκαλώντας σύσπαση των λείων μυϊκών ινών των βρόγχων και των αγγείων, αύξηση της διαπερατότητας των μικρών αιμοφόρων αγγείων, αύξηση της παραγωγής βλέννης στο αναπνευστικό και γαστρεντερικό σύστημα και επιστράτευση των λευκοκυττάρων σε θέσεις φλεγμονής (Campbell, 1996). Ιδιαίτερα σημαντικός είναι ο ρόλος τους στην παθογένεση του άσθματος που έχει αναγνωριστεί ως μία χρόνια φλεγμονώδης κατάσταση. Τόσο η LTB₄ όσο και τα κυστεϊνικά λευκοτριένια (LTC₄, LTD₄, LTE₄) υφίστανται μερική αποδόμηση τοπικά στους διάφορους ιστούς και τελικά μετατρέπονται στο ήπαρ σε ανενεργούς μεταβολίτες.

Προσταγλανδίνες: ανήκουν στην κατηγορία των εικοσανοειδών. Το πρώτο ένζυμο στη βιοσύνθεση προσταγλανδίνης είναι η κυκλοξυγενάση (COX), το οποίο μετατρέπει το αραχιδονικό οξύ στα ασταθή ενδιάμεσα προϊόντα PGG₂ και PGH₂ (Campbell, 1996). Υπάρχουν δύο τύποι κυκλοξυγενάσης η COX-1 και η COX-2. Η COX-1 συναντάται στα αιμοφόρα αγγεία, το στομάχο και τα νεφρά, ενώ η COX-2 εκλύεται σε καταστάσεις φλεγμονής από κυτταροκίνες και άλλους φλεγμονώδεις μεσολαβητές. Είναι μέχρι τώρα γνωστοί εννέα υποδοχείς προσταγλανδινών σε διάφορους τύπους κυττάρων και μέσω αυτών οι προσταγλανδίνες επιδρούν στις λείες μυϊκές ίνες των αγγείων προκαλώντας συστολή ή χάλαση, στα αιμοπετάλια προκαλώντας ή όχι συνάθροιση αυτών και στα νωτιαία νεύρα προκαλώντας άλγος. Εκτός από τη δράση τους στη μυϊκή σύσπαση και τη φλεγμονή, επιδρούν στην κινητοποίηση ασβεστίου, στην ορμονική ρύθμιση, και τον έλεγχο της κυτταρικής αύξησης.

3.6. Συμπλήρωμα

Ένας σημαντικός μηχανισμός ενίσχυσης των ανοσολογικών απαντήσεων σχετίζεται με μία ομάδα 20 και πλέον πρωτεϊνών, που φυσιολογικά βρίσκονται στο πλάσμα και χαρακτηρίζονται όλες μαζί με τον όρο σύστημα συμπληρώματος (Hadley, 2002). Τα πρωτεϊνικά μόρια δρουν σε μία αλυσιδωτή σειρά αντιδράσεων, στην οποία κάθε παραγόμενο ένζυμο λειτουργεί σαν καταλύτης για την επόμενη αντίδραση. Το τελικό αποτέλεσμα είναι η λύση των κυττάρων στόχων ή η ενίσχυση άλλων αντισωματικών αντιδράσεων. Η ενεργοποίηση του συμπληρώματος συνδέεται με ορισμένες διεργασίες που αφορούν φλεγμονώδεις αντιδράσεις. Στις διεργασίες αυτές περιλαμβάνονται μεταξύ άλλων, η αύξηση της αγγειακής διαπερατότητας και η ενεργοποίηση των φαγοκυττάρων. Επιπλέον, παράγωγα της ενεργοποίησης του συμπληρώματος διευκολύνουν την αναγνώριση και πέψη λοιμογόνων παραγόντων από τα φαγοκύτταρα, προάγουν την άμεση κυτταρική λύση ευπαθών Gram-αρνητικών μικροβίων, κινητοποιούν φαγοκύτταρα από το μυελό των οστών και τέλος ρυθμίζουν τη λειτουργία των T και B- λεμφοκυττάρων (Rus, 2005).



Εικ.7. Οδοί ενεργοποίησης συμπληρώματος.

Υπάρχουν δύο κύριες οδοί ενεργοποίησης του συμπληρώματος: η κλασσική και η εναλλακτική, ενώ έχει περιγραφεί και μία τρίτη οδός ενεργοποίησης, αυτή της λεκτίνης (Hadley, 2002). Και οι τρεις οδοί ενεργοποίησης του

συμπληρώματος καταλήγουν στο σχηματισμό ενός ενζύμου, που μετατρέπει το C3 σε C3a και C3b, το οποίο αποτελεί το ερέθισμα για την ενεργοποίηση του C5, ακολουθούμενο από τα C6, C7, C8, και C9.

Η κλασική οδός είναι ο κύριος μηχανισμός και ενεργοποιείται από το σχηματισμό ανοσοσυμπλεγμάτων που περιέχουν IgM ή IgG (Εικ. 7). Η εναλλακτική οδός ενεργοποιείται από πολλά βακτήρια, ιούς ή παράσιτα καθώς και από ανοσοσυμπλέγματα που περιλαμβάνουν IgA, IgE, ή IgG, αλλά είναι λιγότερο αποδοτική. Η οδός της λεκτίνης ενεργοποιείται από πολλούς Gram-θετικούς και Gram-αρνητικούς μικροοργανισμούς.

Βιολογικά αποτελέσματα της ενεργοποίησης του συμπληρώματος: Η ενζυματική αποδόμηση των συστατικών C3, C4 και C5 καταλήγει στη δημιουργία μεγάλων κλασμάτων (C3b, C4b και C5b), τα οποία συμμετέχουν στο επόμενο στάδιο της διαδικασίας ενεργοποίησης του συμπληρώματος και την ταυτόχρονη απελευθέρωση μικρότερων κλασμάτων (C3a, C4a και C5a) στον ορό του αίματος. Τα μικρότερα αυτά κλάσματα χαρακτηρίζονται με τον όρο αναφυλατοξίνες και είναι ικανά να πυροδοτήσουν την απελευθέρωση διάφορων φλεγμονωδών μεσολαβητών (μεταξύ των οποίων και ισταμίνη) από τα σιτευτικά κύτταρα και τα βασεόφιλα κύτταρα, με συνέπεια τη σύσπαση των λείων μυϊκών ινών και την αύξηση της τριχοειδικής διαπερατότητας. Εκτός της δράσης του ως αναφυλατοξίνη, το C5a επιδρά στα φαγοκύτταρα προάγοντας την κατευθυνόμενη μετανάστευση και την αυξημένη ικανότητα πρόσφυσης. Η παρουσία του κλάσματος C3b στην κυτταρική επιφάνεια, προωθεί τη φαγοκυττάρωση του στόχου, επειδή τα φαγοκύτταρα εκφράζουν μεμβρανικούς υποδοχείς του C3b. Ο ίδιος αυτός υποδοχέας αναγνωρίζει τα κλάσματα C4b. Η διεργασία κατά την οποία η εναπόθεση τμημάτων του συμπληρώματος σε ένα στόχο ενισχύει την φαγοκυττάρωση ονομάζεται οψωνοποίηση. Τέλος, η ενσωμάτωση των τελικών συστατικών του συμπληρώματος C5b, C6, C7, C8 και C9 στην επιφάνεια gram- μικροβίων αρκεί για να προωθήσει την οσμωτική λύση των μικροοργανισμών αυτών. Άλλες ιδιότητες του συμπληρώματος είναι η επίδραση των κλασμάτων Ba και Bb στον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των T- λεμφοκυττάρων, οι επιδράσεις των C3a και C5a στη λειτουργία των T- λεμφοκυττάρων και η

κινητοποίηση των ώριμων πολυμορφοπύρηνων από τον μυελό των οστών στη διάρκεια οξείας μικροβιακής φλεγμονής μέσω του κλάσματος C3e.

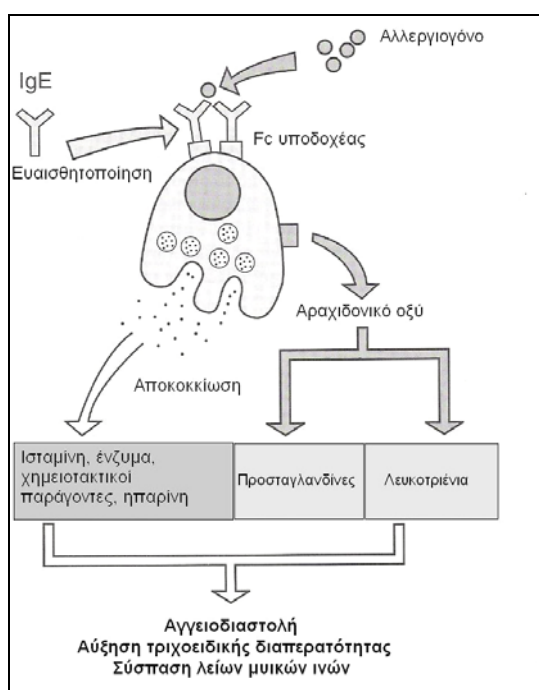
3.7. Αντιδράσεις υπερευαισθησίας

Η ανοσολογική απάντηση είναι συνήθως ικανή να εξασφαλίσει προστασία με ελάχιστη βλάβη των ιστών του οργανισμού. Ορισμένες φορές όμως η απάντηση είναι πολύ μεγάλης έντασης και οδηγεί σε μία σημαντική παθολογική διεργασία. Αυτές οι αντιδράσεις υπερευαισθησίας δεν εμφανίζονται συνήθως κατά την πρώτη έκθεση στο αντιγόνο αλλά σε κάποια από τις επόμενες εκθέσεις. Οι Gell και Coombs ταξινόμησαν τις αντιδράσεις υπερευαισθησίας σε τέσσερις τύπους. Οι αντιδράσεις υπερευαισθησίας τύπου I έως III έχουν σαν μεσολαβητές αντισώματα, ενώ ο τύπος IV είναι μια αντίδραση με μεσολαβητή τα T-κύτταρα (Rich, 1996).

Τύπος I: Άμεση (αναφυλακτικού τύπου) υπερευαισθησία

Η IgE που παράγεται μετά από επαφή του οργανισμού με το αντιγόνο, καθλώνεται στην επιφάνεια των σιτευτικών κυττάρων και των βασεόφιλων που διαθέτουν υποδοχείς για την Fc περιοχή της βαριάς αλυσού. Με την ένωση αυτή ευαισθητοποιούνται τα σιτευτικά κύτταρα ή βασεόφιλα και η IgE χρησιμεύει σαν αντιγονικός υποδοχέας. Επακόλουθη έκθεση των ευαισθητοποιημένων κυττάρων στο ειδικό αντιγόνο καταλήγει σε σταυροειδή σύνδεση των συνδεδεμένων με τη μεμβράνη παρακείμενων μορίων IgE, η οποία με τη σειρά της ενεργοποιεί μια πρωτεΐνη G (guanosine triphosphate-binding) (Hadley, 2002). Η πρωτεΐνη αυτή διεγείρει την παραγωγή δευτερευόντων μεσολαβητών, που ενεργοποιούν τα σιτευτικά κύτταρα ή βασεόφιλα, με επακόλουθο την αποκοκκίωσή τους. Έτσι ελευθερώνονται φλεγμονώδεις ενεργοί διαμεσολαβητές και εκδηλώνονται τα κλινικά συμπτώματα της άμεσης υπερευαισθησίας (Εικ. 8). Ο τύπος I αντίδρασης παράγει μία διπλής φάσης απάντηση. Η απελευθέρωση χημικών μεσολαβητών από τα σιτευτικά κύτταρα, συμπεριλαμβανομένης της ισταμίνης και άλλων προσχηματισμένων χημικών διαβιβαστών, οδηγεί σε μία αλυσίδα γεγονότων, που ξεκινούν την αλλεργική αντίδραση.

Με την αποκοκκίωση, η λύση του κυτταρικού τοιχώματος προκαλεί την παραγωγή νεοσχηματιζόμενων χημικών διαβιβαστών, συμπεριλαμβανομένων των λευκοτριένιων και προσταγλανδινών. Αυτοί οι δευτερογενείς χημικοί διαβιβαστές είναι υπεύθυνοι για τη συγκέντρωση στο σημείο της αντίδρασης διαφόρων κυτάρων και κυρίως ουδετεροφίλων και ηωσινοφίλων, τα οποία προκαλούν τις χαρακτηριστικές επιδράσεις της όψιμης φάσης της αλλεργικής αντίδρασης. Τα ηωσινόφιλα και τα ουδετερόφιλα παράγουν τοξικά ένζυμα και έτσι προκαλείται επιπλέον φλεγμονή.



Εικ. 8. Αντίδραση υπερευαισθησίας τύπου I (τροποποίηση από Mudge-GROUT C. Immunologic disorders. St Louis: Mosby Year Book, 1993).

Τύπος II: Κυτταρολυτική αντίδραση

Η αντίδραση υπερευαισθησίας τύπου II προκαλείται με τη μεσολάβηση IgM και IgG αντισωμάτων, τα οποία είναι συνδεδεμένα σε ειδικά κύτταρα ή ιστούς. Οι αντιδράσεις αυτού του τύπου μπορεί να κατευθύνονται εναντίον κυττάρων στόχων με επακόλουθη καταστροφή τους μέσω του συστήματος του συμπληρώματος ή με την κυτταροτοξική δράση των NK κυττάρων (Hadley, 2002). Η αιμολυτική νόσος του νεογέννητου επί ασυμβατότητας του παράγοντα Rhesus είναι ένα κλασικό παράδειγμα αντίδρασης υπερευαισθησίας τύπου II. Επίσης στην κατηγορία περιλαμβάνονται η πέμφιγα, η βαρεία μυασθένεια, το σύνδρομο Goodpasture και το σύνδρομο Lambert-Eaton.

Τύπος III: Αντίδραση ανοσοσυμπλέγματος

Μεγάλες ποσότητες ανοσοσυμπλεγμάτων είναι δυνατόν να συσσωρευτούν στους ιστούς, όταν δεν απομακρύνονται από το φαγοκυτταρικό σύστημα. Τα ανοσοσυμπλέγματα αυτά ενεργοποιούν το συμπλήρωμα, με επακόλουθο τη γένεση χημειοτακτικών παραγόντων (π.χ. C5a), που προάγουν τη διήθηση από φαγοκύτταρα και ιδιαίτερα ουδετερόφιλα (Hadley, 2002). Η επακόλουθη ιστική βλάβη οφείλεται κυρίως στην παραγωγή οξικών μεταβολιτών και την απελευθέρωση ενζύμων από τα ουδετερόφιλα κατά την προσπάθειά τους να καταστρέψουν τα ανοσοσυμπλέγματα. Ο τύπος της προκαλούμενης βλάβης εξαρτάται από την ανατομική θέση εναπόθεσης των ανοσοσυμπλεγμάτων. Παράδειγμα αντίδρασης υπερευαισθησίας τύπου III είναι η αντίδραση Arthus, στην προκαλούμενη από ανοσοσυμπλέγματα οξεία αγγειίτιδα.

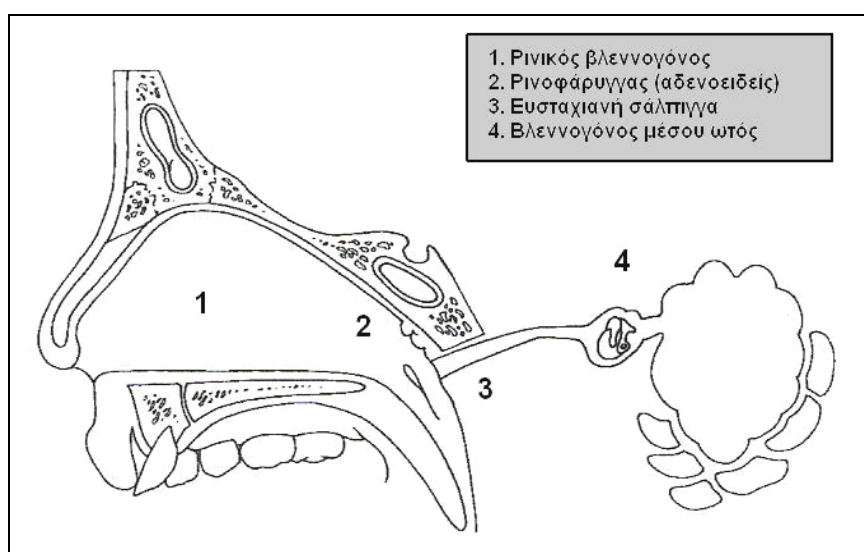
Τύπος IV: Αντίδραση επιβραδυνόμενης υπερευαισθησίας

Οι αντιδράσεις επιβραδυνόμενης υπερευαισθησίας χρειάζονται 12 ώρες για να εκδηλωθούν. Οφείλονται στην αντιγονική διέγερση των CD4 T-βοηθητικών κυττάρων και ειδικά των Th1. Τα κύτταρα αυτά παράγουν ορισμένες κυτταροκίνες μεταξύ των οποίων η ιντερλευκίνη 2 (IL-2) και η ιντερφερόνη γ (IFN-γ), οι οποίες προάγουν τη διήθηση και ενεργοποίηση μακροφάγων στην προσβληθείσα περιοχή (Hadley, 2002). Η επακόλουθη ιστική βλάβη είναι αποτέλεσμα απελευθέρωσης λυσοσωμικών ενζύμων και τοξικών μεταβολιτών από τα ενεργοποιηθέντα μακροφάγα. Στην κατηγορία αυτή περιλαμβάνονται η δερματίτιδα εξ επαφής, η αντίδραση φυματίνης, καθώς και η αντίδραση κοκκιωματώδους υπερευαισθησίας (δοκιμασία Kveim για τη σαρκοείδωση, αντίδραση Mitsuda στο αντιγόνο του μυκοβακτηριδίου λέπρας). Νοσήματα που χαρακτηρίζονται από αντιδράσεις κοκκιωματώδους υπερευαισθησίας είναι μεταξύ άλλων η λέπρα, η φυματίωση, η σαρκοείδωση και η νόσος Crohn.

4. ΑΛΛΕΡΓΙΚΗ ΝΟΣΟΣ ΚΑΙ ΜΕΣΟ ΟΥΣ

4.1. Θέσεις-στόχοι της αντίδρασης υπερευαισθησίας μέσω IgE (αντίδραση τύπου I) και μέση ωτίτιδα

Στις πιθανές θέσεις-στόχους μιας αλλεργικής αντίδρασης στο ανώτερο αναπνευστικό σύστημα περιλαμβάνονται: α) ο βλεννογόνος του μέσου ωτός β) ο ρινικός βλεννογόνος, γ) ο ρινοφάρυγγας και οι αδενοειδείς εκβλαστήσεις και δ) η ευσταχιακή σάλπιγγα (Εικ. 9) (Bernstein, 2002).



Εικ.9. Θέσεις- στόχοι της αντίδρασης υπερευαισθησίας τύπου I υπεύθυνοι για την εμφάνιση μέσης ωτίτιδας.

Βλεννογόνος του μέσου ωτός

Κλινικές μελέτες και μελέτες σε πειραματόζωα έχουν αναδείξει τον βλεννογόνο του μέσου ωτός ως όργανο-στόχο αλλεργικών αντιδράσεων. Κάποιοι ερευνητές αμφισβητούν αυτό τον ρόλο, βασιζόμενοι κυρίως σε βιολογικούς μηχανικούς περιορισμούς. Ειδικότερα, οι τοπικές αλλεργικές αντιδράσεις απαιτούν τη λίγο ως πολύ συνεχή μεταφορά του αλλεργιογόνου στο χώρο του μέσου ωτός. Μελέτες σε πειραματόζωα, όπου έχει πραγματοποιηθεί μικρού βαθμού μεταφορά αντιγόνων ή μικρής διάρκειας έκθεση στο αντιγόνο, είχαν ως αποτέλεσμα τοπική παροδική φλεγμονή χωρίς τη συσσώρευση σημαντικής ποσότητας διιδρώματος (Miglets, 1973 · Doyle, 1985). Η ΕΣ είναι η μόνη οδός για την είσοδο των αντιγόνων στο μέσο ουσ και είναι συνήθως κλειστή. Το άνοιγμά της κατά την κατάποση ή το χασμουρητό δεν συνδυάζεται

με εισπνοή και έτσι δεν είναι εφικτό εισπνεόμενα αλλεργιογόνα να φτάσουν στην κοιλότητα του μέσου ωτός. Είναι λοιπόν κατανοητό ότι δεν υπάρχει τρόπος να μεταφερθούν σε ικανή ποσότητα ή με ένα συνεχή τρόπο αντιγόνα στο μέσο ους. Επιπρόσθετα, η παρουσία αλλεργικής ρινίτιδας είναι δυνατόν να προκαλέσει απόφραξη της ΕΣ και έτσι να απομονωθεί τελείως το μέσο ους από το περιβάλλον. Κατά συνέπεια, χωρίς έναν αποδεδειγμένο τρόπο μεταφοράς αντιγόνων, η θεωρία του βλεννογόνου του μέσου ωτός ως όργανο-στόχος δεν μπορεί να θεμελιωθεί ως μείζων παράγοντας στη σχέση αλλεργίας και εκκριτικής μέσης ωτίτιδας.

Μελέτες σε κροταφικά οστά των Sadé και Luntz απέδειξαν ότι η πρωτοπαθής θέση φλεγμονής είναι ο βλεννογόνος του μέσου ωτός συγκρινόμενος με την ΕΣ σε ασθενείς με μέση ωτίτιδα (Sadé & Luntz, 1988). Η ενδιαφέρουσα μελέτη των Hurst και Venge, όπου αναδεικνύεται αυξημένη η ηωσινοφιλική κατιονική πρωτεΐνη στο υγρό της εκκριτικής ωτίτιδας, δεν επιβεβαιώνει την παρουσία αντίδρασης υπερευαισθησίας μέσω IgE (Hurst & Venge, 1996). Ο Bernstein μελέτησε 100 παιδιά με υποτροπιάζουσα ΕΜΩ, τα οποία είχαν υποβληθεί δύο φορές σε τυμπανοτομή και τοποθέτηση σωληνίσκου αερισμού. Από αυτά τα παιδιά βρέθηκαν να πάσχουν από αλλεργική ρινίτιδα το 35% βάσει του ιστορικού τους, της κλινικής εξέτασης, των δερματικών δοκιμασιών, των RAST (radioallergosorbent testing) και του οικογενειακού ιστορικού. Σε ένα μικρό ποσοστό από τα παιδιά με αλλεργική ρινίτιδα θεωρήθηκε ότι ο βλεννογόνος του μέσου ωτός μπορεί να αποτελεί το όργανο-στόχο της αλλεργικής αντίδρασης (Bernstein, 1985). Έτσι υπολογίζεται ότι περίπου σε ένα ποσοστό 10% των παιδιών με ΕΜΩ το όργανο στόχος μπορεί να είναι ο βλεννογόνος του μέσου ωτός. Πρέπει να διερευνηθεί το ενδεχόμενο να φτάνουν στο μέσο ους με την κυκλοφορία του αίματος ανοσοσυμπλέγματα με τροφικά αντιγόνα, τα οποία να προκαλούν την παραγωγή διιδρώματος.

Ρινικός βλεννογόνος

Ο ρινικός βλεννογόνος αποτελεί το πιο πιθανό όργανο-στόχο για την αλλεργική νόσο του μέσου ωτός, γιατί η αλλεργική ρινίτιδα προκαλεί την παραγωγή μεγάλων ποσοτήτων βλέννης και φλεγμονωδών μεσολαβητών που μπορούν να μεταφερθούν στο ρινοφάρυγγα μέσω της κίνησης των

κροσσών. Οι Mogi και Suzuki αναφέρουν ποσοστό αλλεργικής ρινίτιδας σε παιδιά με ΕΜΩ που φτάνει το 42%. Επιπλέον, ΕΜΩ βρέθηκε στο 36% των παιδιών με αλλεργική ρινίτιδα, ενώ στην ομάδα ελέγχου 17% είχαν αλλεργική ρινίτιδα και 6% ΕΜΩ (Mogi & Suzuki, 1997). Συμπερασματικά, η συχνότητα της αλλεργίας σε παιδιά με ΕΜΩ, είναι σημαντικά υψηλότερη από αυτή που αναφέρεται σε φυσιολογικά παιδιά παρόμοιας ηλικίας στο γενικό πληθυσμό.

Φλεγμονώδεις μεσολαβητές, όπως η ισταμίνη και άλλες ουσίες παραγόμενες από την αποκοκκίωση των σιτευτικών κυττάρων, προκαλούν οίδημα της ΕΣ και απόφραξη από βλέννη. Πολλές μελέτες σε αλλεργικούς ασθενείς αποδεικνύουν ότι η εισπνοή αλλεργιογόνων αυξάνει σημαντικά την απόφραξη της ΕΣ (Ackerman, 1984 · Skoner, 1986). Παρόλα αυτά, ακόμα και σε μελέτες όπου χρησιμοποιήθηκαν πολύ αυξημένες δόσεις εισπνεόμενων αλλεργιογόνων δεν επιτεύχθηκε ΕΜΩ ή ΟΜΩ.

Ευσταχιανή σάλπιγγα

Η άμεση αλλεργική φλεγμονή ως αποτέλεσμα συμπλεγμάτων αντιγόνου-IgE στον βλεννογόνο της ΕΣ προκαλεί οίδημα, αυξημένη τριχοειδική διαπερατότητα, συσσώρευση φλεγμονωδών κυττάρων και μεσολαβητών οξείας και χρόνιας φάσης και τελικά οίδημα και απόφραξη του αυλού της ΕΣ. Η απόφραξη της ΕΣ δεν προκαλεί μόνο την ανάπτυξη αρνητικής πίεσης στο μέσο ουσ, αλλά εμποδίζει και την παροχέτευση των εκκρίσεων προς το ρινοφάρυγγα.

Σύμφωνα με τον Bernstein υπάρχουν τρεις πιθανοί μηχανισμοί με τους οποίους μπορεί η αλλεργική ρινίτιδα να οδηγήσει σε δυσλειτουργία της ΕΣ: α) άμεση επαφή του αλλεργιογόνου με το ρινοφαρυγγικό στόμιο προκαλώντας οίδημα, β) εμφάνιση πλήρους ρινικής απόφραξης που οδηγεί στο φαινόμενο Toyhbee, γ) μετανάστευση χημικών μεσολαβητών της αλλεργικής ρινίτιδας από το βλεννογόνο της μύτης στο ρινοφάρυγγα εξαιτίας της λειτουργίας του κροσσωτού επιθηλίου (Bernstein, 1992). Δεν φαίνεται όμως από ρινομανομετρικές μελέτες να συμβαίνει πλήρης ρινική απόφραξη στη ρινική αλλεργία και έχει επίσης βρεθεί ότι σε περιπτώσεις πρόσθιου ρινικού πωματισμού για αντιμετώπιση επίσταξης, η λειτουργία της ΕΣ δεν

επηρεάζεται σημαντικά και οι ασθενείς δύνανται να εκτελέσουν τη δοκιμασία πίεσης- κατάποσης (Mc Curdy, 1977).

Επιδημιολογικές και ανατομικές μελέτες δεν υποστηρίζουν την απόφραξη της ΕΣ σαν το μόνο αίτιο για την ανάπτυξη μέσης ωτίτιδας αν και η παρατεταμένη απόφραξή της οδηγεί σε υποαερισμό του μέσου ωτός και συλλογή ορώδους εκκρίματος. Η εμφάνιση φλεγμονής του μέσου ωτός, ΕΜΩ ή ΟΜΩ, απαιτεί τη συμμετοχή και άλλων παραγόντων με επικρατέστερους την αλληλεπίδραση ιών και βακτηρίων στην περιοχή του ρινοφάρυγγα, άνοδο των φλεγμονωδών αυτών παραγόντων μέσω της ΕΣ και ανάπτυξη φλεγμονής στο χώρο του μέσου ωτός (Miyamoto, 1997).

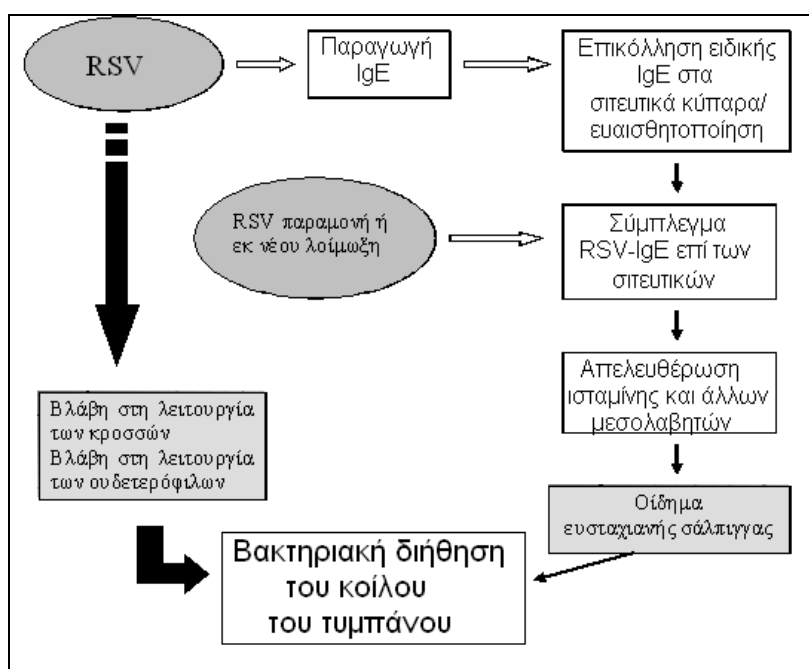
Ρινοφάρυγγας και αδενοειδείς εκβλαστήσεις

Ο βλεννογόνος του ρινοφάρυγγα και ειδικά οι αδενοειδείς εκβλαστήσεις μπορούν να αποτελέσουν θέση-στόχο αλλεργικής αντίδρασης. Σε παιδιά με γενετική προδιάθεση ατοπίας είναι πιθανό τα λεμφοκύτταρα των αδενοειδών εκβλαστήσεων να είναι προγραμματισμένα να παράγουν IL-4 και IL-5. Αυτές οι κυτταροκίνες είναι ιδιαίτερα σημαντικές στη δημιουργία ιστικής ηωσινοφιλίας ή πιο ειδικά αλλεργικής φλεγμονής. Αυτή η φλεγμονή προσβάλλει την περιοχή του ρινοφάρυγγα και κατά συνέπεια και το ρινοφαρυγγικό άκρο της ΕΣ.

4.2. Η σχέση ιών –αλλεργίας στην εμφάνιση μέσης ωτίτιδας

Δυο είναι οι πιο συχνοί ιοί που σχετίζονται με την εμφάνιση μέσης ωτίτιδας: ο αναπνευστικός συγκυτιακός ιός (RSV) και ο ρινοϊός. Οι ιοί αυτοί μπορεί να εμπλέκονται στην απελευθέρωση ισταμίνης στις ρινοφαρυγγικές εκκρίσεις ως αποτέλεσμα πρόκλησης IgE αντιιικής αντίδρασης στην επιφάνεια σιτευτικών κυττάρων και επιθηλιακών κυττάρων. Αυτή η αντίδραση έχει ως αποτέλεσμα την απελευθέρωση μεσολαβητών της αλλεργικής φλεγμονής, οι οποίοι με τη σειρά τους προκαλούν φλεγμονή του βλεννογόνου της ΕΣ και αυξημένη παραγωγή εκκρίσεων. Είναι πιθανόν, οι ιοί που σχετίζονται με τη μέση ωτίτιδα να προκαλούν μία αντίδραση μέσω IgE, η οποία μιμείται την αλλεργική αντίδραση που προκαλούν άλλα αλλεργιογόνα, όπως περιγράφηκε νωρίτερα. Ειδική έναντι ιών IgE έχει επίσης βρεθεί σε ασθενείς που έχουν προσβληθεί

από ιούς της παραγρίπης, του απλού έρπητα ή της ερυθράς. Τέλος, έχουν βρεθεί αυξημένα ποσά λευκοτριενίου C4 (LTC4) στην αναπνευστική οδό νεογνών προσβεβλημένων από τον RSV ως αποτέλεσμα ειδικής IgE αντίδρασης έναντι του ιού (Volonitz, 1988). Αυτά τα ευρήματα οδηγούν στην υπόθεση ότι ιογενείς φλεγμονές μπορεί να εμπλέκονται στην ενεργοποίηση των σιτευτικών κυττάρων κατά τη διάρκεια αντιδράσεων οξείας-φάσης, καθώς και άλλων δραστικών κυττάρων κατά τη διάρκεια όψιμης-φάσης αντιδράσεων, με έναν τρόπο παρόμοιο με την αντίδραση υπερευαισθησίας τύπου I. Επειδή η παρουσία και τα επίπεδα της LTC4 στο ρινοφάρυγγα σχετίζονται άμεσα με το βαθμό της απόφραξης της ΕΣ σε ασθενείς με αλλεργική ρινίτιδα, η ιογενής φλεγμονή μπορεί να εμπλέκεται στην παθογένεια της ΟΜΩ με έναν τρόπο παρόμοιο με εκείνο της αλλεργίας του ανώτερου αναπνευστικού (Bernstein, 2002) Σχηματικά ο πιθανός μηχανισμός της βακτηριακής μέσης ωτίτιδας προκαλούμενης μετά από ιογενή φλεγμονή απεικονίζεται στην Εικ. 10.



Εικ. 10. Πιθανοί μηχανισμοί με τους οποίους η φλεγμονή του ρινοφάρυγγα από ιό οδηγεί σε βακτηριακή μέση ωτίτιδα. RSV: αναπνευστικός συγκυτιακός ιός (τροποποίηση από Bernstein JM. Allergic disease and the middle ear. In: Allergy and immunology. An otolaryngic approach. Krouse J, Chadwick S, Cordon B, Derebery J. eds. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2002).

4.3. Ο ρόλος της τροφικής αλλεργίας στην εκκριτική μέση ωτίτιδα

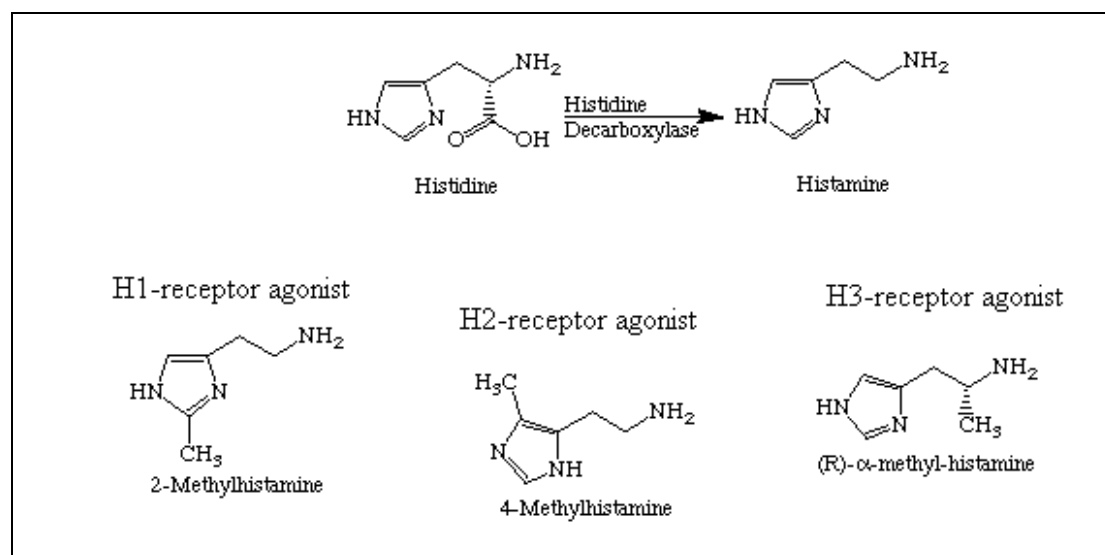
Δεν υπάρχουν πολλές μελέτες, που να αποδεικνύουν τη συσχέτιση τροφικής αλλεργίας και ΕΜΩ. Ο Bernstein και συν μελέτησαν στον ορό του αίματος και στο υγρό του μέσου ωτός σε παιδιά επιρρεπή σε μέση ωτίτιδα (δηλαδή με

τουλάχιστον 6 επεισόδια μέσης ωτίτιδας στα 2 πρώτα χρόνια της ζωής τους) και σε παιδιά μη επιρρεπή σε μέση ωτίτιδα, τα επίπεδα των IgG-αντισωμάτων έναντι του γάλακτος, του λευκώματος του αβγού και του σιταριού. Βρέθηκε ότι τα παιδιά που ήταν επιρρεπή σε μέση ωτίτιδα παρουσίαζαν σημαντικά υψηλότερες τιμές IgG αντισωμάτων και ανοσοσυμπλεγμάτων IgG-αντιγόνων τόσο στον ορό όσο και στο υγρό του μέσου ωτός (Bernstein, 1988). Η βιολογική σημασία αυτών των ευρημάτων δεν έχει ακόμα διευκρινιστεί αλλά έχει βρεθεί ότι τα ανοσοσυμπλέγματα με τροφικά αντιγόνα μπορούν να ενεργοποιήσουν το συμπλήρωμα στο μέσο ους και να προκαλέσουν φλεγμονή. Αν και πρόκειται για διαφορετικό τύπο ανοσολογικής αντίδρασης από αυτόν του τύπου I, μπορεί να αποτελεί ένα πιθανό αίτιο για υποτροπιάζοντα επεισόδια ΕΜΩ σε μικρά παιδιά (Bernstein, 2002).

5. Ο ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΙΣΤΑΜΙΝΗΣ ΚΑΙ ΟΙ ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΣΥΝΕΠΕΙΕΣ ΤΗΣ ΑΠΕΛΕΥΘΕΡΩΣΗΣ ΤΗΣ

5.1. Χημεία- Βιοσύνθεση- Κατανομή- Μεταβολισμός Ισταμίνης

Η ισταμίνη είναι ένα υδροφιλικό μόριο αποτελούμενο από έναν ιμιδαζολικό δακτύλιο και μία αμινο-ομάδα, τα οποία συνδέονται από δύο ομάδες μεθυλενίου. Οι τέσσερις τάξεις των υποδοχέων της ισταμίνης ενεργοποιούνται ξεχωριστά από ανάλογα ισταμίνης. Έτσι, η 2-μεθυλ-ισταμίνη προκαλεί απαντήσεις μέσω των H₁ υποδοχέων, ενώ η 4 (5)-μεθυλ-ισταμίνη επιδρά μέσω των H₂ υποδοχέων και η (R)-α- μεθυλ-ισταμίνη είναι ο κύριος αγωνιστής των H₃ υποδοχέων. Μέχρι τώρα δεν έχει βρεθεί εκλεκτικός αγωνιστής για τους H₄ υποδοχείς (Εικ. 11).



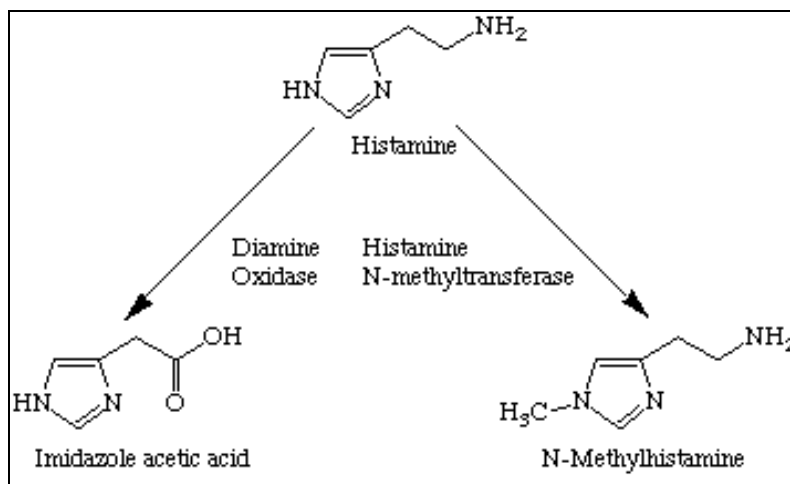
Εικ. 11. Σύνθεση ισταμίνης, και ανάλογα ισταμίνης ειδικά για τους 3 τύπους υποδοχέων. (τροποποίηση από: Babe K, Serafin W. Histamine, bradykinin and their antagonists. In: Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of therapeutics. 9th ed. Mc Graw-Hill, 1996).

Η ισταμίνη εμφανίζει ευρεία κατανομή στο ζωικό βασίλειο και βρίσκεται σε πολλά δηλητήρια, βακτήρια και φυτά. Όλοι σχεδόν οι ιστοί των θηλαστικών περιέχουν ισταμίνη σε ποσότητα, που ποικίλλει από λιγότερο από 1μg/g έως περισσότερο από 100μg/g. Η συγκέντρωση της ισταμίνης στο πλάσμα και άλλα υγρά του σώματος είναι γενικά πολύ μικρή, αλλά το ανθρώπινο εγκεφαλονωτιαίο υγρό περιέχει σημαντικές ποσότητες. Τα σιτευτικά κύτταρα είναι οι κύριες θέσεις αποθήκευσης της ισταμίνης στους περισσότερους

ιστούς. Έτσι, η συγκέντρωση της ισταμίνης είναι ιδιαίτερα υψηλή στους ιστούς που περιέχουν μεγάλο αριθμό σιτευτικών κυττάρων, όπως το δέρμα, ο βλεννογόμος του βρογχικού δέντρου και ο βλεννογόμος του εντέρου. Παρ' όλα αυτά κάποιοι ιστοί συνθέτουν και μεταβολίζουν σε αξιοσημείωτα γρήγορο ρυθμό την ισταμίνη, αν και σε σταθερή κατάσταση η περιεκτικότητά τους σε αυτή είναι μικρή. Η ισταμίνη που εισάγεται με την τροφή ή παράγεται από βακτήρια στον γαστρεντερικό σωλήνα, μεταβολίζεται ταχύτατα και αποβάλλεται με τα ούρα. Κάθε ιστός θηλαστικού που περιέχει ισταμίνη μπορεί να τη συνθέσει από το αμινοξύ ιστιδίνη δια του ενζύμου L-histidine decarboxylase (Εικ. 11).

Στα εκκριτικά κοκκία και σε $pH \sim 5,5$, η ισταμίνη φορτίζεται θετικά και ενώνεται με ιοντικούς δεσμούς με αρνητικά φορτισμένες οξικές ομάδες πρωτεασών, ηπαρίνης ή πρωτεογλυκανών (Serafin, 1987). Η ανανέωση της ισταμίνης στα εκκριτικά κοκκία είναι μία αργή διαδικασία και, όταν ιστοί πλούσιοι σε σιτευτικά κύτταρα αδειάζουν από ισταμίνη, μπορεί να χρειαστούν εβδομάδες για να γίνουν πάλι φυσιολογικές οι συγκεντρώσεις της. Άλλες θέσεις σχηματισμού της ισταμίνης πλην των σιτευτικών κυττάρων αποτελούν κύτταρα της επιδερμίδας, κύτταρα του γαστρικού βλεννογόνου, νευρώνες του κεντρικού νευρικού συστήματος και κύτταρα ιστών που αναγεννώνται ή αυξάνονται γρήγορα. Σε αυτούς τους ιστούς, η ανανέωση της ισταμίνης είναι γρήγορη, λόγω του ότι δεν αποθηκεύεται αλλά όπως φαίνεται, συμβαίνει μία διαρκής απελευθέρωσή της. Αυτές οι θέσεις παραγωγής ισταμίνης συνεισφέρουν σημαντικά στην ημερήσια αποβολή της ίδιας και των μεταβολιτών της μέσω των ούρων.

Στους ανθρώπους υπάρχουν δύο κύριες οδοί μεταβολισμού της ισταμίνης. Η πιο σημαντική περιλαμβάνει μεθυλίωση του δακτυλίου και καταλύεται από το ένζυμο histamine-N-methyltransferase. Το μεγαλύτερο ποσό από το προϊόν, η N-μεθυλ-ισταμίνη μετατρέπεται από το ένζυμο monoamine oxidase (MAO) σε N-μεθυλ-ιμιδαζολικό οξικό οξύ. Εναλλακτικά, η ισταμίνη μέσω του ενζύμου diamine oxidase (DAO), μετατρέπεται σε ιμιδαζολικό οξικό οξύ (Εικ. 12). Τα προϊόντα των δύο μεταβολικών οδών δεν παρουσιάζουν καμία ή πολύ μικρή δραστηριότητα, και, όπως ήδη αναφέρθηκε, αποβάλλονται με τα ούρα.



Εικ. 12. Μεταβολίτες της ισταμίνης.

5.2. Δράση της ενδογενούς ισταμίνης

Η ισταμίνη είναι ένας προσχηματισμένος διαβιβαστής, που βρίσκεται αποθηκευμένος στα σιτευτικά κύτταρα και η απελευθέρωσή του, ως αποτέλεσμα αντίδρασης του αντιγόνου με ανοσοσφαιρίνες IgE επί της επιφάνειας των σιτευτικών κυττάρων, παίζει κεντρικό ρόλο στην αντίδραση άμεσης υπερευαισθησίας και στις αλλεργικές απαντήσεις. Η δράση της ισταμίνης στους λείους μύες των βρόγχων και των αιμοφόρων αγγείων, είναι υπεύθυνη για μέρος των συμπτωμάτων των αλλεργικών απαντήσεων. Επιπλέον, κάποια χρήσιμα στην κλινική πράξη φάρμακα μπορούν να δράσουν άμεσα στα σιτευτικά κύτταρα απελευθερώνοντας ισταμίνη και έτσι να εκδηλωθούν κάποιες ανεπιθύμητες ενέργειές τους. Η ισταμίνη παίζει κύριο ρόλο στη ρύθμιση της έκκρισης γαστρικού υγρού, ενώ σχετικά πρόσφατα έχει αναγνωριστεί και ο ρόλος της ως νευροδιαβιβαστής του κεντρικού νευρικού συστήματος.

Ο ρόλος της ισταμίνης στις αλλεργικές απαντήσεις

Τα κύρια κύτταρα στόχοι των αντιδράσεων άμεσης υπερευαισθησίας είναι τα σιτευτικά κύτταρα και βασεόφιλα. Η αλλεργική απάντηση σε ένα αντιγόνο ξεκινά με το σχηματισμό αντισωμάτων IgE τα οποία συνδέονται στην επιφάνεια των σιτευτικών κυττάρων και βασεοφίλων μέσω των μεγάλης συγγένειας Fc-υποδοχέων που είναι ειδικοί για τα αντισώματα IgE. Αυτός ο

υποδοχέας FcεRI, αποτελείται από α, β και δύο γ αλυσίδες, η μοριακή δομή των οποίων έχει ταυτοποιηθεί (Galli, 1993). Τα μόρια IgE δρουν σαν υποδοχείς μέσω των FcεRI και αλληλεπιδρούν με συστήματα μετατροπής σήματος στις μεμβράνες των ευαισθητοποιημένων κυττάρων. Ατοπικοί ασθενείς, σε αντίθεση με εκείνους που δεν εμφανίζουν ατοπία, σχηματίζουν αντισώματα IgE σε κοινά εισπνεόμενα αντιγόνα. Πρόκειται για κληρονομικό χαρακτηριστικό και έχει αναγνωριστεί ένα πιθανό υπεύθυνο γονίδιο στο χρωμόσωμα 11, το οποίο κωδικοποιεί την β άλυσσο του FcεRI (Cookson, 1992). Κατά την έκθεση, το αντιγόνο γεφυρώνει τα μόρια IgE που βρίσκονται στην επιφάνεια των ευαισθητοποιημένων κυττάρων, γεγονός που προκαλεί ενεργοποίηση των τυροσινικών κινασών και επακόλουθη φωσφορυλίωση πολλαπλών πρωτεϊνικών υποστρωμάτων μέσα σε 5 έως 15 δευτερόλεπτα από την επαφή με το αντιγόνο. Ακολουθεί μία διαδικασία που αυξάνει τα επίπεδα του ενδοκυττάρου Ca^{2+} , το οποίο με τη σειρά του προωθεί την εξωκύτωση των εκκριτικών κοκκίων με σύντηξη αυτών με την κυτταρική μεμβράνη.

Απελευθέρωση άλλων φλεγμονωδών μεσολαβητών

Η απελευθέρωση της ισταμίνης μπορεί να εξηγήσει ένα μέρος από όσα συμβαίνουν κατά τις αντιδράσεις υπερευαισθησίας. Στην πραγματικότητα μία μεγάλη ποικιλία φλεγμονωδών μεσολαβητών απελευθερώνεται με την ενεργοποίηση των σιτευτικών κυττάρων.

Εκτός από την ενεργοποίηση της φωσφολιπάσης C και την υδρόλυση των φωσφολιπιδίων ινοσιτόλης, ο ερεθισμός των υποδοχέων IgE επίσης ενεργοποιεί τη φωσφολιπάση A_2 οδηγώντας σε παραγωγή του παράγοντα ενεργοποίησης αιμοπεταλίων (PAF) και μεταβολιτών του αραχιδονικού οξέος. Το λευκοτριένιο D_4 που παράγεται με αυτό τον τρόπο είναι πιθανά η ουσία που προκαλεί σύσπαση των λείων μυϊκών ινών στο βρογχικό δέντρο. Εκτός των άλλων παράγονται και κινίνες κατά τη διάρκεια των αλλεργικών αντιδράσεων. Συμπερασματικά, τα σιτευτικά κύτταρα εκτός της ισταμίνης εκκρίνουν μία σειρά φλεγμονωδών ουσιών, καθεμία από τις οποίες συνεισφέρει στην εκδήλωση των κύριων συμπτωμάτων της αλλεργικής

αντίδρασης: βρογχόσπασμος, πτώση της αρτηριακής πίεσης, αυξημένη τριχοειδική διαπερατότητα και παρουσία οιδήματος.

5.3. Φαρμακολογικές επιδράσεις της ισταμίνης.

Η σημασία της ισταμίνης ως μεσολαβητής μπορεί να κατανοηθεί από την κατανομή των κυττάρων που εκφράζουν υποδοχείς ισταμίνης. Με την εξαίρεση ίσως των σιτευτικών κυττάρων, όλα τα κύτταρα εκφράζουν έναν τύπο ισταμινικού υποδοχέα (McGlashan, 2003). Μετά την έκκρισή της, η ισταμίνη μπορεί να προκαλέσει τοπική ή απομακρυσμένη δράση σε λείες μυϊκές ίνες και αδένες. Προκαλεί σύσπασση σε πολλούς λείους μυς, όπως των βρόγχων και του εντέρου, αλλά και χαλάρωση των λείων μυϊκών ινών των μικρών αιμοφόρων αγγείων. Αποτελεί επίσης ισχυρό ερέθισμα για την έκκριση γαστρικού οξέος. Επιπλέον των κύριων αυτών δράσεων της ισταμίνης, παρουσιάζεται σχηματισμός οιδήματος και ενεργοποίηση αισθητικών νευρικών απολήξεων. Πολλές από τις επιδράσεις της ισταμίνης όπως ο βρογχόσπασμος και η σύσπασση του εντέρου συμβαίνουν μέσω των H_1 υποδοχέων. Η επίδραση στη γαστρική έκκριση είναι αποτέλεσμα ενεργοποίησης των H_2 υποδοχέων. Τέλος, κάποιες επιδράσεις όπως η υπόταση, είναι αποτέλεσμα αγγειακής διάτασης και συμβαίνει από ενεργοποίηση τόσο των H_1 , όσο και των H_2 υποδοχέων.

Οι H_1 υποδοχείς είναι υπεύθυνοι για ενδοκυττάρειες αντιδράσεις που χαρακτηρίζονται από μεταβολές των ελεύθερων κυτταροπλασματικών επιπέδων ασβεστίου, ενώ οι H_2 υποδοχείς ευθύνονται για ενδοκυττάρια αντίδραση που χαρακτηρίζεται από αύξηση της κυκλικής μονοφωσφορικής αδενοσίνης (cAMP). Οι δύο πρόσφατα ταυτοποιημένοι υποδοχείς, H_3 και H_4 , φαίνεται να λειτουργούν παρόμοια με τους πρώτους, αλλά μέσω του H_3 συμβαίνει μείωση των επιπέδων cAMP (Πίνακας 2).

Η κλωνοποίηση των υποδοχέων ήταν ένα σημαντικό βήμα για την κατανόηση της λειτουργίας τους. Η ισταμίνη αλληλεπιδρά με αμινοξέα που βρίσκονται στα διαμεμβρανικά τμήματα TM3 και TM5 των υποδοχέων, παρόμοια με την σύνδεση της κατεχολαμίνης στους υποδοχείς της (McGlashan, 2003). Το 2000 κλωνοποιήθηκε από διάφορες ερευνητικές ομάδες ο υποδοχέας H_4 , ο

οποίος όπως και ο υποδοχέας H₃ έχει αρκετά μεγάλη K_d για την ισταμίνη (20-40 nmol/L). Ο χαρακτηρισμός αυτής της νέας κατηγορίας ισταμινικού υποδοχέα, ο οποίος κατανέμεται εκτός εγκεφάλου, είναι πολύ σημαντικός αν και χρειάζονται ακόμη πολλές μελέτες για να εξακριβωθεί ο ρόλος του στις ανοσολογικές αντιδράσεις. Φαίνεται ότι παίζει σημαντικό ρόλο στη χημειοταξία των λευκοκυττάρων και σιτευτικών κυττάρων στην περιοχή της φλεγμονής και κινητοποιεί το Ca²⁺ στα ηωσινόφιλα και σιτευτικά κύτταρα (Zhu, 2001· Oda, 2000).

Μία πέμπτη κατηγορία ενδοκυττάρων υποδοχέων ισταμίνης H_{1c} έχει περιγραφεί, κυρίως εξαιτίας ανεύρεσης μικρών ποσοτήτων ισταμίνης σε κύτταρα, τα οποία κλασικά δεν θεωρούνται ότι περιέχουν ισταμίνη. Ερευνάται αν πρόκειται για δευτερεύοντες μεσολαβητές (Πίνακας 2).

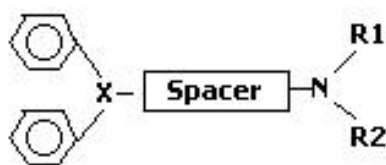
Πίνακας 2. Τύποι υποδοχέων ισταμίνης. K_d Σταθερά ισορροπίας διάστασης (equilibrium constant for dissociation) (McGlashan D. Histamine: a mediator of inflammation. J Allergy Clin Immunol 2003;112:S53-59)

Τύπος υποδοχέα	Κλωνοποίηση	K _d	Ιστική κατανομή	Δευτερεύων μεσολαβητής
H ₁ (1966)	1991	~10 μmol/L	Ευρεία	Ca ²⁺
H ₂ (1972)	1991	~30 μmol/L	Ευρεία	cAMP
H ₃ (1983)	1999	~10 nmol/L	Εγκέφαλος	cAMP/ Ca ²⁺
H ₄ (1994)	2000	20-40 nmol/L	Αιμοποιητικό, έντερο	Ca ²⁺
H _{1c} (~1992)		~ μmol/L	Αιμοποιητικό	Είναι δευτερεύων μεσολαβητής;

6. ΟΥΣΙΕΣ ΜΕ ΑΝΤΙΙΣΤΑΜΙΝΙΚΗ- ΑΝΤΙΦΛΕΓΜΟΝΩΔΗ ΔΡΑΣΗ

6.1. H₁ Ανταγωνιστές

Οι περισσότεροι H₁ ανταγωνιστές έχουν παρόμοια φαρμακολογική δράση και θεραπευτικές εφαρμογές (Babe, 1996). Η βασική δομή των H₁ ανταγωνιστών φαίνεται στην Εικ. 13, ενώ στον πίνακα 3 φαίνεται η κατάταξή τους, η διάρκεια δράσης τους και η ημερήσια δόσολογία ενηλίκων.



Εικ. 13. Δομή των H₁ ανταγωνιστών.
X: C, ή N, ή CO. Spacer: 2-3 C σε άλυσσο, κορεσμένοι ή μη. R1, R2: μικρές αλκυλ-ομάδες.

Λείες μυϊκές ίνες: Οι H₁ ανταγωνιστές αναστέλλουν τις περισσότερες επιδράσεις της ισταμίνης στους λείους μυς. Στο αγγειακό δέντρο, οι H₁ ανταγωνιστές αναστέλλουν την αγγειοσυσπαστική δράση της ισταμίνης και ως σε ένα βαθμό την ταχύτερη αγγειοδιασταλτική δράση, που συμβαίνει με τη μεσολάβηση των H₁ υποδοχέων των ενδοθηλιακών κυττάρων. Η υπολειπόμενη αγγειοδιαστολή αντανακλά την δράση των H₂ υποδοχέων στους λείους μυς και μπορεί να κατασταλεί μόνο με ταυτόχρονη ενός H₂ ανταγωνιστή.

Τριχοειδική διαπερατότητα: Οι H₁ ανταγωνιστές αναστέλλουν αποτελεσματικά τη δράση της ισταμίνης που οδηγεί σε αυξημένη τριχοειδική διαπερατότητα, οίδημα και σχηματισμό πομφού. Επίσης η δράση των H₁ ανταγωνιστών αναστέλλει το ερύθημα και τον κνησμό που προκαλείται μετά από ενδοδερμική χορήγηση ισταμίνης. Το ερύθημα και ο κνησμός οφείλονται στην επίδρασή της ισταμίνης στις νευρικές απολήξεις.

Εξωκρινείς αδένες: Η γαστρική έκκριση δεν επηρεάζεται καθόλου από τους H₁ ανταγωνιστές, ενώ η επίδρασή τους στην έκκριση των σιελογόνων, των δακρυϊκών και άλλων εξωκρινών αδένων ποικίλλει. Οι παρόμοιες με την

ατροπίνη ιδιότητες τους, μπορεί να συνεισφέρουν στη μείωση της έκκρισης των αδένων με χολινεργική νεύρωση.

Πίνακας 3. H₁ ανταγωνιστές. (Τροποποίηση από: Babe K, Serafin W. Histamine, bradykinin and their antagonists. In: Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of therapeutics. 9th ed. Mc Graw-Hill, 1996)

ΤΑΞΗ & Φαρμακευτική ουσία	Διάρκεια δράσης (ώρες)	Δοσολογία (ενήλικες)
1^{ης} Γενιάς		
Ethanolamines		
• Carbinoxamine maleate	3-6	4-8 mg
• Clemastine fumarate	12-24	1.34-2.68 mg
• Diphenhydramine hydrochloride	4-6	25-50 mg
• Dimenhydrinate	4-6	50-100 mg
Ethylenediamines		
• Pyrilamine maleate	4-6	25-50
• Tripeleppamine hydrochloride	4-6	25-50 mg, 100 mg (σταδιακή αποδέσμευση)
• Tripeleppamine citrate		37.5-75 mg
Alkylamines		
• Chlorpheniramine maleate	4-6	4 mg, 8-12 mg (σταδιακή αποδέσμευση), 5-20 mg (ενέσιμη μορφή)
• Brompheniramine maleate	4-6	4 mg, 8-12 mg (σταδιακή αποδέσμευση), 5-20 mg (ενέσιμη μορφή)
Piperazines		
• Hydroxyzine hydrochloride	6-24	25-100 mg
• Hydroxyzine pamoate	6-24	25-100 mg
• Cyclizine hydrochloride	4-6	50 mg
• Cyclizine lactate	4-6	50 mg
• Meclizine hydrochloride	12-24	12,5-50 mg

Phenothiazides		
• Promethazine hydrochloride	4-6	25 mg
2^{ης} Γενιάς		
Alkylamines	6-8	
• Acrivastine	6-8	8 mg
Piperazines		
• Cetirizine hydrochloride	12-24	5-10 mg
Piperidines		
• Astemizole	>24	10 mg
• Levocabastine hydrochloride	16-24	One drop
• Loratadine	24	10 mg
• Terfenadine	12-24	60 mg
3^{ης} Γενιάς		
• Levocetirizine	24	5 mg
• Desloratadine	24	5 mg
• Fexofenadine	24	180 mg

Αντίδραση άμεσης υπερευαισθησίας. Αναφυλαξία και αλλεργία: Κατά τη διάρκεια αντιδράσεων υπερευαισθησίας, η ισταμίνη είναι ένας από τους κύριους μεσολαβητές και η συμμετοχή της στην εκδήλωση συμπτωμάτων ποικίλει ευρέως ανάμεσα στα είδη και τους διάφορους ιστούς (Babe, 1996). Κατά συνέπεια και η προστασία των ανταγωνιστών της ισταμίνης ποικίλει ανάλογα. Στους ανθρώπους, κάποια φαινόμενα, συμπεριλαμβανομένων του οιδήματος και του κνησμού, περιορίζονται αρκετά αποτελεσματικά, ενώ άλλα όπως η υπόταση λιγότερο καλά. Κατά του βρογχόσπασμου δεν εμφανίζεται επίδραση ή αυτή είναι πολύ μικρή.

Κεντρικό νευρικό σύστημα (ΚΝΣ): Οι H₁ ανταγωνιστές πρώτης γενιάς έχουν τόσο ερεθιστική, όσο και κατασταλτική δράση στο ΚΝΣ. Ο ερεθισμός συμβαίνει περιστασιακά σε ασθενείς, οι οποίοι ενώ λαμβάνουν συμβατικές δόσεις εμφανίζονται ανήσυχοι, νευρικοί και με δυσκολία να κοιμηθούν. Η

διέγερση του ΚΝΣ είναι ένα σημαντικό χαρακτηριστικό δηλητηρίασης από H_1 ανταγωνιστές πρώτης γενιάς, η οποία όχι σπάνια καταλήγει σε σπασμούς ειδικά στα νεογνά. Η καταστολή του ΚΝΣ είναι σύνηθες χαρακτηριστικό των θεραπευτικών δόσεων των παλαιότερων H_1 ανταγωνιστών. Κοινές εκδηλώσεις αποτελούν η ελάττωση της εγρήγορσης, οι παρατεταμένοι χρόνοι αντίδρασης και η υπνηλία. Κάποιοι H_1 ανταγωνιστές εμφανίζουν μεγαλύτερη κατασταλτική δράση από άλλους όπως οι ethanalamines, ενώ και οι ασθενείς εμφανίζουν διαφορές στην ανταπόκρισή τους στο ίδιο φάρμακο.

Οι H_1 ανταγωνιστές δεύτερης γενιάς (μη κατασταλτικοί) δεν διέρχονται τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό και έτσι αποκλείονται δραστικά από τον εγκέφαλο. Οι δράση τους σε αντικειμενικές μετρήσεις καταστολής όπως ο λανθάνων χρόνος ύπνου και το εγκεφαλογράφημα, είναι παρόμοια με εκείνη των placebo φαρμάκων (Simons, 1994).

Φαρμακολογική δράση των H_1 ανταγωνιστών ανεξάρτητη της σύνδεσης στον υποδοχέα: Ο πρωταρχικός μηχανισμός δράσης των αντιισταμινικών στη θεραπεία της αλλεργικής νόσου πιστεύεται ότι είναι ο ανταγωνισμός με την ισταμίνη για τη σύνδεση με τους κυτταρικούς υποδοχείς (κυρίως τους H_1), που βρίσκονται στις νευρικές απολήξεις, τις λείες μυϊκές ίνες και τα αδενικά κύτταρα. Μελέτες όμως σε πειραματόζωα καθώς και in vitro μελέτες έχουν δείξει ότι οι H_1 ανταγωνιστές έχουν επιπρόσθετες φαρμακολογικές ιδιότητες που δεν σχετίζονται με τη σύνδεση στον υποδοχέα, όπως για παράδειγμα την μείωση της συσσώρευσης κυττάρων και της υπεραντίδρασης που προκαλείται από το αλλεργιογόνο. Αυτές οι ιδιότητες, οι οποίες δεν είναι ισότιμα κατανομημένες στους H_1 ανταγωνιστές, θεωρείται ότι συνεισφέρουν στη δραστικότητά τους αν και οι βιολογικοί μηχανισμοί δεν έχουν πλήρως διαλευκανθεί (Πίνακας 4).

Είναι μέχρι τώρα γνωστό ότι η άμεση απελευθέρωση μεσολαβητών κατά τη διάρκεια μιας αλλεργικής αντίδρασης δεν είναι το μόνο σημαντικό φαινόμενο που συμβάλλει στην εξέλιξη της διαδικασίας/ νόσου.

Πίνακας 4. Μελέτες των δράσεων των H₁ ανταγωνιστών ανεξάρτητων της σύνδεσης στον υποδοχέα. H: ισταμίνη, LTC₄ : λευκοτριένη 4. (McGlashan D. Histamine: a mediator of inflammation. J Allergy Clin Immunol 2003;112:S53-59)

Κυτταρικός τύπος	Φαρμακευτική ουσία	Δράση	Δημοσίευση
Βασεόφιλα	Loratadine	Αναστολή H, LTC ₄	Miadonna et al, 1994
		Αναστολή LTC ₄ , όχι H	Ramachers et al, 1994
	Azelastine	Αναστολή H	Little et al, 1989
	Astemizole	± LTC ₄ , όχι H	Ramachers et al, 1994
	Oxatomide	Αναστολή H, LTC ₄	Patella et al, 1996
		Αναστολή LTC ₄ , όχι H	Ramachers et al, 1994
	Ketotifen	Αναστολή H	Ramachers et al, 1994
Πνευμονικός ιστός	Loratadine	Αναστολή LTC ₄ , όχι H	Temple et al, 1988
	Azelastine	Αναστολή H	Little et al, 1989
	Astemizole	± H	Awouters et al, 1983
	Cetirizine	Αναστολή H	Church et al, 1996
		Αναστολή H, LTC ₄ , prostaglandin D2	Fabre et al, 1995
	Ketotifen	Αναστολή H	Church et al, 1996
Σιτευτικά κύτταρα πνεύμονα ή δέρματος	Loratadine	Αναστολή H, LTC ₄	Genovese et al, 1997
	Azelastine	Αναστολή H	Bolsmann et al, 1996
	Cetirizine	Αναστολή H	Church et al, 1996
	Oxatomide	Αναστολή H, LTC ₄ , prostaglandin D2	Patella et al, 1996
	Terfenadine	Αναστολή H	Church et al, 1996

Την έκθεση στο αλλεργιογόνο ακολουθεί μια όψιμη φλεγμονώδης απάντηση, η οποία χαρακτηρίζεται από συσσώρευση φλεγμονωδών κυττάρων, κυρίως ηωσινοφίλων και λεμφοκυττάρων. Τα λεμφοκύτταρα είναι Th2 κύτταρα και παράγουν κυτταροκίνες συμπεριλαμβανομένων των IL-4, IL-5 και GM-CSF (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor). Αυτές οι ουσίες

διατηρούν την αλλεργική φλεγμονώδη αντίδραση μέσω προαγωγής της σύνθεσης IgE (IL-4 και IL-13) καθώς και τη χημειοταξία και αυξημένη επιβίωση των ηωσινοφίλων (IL-5) (Baroody, 2000).

Απορρόφηση, βιοδιαθεσιμότητα και απέκκριση: Οι H₁ ανταγωνιστές απορροφώνται από το γαστρεντερικό σύστημα. Μετά από χορήγηση από του στόματος, η μέγιστη συγκέντρωση στο πλάσμα εμφανίζεται σε 2 έως 3 ώρες και η δράση τους διαρκεί συνήθως 4-6 ώρες, αν και υπάρχουν ουσίες που έχουν μεγαλύτερο χρόνο δράσης (Πίνακας 3).

Δεν υπάρχουν εκτεταμένες μελέτες για το μεταβολισμό των παλαιότερων H₁ ανταγωνιστών. Μετά από του στόματος χορήγηση η diphenhydramine φτάνει τη μέγιστη συγκέντρωση στο αίμα σε 2 περίπου ώρες και μετά μειώνεται, με χρόνο ημίσειας ζωής στο πλάσμα τις 4 περίπου ώρες. Το φάρμακο κατανέμεται ευρέως στο σώμα, συμπεριλαμβανομένου και του ΚΝΣ. Μικρή ποσότητα του φαρμάκου απεκκρίνεται αναλλοίωτη με τα ούρα, ενώ το περισσότερο ανιχνεύεται εκεί με τη μορφή μεταβολιτών.

Δεν υπάρχουν πολλές πληροφορίες για τις συγκεντρώσεις αυτών των φαρμάκων στο δέρμα και τους βλεννογόνους. Παρ' όλα αυτά, με τη χορήγηση ορισμένων H₁ ανταγωνιστών μακράς δράσης, παρουσιάζεται σημαντική καταστολή του πομφού και του ερυθήματος μετά από ενδοδερμική ένεση ισταμίνης ή αλλεργιογόνου επί 36 ή πλέον ώρες, ακόμα και αν η συγκέντρωση του φαρμάκου στο πλάσμα είναι πολύ χαμηλή. Όπως συμβαίνει και με άλλα φάρμακα που μεταβολίζονται σε μεγάλο βαθμό, έτσι και οι H₁ ανταγωνιστές μεταβολίζονται πιο γρήγορα στα παιδιά και πιο αργά σε ασθενείς με σοβαρή ηπατική νόσο.

Οι H₁ ανταγωνιστές δεύτερης γενιάς terfenadine, astemizole και loratadine απορροφώνται ταχέως από το γαστρεντερικό σύστημα και μεταβολίζονται στο ήπαρ σε ενεργούς μεταβολίτες από το μικροσωματικό P450 σύστημα (Simons, 1994). Κατά συνέπεια, ο μεταβολισμός αυτών των φαρμάκων μπορεί να επηρεαστεί από άλλα φάρμακα που ανταγωνίζονται το σύστημα P450. Η cetirizine, η οποία είναι ενεργός μεταβολίτης της hydroxyzine και η acrivastine

απορροφώνται επίσης ικανοποιητικά, αλλά απεκκρίνονται με τα ούρα χωρίς να μεταβολιστούν.

Όσον αφορά τους H₁ ανταγωνιστές τρίτης γενιάς, η levocetirizine (R-εναντιομερές της cetirizine) απορροφάται ταχέως και σε μεγάλο βαθμό και οι μέγιστες συγκεντρώσεις στο πλάσμα επιτυγχάνονται εντός μιας ώρας μετά από εφάπαξ δόση 5 mg. Σε αντίθεση με πολλά από τα φάρμακα πρώτης και δεύτερης γενιάς, η συστηματική βιοδιαθεσιμότητά της από του στόματος χορήγησης της levocetirizine είναι >77% και υφίσταται ελάχιστο ηπατικό μεταβολισμό. Ο χρόνος ημίσειας ζωής στο πλάσμα σε ενήλικες είναι 7,9 ±1,9 ώρες ενώ στα παιδιά είναι μικρότερος. Η desloratadine είναι ο ενεργός μεταβολίτης της loratadine, μεταβολίζεται σε μεγάλο βαθμό με υδροξυλίωση και μικρή ποσότητα του φαρμάκου ανευρίσκεται στα ούρα ή τα κόπρανα.

Ανεπιθύμητες ενέργειες: Η κύρια ανεπιθύμητη ενέργεια των φαρμάκων πρώτης γενιάς είναι η καταστολή του ΚΝΣ. Επίσης σε ανεπιθύμητη δράση επί του ΚΝΣ έχουν αποδοθεί συμπτώματα όπως ζάλη, εμβοές, κόπωση, θάμβος όρασης, διπλωπία, ευφορία, νευρικότητα, αϋπνία και τρόμος. Οι H₁ ανταγωνιστές δεύτερης και τρίτης γενιάς στις συνιστώμενες δόσεις δεν διέρχονται τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό και έτσι δεν εμφανίζουν σημαντική καταστολή.

Οι δεύτερες σε συχνότητα ανεπιθύμητες ενέργειες αφορούν το γαστρεντερικό σύστημα και περιλαμβάνουν: απώλεια όρεξης, ναυτία, έμετο, επιγαστραλγία, δυσκοιλιότητα και διάρροια. Τα συμπτώματα αυτά μειώνονται, όταν το φάρμακο λαμβάνεται με τα γεύματα.

Άλλες ανεπιθύμητες ενέργειες, που οφείλονται στις αντιμουςκαρινικές δράσεις ορισμένων H₁ ανταγωνιστών πρώτης γενιάς, περιλαμβάνουν ξηρότητα του στόματος και των αεροφόρων οδών, πρόκληση βήχα, ελάτπωση της συχνότητας ή της ποσότητας απέκκρισης ούρων και δυσουρία. Αυτές οι ανεπιθύμητες ενέργειες δεν παρατηρούνται με τα φάρμακα δεύτερης γενιάς terfenadine, astemizole και loratadine ή με τους H₁ ανταγωνιστές τρίτης γενιάς.

Σπάνια η terfenadine και η astemizole μπορεί να προκαλέσουν παράταση του QTc διαστήματος στο ηλεκτροκαρδιογράφημα με αποτέλεσμα πολύμορφη κοιλιακή ταχυκαρδία (torsades de pointes). Οι torsades de pointes μπορούν να συμβούν όταν το φάρμακο λαμβάνεται σε μεγαλύτερη από τη συνιστώμενη δόση ή σε περιπτώσεις, όπου ο μεταβολισμός από το ήπαρ δεν είναι ικανοποιητικός λόγω νόσου ή λόγω συγχορήγησης φαρμάκων που αναστέλλουν το ένζυμο CYP3A4 στο κυτόχρωμα P450 (Kyrmizakis, 2002). Αν και η loratadine μεταβολίζεται από το CYP3A4, δεν φαίνεται να σχετίζεται με την εμφάνιση torsades de pointes, ακόμα και με συγχορήγηση αναστολέων του ενζύμου CYP3A4 (Woosley, 1994). Η cetirizine και η acrivastine, καθώς και τα φάρμακα τρίτης γενιάς, απεκκρίνονται με τα ούρα χωρίς να μεταβολιστούν σε μεγάλο βαθμό από το ήπαρ και δεν έχει παρατηρηθεί να αυξάνουν το διάστημα QTc σε φυσιολογικά άτομα (Sale, 1994).

6.2. H₂ Ανταγωνιστές

Οι ανταγωνιστές των H₂ υποδοχέων ανταγωνίζονται την αλληλεπίδραση της ισταμίνης με τους H₂ υποδοχείς. Είναι ιδιαίτερα εκλεκτικοί και εμφανίζουν μικρή ή καθόλου δράση επί των H₁ ή άλλων υποδοχέων. Αν και οι H₂ υποδοχείς ανευρίσκονται σε πολλούς ιστούς, συμπεριλαμβανομένων των αγγείων και των λείων μυϊκών ινών των βρόγχων, οι H₂ ανταγωνιστές σχετίζονται ελάχιστα με φυσιολογικές λειτουργίες άλλες εκτός της γαστρικής έκκρισης (Brunton, 1996).

Οι ανταγωνιστές των H₂ υποδοχέων είναι σαν ομάδα περισσότερο υδρόφιλοι από ότι οι ανταγωνιστές των H₁ υποδοχέων και φτάνουν στο ΚΝΣ σε πολύ μικρότερο βαθμό. Κάποιοι ιδιαίτερα λιποδιαλυτοί H₂ ανταγωνιστές όπως η zolentidine μελετώνται για την πιθανή ανταγωνιστική δράση τους έναντι της ισταμίνης στον εγκέφαλο. Αυτές οι ουσίες έχουν πολύ μικρή ή καμία επίδραση στην γαστρική έκκριση (Black, 1993).

6.3. Κορτικοστεροειδή

Φυσιολογική και φαρμακολογική δράση: Στον ανθρώπινο οργανισμό, δύο τάξεις στεροειδών συντίθενται από τον επινεφριδιακό φλοιό: τα κορτικοστεροειδή (γλυκοκορτικοειδή και αλατοκορτικοειδή) και τα ανδρογόνα. Οι φυσιολογικές επιδράσεις των κορτικοστεροειδών είναι ποικίλες και περιλαμβάνουν: τροποποίηση του μεταβολισμού των υδρογονανθράκων, των λιπιδίων και των πρωτεϊνών, διατήρηση του ισοζυγίου των υγρών και ηλεκτρολυτών, διαφύλαξη της φυσιολογικής λειτουργίας του καρδιαγγειακού συστήματος, του ανοσολογικού, των νεφρών, των σκελετικών μυών, του ενδοκρινικού συστήματος και τέλος του νευρικού συστήματος. Μέχρι πρόσφατα, οι επιδράσεις των κορτικοστεροειδών διακρίνονταν σε φυσιολογικές (αντανακλώντας τις δράσεις των κορτικοστεροειδών σε δόσεις, που αντιστοιχούν στα φυσιολογικά ημερήσια επίπεδα παραγωγής) και σε φαρμακολογικές (αντιπροσωπεύοντας δράσεις που παρατηρούνται μόνο σε δόσεις, που υπερβαίνουν την φυσιολογική ημερήσια παραγωγή κορτικοστεροειδών). Νεότερα δεδομένα δείχνουν ότι η αντιφλεγμονώδης και ανοσοκατασταλτική δράση των κορτικοστεροειδών, δύο από τις κύριες φαρμακολογικές χρήσεις των φαρμάκων αυτών, προσφέρουν επίσης έναν φυσιολογικό προστατευτικό μηχανισμό, λόγω του ότι οι περισσότεροι ανοσολογικοί μεσολαβητές που σχετίζονται με την απάντηση στη φλεγμονή ελαττώνουν τον αγγειακό τόνο και θα μπορούσαν να οδηγήσουν σε καρδιαγγειακή κατάρρευση, αν δεν επιδρούσαν τα ενδογενή κορτικοστεροειδή των επινεφριδίων. Αυτή η υπόθεση επιβεβαιώνεται και από το γεγονός ότι ο ημερήσιος ρυθμός παραγωγής της κορτιζόλης μπορεί να αυξηθεί σημαντικά (τουλάχιστον στο δεκαπλάσιο) σε περιπτώσεις σοβαρού stress του οργανισμού. Επιπλέον, οι φαρμακολογικές επιδράσεις των κορτικοστεροειδών σε διάφορους ιστούς και πολλές από τις φυσιολογικές δράσεις τους φαίνεται να πραγματοποιούνται μέσω του ίδιου υποδοχέα. Έτσι τα διάφορα σκευάσματα γλυκοκορτικοειδών που χρησιμοποιούνται σαν φαρμακευτικοί παράγοντες έχουν ανεπιθύμητες ενέργειες επί φυσιολογικών διαδικασιών, οι οποίες συμβαίνουν παράλληλα με τη θεραπευτική τους αποτελεσματικότητα.

Πίνακας 5. Σχετικές δραστικότητες και ισοδύναμες δόσεις αντιπροσωπευτικών κορτικοστεροειδών. † οι ισοδύναμες δόσεις αναφέρονται σε ενδοφλέβια ή από του στόματος χορήγηση, ‡ δεν χρησιμοποιείται για γλυκοκορτικοειδή δράση. (Τροποποίηση από: Babe K, Serafin W. Histamine, bradykinin and their antagonists. In: Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of therapeutics. 9th ed. Mc Graw-Hill, 1996)

Ουσία	Αντιφλεγμονώδης δράση	Αλατοκορτικοειδής δράση	Διάρκεια δράσης (ώρες)	Ισοδύναμη δόση† (mg)
Cortisol	1	1	8-12	20
Cortisone	0,8	0,8	8-12	25
Fludrocortisone	10	125	8-12	‡
Prednisone	4	0.8	12-36	5
Prednisolone	4	0,8	12-36	5
6α-methylprednisolone	5	0,5	12-36	4
Triamcinolone	5	0	12-36	4
Betamethasone	25	0	36-72	0,75
Dexamethasone	25	0	36-72	0,75

Τα κορτικοστεροειδή ταξινομούνται σε αλατοκορτικοειδή και γλυκοκορτικοειδή ανάλογα με τη σχετική δραστικότητά τους στην κατακράτηση Na⁺, την επίδραση στο μεταβολισμό των υδατανθράκων και τις αντιφλεγμονώδεις δράσεις τους. Κάποια στεροειδή που θεωρούνται πρωταρχικά γλυκοκορτικοειδή, όπως η κορτιζόλη και πρεδνιζόνη, εμφανίζουν επίσης σημαντική αλατοκορτικοειδή δράση, ενώ αντίθετα η αλδοστερόνη είναι εξαιρετικά δραστική όσον αφορά την κατακράτηση Na⁺, αλλά παρουσιάζει μέτρια δραστικότητα στο μεταβολισμό των υδατανθράκων (Πίνακας 5).

Αντιφλεγμονώδης και ανοσοκατασταλτική δράση: Η χορήγηση γλυκοκορτικοειδών οδηγεί σε μείωση του αριθμού των κυκλοφορούντων λεμφοκυττάρων, ηωσινοφίλων, μονοκυττάρων και βασεοφίλων. Μία δόση υδροκορτιζόνης προκαλεί, μέσα σε 4 έως 6 ώρες, μείωση των παραπάνω κυττάρων που διαρκεί για 24 ώρες και είναι το αποτέλεσμα της ανακατανομής των κυττάρων μακριά από την περιφέρεια και όχι αυξημένης καταστροφής τους. Αντίθετα, τα γλυκοκορτικοειδή αυξάνουν τα κυκλοφορούντα πολυμορφοπύρρηνα λευκοκύτταρα, ως αποτέλεσμα: α) αυξημένης

απελευθέρωσής τους από το μυελό των οστών, β) ελαττωμένου ρυθμού απομάκρυνσής τους από την κυκλοφορία και γ) μεγάλου βαθμού αποκόλλησής τους από το αγγειακό τοίχωμα.

Εκτός από την επίδραση τους στον αριθμό των λεμφοκυττάρων, τα γλυκοκορτικοειδή μεταβάλλουν σημαντικά τις ανοσολογικές απαντήσεις τους. Τα γλυκοκορτικοειδή μπορούν να προλάβουν ή να καταστείλουν τη φλεγμονή, η οποία οφείλεται σε σειρά παραγόντων, όπως π.χ. ακτινοβολία, μηχανικό ερέθισμα, χημικό, λοιμώδες ή ανοσολογικό. Αν και η χρήση των γλυκοκορτικοειδών ως αντιφλεγμονώδεις παράγοντες δεν καθορίζει την υποκείμενη αιτία της νόσου, η καταστολή της φλεγμονής έχει τεράστια κλινική χρησιμότητα και αυτά τα σκευάσματα είναι από τα πιο συχνά συνταγογραφούμενα. Επιπλέον, τα γλυκοκορτικοειδή έχουν σημαντικό ρόλο στη θεραπεία ασθενειών, που προκαλούνται από ανεπιθύμητες ανοσολογικές αντιδράσεις. Αυτά τα νοσήματα ποικίλλουν, από καταστάσεις που προκαλούνται από χυμικούς ανοσολογικούς μηχανισμούς, όπως η κνίδωση, έως καταστάσεις που προκαλούνται από κυτταρικούς ανοσολογικούς μηχανισμούς, όπως η απόρριψη μεταμοσχευμένων οργάνων.

Πολλαπλοί μηχανισμοί εμπλέκονται στην καταστολή της φλεγμονής από τα γλυκοκορτικοειδή. Είναι πλέον γνωστό ότι τα γλυκοκορτικοειδή αναστέλλουν την κυτταρική παραγωγή παραγόντων, που είναι σημαντικοί για τη γέννηση της φλεγμονώδους αντίδρασης. Έτσι, παρατηρείται ελαττωμένη απελευθέρωση αγγειοδραστικών και χημειοτακτικών παραγόντων, μειωμένη έκκριση λιπολυτικών και πρωτεολυτικών ενζύμων, ελαττωμένη εξαγγείωση λευκοκυττάρων σε περιοχές τραυματισμού, και τελικά ελαττωμένη ίνωση. Στον πίνακα 6 περιγράφονται ορισμένα είδη κυττάρων και μεσολαβητών που αναστέλλονται από τη δράση των γλυκοκορτικοειδών. Το τελικό αποτέλεσμα αυτών των επιδράσεων είναι η σημαντική εξασθένηση της φλεγμονώδους απάντησης.

Τα γλυκοκορτικοειδή έχουν επίσης σημαντική επίδραση σε ειδικές ανοσολογικές απαντήσεις του ξενιστή, μέσω της δράσης τους στην παραγωγή κυτταροκινών. Μεταξύ των παραγόντων που αναστέλλονται περιλαμβάνονται:

ιντερφερόνη-γ (IFN-γ), ιντερλευκίνες (IL-1, IL-2, IL-3, IL-6), tumor necrosis factor α (TNF-α), και granulocyte/monocyte colony-stimulating factor (GM-CSF).

Μελέτες αποδεικνύουν μία στενή σχέση του ανοσολογικού συστήματος και του άξονα υποθαλάμου- υπόφυσης- επινεφριδίων (HPA). Φαίνεται ότι οι κυτταροκίνες παίζουν κάποιο ρόλο στη ρύθμιση του άξονα και συγκεκριμένα οι IL-1, IL-2, IL-6 και TNF- α είναι διεγερτικοί παράγοντες. Η IL-1 διεγείρει την απελευθέρωση της CRH, αλληλεπιδρά άμεσα με την υπόφυση για την απελευθέρωση ACTH και επίσης μπορεί να επιδρά άμεσα στο φλοιό των επινεφριδίων για την παραγωγή γλυκοκορτικοειδών. Έτσι, ο άξονας HPA και το ανοσολογικό σύστημα αλληλεπιδρούν κατά τη διάρκεια καταστάσεων stress και αυτή η διπλής κατεύθυνσης επίδραση είναι πολύ σημαντική στην ομοιόσταση (Reichlin, 1993).

Πίνακας 6. Δράση των γλυκοκορτικοειδών στα κυτταρικά στοιχεία και τους μεσολαβητές της φλεγμονώδους αντίδρασης

ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΣ ΤΥΠΟΣ	ΜΕΣΟΛΑΒΗΤΗΣ	ΣΧΟΛΙΑ
Μακροφάγα και μονοκύτταρα	Αραχιδονικό οξύ και οι μεταβολίτες του (προσταγλανδίνες και λευκοτριένια)	Αναστέλλονται λόγω της επαγωγικής δράσης των γλυκοκορτικοειδών επί της λιποκορτίνης η οποία αναστέλλει τη φωσφολιπάση A2
	Κυτταροκίνες συμπεριλαμβανομένων: IL-1, IL-6 και TNF-α	Αναστέλλεται η παραγωγή και η απελευθέρωση
	Αντιδρώσες ουσίες οξείας φάσης	Περιλαμβάνουν το C3
Ενδοθηλιακά κύτταρα	Endothelial leucocyte adhesion molecule-1 (ELAM-1) και intracellular adhesion molecule-1 (ICAM-1)	Πρόκειται για μόρια τα οποία παίζουν σημαντικό ρόλο στην εντόπιση των λευκοκυττάρων
	Αντιδρώσες ουσίες οξείας φάσης	Όπως παραπάνω στα μακροφάγα και μονοκύτταρα
	Κυτταροκίνες (IL-1)	Όπως παραπάνω στα μακροφάγα και μονοκύτταρα

	Αραχιδονικό οξύ και οι μεταβολίτες του	Όπως παραπάνω στα μακροφάγα και μονοκύτταρα
Βασεόφιλα, σιτευτικά κύτταρα	Ισταμίνη, Λευκοτριένη C4	Τα γλυκοκορτικοειδή αναστέλλουν την IgE-εξαρτώμενη απελευθέρωση τους
Ινοβλάστες	Αραχιδονικό οξύ και οι μεταβολίτες του	Όπως παραπάνω στα μακροφάγα και μονοκύτταρα. Τα γλυκοκορτικοειδή επίσης καταστέλλουν τον αυξητικό παράγοντα που προάγει τη σύνθεση DNA και τον πολλαπλασιασμό των ινοβλαστών
Λεμφοκύτταρα	Κυτταροκίνες (IL-1, IL-2, IL-3, IL-6, TNF-α, GM-CSF, INF-γ)	Όπως παραπάνω στα μακροφάγα και μονοκύτταρα

Απορρόφηση- Μεταφορά-Μεταβολισμός-Απέκκριση: Τα γλυκοκορτικοειδή απορροφώνται συστηματικά και από περιοχές, όπου χορηγούνται τοπικά, όπως οι αρθρικοί θύλακοι, ο επιπεφυκότας, το δέρμα και το αναπνευστικό σύστημα. Όταν η χορήγηση είναι μακροχρόνια ή όταν η εφαρμογή γίνεται σε μεγάλη έκταση του δέρματος, η απορρόφηση είναι ικανή να προκαλέσει συστηματικές παρενέργειες, συμπεριλαμβανομένης της καταστολής του άξονα HPA.

Μετά την απορρόφηση, υπό φυσιολογικές συνθήκες, πάνω από το 90% της ορμόνης στο πλάσμα συνδέεται αναστρέψιμα με πρωτεΐνη. Μόνο το αδέσμευτο κορτικοστεροειδές μπορεί να εισέλθει στα κύτταρα και να προκαλέσει τις φαρμακολογικές επιδράσεις. Δύο πρωτεΐνες του πλάσματος είναι οι σημαντικότερες για τη σύνδεση με τα κορτικοστεροειδή: η λευκωματίνη και η CBG (corticosteroid-binding globulin). Σε φυσιολογικές ή χαμηλές συγκεντρώσεις κορτικοστεροειδών, το μεγαλύτερο μέρος τους βρίσκεται συνδεδεμένο, ενώ σε υψηλές συγκεντρώσεις κορτικοστεροειδών ένα σημαντικό ποσοστό τους βρίσκεται σε ελεύθερη κατάσταση. Τα κορτικοστεροειδή ανταγωνίζονται τη σύνθεσή τους με την CBG, η οποία έχει

μεγαλύτερη συγγένεια για την κορτιζόλη και τις περισσότερες συνθετικές ανάλογες ενώσεις και χαμηλή συγγένεια για την αλδοστερόνη και τους συνδεδεμένους με γλυκουρονικό μεταβολίτες.

Όλα τα βιολογικώς ενεργά στεροειδή του φλοιού των επινεφριδίων και τα συνθετικά ανάλογά τους έχουν ένα διπλό δεσμό στη θέση 4,5 και μία κετονική ομάδα στον C3. Ως γενικός κανόνας, ο μεταβολισμός των στεροειδών περιλαμβάνει διαδοχικές προσθήκες ατόμων οξυγόνου ή υδρογόνου, σχηματίζοντας υδατοδιαλυτά προϊόντα. Αναγωγή του διπλού δεσμού 4,5 συμβαίνει τόσο στο ήπαρ όσο και σε εξωηπατικές θέσεις οδηγώντας σε σχηματισμό ανενεργών ουσιών. Στη συνέχεια στο ήπαρ γίνεται μετατροπή σε τετραϋδροκορτιζόνη με αναγωγή της κετονικής ομάδας. Αυτά τα στεροειδή ενώνονται μέσω της 3-υδροξυλικής ομάδας με θειϊκό ή γλυκουρονικό άλας με ενζυματική διαδικασία που λαμβάνει μέρος στο ήπαρ και σε μικρότερο βαθμό στα νεφρά. Οι ουσίες που δημιουργούνται, θειϊκοί εστέρες και γλυκουρονίδια, μετατρέπονται σε υδατοδιαλυτά τελικά προϊόντα και αποβάλλονται με τα ούρα.

Τοξικότητα στεροειδών: Υπάρχουν δύο ειδών τοξικές επιδράσεις της θεραπευτικής χρήσης των κορτικοστεροειδών: αυτές που προκαλούνται από διακοπή της αγωγής και εκείνες που προκαλούνται από τη μακρόχρονη χρήση μεγάλων δόσεων κορτικοστεροειδών.

α) Διακοπή θεραπείας κορτικοστεροειδών. Το συχνότερο πρόβλημα από τη διακοπή θεραπείας στεροειδών είναι η αναζωπύρωση της νόσου, για την οποία ο ασθενής έλαβε τα στεροειδή. Η πιο σοβαρή επιπλοκή της απότομης διακοπής των στεροειδών είναι η οξεία επινεφριδιακή ανεπάρκεια ως αποτέλεσμα καταστολής του άξονα HPA, κυρίως μετά από μακρόχρονη αγωγή με στεροειδή. Σε πολλούς ασθενείς η καταστολή του άξονα HPA, μετά από μακρόχρονη αγωγή με στεροειδή, υποχωρεί μέσα σε εβδομάδες ή μήνες, αλλά υπάρχουν και περιπτώσεις όπου η κατάσταση μπορεί να υποχωρήσει μετά από ένα έτος ή και περισσότερο (Sullivan, 1982).

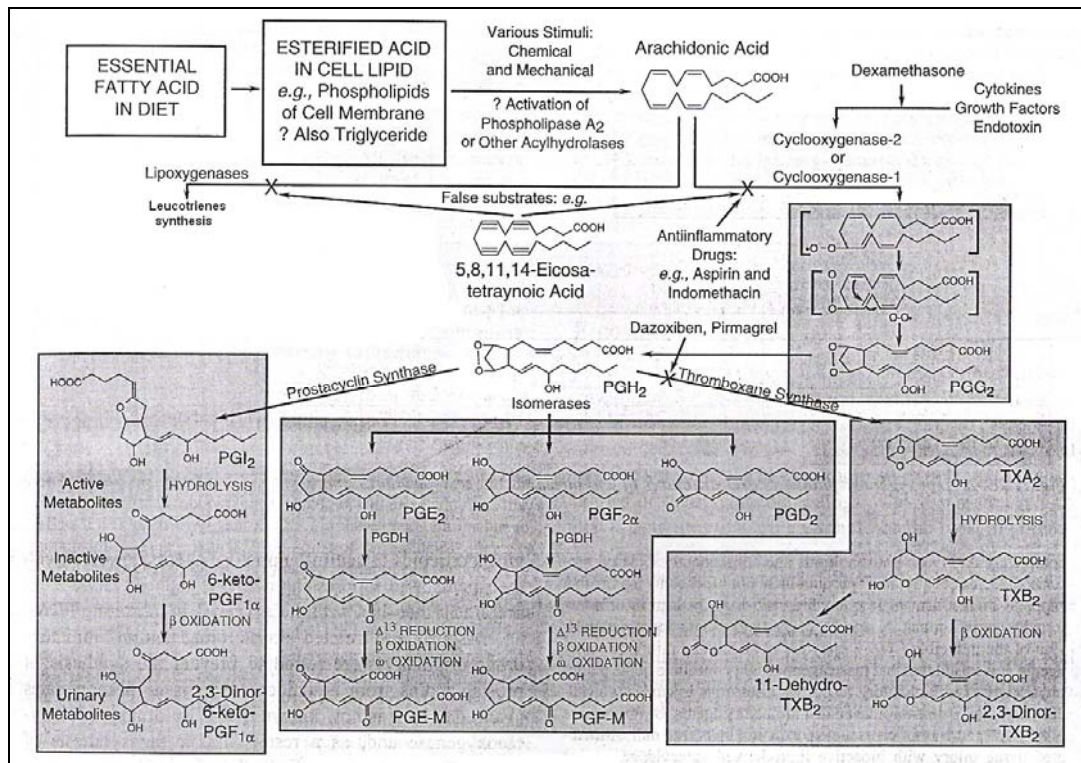
β) Μακρόχρονη αγωγή μεγάλων δόσεων κορτικοστεροειδών. Οι επιπλοκές από την επί μακρόν αγωγή με κορτικοστεροειδή περιλαμβάνουν διαταραχές ισοζυγίου ύδατος και ηλεκτρολυτών, υπέρταση, υπεργλυκαιμία, αυξημένη ευαισθησία στις λοιμώξεις, πεπτικά έλκη, οστεοπόρωση, μυοπάθεια, διαταραχές συμπεριφοράς, καταρράκτη, αναστολή ανάπτυξης σε παιδιά και εφήβους, χαρακτηριστική ανακατανομή λίπους (βουβάλειος ύβος), ραβδώσεις και εκχυμώσεις στο δέρμα, ακμή και υπερτρίχωση.

6.4. Μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη (NSAIDs)

Τα αντιφλεγμονώδη, αναλγητικά και αντιπυρετικά φάρμακα, είναι μία ετερογενής ομάδα ουσιών, οι οποίες μπορεί να μη σχετίζονται όσον αφορά τη χημική δομή τους, αλλά εμφανίζουν κοινή θεραπευτική δράση και παρενέργειες. Έχουν γίνει σημαντικές πρόοδοι στην εξακρίβωση του μηχανισμού δράσης των NSAIDs. Η κύρια δράση των NSAIDs γενικά θεωρείται ότι είναι η αναστολή της κυκλοξυγενάσης, του ενζύμου που είναι υπεύθυνο για την βιοσύνθεση προσταγλανδινών.

Το 1971 ο Vane και συνεργάτες του όπως και οι Smith και Willis, απέδειξαν ότι μικρές συγκεντρώσεις ασπιρίνης και ινδομεθακίνης αναστέλλουν την ενζυματική παραγωγή προσταγλανδινών. Έκτοτε έχουν γίνει πολλές μελέτες, στις οποίες διαπιστώθηκε ότι οι προσταγλανδίνες ελευθερώνονται σε περιπτώσεις κυτταρικής βλάβης, περιέχονται σε φλεγμονώδη εξιδρώματα και ότι τα NSAIDs αναστέλλουν τη βιοσύνθεση και την απελευθέρωση των προσταγλανδινών σε όλα τα κύτταρα που μελετήθηκαν (Insel, 1996). Επιπλέον, γίνονται μελέτες για το ρόλο των NSAIDs στην αναστολή μορίων προσκόλλησης κυττάρων όπως E-, L-, P- selectins, intracellular adhesion molecule1 (ICAM-1) vascular adhesion molecule 1 (VCAM-1).

Η ασπιρίνη και τα NSAIDs δεν αναστέλλουν τις οδούς της λιποξυγενάσης και έτσι δεν επιδρούν καθόλου στη σύνθεση λευκοτριενίων (Εικ.14). Στον πίνακα 7 παρουσιάζεται η ταξινόμηση των NSAIDs και άλλων αναλγητικών και αντιπυρετικών ουσιών βάσει της χημικής τους κατηγορίας.



Εικ. 14. Βιοσύνθεση των προϊόντων του αραχιδονικού οξέος και ουσίες που επιδρούν στις μεταβολικές οδούς (τροποποίηση από: Campbell W, Halushka P. Lipid-derived autacoids. Eicosanoids and platelet-activating factor. In: Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of therapeutics. 9th ed. Mc Graw-Hill, 1996).

Πίνακας 7. Χημική ταξινόμηση των αναλγητικών, αντιπυρετικών και μη στεροειδών αντιφλεγμονωδών φαρμάκων. (Τροποποίηση από: Insel P. Analgesic-antipyretic and antiinflammatory agents and drugs employed in the treatment of gout. In: Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of therapeutics. 9th ed. Mc Graw-Hill, 1996)

Χημική τάξη	Ουσία
Salicylic acid and derivatives	Aspirin, Sodium salicylate, Choline sodium trisalicylate, Salsalate, Diflunisal, Salicylsalicylic acid, Sulfasalazine, Olsalazine
Para-aminophenol derivatives	Acetaminophen
Indole and indene acetic acids	Indomethacin, Sulindac, Etodolac
Heteroaryl acetic acids	Tolmetin, Diclofenac, Ketorolac
Arylpropionic acids	Ibuprofen, Naproxen, Flurbiprofen, Ketoprofen, Fenoprofen, Oxaprozin
Anthranilic acids	Mefenamic acid, meclufenamic acid
Enolic acids	Oxicams, Pyrazolidinediones
Alkanones	Nabumetone

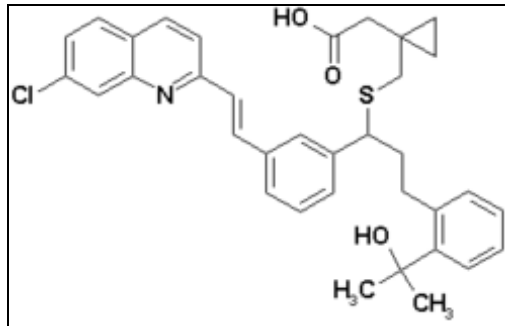
Ανεπιθύμητες ενέργειες των NSAIDs: Όπως προαναφέρθηκε τα NSAIDs, εμφανίζουν κοινές ανεπιθύμητες ενέργειες, παρά τη διαφορετική χημική τους σύσταση. Η συχνότερη παρενέργεια είναι η πρόκληση πεπτικού έλκους και η επακόλουθη αναιμία λόγω απώλειας αίματος από το γαστρεντερικό. Οι ασθενείς, που λαμβάνουν σε χρόνια βάση τέτοια σκευάσματα, έχουν τριπλάσιο κίνδυνο εμφάνισης σοβαρών γαστρεντερικών επιπλοκών από εκείνους, που δε λαμβάνουν τέτοιου είδους αγωγή. Τα φάρμακα αυτά προκαλούν αναστολή της σύνθεσης των γαστρικών προσταγλανδινών PGI₂ και PGE₂, που δρουν προστατευτικά για τον γαστρικό βλεννογόνο. Συγκεκριμένα, αυτές οι προσταγλανδίνες αναστέλλουν την έκκριση γαστρικού οξέος, αυξάνουν την αιματική ροή στο βλεννογόνο και προάγουν την παραγωγή προστατευτικής βλέννης στο γαστρεντερικό σωλήνα.

Στις παρενέργειες των NSAIDs περιλαμβάνονται η αναστολή της συνάθροισης των αιμοπεταλίων (λόγω αναστολής της σύνθεσης θρομβοξανθίνης), αναστολή κινητικότητας της μήτρας (παράταση κύησης), διαταραχές νεφρικής λειτουργίας και αντιδράσεις υπερευαισθησίας (Insel, 1996).

6.5. Ανταγωνιστές σύνθεσης και δράσης λευκοτριενίων

Μεγάλος αριθμός φαρμάκων έχει δημιουργηθεί, τα οποία δρουν είτε ως αναστολείς της οδού της 5-λιποξυγενάσης, αναστέλλοντας το σχηματισμό λευκοτριενίων, είτε ως ανταγωνιστές του υποδοχέα των κυστεϊνικών λευκοτριενίων, αναστέλλοντας τη λειτουργία του. Το zileuton είναι αναστολέας της 5-λιποξυγενάσης, ενώ φάρμακα όπως το MK-886 αναστέλλουν την πρωτεΐνη ενεργοποίησης της 5-λιποξυγενάσης (FLAP) (Insel, 1996). Φάρμακα όπως το montelukast και το zafirlukast ανταγωνίζονται τον τύπου 1 υποδοχέα των κυστεϊνικών λευκοτριενίων.

Ειδικότερα το montelukast sodium (εικ.15) αναστέλλει τις φυσιολογικές δράσεις της LTD₄ στον CysLT₁ υποδοχέα χωρίς να εμφανίζει καμία δραστικότητα αγωνιστή. Μετά από του στόματος χορήγηση της ημερήσιας δόσης των 10 mg σε ενήλικα, η μέγιστη συγκέντρωση στο πλάσμα επιτυγχάνεται μέσα σε 3 έως 4 ώρες.



Εικ.15. Χημικός τύπος του montelukast sodium.

Το montelukast sodium συνδέεται σε μεγάλο ποσοστό, έως και 99%, με πρωτεΐνες του πλάσματος. Στο μεταβολισμό μέσω του ήπατος συμμετέχουν τα κυτοχρώματα P4503A4 και 2C9. Οι ανεπιθύμητες ενέργειες του φαρμάκου περιλαμβάνουν κόπωση, πυρετό, κοιλιακό άλγος, κεφαλαλγία, ρινική συμφόρηση, βήχα, εξάνθημα, αύξηση τρανσαμινασών.

7. ΕΝΔΟΤΥΜΠΑΝΙΚΗ ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ

Η ενδοτυμπανική έγχυση φαρμακευτικών ουσιών έχει χρησιμοποιηθεί ήδη από τη δεκαετία του '50, όταν ο Schuknecht πρότεινε την έγχυση αμινογλυκοσιδών για τη θεραπεία της νόσου Ménière. Από τότε έχουν χρησιμοποιηθεί διάφορα σκευάσματα για τη θεραπεία νοσημάτων κυρίως του έσω ωτός και έχουν δημιουργηθεί εξελιγμένοι καθετήρες ελεγχόμενης αποδέσμευσης της φαρμακευτικής ουσίας (Round Window Microcatheter και Silverstein MicroWick).

Τα πλεονεκτήματα της ενδοτυμπανικής χορήγησης φαρμάκων μπορούν να συνοψιστούν ως εξής: α) το πάσχον ουσ δέχεται άμεσα τη θεραπευτική ουσία χωρίς να επηρεάζεται το υπόλοιπο σώμα, β) η εφαρμογή είναι εύκολη και γίνεται με τοπική αναισθησία της τυμπανικής μεμβράνης, γ) επιτυγχάνονται τοπικά μεγαλύτερες συγκεντρώσεις της δραστικής ουσίας, δ) αποφεύγονται οι συστηματικές παρενέργειες των φαρμάκων, ε) χορηγούνται ουσίες, που δεν είναι εφικτό να χορηγηθούν συστηματικά (όπως για παράδειγμα κορτικοστεροειδή σε διαβητικούς ασθενείς) και στ) σε ορισμένες περιπτώσεις μπορεί να αποφευχθεί η χειρουργική επέμβαση (όπως για παράδειγμα αποσυμπίεση ενδολεμφικού σάκου σε νόσο Ménière) (Jackson, 2002· Doyle, 2004).

Οι κυριότερες ανεπιθύμητες ενέργειες της ενδοτυμπανικής χορήγησης φαρμακευτικών ουσιών είναι το άλγος, η οξεία μέση ωτίτιδα, η παραμονή διάτρησης του τυμπανικού υμένα και η εμφάνιση παροδικού ιλίγγου κατά την εφαρμογή της θεραπείας, που οφείλεται κυρίως στη θερμοκρασία του χορηγούμενου σκευάσματος.

Η ενδοτυμπανική έγχυση κορτικοστεροειδών έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως στη θεραπεία νοσημάτων του έσω ωτός. Πριν την κλινική εφαρμογή προηγήθηκαν πειραματικές μελέτες, που αφορούσαν κυρίως τα επίπεδα συγκεντρώσεων των φαρμάκων τοπικά, καθώς και τις πιθανές επιπλοκές στην ακοή και την ιστολογική δομή του κοχλίου. Οι Shirwany και συν. έδειξαν σε πειραματικό μοντέλο ινδικών χοιριδίων, ότι η ενδοτυμπανική έγχυση dexamethasone

προκαλούσε αύξηση στην κοχλιακή αιματική ροή και δεν επηρέαζε την ακοή ή την ιστολογία του κοχλία (Shirwany, 1998). Οι Chandrasekhar και συν. σύγκριναν τις συγκεντρώσεις της dexamethasone στην περίλεμφο μετά από ενδοτυμπανική και συστηματική χορήγηση σε ινδικά χοιρίδια. Η ενδοτυμπανική χορήγηση dexamethasone είχε ως αποτέλεσμα μεγαλύτερες συγκεντρώσεις του φαρμάκου στην περίλεμφο και η συγχορήγηση με ισταμίνη προκαλούσε ακόμη μεγαλύτερη αύξηση των συγκεντρώσεων (Chandrasekhar, 2000). Οι Parnes και συν. σύγκριναν τις συγκεντρώσεις της hydrocortisone, methylprednisolone και dexamethasone στην περίλεμφο, το περιφερικό αίμα και το εγκεφαλονωτιαίο υγρό ινδικών χοιριδίων, μετά από του στόματος χορήγηση, ενδοφλέβια ή ενδοτυμπανική έγχυση. Το αποτέλεσμα ήταν ότι βρέθηκαν υψηλότερες συγκεντρώσεις στην περίλεμφο μετά από ενδοτυμπανική έγχυση hydrocortisone, ενώ μετά από του στόματος ή ενδοφλέβια χορήγηση methylprednisolone και dexamethasone οι συγκεντρώσεις στο πλάσμα ήταν μεγαλύτερες από εκείνες της περιλήμφου (Parnes, 1999).

8.1. Εφαρμογές της ενδοτυμπανικής έγχυσης φαρμακευτικών ουσιών.

Αν και μεγάλο μέρος της διεθνούς βιβλιογραφίας εστιάζεται στην εφαρμογή της ενδοτυμπανικής χορήγησης αμινογλυκοσιδών και κορτικοστεροειδών για τη θεραπεία της νόσου Ménière με ανθιστάμενο ίλιγγο, υπάρχουν κλινικές μελέτες εφαρμογής σε αιφνίδια πτώση ακοής, εμβοές και αυτοάνοση νόσο του έσω ωτός.

Νόσος Ménière: Η νόσος, κλασσικά χαρακτηρίζεται από υποτροπιάζοντα επεισόδια ίλιγγου και κυμαινόμενη απώλεια ακοής, συνοδευόμενη από εμβοές και αίσθημα πληρότητας του πάσχοντος ωτός. Στην αιτιοπαθογένεια της νόσου Ménière περιλαμβάνονται: α) ιδιοπαθή αίτια, β) μετατραυματικά αίτια (κάκωση κεφαλής ή ωτοχειρουργική επέμβαση), γ) λοιμώδη αίτια (λοίμωξη από τον ιό της παρωτίτιδας ή της ιλαράς), δ) το όψιμο στάδιο σύφιλης, ε) το σύνδρομο Cogan (κλασσικό ή παραλλαγή αυτού) (Schwaber, 2002). Ιστολογικά, το κοινό χαρακτηριστικό που παρατηρείται, είναι ο ενδολεμφικός ύδρωπας. Η συντηρητική αγωγή της νόσου, στοχεύει στη μείωση του όγκου της ενδολήμφου, στη βελτίωση τη αιματικής κυκλοφορίας του έσω ωτός, και

στη μετατροπή της ανοσολογικής ενεργότητας. Βάσει των παραπάνω, έχουν χρησιμοποιηθεί ευρέως η δίαιτα χαμηλής πρόσληψης νατρίου (1500-2000 mg/ 24ωρο), διουρητικά (π.χ. furosemide), αγγειοδιασταλτικά (π.χ. beta-histine), κορτικοστεροειδή (π.χ. methylprednisolone) και ανοσοκατασταλτικά (π.χ. methotrexate). Για την παράλυση του πάσχοντος λαβυρίνθου έχουν χρησιμοποιηθεί η λαβυρινθεκτομή, η διατομή του αιθουσαίου νεύρου, η συστηματική χορήγηση αμινογλυκοσιδών και η ενδοτυμπανική έγχυση αμινογλυκοσιδών.

Σε περίπτωση που ο ασθενής παρά τη συντηρητική αγωγή συνεχίζει να εμφανίζει επεισόδια ιλίγγου, συνιστάται η ενδοτυμπανική έγχυση gentamycin. Η gentamycin διέρχεται τη στρογγύλη θυρίδα, εισέρχεται στην περίλεμφο και μεταφέρεται κατά μήκος της τυμπανικής κλίμακας, φτάνοντας τελικά στο νευροεπιθήλιο της αίθουσας και των ημικύκλιων σωλήνων. Η gentamycin είναι ουσία που έχει τοξική δράση κυρίως στον οπίσθιο λαβύρινθο και έτσι επιτυγχάνεται χημική λαβυρινθεκτομή στο 80% των περιπτώσεων, ενώ νευροαισθητήρια βαρηκοΐα μπορεί να εμφανιστεί σε ποσοστό 10% (Schwaber, 2002).

Τα κορτικοστεροειδή (dexamethasone), είναι μία ακόμη κατηγορία φαρμάκων που χορηγείται ενδοτυμπανικά κυρίως στη κοχλιακή νόσο Ménière. Αναφέρονται πολύ καλά αποτελέσματα όσον αφορά την απώλεια ακοής κυρίως όταν η χορήγηση γίνει στα πρώιμα στάδια της νόσου (Shea, 1997). Είναι επίσης ιδιαίτερα χρήσιμη τεχνική σε ασθενείς στους οποίους, αποτυγχάνει η από του στόματος αγωγή με κορτικοστεροειδή, ή σε ασθενείς που παρουσιάζουν κάποια αντένδειξη συστηματικής χορήγησης κορτικοστεροειδών. Ο Hillman και συν δημοσίευσαν τα αποτελέσματα ενδοτυμπανικής χορήγησης dexamethasone σε ασθενείς με κυμαινόμενη ακοή, οι οποίοι θεωρήθηκαν ότι έπασχαν από κλασσική νόσο Ménière, ή κοχλιακή νόσο Ménière. Παρατηρήθηκε άμεση βελτίωση της ακοής σε ποσοστό 40% ενώ σε ποσοστό 56% η ακοή παρέμεινε σταθερή (Hillman,2003).

Ιδιοπαθής αιφνίδια νευροαισθητήρια βαρηκοΐα: Η αιφνίδια νευροαισθητήρια βαρηκοΐα (SSNHL) περιγράφηκε για πρώτη φορά το 1944 από τον DeKleyn. Πρόκειται για απώλεια πάνω από 30 dB, σε τρεις συνεχόμενες συχνότητες, σε διάστημα 3 ημερών ή λιγότερο. Η αιτιολογία της SSNHL παραμένει αδιευκρίνιστη, αλλά οι επικρατέστερες απόψεις περιλαμβάνουν ιογενείς λοιμώξεις και αγγειακά αίτια.

Η SSNHL παρουσιάζει υψηλά ποσοστά αυτόματης αποκατάστασης με αναφορές που ποικίλουν από 32 έως 65% (Wilson, 1980· Light & Silverstein, 2004). Η συστηματική χορήγηση κορτικοστεροειδών φαίνεται ότι βελτιώνει την ακοή σε περιπτώσεις SSNHL, αν και η συχνότητα της αυτόματης αποκατάστασης δυσκολεύει την εξαγωγή ασφαλών στατιστικών συμπερασμάτων. Τα κορτικοστεροειδή χρησιμοποιούνται με σκοπό τη μείωση της φλεγμονής, μία ενέργεια που δεν είναι ειδική και μπορεί να έχει αποτέλεσμα σε διάφορες φλεγμονώδεις καταστάσεις, τόσο αγγειακής αιτιολογίας όσο και ιογενούς.

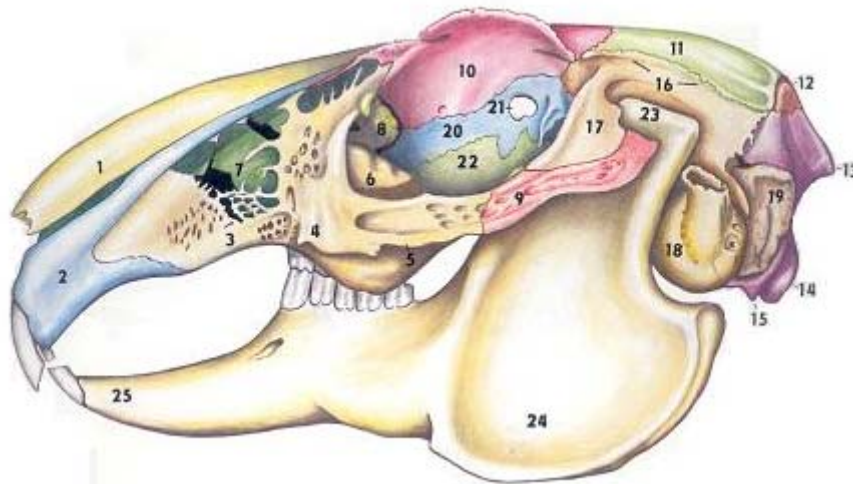
Σε κάποιους ασθενείς αντενδείκνυται η συστηματική χορήγηση κορτικοστεροειδών, λόγω σύγχρονων νοσημάτων όπως για παράδειγμα, σακχαρώδης διαβήτης, πεπτικό έλκος, γλαύκωμα κλπ. Σε άλλους ασθενείς, η συστηματική χορήγηση κορτικοστεροειδών, μπορεί να μην είναι αποτελεσματική ή να επιφέρει μερική βελτίωση της ακοής. Σε αυτές τις περιπτώσεις, χρησιμοποιείται η ενδοτυμπανική έγχυση κορτικοστεροειδών για τη χορήγηση της φαρμακευτικής ουσίας απευθείας στο έσω ουσ. Έχουν χρησιμοποιηθεί διάφορες μέθοδοι για την ενδοτυμπανική έγχυση, όπως έγχυση μέσω παρακέντησης του τυμπάνου με μακριά βελόνη 25 ή 26G, διασωληνίσκου αερισμού, δια Microcatheter ή MicroWick. Ο Silverstein και συν. μελέτησε 48 ασθενείς με SSNHL, οι οποίοι έλαβαν dexamethasone με χρήση MicroWick σε δόση από 4 έως 24 mg/ml. Από τους ασθενείς που ανταποκρίθηκαν στη θεραπεία βρέθηκε ότι η μέση βελτίωση του pure tone average (PTA) ήταν 43% και η μέση βελτίωση του speech discrimination score (SDS) 51%. Ένα ενδιαφέρον στοιχείο της μελέτης, ήταν ότι οι ασθενείς που είχαν μερική βελτίωση μετά τη συστηματική χορήγηση dexamethasone, ανταποκρίθηκαν καλύτερα στην ενδοτυμπανική έγχυση (Silverstein, 2002).

Εμβοές: Η ενδοτυμπανική έγχυση κορτικοστεροειδών ή gentamycin μπορεί να χρησιμοποιηθεί θεραπευτικά σε επιλεγμένους ασθενείς με εμβοές. Τα καλά αποτελέσματα από την ενδοτυμπανική χορήγηση κορτικοστεροειδών που αναφέρονται στη διεθνή βιβλιογραφία, προέρχονται κυρίως από αναδρομικές, μη ελεγχόμενες μελέτες. Ορισμένοι ασθενείς που πάσχουν από νόσο Mènière και εμφανίζουν εμβοές, βελτιώνονται με τη ενδοτυμπανική χορήγηση κορτικοστεροειδών και είναι ιδιαίτερα χρήσιμη σε ασθενείς με καλό ουδό ακοής (Dodson & Sismanis, 2004). Η έγχυση gentamycin που επίσης ελαττώνει τις εμβοές, είναι προτιμότερο να χρησιμοποιείται σε ασθενείς με νόσο Mènière οι οποίοι έχουν μεγάλη πτώση ακοής από το πάσχων ους (Light & Silverstein, 2004). Η έγχυση lidocaine η οποία χρησιμοποιήθηκε ευρέως στο παρελθόν, παρά το γεγονός ότι είναι αποτελεσματική στη μείωση των εμβοών, έχει εγκαταλειφθεί λόγω των παρενεργειών της και της αναγκαιότητας νοσηλείας του ασθενή (Dodson & Sismanis, 2004).

Αυτοάνοση νόσος έσω ωτός: Η prednisone είναι η συχνότερα χρησιμοποιούμενη ουσία για την αντιμετώπιση των συστηματικών αυτοάνοσων νοσημάτων. Λόγω της χρόνιας φύσης των νοσημάτων αυτών και των παρενεργειών από τη μακρόχρονη αγωγή με κορτικοστεροειδή, η ενδοτυμπανική έγχυση κορτικοστεροειδών, θεωρήθηκε ως μία αποτελεσματική εναλλακτική μέθοδος θεραπείας της αυτοάνοσης νόσου του έσω ωτός (Light & Silverstein, 2004). Έχουν γίνει ορισμένες μελέτες για την τοπική χορήγηση dexamethasone και νεότερων ανοσοκατασταλτικών σκευασμάτων. Ο Yang και συν. μελέτησε τη δράση διαφόρων φαρμακευτικών ουσιών, εναντίον άσηπτης λαβυρινθίτιδας χρησιμοποιώντας μοντέλο ινδικού χοιριδίου. Οι ουσίες χορηγούνταν τοπικά, είτε με απλή ενδοτυμπανική ένεση, είτε με αντλία συνεχούς απελευθέρωσης. Μελετήθηκε η επίδραση dexamethasone, cyclosporine, prednisolone acetate, fluorouracil και FK506. Τα αποτελέσματα των προκλητών ακουστικών δυναμικών του εγκεφαλικού στελέχους, δεν έδειξαν βελτίωση της ακοής και η ιστολογική εξέταση του κοχλίου, δεν ανέδειξε μείωση της φλεγμονώδους αντίδρασης (Yang, 2000).

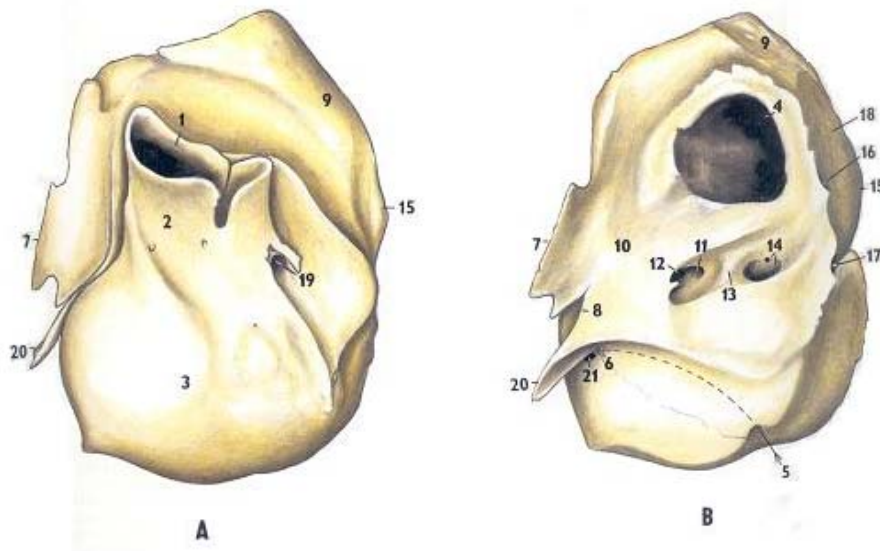
8. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΟΝΤΕΛΟ

8.1. Στοιχεία ανατομίας κουνελιού (*Oryctolagus Cuniculus*)



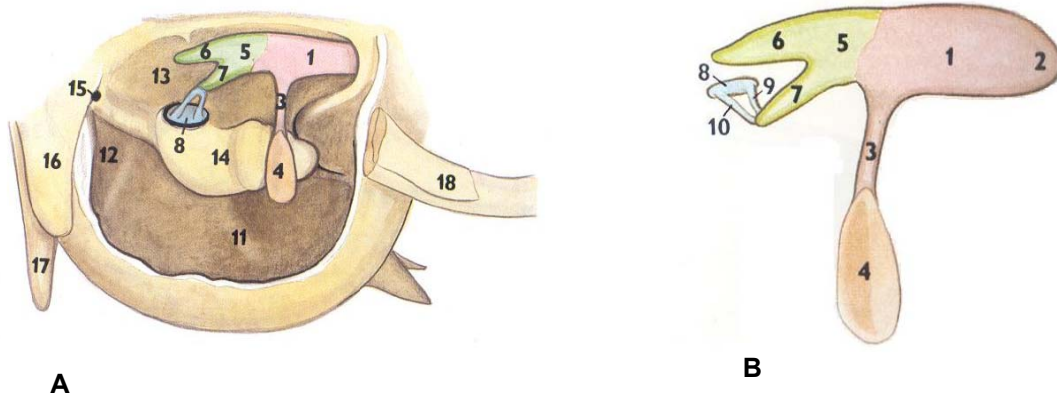
Εικ. 16. Σκελετός κεφαλής (αριστερή πλευρά). S.H. Weisbroth, P. J. Manning, D.H. Ringler, C.E. Newcomer. *The Biology of the Laboratory Rabbit*. Academic Press Inc., U.S. 1994.

- | | |
|------------------------------------|---|
| 1. ρινικό οστό | 15. παρακονδυλική (σφαγιτιδική) απόφυση |
| 2. τομικό οστό | 16-19. κροταφικό οστό |
| 3-6. άνω γνάθος | 16. κροταφική γραμμή |
| 3. σώμα άνω γνάθου | 17. ζυγωματική απόφυση |
| 4. προσωπικό φύμα | λεπιδοειδούς οστού |
| 5. προσωπική ακρολοφία | 18. τυμπανική κοιλότητα |
| 6. φατνιακό φύμα | 19. μαστοειδής απόφυση |
| 7. ρινική κόγχη | 20. πτέρυγα σφηνοειδούς οστού |
| 8. δακρυϊκό οστό | 21. οπτικό τρήμα |
| 9. ζυγωματικό οστό | 22. κάθετο πέταλο υπερωίου οστού |
| 10. κογχικό τμήμα μετωπιαίου οστού | 23-25. κάτω γνάθος |
| 11. βρεγματικό οστό | 23. κονδυλοειδής απόφυση |
| 12. μεσοβρεγματίο οστό | κάτω γνάθου |
| 13-15. ινιακό οστό | 24. μαστητήριος βόθρος |
| 13. έξω ινιακό όγκωμα | 25. τομικό τμήμα κάτω γνάθου |
| 14. ινιακός κόνδυλος | |



Εικ. 17. Τυμπανικό και λιθοειδές τμήμα κροταφικού οστού. Α. έξω αριστερή επιφάνεια, Β. έσω δεξιά επιφάνεια. S.H. Weisbroth, P. J. Manning, D.H. Ringler, C.E. Newcomer. The Biology of the Laboratory Rabbit. Academic Press Inc., U.S. 1994.

- | | |
|---|--|
| 1. στόμιο έξω ακουστικού πόρου | 15. ουραίο-οπίσθια κορυφή λιθοειδούς οστού |
| 2. έξω ακουστικός πόρος | 16. έξω στόμιο του υδραγωγού της αίθουσας |
| 3. τυμπανική κοιλότητα | 17. έξω στόμιο του υδραγωγού του κοχλία |
| 4. παρεγκεφαλιδικός βόθρος | 18. ινιακή επιφάνεια λιθοειδούς οστού |
| 5. καρωτιδικό κανάλι | 19. βελονομαστοειδές τρήμα |
| 6. καρωτιδικό τρήμα | 20. βελονοειδής απόφυση |
| 7. ακρολοφία λιθοειδούς οστού | 21. ευσταχιανή σάλπιγγα |
| 8. κανάλι τρίδυμου νεύρου | |
| 9. μαστοειδής απόφυση | |
| 10. έσω πέταλο λιθοειδούς οστού | |
| 11-14. έσω ακουστικός πόρος | |
| 11. αιθουσαίο τρήμα | |
| 12. προσωπικό τρήμα | |
| 13. εγκάρσια ακρολοφία | |
| 14. κοχλιακό τρήμα και περιοχή του κοχλία | |

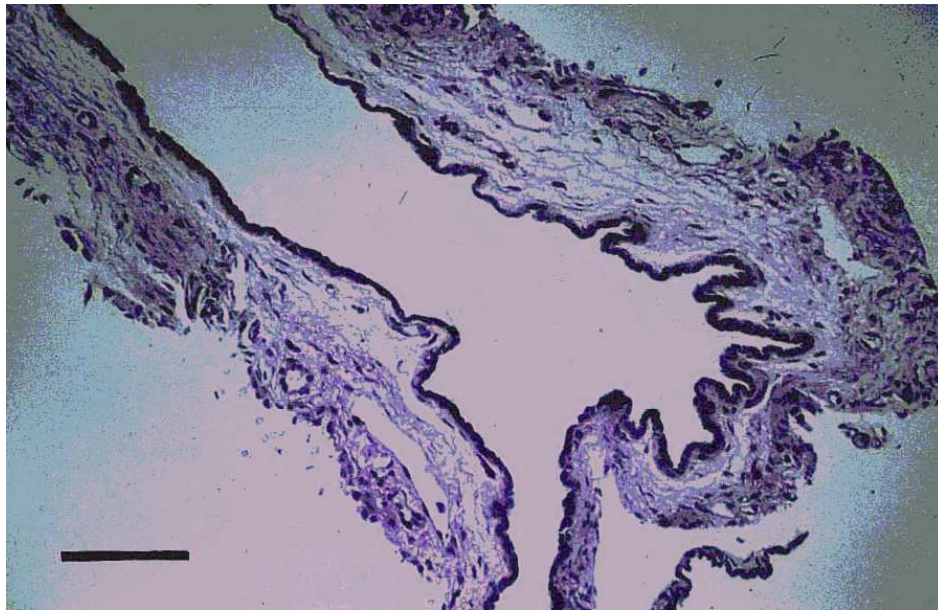


Εικ.18. Α. Τυμπανική κοιλότητα και Β. Οστική αλυσος, δεξιά άποψη (έχει αφαιρεθεί ο έξω ακουστικός πόρος και το έξω τοίχωμα της τυμπανικής κοιλότητας). S.H. Weisbroth, P. J. Manning, D.H. Ringler, C.E. Newcomer. *The Biology of the Laboratory Rabbit*. Academic Press Inc., U.S. 1994.

1. κεφαλή σφύρας
2. κεφαλική απόφυση σφύρας
3. λαβή σφύρας
4. τμήμα λαβής σφύρας το οποίο ενσωματώνεται με την τυμπανική μεμβράνη (tympanic scutum)
5. σώμα άκμονα
6. βραχύ σκέλος άκμονα
7. μακρό σκέλος άκμονα
8. βάση αναβολέα
9. πρόσθιο σκέλος αναβολέα
10. οπίσθιο σκέλος αναβολέα
- 11-13. τυμπανική κοιλότητα
11. λαβυρινθικό τοίχωμα
12. μαστοειδικό τοίχωμα
13. άνω τοίχωμα
14. κοχλίας
15. βελονομαστοειδές τρήμα
16. μαστοειδής απόφυση
17. παρακονδυλική (σφαγιτιδική) απόφυση
18. ζυγωματικό τόξο

8.2 Στοιχεία ιστολογίας μέσου ωτός κουνελιού

Ο φυσιολογικός βλεννογόνος του μέσου ωτός του κουνελιού αποτελείται από επίπεδο-κυβοειδές επιθήλιο με μικρό αριθμό ιστοκυττάρων και λεμφοκυττάρων.



Εικ. 19. Φυσιολογικός βλεννογόνος μέσου ωτός κουνελιού (New Zealand White). Πλακώδες-κυβοειδές επιθήλιο. Χρώση PAS. (Schousboe L, Rasmussen L, Ovesen T. Induction of mucin and adhesion molecules in middle ear mucosa. *Acta Otolaryngol* 2001; 121: 596–601).

8.3 Η σημασία της μελέτης της μέσης ωτίτιδας σε πειραματόζωα

Η χρήση πειραματικών ζωικών μοντέλων έχει αποδειχθεί κεφαλαιώδους σημασίας στην έρευνα της μέσης ωτίτιδας. Τα πειραματικά μοντέλα έχουν βοηθήσει στη μελέτη του ρόλου της απόφραξης της ΕΣ καθώς και των βακτηριακών και ιογενών λοιμώξεων στην παθογένεση της μέσης ωτίτιδας. Η αντιμικροβιακή θεραπεία και η ανοσολογική προφύλαξη έχουν αναπτυχθεί με τη χρήση τέτοιων μοντέλων.

Τα μοντέλα πειραματόζωων προσφέρουν το πλεονέκτημα της μελέτης ωτολογικών χειρισμών και της επίδρασης ενοφθαλμισμού μικροβιακών παθογόνων ή άλλων δυνητικά βλαβερών υλικών, που θα ήταν αδύνατον και ασύμφωνο με τους κανόνες της βιοηθικής να πραγματοποιηθούν σε ανθρώπους. Επιπλέον, τα πειραματικά μοντέλα μέσης ωτίτιδας επιτρέπουν επαναλαμβανόμενες παρατηρήσεις ιστολογικών, ανοσολογικών, κυτταρολογικών και βιοχημικών παραμέτρων (Juhn, 1991).

Διάφορα ζώα έχουν χρησιμοποιηθεί στα πειραματικά μοντέλα μελέτης της μέσης ωτίτιδας και κυρίως αρουραίοι (rats), ινδικά χοιρίδια (guinea pigs), πίθηκοι (monkeys), γάτες (cats), γερβίλοι (gerbils), κόνικλοι (rabbits).

Τα κουνέλια είναι από τα ευρέως χρησιμοποιούμενα πειραματόζωα λόγω της ευκολίας στέγασης, συντήρησης και αναπαραγωγής τους. Επιπλέον, έχει βρεθεί ότι υπάρχουν κοινά χαρακτηριστικά της ΕΜΩ σε ανθρώπους και κουνέλια, όπως η παρουσία διιδρώματος, η μετάπλαση των καλυκοειδών κυττάρων, σημεία φλεγμονής του βλεννογόνου και μικροβιακός αποικισμός των ανώτερων αεροφόρων οδών (Schousboe, 2001).

8.4 Μελέτες σε μοντέλα πειραματοζώων που αφορούν τη συσχέτιση μέσης ωτίτιδας και αλλεργικής/ ανοσολογικής νόσου

Πολλοί ερευνητές ασχολήθηκαν με τη διερεύνηση του ρόλου της αλλεργίας στην εμφάνιση ΕΜΩ και, κυρίως μετά την πρόταση του Bluestone ότι υπεύθυνη είναι μία τοπική αντίδραση υπερευαισθησίας, πραγματοποιήθηκαν πολλές μελέτες σε πειραματόζωα. Οι πειραματικές αυτές μελέτες όπως και οι κλινικές κατέληξαν ορισμένες φορές σε αντικρουόμενα αποτελέσματα.

Ο Yamashita και συν. παρατήρησε μετά από ενδοτυμπανική χορήγηση ωλεουκωματίνης, συλλογή υγρού το οποίο περιείχε ηωσινόφιλα και άλλα φλεγμονώδη κύτταρα, στο μέσο ους ινδικών χοιριδίων ευαισθητοποιημένων στο συγκεκριμένο αντιγόνο. Στο βλεννογόνο του μέσου ωτός και της ΕΣ παρατηρήθηκε φλεγμονώδης διήθηση. Μετά από ρινοφαρυγγική έκθεση στο αντιγόνο, δεν παρατηρήθηκε συλλογή υγρού στο μέσο ους, παρά μόνο φλεγμονώδης διήθηση ρινός και φάρυγγα (Yamashita, 1980).

Ο Doyle και συν. απέδειξε ότι ρινική δοκιμασία αντιγονικής πρόκλησης προκαλεί λειτουργική απόφραξη της ΕΣ σε τσιντσιλά η οποία με τη σειρά της μπορούσε να οδηγήσει σε ΕΜΩ (Doyle, 1984).

Το σημαντικό ρόλο της δυσλειτουργίας της ΕΣ απέδειξε ο Nakamura και συν. σε πειραματική μελέτη σε γάτες, οι οποίες υποβλήθηκαν σε διατομή του τείνοντα το υπερώιο ιστίο μυός και ανοσοκαταστολή με κυκλοσπορίνη και κυκλοφωσφαμίδη. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι δεν εμφανίζεται ΕΜΩ, ακόμη και όταν υπάρχει καταστολή της κυτταρικής ή χυμικής ανοσίας, παρά μόνο όταν συνυπάρχει δυσλειτουργία της ΕΣ και ανάπτυξη αρνητικής πίεσης στο μέσο ους (Nakamura, 1991).

Το 1985, ο Doyle και συν. δημοσιεύει εργασία σύμφωνα με την οποία ευαισθητοποίησε νεαρούς πιθήκους στο timothy grass (φλέη) και στη γύρη του ragweed (αμβροσία) και μετά από ρινική πρόκληση στα αντίστοιχα αλλεργιογόνα δεν παρατηρήθηκε με την ωτοσκόπηση, την τυμπανομετρία ή ιστολογικά, φλεγμονώδης διήθηση ή συλλογή στο μέσο ους (Doyle, 1985).

Ο Ryan και συν. ανοσοποίησαν ινδικά χοιρίδια με ενδοδερμική έγχυση αιμοκυανίνης και κατόπιν πραγματοποίησαν πρόκληση με ενδοτυμπανική έγχυση αιμοκυανίνης. Παρατηρήθηκε συλλογή υγρού στο μέσο ους των πειραματοζώων μέσα σε 24 ώρες η οποία διατηρήθηκε επί 2 εβδομάδες μετά την ενδοτυμπανική έγχυση αιμοκυανίνης. Το υγρό της ΕΜΩ περιείχε μεγαλύτερη αναλογία λεμφοκυττάρων και μικρότερη αναλογία ουδετερόφιλων σε σχέση με πειραματόζωα που υποβλήθηκαν σε πρωτοπαθή ανοσολογική απάντηση. Στα πειραματόζωα που εμφάνισαν τη δευτεροπαθή ανοσολογική

απάντηση βρέθηκε ειδική για την αιμοκυανίνη IgG, αν και σε μικρότερες συγκεντρώσεις από αυτές του πλάσματος. Σημαντικές αλλαγές παρατηρήθηκαν στο βλεννογόνο του μέσου ωτός, συμπεριλαμβανομένων της κυτταρικής φλεγμονώδους διήθησης, οιδήματος, υπερπλασίας και απώλειας της ακεραιότητας της επιφάνειας του επιθηλίου (Ryan, 1986a).

Πειραματική μελέτη σε ινδικά χοιρίδια από τον Ryan και συν. ανέδειξε τον ρόλο της ενεργοποίησης του συμπληρώματος στην ανοσολογία της ΕΜΩ (Ryan, 1986b). Μελέτη σε ευαισθητοποιημένους με ασκαρίδες πιθήκους έδειξε ότι η ενδορρινική πρόκληση με το συγκεκριμένο αλλεργιογόνο και ισταμίνη προκαλεί μεταβολές στη φυσιολογία του μέσου ωτός. Συγκεκριμένα στα πειραματόζωα με λειτουργικά αποφραγμένη ΕΣ λόγω αναισθησίας παρατηρήθηκαν θετικές πιέσεις στο μέσο ουσ μετά από ρινική πρόκληση με αλλεργιογόνο ή ισταμίνη και όχι με το placebo σκεύασμα, πιθανά λόγω της μείωσης του όγκου του αέρα στο μέσο ουσ ως συνέπεια της φλεγμονής του βλεννογόνου. Μία άλλη υπόθεση που εξηγεί το φαινόμενο είναι η αύξηση της αιματικής ροής που παρατηρείται τόσο στο ρινικό βλεννογόνο, όσο και στο βλεννογόνο του μέσου ωτός και οδηγεί σε μεταβολές στην ανταλλαγή αερίων (Doyle, 1991).

Πειραματικό μοντέλο σε ευαισθητοποιημένους με ωλεουκωματίνη αρουραίους απέδειξε ότι η ενδοτυμπανική έγχυση 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ λιποπολυσακχαρίτη προκάλεσε μεγαλύτερη συλλογή υγρού στο μέσο ουσ από ότι η μη-ευαισθητοποιημένη ομάδα ελέγχου. Η απάντηση αυτή μπορούσε να ανασταλεί από τη διφενυδραμίνη (Labadie, 1999).

Ο Hardy και συν. μελετώντας το ρόλο της όψιμης αλλεργικής φάσης στη δημιουργία μέσης εκκριτικής ωτίτιδας, χορήγησε ενδοτυμπανικά ωλεουκωματίνη σε ευαισθητοποιημένους αρουραίους και μελέτησε τη λειτουργία της ΕΣ. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα ευαισθητοποιημένα πειραματόζωα παρουσίαζαν μεγάλες πιέσεις παθητικής και ενεργητικής διάνοιξης της ΕΣ, καθώς και μειωμένη ικανότητα στην ενεργητική εξισορρόπηση της ενδοτυμπανικής πίεσης και της βλεννοκροσσωτής κάθαρσης (Hardy, 2001).

8.5 Πειραματικά μοντέλα εκκριτικής μέσης ωτίτιδας

Η εκκριτική μέση ωτίτιδα έχει μελετηθεί σε μοντέλα πειραματοζώων. Στις διάφορες εργασίες εμφανίζονται διαφορετικές μέθοδοι πειραματικής πρόκλησης μέσης ωτίτιδας με υγρό όπως, απόφραξη της ευσταχιανής σάλπιγγας (ΕΣ) (Russell & Giles, 1998), ενδοτυμπανική έγχυση φλεγμονωδών μεσολαβητών π.χ. βραδυκινίνης, ισταμίνης, σεροτονίνης, ακετυλοχολίνης (Goldie, 1989), μηχανικό ερεθισμό του έξω ακουστικού πόρου (Alm, 1983), ενδοτυμπανική έγχυση λιποπολυσακχαριτικών (LPS) ενδοτοξινών μικροβίων (Rose, 1997).

Επίσης ποικίλει η εκτίμηση της φλεγμονώδους αντίδρασης και των θεραπευτικών αποτελεσμάτων διαφορετικών φαρμακευτικών ουσιών. Σε μελέτη των Chan et al, ο παράγοντας πρόκλησης φλεγμονής είναι η ισταμίνη και η μελέτη της φλεγμονώδους αντίδρασης στο μέσο ους καθώς και των θεραπευτικών επιδράσεων αντιφλεγμονωδών φαρμάκων πραγματοποιήθηκε με τη χρήση μαγνητικής τομογραφίας, βάσει του βαθμού εξαγγείωσης Gd-DTPA (Chan, 1994)

Σε πειραματική μελέτη σε αρουραίους, προκλήθηκε μέση ωτίτιδα με υγρό μετά από ενδοτυμπανική χορήγηση LTD4 και η φλεγμονώδης αντίδραση εκτιμήθηκε βάσει της παρουσίας υγρού στο μέσο ους και της ανίχνευσης επιπέδων IL-1β, TNF-α και GRO/ CINC-1 μέσα σε αυτό (Tada, 2002).

Σε μελέτη των Goldie και συν. η πρόκληση μέσης ωτίτιδας με υγρό προκλήθηκε με απόφραξη της ΕΣ αρουραίων με γουταπέρκα και η αξιολόγηση της φλεγμονώδους αντίδρασης έγινε με μέτρηση των μεταβολιτών του αραχιδονικού οξέος (Goldie, 1993).

Σε πρόκληση εκκριτικής ωτίτιδας σε αρουραίους με απόφραξη ΕΣ και χορήγηση LPS από *Salmonella typhimurium*, η προκληθείσα φλεγμονή μελετήθηκε βάσει του αριθμού των κροσσωτών κυττάρων, των μακροφάγων της υποεπιθηλιακής στιβάδας και των εκκριτικών κυττάρων (Nell & Grote, 2001).

Σε πρόσφατη μελέτη των Florea και συν. έγινε σύγκριση της τοπικής δράσης dexamethasone και rimexolone στο μέσο ους τσιντσιλά μετά από φλεγμονή προκαλούμενη από χορήγηση LPS από *Salmonella typhimurium*. Η τοπική δράση των στεροειδών αξιολογήθηκε βάσει της ποσότητας του υγρού που συλλέχθηκε στο μέσο ους μέσα σε 96 ώρες από την έναρξη του πειράματος και βάσει του πάχους του βλεννογόνου του μέσου ωτός (Florea, 2006).

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΣΚΟΠΟΣ

Σκοπός της μελέτης είναι η αξιολόγηση της επίδρασης θεραπευτικών σχημάτων στο βλεννογόνο του μέσου ωτός σε *in vivo* μοντέλο φλεγμονής σε πειραματόζωα (κουνέλια -*oryctolagus cuniculus*).

Η πρόκληση φλεγμονής του μέσου ωτός πραγματοποιήθηκε *in vivo* με ενδοτυμπανική έγχυση ισταμίνης όπως περιγράφεται στην ενότητα που ακολουθεί με τίτλο «Υλικό και μέθοδος». Για τον έλεγχο της φλεγμονώδους αντίδρασης χρησιμοποιήθηκαν γνωστά αντιισταμινικά και γενικότερα αντιφλεγμονώδη σκευάσματα με διαφορετικές οδούς χορήγησης.

Στόχος της ερευνητικής μελέτης είναι μέσω των αποτελεσμάτων της να προταθούν οι ουσίες με την καλύτερη αντιφλεγμονώδη δράση, πιθανά οι καλύτεροι συνδυασμοί χορήγησης αυτών, καθώς και ο βέλτιστος τρόπος χορήγησής τους.

Το πειραματικό μέρος της μελέτης διεξήχθη στο πειραματικό χειρουργείο της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Κρήτης. Το μεγαλύτερο μέρος των εργαλείων και του λοιπού τεχνολογικού εξοπλισμού που χρησιμοποιήθηκε, ανήκει στην Ωτορινολαρυγγολογική Κλινική του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ηρακλείου.

ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ

Σχεδιασμός

Για το πειραματικό μέρος της μελέτης σχεδιάστηκε μοντέλο φλεγμονής μέσου ωτός κουνελιών (*oryctolagus cuniculus*-New Zealand White). Η αρχική επιλογή των πειραματοζώων γινόταν βάσει του βάρους τους, το οποίο έπρεπε να κυμαίνεται από 1500 έως 1800 gr. Σε όλα τα πειραματόζωα προηγήθηκε ωτομικροσκοπικός έλεγχος (εικ. 20) για τον επιμελή καθαρισμό του έξω ακουστικού πόρου με αλκοολούχο διάλυμα και για τον έλεγχο παρουσίας

φλεγμονής του έξω ή μέσου ωτός. Σε όσα διαπιστώθηκε φλεγμονή αποκλείστηκαν από τη μελέτη.

Τα πειραματόζωα χωρίστηκαν με τυχαίο τρόπο σε 9 ομάδες, μία ομάδα ελέγχου και 8 ομάδες που έλαβαν μέρος στις πειραματικές μελέτες. Κατά τη διάρκεια των πειραμάτων παρέμειναν σε ειδικά διαμορφωμένο χώρο του πειραματικού χειρουργείου της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Κρήτης. Τροφή και νερό παρεχόταν *ad libitum* κατά τη διάρκεια της μελέτης. Όλοι οι χειρισμοί στα πειραματόζωα γίνονταν σύμφωνα με τις οδηγίες της εθνικής επιτροπής βιοηθικής. Οι μέθοδοι αναισθησίας και ευθανασίας που ακολουθήθηκαν ήταν σύμφωνες με τις οδηγίες της American Veterinary Medical Association (AVMA, 2001).

Το μοντέλο φλεγμονής του μέσου ωτός, προκλήθηκε, με ενδοτυμπανική χορήγηση διαλύματος ισταμίνης (Goldie, 1989· Chan, 1994· Aktan, 2004). Η φλεγμονή του μέσου ωτός ακολουθούσε συστηματική ή τοπική αγωγή των πειραματοζώων επί τριημέρου, με αντιισταμινικά/ αντιφλεγμονώδη φάρμακα.

Σε πέντε πειραματόζωα πραγματοποιήθηκε χειρουργική ανατομική παρασκευή του μέσου ωτός για τη μελέτη των ανατομικών σχέσεων αυτού, καθώς και για την ιστολογική μελέτη του φυσιολογικού βλεννογόνου του μέσου ωτός.

Μέθοδος

Τα πειραματόζωα βρίσκονταν υπό γενική αναισθησία τόσο κατά τον ωτοσκοπικό έλεγχο και καθαρισμό του έξω ακουστικού πόρου, όσο και κατά τη διάρκεια των ενδοτυμπανικών εγχύσεων. Η αναισθησία επιτυγχάνονταν με ενδομυϊκή χορήγηση ketamine hydrochloride (KETASET, Fort Dodge) και xylazine (ROMPUN, Bayer), σε δόσεις 35mg/Kg και 5mg/Kg αντίστοιχα.

Επί τρεις ημέρες χορηγούνταν αντιισταμινική ή αντιφλεγμονώδης αγωγή συστηματικά ή τοπικά με ενδοτυμπανική έγχυση στο δεξί ουσ, όπως περιγράφεται στις πειραματικές μελέτες. Την τέταρτη ημέρα γινόταν η πρόκληση φλεγμονής με ενδοτυμπανική έγχυση διαλύματος ισταμίνης 0,5ml

20mg/ml (HISTAMINE, S.A.R.M. Allergens) στη τυμπανική κοιλότητα δεξιά. Οι ενδοτυμπανικές ενέσεις εκτελούνταν με μακριά βελόνη 25-gauge, μήκους 50mm στο πρόσθιο-κάτω τεταρτημόριο της τυμπανικής μεμβράνης.

Τριάντα λεπτά μετά την ενδοτυμπανική έγχυση ισταμίνης πραγματοποιούνταν ευθανασία στα πειραματόζωα με τη χορήγηση 90mg/Kg sodium pentobarbital (EUTHASOL, Delmarva). Η χορήγηση γινόταν ενδοφλέβια στην επιχείλιο φλέβα (marginal vein) του αριστερού πτερυγίου (εικ. 21).

Στη συνέχεια αφαιρούνταν το πτερύγιο του δεξιού ωτός και αναγνωρίζονταν ο οστέινος έξω ακουστικός πόρος. Με τη βοήθεια ισχυρού αποκολλητήρα αφαιρούνταν το τυμπανικό οστό από το λιθοειδές (εικ.22) και ανοιγόταν η τυμπανική κοιλότητα (tympanic bulla) (εικ. 23). Με τη βοήθεια χειρουργικού μικροσκοπίου Zeiss με φακό 250mm και τη χρήση μικρού στρογγυλού μαχαιριδίου παρασκευαζόταν ο βλεννογόνος της κοιλότητας του μέσου ωτός. Το ιστικό δείγμα εμβυθιζόταν σε 10% υδατικό διάλυμα φορμόλης με ρυθμισμένο pH (buffered), στο οποίο παρέμενε επί 48ωρο, ώστε να μονιμοποιηθεί. Εν συνεχεία εγκλειόταν σε κύβο παραφίνης, από τον οποίο ελήφθησαν έξι τομές (ανά 2 σε τρία διαφορετικά επίπεδα) πάχους 3 μm, οι οποίες εχρώσθησαν με χρώση Αιματοξυλίνης-Ηωσίνης (Bancroft & Stevens, 1990).

Οι ακόλουθες παράμετροι εξετάσθηκαν τυφλά από τον ίδιο παθολογοανατόμο: οίδημα, αγγειακή διάταση και υπεραίμια, φλεγμονή, παρουσία συστατικών οξείας φλεγμονής (ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρρηνα), παρουσία ηωσινοφίλων, φλεγμονώδης ενεργότητα (διήθηση του επιθηλίου από φλεγμονώδη κύτταρα) και ίνωση (Michaels, 1987).

Για όλες τις παραμέτρους, ο αριθμός των κυττάρων ή η περιοχή των αγγείων εκτιμήθηκε σε πέντε οπτικά πεδία τα οποία επιλέχθηκαν με τυχαία μέθοδο, όπως αυτή περιγράφεται από τους Fleege και συν. (Fleege, 1991).

Πραγματοποιήθηκαν οι ακόλουθες πειραματικές μελέτες, οι οποίες παρουσιάζονται συνοπτικά στον πίνακα 8:

1^η πειραματική μελέτη

Σύγκριση της δράσης της ενδοτυμπανικής και της συστηματικής χορήγησης dexamethasone phosphate (φωσφορικής δεξαμεθαζόνης) σε in vivo μοντέλο φλεγμονής του μέσου ωτός. Μελέτη ομάδας ελέγχου.

Στη μελέτη έλαβαν μέρος πενήντα υγιή κουνέλια βάρους 1500-1800gr. Δέκα από τα πειραματόζωα χρησιμοποιήθηκαν ως ομάδα ελέγχου.

Στην ομάδα Α, η οποία αποτελούνταν από 20 πειραματόζωα, πραγματοποιήθηκε ενδομυϊκή ένεση dexamethasone phosphate (DEXAMETHASONE/GAP, Gap) επί τρεις ημέρες σε δόση 1mg/kg. Την τέταρτη ημέρα προκλήθηκε in vivo φλεγμονή με ενδοτυμπανική έγχυση ισταμίνης στο δεξί ουσ (0,5 ml, διάλυμα 20mg/ml).

Στα 20 πειραματόζωα της ομάδας Β, πραγματοποιήθηκε ενδοτυμπανική έγχυση 0,3 ml διαλύματος dexamethasone phosphate (1,2 mg) επί τρεις ημέρες. Η ένεση εκτελούνταν με μακριά βελόνη 25-gauge στο πρόσθιο-κάτω τεταρτημόριο της τυμπανικής μεμβράνης δεξιά. Την τέταρτη ημέρα προκλήθηκε in vivo φλεγμονή με ενδοτυμπανική έγχυση ισταμίνης στο δεξί ουσ (0,5 ml, διάλυμα 20mg/ml).

2^η πειραματική μελέτη

Σύγκριση της δράσης ενδομυϊκής χορήγησης hydroxyzine hydrochloride (υδροχλωρικής υδροξυζίνης) και από του στόματος χορήγησης levocetirizine (λεβοσετιριζίνης) και desloratadine (δεσλοραταδίνης) σε in vivo μοντέλο φλεγμονής του μέσου ωτός.

Στη δεύτερη μελέτη χρησιμοποιήθηκαν 60 πειραματόζωα, βάρους 1500-1800gr, τα οποία χωρίστηκαν σε τρεις ομάδες. Στην ομάδα Γ (20 πειραματόζωα) έγινε ενδομυϊκή χορήγηση 0,1 ml hydroxyzine hydrochloride (διάλυμα 100mg/2ml -ATARAX, Ucb Pharma), επί τρεις ημέρες. Την τέταρτη ημέρα, προκλήθηκε in vivo φλεγμονή με ενδοτυμπανική έγχυση ισταμίνης (HISTAMINE, S.A.R.M. Allergens) στο δεξί ουσ (0,5 ml, διάλυμα 20mg/ml).

Στην ομάδα Δ πριν την ενδοτυμπανική χορήγηση ισταμίνης έγινε per os χορήγηση 1.25 mg levocetirizine (XOZAL, Ucb Pharma) επί τρεις ημέρες και τέλος στην ομάδα Ε έγινε per os χορήγηση 1.25 mg desloratadine (AERIUS, Schering Plough Labo) επί τρεις ημέρες.

3^η πειραματική μελέτη

Σύγκριση της δράσης της ενδομυϊκής χορήγησης dexamethasone phosphate (φωσφορικής δεξαμεθαζόνης) και από του στόματος χορήγησης levocetirizine+ modelukast sodium σε in vivo μοντέλο φλεγμονής του μέσου ωτός.

Στην τρίτη μελέτη έλαβαν μέρος 20 πειραματόζωα (ομάδα ΣΤ), βάρους 1500-1800gr. Στα πειραματόζωα αυτά χορηγήθηκαν per os 1.25 mg levocetirizine (XOZAL, Ucb Pharma) + 1mg modelukast sodium (SINGULAIR, Merck Sharp & Dohme) επί τρεις ημέρες. Την τέταρτη ημέρα προκλήθηκε in vivo φλεγμονή με ενδοτυμπανική έγχυση ισταμίνης (HISTAMINE, S.A.R.M. Allergens) στο δεξί ουσ (0,5 ml, διάλυμα 20mg/ml).

Τα αποτελέσματα της δράσης της συνδυασμένης χορήγησης levocetirizine+ modelukast sodium στο βλεννογόνο του μέσου ωτός συγκρίθηκαν με εκείνα της ομάδας Α (ενδομυϊκή χορήγηση dexamethasone πριν την πρόκληση φλεγμονής με ισταμίνη).

4^η πειραματική μελέτη

Σύγκριση της δράσης της ενδοτυμπανικής χορήγησης ranitidine hydrochloride (υδροχλωρικής ρανιτιδίνης) και ενδοτυμπανικής χορήγησης piroxicam (πιροξικάμης) σε in vivo μοντέλο φλεγμονής του μέσου ωτός.

Στην τέταρτη μελέτη έλαβαν μέρος 40 πειραματόζωα, βάρους 1500-1800gr. Στην ομάδα Ζ, η οποία αποτελούνταν από 20 πειραματόζωα, πραγματοποιήθηκε ενδοτυμπανική έγχυση 0,3 ml (διάλυμα 25mg/ml) ranitidine hydrochloride (ZANTAC, Glaxo Wellcome) επί τρεις ημέρες. Η ένεση εκτελούνταν με μακριά βελόνη 25-gauge στο πρόσθιο-κάτω τεταρτημόριο της τυμπανικής μεμβράνης δεξιά. Την τέταρτη ημέρα προκλήθηκε in vivo φλεγμονή με ενδοτυμπανική έγχυση ισταμίνης (HISTAMINE, S.A.R.M. Allergens) στο δεξί ουσ (0,5 ml, διάλυμα 20mg/ml).

Στα 20 πειραματόζωα της ομάδας Η, πραγματοποιήθηκε ενδοτυμπανική έγχυση 0,3 ml (διάλυμα 20mg/ml) piroxicam (FELDENE, Pfizer) επί τρεις ημέρες. Η ένεση εκτελούνταν με μακριά βελόνη 25-gauge στο πρόσθιο-κάτω τεταρτημόριο της τυμπανικής μεμβράνης δεξιά. Την τέταρτη ημέρα

προκλήθηκε in vivo φλεγμονή με ενδοτυμπανική έγχυση ισταμίνης (HISTAMINE, S.A.R.M. Allergens) στο δεξί ους (0,5 ml, διάλυμα 20mg/ml).

Πίνακας 8. Συνοπτικός πίνακας των πειραματικών μελετών που πραγματοποιήθηκαν

Πειραματική μελέτη	Ομάδα	N	3 ημέρες «προετοιμασία»	Οδός χορήγησης (δόση/ ημέρα)	4 ^η ημέρα	Σύγκριση ομάδων
1 ^η	A	20	Dexamethasone phosphate	im (1mg/kg)	In vivo πρόκληση φλεγμονής με ενδοτυμπανική έγχυση ισταμίνης (0.5 ml, 20mg/ml)	A-B
	B	20	Dexamethasone phosphate	transtympanically (1,2 mg)		
2 ^η	Γ	20	Hydroxyzine hydrochloride	im (5mg)		Γ-E & Δ-E
	Δ	20	Levocetirizine	per os(1,25 mg)		
	E	20	Desloratadine	per os(1,25 mg)		
3 ^η	ΣΤ	20	Levocetirizine + mondelucast sodium	per os (1,25 mg+1mg)		A-ΣΤ
4 ^η	Z	20	Ranitidine hydrochloride	transtympanically (7,5mg)		Z-H
	H	20	Piroxicam	transtympanically (6mg)		

Αξιολόγηση

Για τον ποσοτικό προσδιορισμό των παραμέτρων που εξετάστηκαν στα παραπάνω πειράματα χρησιμοποιήθηκε μία ημι-ποσοτική κλίμακα από το 0 έως το 3. Το 0 αντιπροσώπευε τον φυσιολογικό βλεννογόνο του μέσου ωτός, χωρίς στοιχεία οξείας ή χρόνιας φλεγμονής, ενώ το 3 αντιπροσώπευε την πιο έντονη εμφάνιση της κάθε παραμέτρου (Aalto & Collan, 1984).

Στατιστική ανάλυση δεδομένων

Τα αποτελέσματα καταγράφηκαν σε βάση δεδομένων του SPSS 14.0 (Statistical Package for the Social Sciences). Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων έγινε με το μη-παραμετρικό Mann-Whitney U test, μέσω του SPSS 14.0 Base and Advanced Models software.

Για την εκτίμηση των στατιστικών αποτελεσμάτων θεωρήθηκε:

$p > 0.05$ Μη σημαντικό στατιστικό αποτέλεσμα

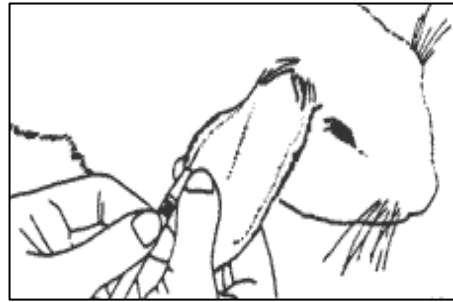
$p < 0.05$ Σημαντικό στατιστικό αποτέλεσμα

$p < 0.01$ Πολύ σημαντικό στατιστικό αποτέλεσμα

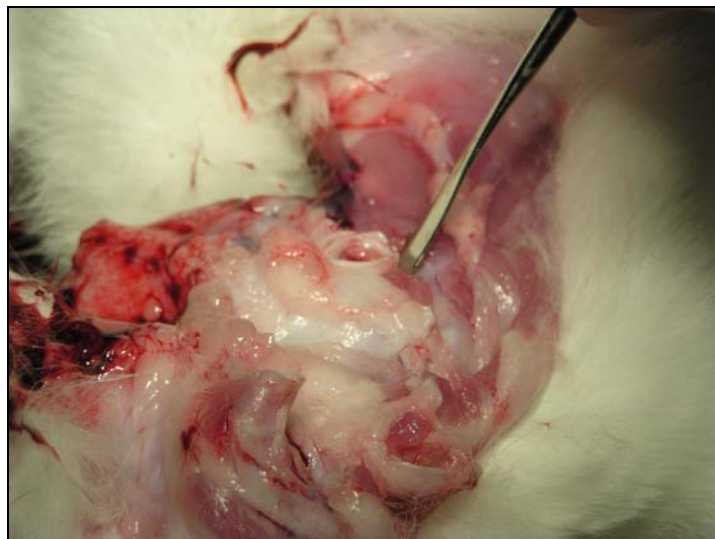
$p < 0.001$ Πάρα πολύ σημαντικό στατιστικό αποτέλεσμα



Εικ. 20. Ωτοσκοπική εικόνα του τυμπανικού υμένα δεξιά.



Εικ. 21. Έγχυση πεντοβαρβιτάλης στην επιχείλιο φλέβα του δεξιού πτερυγίου.



Εικ. 22. Αναγνώριση του οστέινου τμήματος του έξω ακουστικού πόρου και χρήση αποκολλητήρα για την αφαίρεση του τυμπανικού οστού.



Εικ. 23. Το τυμπανικό οστό έχει αφαιρεθεί και διακρίνεται το εσωτερικό του κοίλου του τυμπάνου.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

1^η πειραματική μελέτη

Σύγκριση της δράσης της ενδοτυμπανικής και της συστηματικής χορήγησης dexamethasone phosphate σε in vivo μοντέλο φλεγμονής του μέσου ωτός.

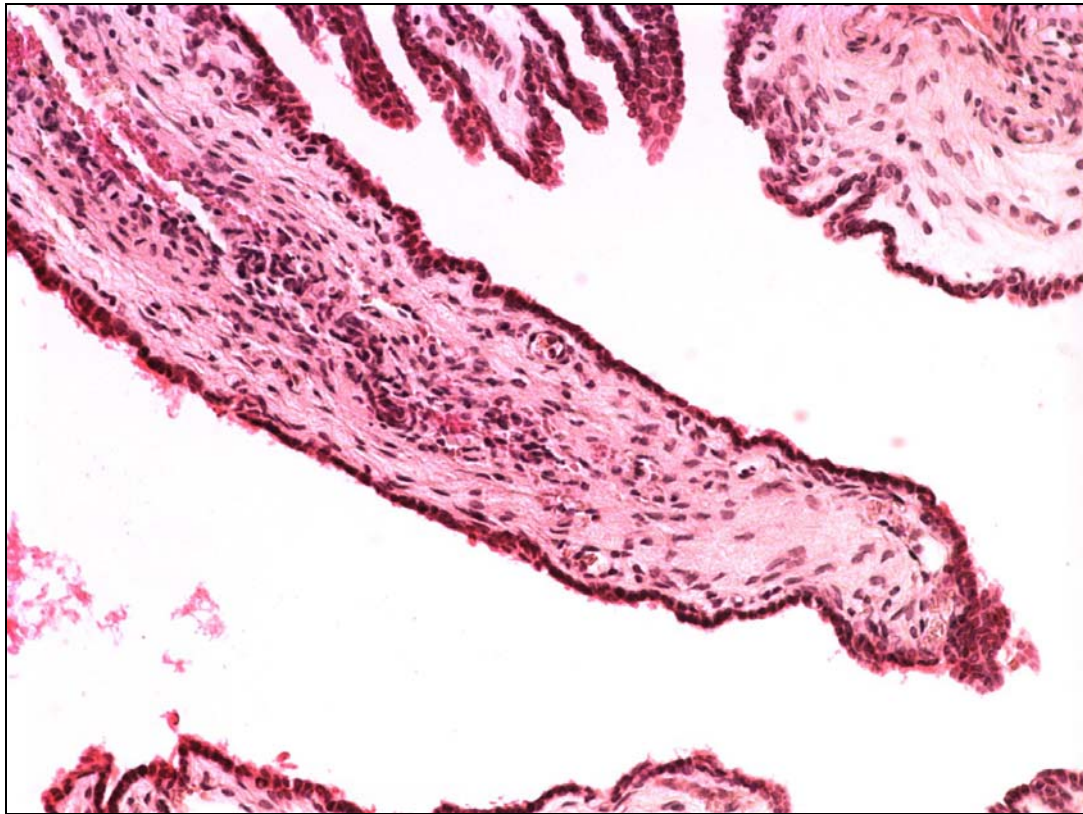
Στην εικόνα 24 απεικονίζεται η ιστολογική εμφάνιση του φυσιολογικού βλεννογόνου του μέσου ωτός κουνελιού. Διακρίνεται το μονόστιβο πλακώδες-κυβοειδές επιθήλιο καθώς και λιγοστά λεμφοκύτταρα και ιστοκύτταρα στη lamina propria.

Η επίδραση της ισταμίνης στο βλεννογόνο του μέσου ωτός φαίνεται στην εικόνα 25. Το παρασκεύασμα λήφθηκε 30 λεπτά μετά την ενδοτυμπανική έγχυση ισταμίνης στο δεξί ουσ (0,5 ml, διάλυμα 20mg/ml). Διακρίνονται διατεταμένα υπεραιμικά αγγεία, μεγάλος αριθμός ηωσινοφίλων και έντονο στρωματικό οίδημα.

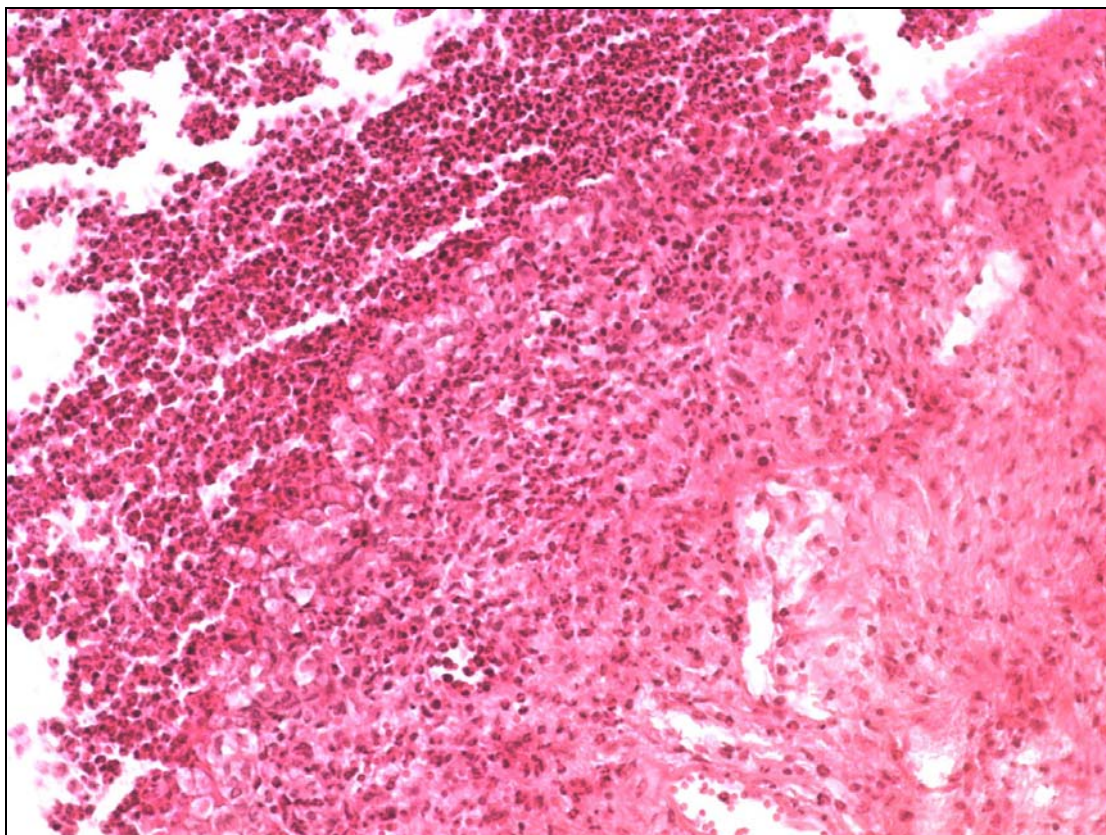
Τα αποτελέσματα όπως καταγράφηκαν κατά την ιστολογική μελέτη των παρασκευασμάτων, σύμφωνα με την ημι-ποσοτική κλίμακα, φαίνονται στον πίνακα 9.

Κατά τη σύγκριση των βλεννογόνων των δύο ομάδων διαπιστώθηκε ότι στην ομάδα Β (πρόκληση με ενδοτυμπανική έγχυση ισταμίνης μετά από ενδοτυμπανική χορήγηση dexamethasone) (εικ. 27) υπήρχε μικρότερου βαθμού οίδημα, αγγειακή διάταση, φλεγμονή και διήθηση του επιθηλίου από φλεγμονώδη κύτταρα καθώς και μικρότερος αριθμός πολυμορφοπύρηνων και ηωσινοφίλων σε σχέση με την ομάδα Α (πρόκληση με ενδοτυμπανική έγχυση ισταμίνης μετά από ενδομυϊκή χορήγηση dexamethasone) (εικ. 26). Σύμφωνα με τη μη παραμετρική στατιστική ανάλυση Mann-Whitney, οι διαφορές σε όλες τις παραμέτρους μεταξύ των δύο ομάδων βρέθηκαν να είναι στατιστικά πάρα πολύ σημαντικές ($p < 0.001$) εκτός από την ίνωση ($p = 0.560$) (πίνακας 10).

Ένα μη αναμενόμενο εύρημα ήταν η αναγνώριση καρκινώματος εκ πλακώδους επιθηλίου (ακανθοκυτταρικού) στο βλεννογόνο μέσου ωτός πειραματοζώου που ανήκε στην ομάδα Α (εικ. 28).



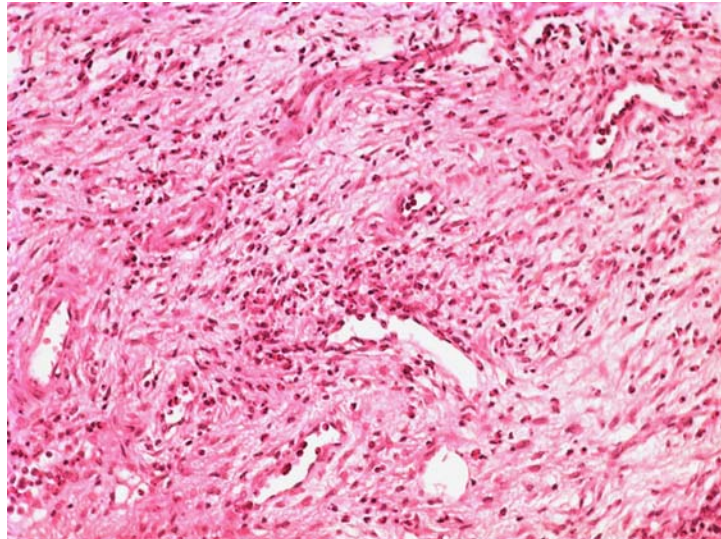
Εικ. 24. Φυσιολογικός βλεννογόνος μέσου ωτός (H&E:Χ400).



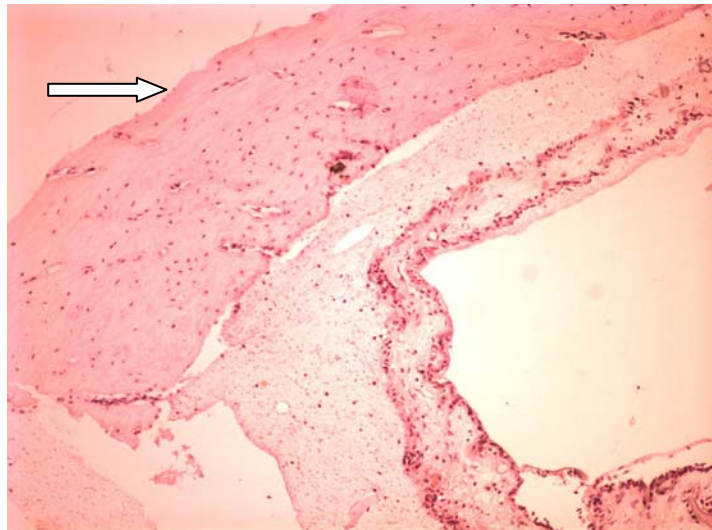
Εικ. 25. Βλεννογόνος μέσου ωτός μετά από ενδοτυμπανική έγχυση ιστοαμίνης (ομάδα ελέγχου) (H&E:Χ400).

Πίνακας 9. Αποτελέσματα της ιστολογικής εξέτασης με τη χρήση ημι-ποσοτικής κλίμακας για τα πειραματόζωα της ομάδας Α και Β. 0: φυσιολογικός βλεννογόνος του μέσου ωτός, χωρίς στοιχεία οξείας ή χρόνιας φλεγμονής, η ασθενέστερη εμφάνιση κάθε παραμέτρου, 3: η πιο έντονη εμφάνιση της κάθε παραμέτρου

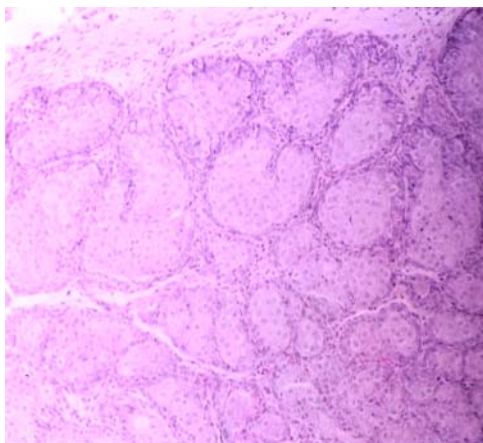
No	Οίδημα	Αγγειακή διάταση	Φλεγμονή	Στοιχεία οξείας φλεγμονής	Ηωσινόφιλα	Ενεργότητα φλεγμονής	Ίνωση
Ομάδα Α							
1	1	2	2	2	2	2	0
2	2	2	1	2	3	2	0
3	2	3	3	1	2	2	1
4	3	2	2	2	3	2	0
5	1	2	1	2	1	2	3
6	2	0	3	2	2	1	0
7	2	1	2	2	1	3	0
8	2	2	1	2	2	0	1
9	3	0	0	1	2	1	3
10	3	3	2	1	3	0	2
11	2	2	3	2	1	3	0
12	2	1	2	1	2	0	1
13	1	3	2	2	3	0	3
14	1	2	2	2	2	3	2
15	3	1	2	2	2	2	0
16	3	2	2	0	2	2	1
17	2	2	3	1	2	2	0
18	2	1	2	2	3	3	3
19	1	2	2	2	3	3	0
20	3	3	3	0	2	2	1
Ομάδα Β							
21	1	1	0	0	1	0	0
22	0	0	0	0	0	0	0
23	0	1	0	0	0	0	0
24	0	0	1	0	1	1	2
25	1	2	0	1	0	1	2
26	0	0	1	1	0	1	0
27	0	1	0	1	1	2	2
28	1	0	1	0	0	0	0
29	0	1	0	0	0	0	2
30	0	0	0	1	2	0	0
31	0	1	1	0	0	1	1
32	0	0	0	1	2	1	0
33	1	2	1	0	0	0	0
34	2	0	0	1	1	1	0
35	0	2	0	1	0	0	3
36	0	1	0	1	2	1	3
37	1	0	0	0	0	1	0
38	0	1	1	0	1	0	0
39	1	0	1	1	0	2	1
40	0	1	0	1	0	0	1



Εικ. 26. Βλεννογόνος μέσου ωτός πειραματοζώου της ομάδας Α. (H&E:Χ400).



Εικ. 27. Βλεννογόνος μέσου ωτός πειραματοζώου της ομάδας Β. στα αριστερά διακρίνεται οστικό ιστοτεμάχιο (βέλος) (H&E:Χ250).



Εικ.28. Ακανθοκυτταρικό καρκίνωμα βλεννογόνου μέσου ωτός σε πειραματόζωο της ομάδας Α.

Πίνακας 10. Στατιστική ανάλυση των ιστολογικών παραμέτρων της 1^{ης} πειραματικής μελέτης

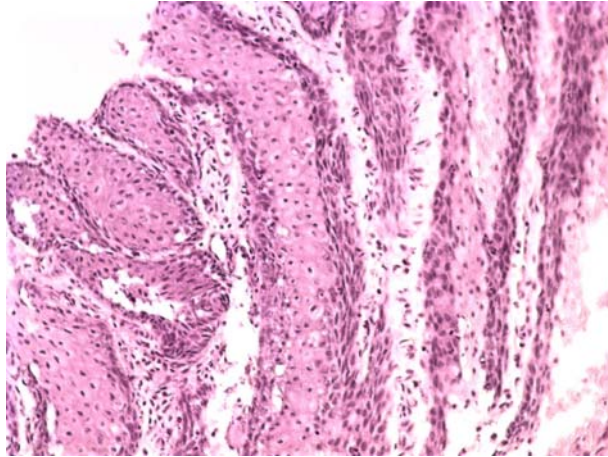
	ΟΙΔΗΜΑ	ΑΓΓΕΙΑΚΗ ΔΙΑΤΑΣΗ	ΦΛΕΓΜΟΝΗ	ΟΞΕΙΑ ΦΛΕΓΜΟΝΗ	ΗΩΣΙΝΟΦΙΛΑ	ΕΝΕΡΓΟΤΗΤΑ ΦΛΕΓΜΟΝΗΣ	ΙΝΩΣΗ
Mann-Whitney U	24,500	74,000	24,000	55,000	33,000	81,000	180,000
Asymp. Sig. (2-tailed)	,000	,000	,000	,000	,000	,001	,560

2^η πειραματική μελέτη

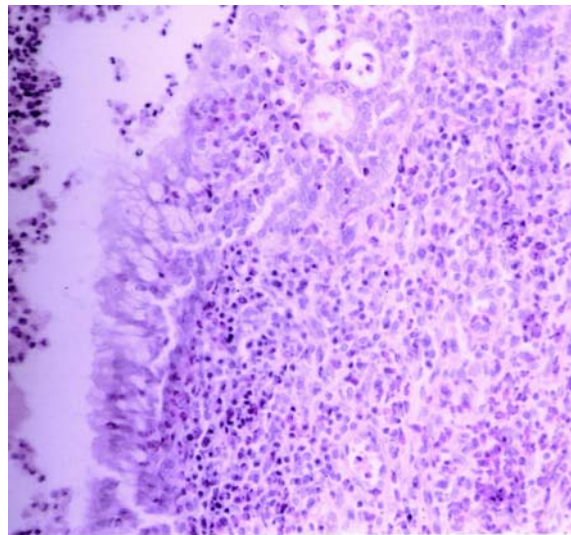
2Α) Σύγκριση της δράσης ενδομυϊκής χορήγησης hydroxyzine hydrochloride (υδροχλωρικής υδροξυζίνης) και από του στόματος χορήγησης desloratadine (δεσλοραταδίνης) σε in vivo μοντέλο φλεγμονής του μέσου ωτός.

Η σύγκριση των βλεννογόνων μέσου ωτός των πειραματοζώων της ομάδας Γ (ενδομυϊκή χορήγηση hydroxyzine hydrochloride επί τριημέρου πριν την πρόκληση με ισταμίνη ενδοτυμπανικά) (εικ.29) και της ομάδας Ε (από του στόματος χορήγηση desloratadine επί τριημέρου πριν την πρόκληση με ισταμίνη ενδοτυμπανικά) (εικ.30) ανέδειξε σημαντικά μικρότερου βαθμού φλεγμονή του μέσου ωτός με πολύ σημαντική στατιστική διαφορά υπέρ της ομάδας Γ για όλες τις παραμέτρους που εξετάστηκαν ($p < 0.01$).

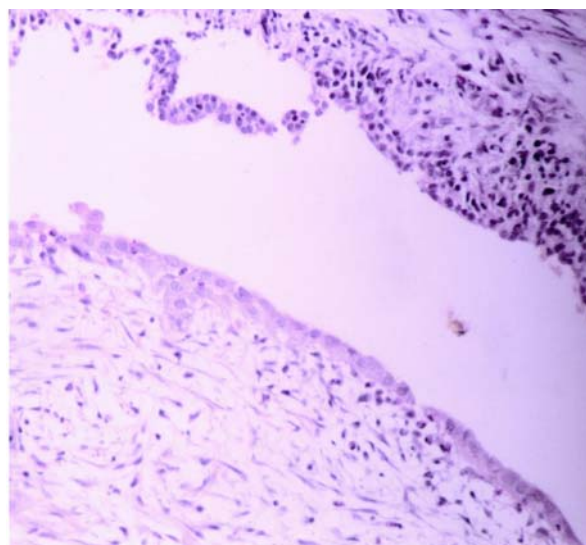
Τα αποτελέσματα όπως καταγράφηκαν κατά την ιστολογική μελέτη των παρασκευασμάτων, σύμφωνα με την ημι-ποσοτική κλίμακα, φαίνονται στον πίνακα 11, ενώ η στατιστική ανάλυση Mann-Whitney U test συνοψίζεται στον πίνακα 12.



Εικ. 29. Βλεννογόνος μέσου ωτός πειραματοζώου της ομάδας Γ (H&E:Χ400).



Εικ. 30. Βλεννογόνος μέσου ωτός πειραματοζώου της ομάδας Ε. (H&E:Χ400).



Εικ. 31. Βλεννογόνος μέσου ωτός πειραματοζώου της ομάδας Δ. (H&E:Χ400).

Πίνακας 11. Αποτελέσματα της ιστολογικής εξέτασης με τη χρήση ημι-ποσοτικής κλίμακας για τα πειραματόζωα της ομάδας Γ και Ε. 0: φυσιολογικός βλεννογόνος του μέσου ωτός, χωρίς στοιχεία οξείας ή χρόνιας φλεγμονής, η ασθενέστερη εμφάνιση κάθε παραμέτρου, 3: η πιο έντονη εμφάνιση της κάθε παραμέτρου

No	Οίδημα	Αγγειακή διάταση	Φλεγμονή	Στοιχεία οξείας φλεγμονής	Ηωσινόφιλα	Ενεργότητα φλεγμονής	Ίνωση
Ομάδα Γ							
1	1	1	0	1	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	1
3	0	0	0	1	0	0	1
4	0	1	0	0	1	1	1
5	1	0	1	2	0	2	1
6	0	0	1	0	1	0	1
7	0	1	1	1	0	1	0
8	1	0	0	0	1	0	0
9	0	0	0	1	0	2	0
10	0	2	1	0	0	0	0
11	0	0	0	1	1	1	1
12	0	2	1	0	0	0	1
13	1	0	0	1	1	0	1
14	2	1	1	0	0	0	1
15	0	0	1	2	0	1	1
16	0	2	1	1	0	1	1
17	1	0	2	0	2	0	2
18	0	1	2	1	1	0	0
19	1	0	2	0	1	2	2
20	0	0	1	2	0	1	1
Ομάδα Ε							
41	1	2	2	1	1	0	3
42	2	2	1	1	1	1	1
43	2	1	0	2	0	0	1
44	2	0	2	2	1	2	2
45	2	2	2	2	2	1	2
46	2	1	2	1	2	2	1
47	0	2	1	2	1	2	2
48	1	0	2	1	0	1	1
49	2	1	2	2	2	2	2
50	0	0	0	0	2	1	1
51	0	2	2	1	0	1	1
52	1	2	1	1	2	2	1
53	2	3	3	2	0	2	1
54	3	0	2	1	2	3	1
55	0	2	2	1	1	1	3
56	1	1	3	2	3	2	3
57	1	2	0	1	0	1	1
58	0	1	1	2	2	2	1
59	2	3	3	3	1	2	1
60	0	1	2	1	1	1	1

Πίνακας 12. Στατιστική ανάλυση των ιστολογικών παραμέτρων της 2Α πειραματικής μελέτης

	ΟΙΔΗΜΑ	ΑΓΓΕΙΑΚΗ ΔΙΑΤΑΣΗ	ΦΛΕΓΜΟΝΗ	ΟΞΕΙΑ ΦΛΕΓΜΟΝΗ	ΗΩΣΙΝΟΦΙΛΑ	ΕΝΕΡΓΟΤΗΤΑ ΦΛΕΓΜΟΝΗΣ	ΙΝΩΣΗ
Mann-Whitney U	105,000	101,000	93,000	97,500	105,000	90,500	108,000
Asymp. Sig. (2-tailed)	,006	,005	,002	,003	,006	,002	,004

2^η πειραματική μελέτη

2B) Σύγκριση της δράσης από του στόματος χορήγησης levocetirizine (λεβοσετιριζίνης) και desloratadine (δεσλοραταδίνης) σε in vivo μοντέλο φλεγμονής του μέσου ωτός.

Η σύγκριση της ιστολογικής εικόνας των βλεννογόνων μέσου ωτός της ομάδας Δ (per os χορήγηση 1.2 mg levocetirizine επί τρεις ημέρες πριν την ενδοτυμπανική χορήγηση ισταμίνης) (εικ. 31) και της ομάδας Ε (per os χορήγηση 1.2 mg desloratadine επί τρεις ημέρες πριν την ενδοτυμπανική χορήγηση ισταμίνης) έδειξε εντονότερη φλεγμονή στο βλεννογόνο των πειραματοζώων της ομάδας Ε. Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων της ημι-ποσοτικής κλίμακας (πίνακας 14) έδειξε ότι η στατιστική διαφορά των αποτελεσμάτων των ομάδων Δ και Ε ήταν σημαντική ($p < 0.05$) και για τις επτά παραμέτρους που μελετήθηκαν. Τα αποτελέσματα όπως καταγράφηκαν κατά την ιστολογική μελέτη των παρασκευασμάτων, σύμφωνα με την ημι-ποσοτική κλίμακα, φαίνονται στον πίνακα 13.

Πίνακας 13. Αποτελέσματα της ιστολογικής εξέτασης με τη χρήση ημι-ποσοτικής κλίμακας για τα πειραματοζώα της ομάδας Δ. 0: φυσιολογικός βλεννογόνος του μέσου ωτός, χωρίς στοιχεία οξείας ή χρόνιας φλεγμονής, η ασθενέστερη εμφάνιση κάθε παραμέτρου, 3: η πιο έντονη εμφάνιση της κάθε παραμέτρου

No	Οίδημα	Αγγειακή διάταση	Φλεγμονή	Στοιχεία οξείας φλεγμονής	Ηωσινόφιλα	Ενεργότητα φλεγμονής	Ίνωση
Ομάδα Δ							
21	0	1	1	0	1	0	2
22	1	1	1	0	0	0	1
23	0	1	1	1	1	1	2
24	1	1	1	1	1	1	1
25	1	0	0	1	0	0	0
26	0	0	1	0	1	1	0
27	0	1	1	1	1	1	1
28	0	1	2	2	1	2	1
29	1	0	0	1	0	1	0
30	1	2	2	2	1	0	1

31	1	2	2	2	1	2	1
32	1	2	2	1	0	0	1
33	1	1	2	1	1	1	1
34	0	0	1	0	0	0	1
35	1	1	1	1	2	1	2
36	1	1	1	0	0	1	1
37	0	0	1	0	0	0	0
38	1	0	1	0	1	1	0
39	0	1	1	1	0	0	1
40	0	0	0	1	1	0	0

Πίνακας 14. Στατιστική ανάλυση των ιστολογικών παραμέτρων της 2B πειραματικής μελέτης

	ΟΙΔΗΜΑ	ΑΓΓΕΙΑΚΗ ΔΙΑΤΑΣΗ	ΦΛΕΓΜΟΝΗ	ΟΞΕΙΑ ΦΛΕΓΜΟΝΗ	ΗΩΣΙΝΟΦΙΛΑ	ΕΝΕΡΓΟΤΗΤΑ ΦΛΕΓΜΟΝΗΣ	ΙΝΩΣΗ
Mann-Whitney U	120,500	126,000	124,500	108,500	129,000	92,000	116,500
Asymp. Sig. (2-tailed)	,022	,034	,029	,007	,039	,002	,010

3^η πειραματική μελέτη

Σύγκριση της δράσης της ενδομυϊκής χορήγησης dexamethasone (δεξαμεθαζόνης) και από του στόματος χορήγησης levocetirizine+ modelukast sodium σε in vivo μοντέλο φλεγμονής του μέσου ωτός.

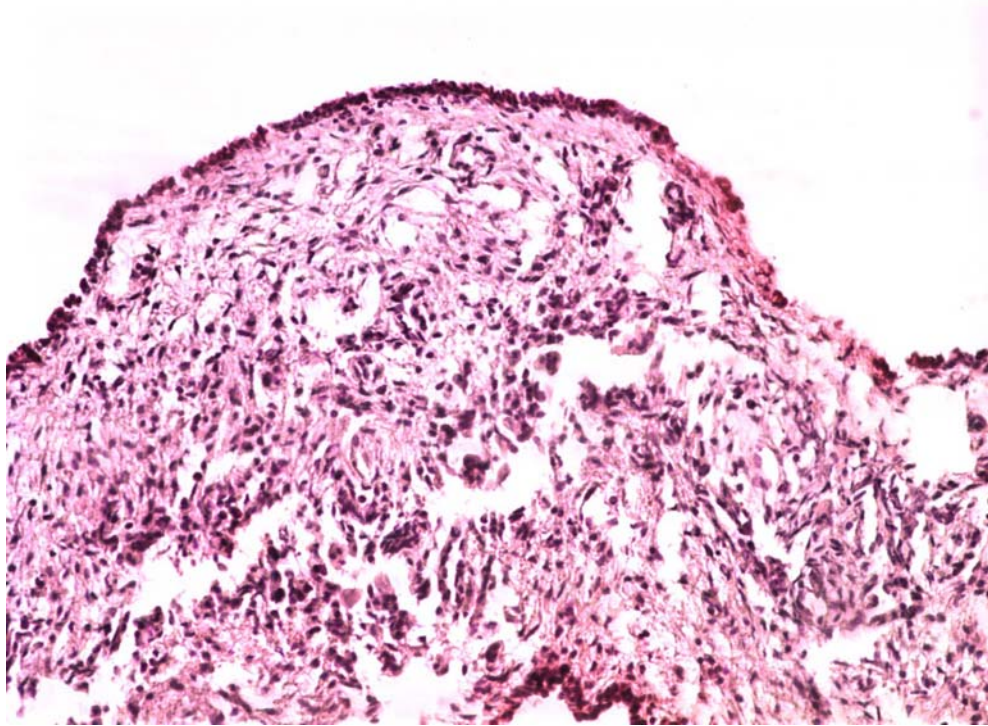
Η σύγκριση της ιστολογικής εικόνας των βλεννογόνων μέσου ωτός της ομάδας ΣΤ (per os χορήγηση 1.2 mg levocetirizine + 1 mg modelukast sodium επί τρεις ημέρες πριν την ενδοτυμπανική χορήγηση ισταμίνης) (εικ. 32) και της ομάδας Α (πρόκληση με ενδοτυμπανική έγχυση ισταμίνης μετά από ενδομυϊκή χορήγηση dexamethasone) (εικ. 26) έδειξε ότι υπήρχε σημαντική διαφορά όσον αφορά τη φλεγμονή σύμφωνα με τις παραμέτρους που εξετάστηκαν. Τα αποτελέσματα όπως καταγράφηκαν κατά την ιστολογική μελέτη των παρασκευασμάτων, σύμφωνα με την ημι-ποσοτική κλίμακα, φαίνονται στον πίνακα 15. Από τη στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων της ημι-ποσοτικής κλίμακας (πίνακας 16) βρέθηκε ότι όλες οι παράμετροι που μελετήθηκαν είχαν σημαντική στατιστική διαφορά (εκτός της ίνωσης, $p > 0.05$) μεταξύ των δύο ομάδων ($p < 0.05$) με υπεροχή της ομάδας ΣΤ.

Πίνακας 15. Αποτελέσματα της ιστολογικής εξέτασης με τη χρήση ημι-ποσοτικής κλίμακας για τα πειραματόζωα της ομάδας ΣΤ

No	Οίδημα	Αγγειακή διάταση	Φλεγμονή	Στοιχεία οξείας φλεγμονής	Ηωσινόφιλα	Ενεργότητα φλεγμονής	Ίνωση
Ομάδα ΣΤ							
1	1	0	1	1	1	0	1
2	0	0	2	2	1	1	0
3	0	1	1	1	1	1	0
4	0	0	1	1	1	1	1
5	0	0	1	2	1	1	1
6	0	0	1	1	1	1	0
7	0	1	2	1	0	1	1
8	1	0	1	2	1	2	0
9	0	1	1	1	1	0	0
10	0	0	1	0	1	1	1
11	0	1	1	1	1	0	1
12	1	0	1	2	2	2	2
13	0	1	1	0	1	1	0
14	0	0	2	1	1	0	0
15	0	1	1	1	1	1	1
16	0	0	1	1	1	1	0
17	0	0	1	1	1	0	1
18	1	1	2	2	2	2	0
19	0	0	1	1	1	1	1
20	0	0	2	0	1	1	1

Πίνακας 16. Στατιστική ανάλυση των ιστολογικών παραμέτρων της 3^{ης} πειραματικής μελέτης

	ΟΙΔΗΜΑ	ΑΓΓΕΙΑΚΗ ΔΙΑΤΑΣΗ	ΦΛΕΓΜΟΝΗ	ΟΞΕΙΑ ΦΛΕΓΜΟΝΗ	ΗΩΣΙΝΟΦΙΛΑ	ΕΝΕΡΓΟΤΗΤΑ ΦΛΕΓΜΟΝΗΣ	ΙΝΩΣΗ
Mann-Whitney U	10,000	41,000	85,000	124,500	42,500	101,500	170,500
Asymp. Sig. (2-tailed)	,000	,000	,001	,025	,000	,005	,388



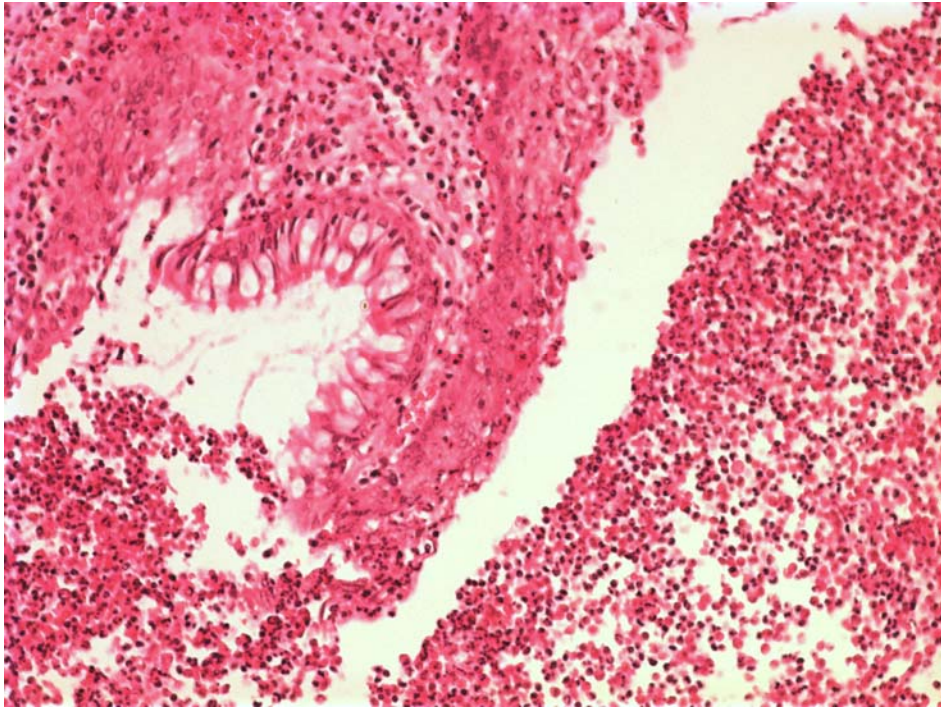
Εικ. 32. Βλεννογόνος μέσου ωτός πειραματοζώου της ομάδας ΣΤ. (H&E:Χ400).

4^η πειραματική μελέτη

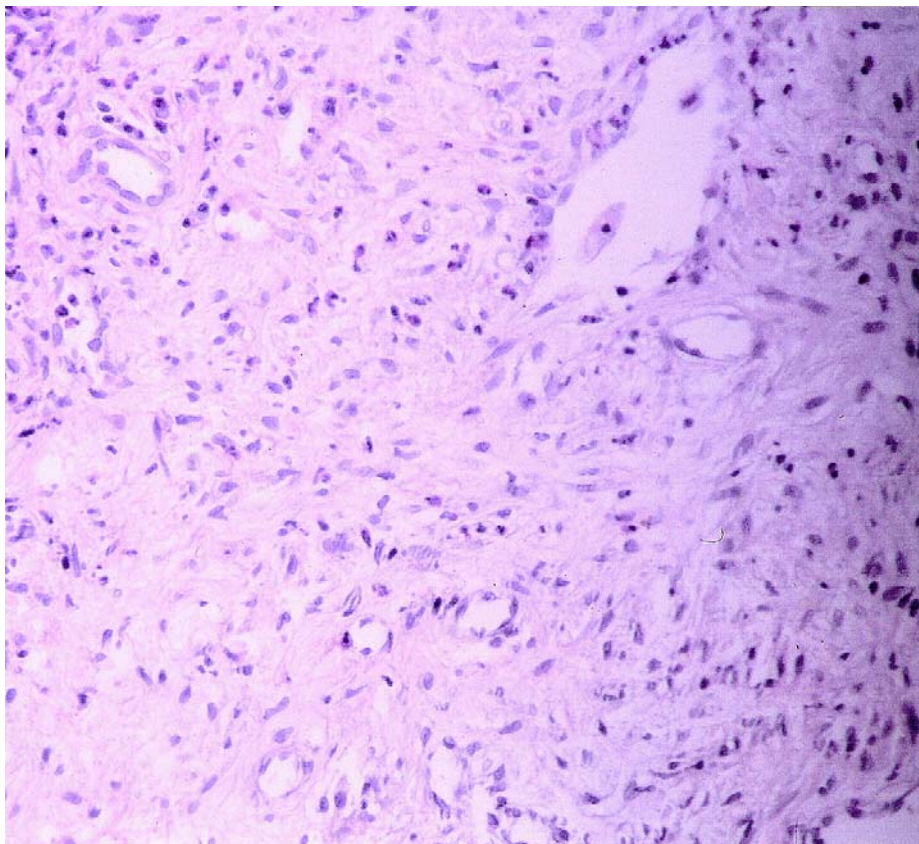
Σύγκριση της δράσης της ενδοτυμπανικής χορήγησης ranitidine hydrochloride (υδροχλωρικής ρανιτιδίνης) και ενδοτυμπανικής χορήγησης piroxicam (πιροξικάμης) σε in vivo μοντέλο φλεγμονής του μέσου ωτός.

Κατά την ιστολογική εξέταση των βλεννογόνων μέσου ωτός των πειραματοζώων της ομάδας Z διαπιστώθηκε πολύ έντονη φλεγμονή με μικροδιαβρώσεις του καλυπτικού επιθηλίου, και διήθηση αυτού από φλεγμονώδη κύτταρα. Επίσης υπήρχε έντονο οίδημα χορίου και πυκνές φλεγμονώδεις διηθήσεις κυρίως από ηωσινόφιλα πολυμορφοπύρρηνα και αρκετά λεμφοκύτταρα και μονοπύρρηνα (εικ. 33). Η ιστολογική εξέταση των βλεννογόνων μέσου ωτός των πειραματοζώων της ομάδας H ανέδειξε μικρότερου βαθμού φλεγμονή με μικρή διήθηση του επιθηλίου και αρκετά έντονη ίνωση (εικ. 34).

Τα αποτελέσματα όπως καταγράφηκαν κατά την ιστολογική μελέτη των παρασκευασμάτων, σύμφωνα με την ημι-ποσοτική κλίμακα, φαίνονται στον πίνακα 17. Σύμφωνα με τη μη παραμετρική στατιστική ανάλυση Mann-Whitney, πάρα πολύ σημαντικές στατιστικές διαφορές ($p < 0.001$) βρέθηκαν για τις παραμέτρους: οίδημα, διάταση των αγγείων, αριθμό ηωσινοφίλων. Σημαντική ήταν η διαφορά για την φλεγμονή, στοιχεία οξείας φλεγμονής και ενεργότητα φλεγμονής ($p < 0.01$), ενώ για την ίνωση δεν υπήρχε σημαντική στατιστική διαφορά ($p = 0,976$) (πίνακας 18).



Εικ. 33. Βλεννογόνος μέσου ωτός πειραματοζώου της ομάδας Z. (H&E:X400).



Εικ. 34. Βλεννογόνος μέσου ωτός πειραματοζώου της ομάδας H. (H&E:X400).

Πίνακας 17. Αποτελέσματα της ιστολογικής εξέτασης με τη χρήση ημι-ποσοτικής κλίμακας για τα πειραματόζωα της ομάδας Z και H. 0: φυσιολογικός βλεννογόνος του μέσου ωτός, χωρίς στοιχεία οξείας ή χρόνιας φλεγμονής, η ασθενέστερη εμφάνιση κάθε παραμέτρου, 3: η πιο έντονη εμφάνιση της κάθε παραμέτρου

No	Οίδημα	Αγγειακή διάταση	Φλεγμονή	Στοιχεία οξείας φλεγμονής	Ηωσινόφιλα	Ενεργότητα φλεγμονής	Ίνωση
Ομάδα Z							
1	2	2	2	2	2	2	1
2	2	2	1	2	3	2	1
3	2	3	3	1	2	2	1
4	3	2	2	2	3	2	1
5	1	2	1	2	1	2	3
6	2	2	3	2	2	1	0
7	2	1	2	2	1	3	0
8	2	2	1	2	2	0	1
9	3	0	0	1	2	1	3
10	3	3	2	1	3	0	2
11	2	2	3	2	1	3	1
12	2	1	2	1	2	0	1
13	1	3	2	2	3	0	3
14	2	2	2	2	2	3	2
15	3	1	2	2	2	2	0
16	3	2	2	1	2	2	1
17	2	2	3	1	2	2	0
18	2	1	2	2	3	3	3
19	2	2	2	1	2	1	0
20	2	1	1	1	1	1	0
Ομάδα H							
21	2	1	2	2	0	1	0
22	1	1	1	0	1	0	1
23	2	1	1	1	0	1	2
24	1	0	1	1	1	0	0
25	1	1	0	1	1	1	1
26	2	1	1	1	1	1	1
27	1	1	1	1	1	1	2
28	2	1	2	1	2	1	1
29	1	1	1	1	1	1	1
30	2	1	1	1	2	1	0
31	1	1	1	1	2	1	1
32	2	1	2	1	1	1	1
33	2	1	1	2	1	1	2
34	1	1	1	1	2	1	2
35	1	1	0	0	0	1	1
36	2	1	1	2	1	0	1
37	1	0	1	1	0	1	1
38	1	1	1	1	1	0	1
39	2	2	2	3	1	2	1
40	0	1	2	1	1	1	1

Πίνακας 18. Στατιστική ανάλυση των ιστολογικών παραμέτρων της 4^{ης} πειραματικής μελέτης

	ΟΙΔΗΜΑ	ΑΓΓΕΙΑΚΗ ΔΙΑΤΑΣΗ	ΦΛΕΓΜΟΝΗ	ΟΞΕΙΑ ΦΛΕΓΜΟΝΗ	ΗΩΣΙΝΟΦΙΛΑ	ΕΝΕΡΓΟΤΗΤΑ ΦΛΕΓΜΟΝΗΣ	ΙΝΩΣΗ
Mann-Whitney U	86,500	72,000	92,500	118,000	62,000	110,000	199,000
Asymp. Sig. (2-tailed)	,001	,000	,002	,012	,000	,009	,976

Εκτός από τα αποτελέσματα των τεσσάρων κύριων πειραματικών μελετών που διενεργήθηκαν, μπορούν να εξαχθούν επιπλέον συμπεράσματα με τη σύγκριση των δεδομένων μεταξύ των μελετών. Έτσι η σύγκριση των αποτελεσμάτων από την «προετοιμασία» με ενδοτυμπανική έγχυση dexamethasone και των αποτελεσμάτων από την ενδοτυμπανική έγχυση rioxicam στο μοντέλο in vivo φλεγμονής, δείχνει ότι για τις παραμέτρους: αγγειακή διάταση, ενεργότητα φλεγμονής και ίνωση δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά ($p > 0.05$). Φαίνεται ότι η δεξαμεθαζόνη είχε καλύτερα αποτελέσματα όσον αφορά το προκαλούμενο οίδημα ($p < 0.001$) (πίνακας 19). Η ενδομυϊκή χορήγηση hydroxyzine hydrochloride σε σύγκριση με την ενδοτυμπανική χορήγηση rioxicam είχε καλύτερα αποτελέσματα όσον αφορά το οίδημα, τον αριθμό των ηωσινοφίλων και την αγγειακή διάταση ($p < 0.05$). Δεν υπήρχε σημαντική στατιστική διαφορά για τον παράγοντα της ίνωσης και την ενεργότητα της φλεγμονής ($p > 0.05$) (πίνακας 20).

Πίνακας 19. Σύγκριση ενδοτυμπανικής χορήγησης dexamethasone και ενδοτυμπανικής χορήγησης rioxicam στο μοντέλο φλεγμονής του βλεννογόνου του μέσου ωτός

	ΟΙΔΗΜΑ	ΑΓΓΕΙΑΚΗ ΔΙΑΤΑΣΗ	ΦΛΕΓΜΟΝΗ	ΟΞΕΙΑ ΦΛΕΓΜΟΝΗ	ΗΩΣΙΝΟΦΙΛΑ	ΕΝΕΡΓΟΤΗΤΑ ΦΛΕΓΜΟΝΗΣ	ΙΝΩΣΗ
Mann-Whitney U	58,000	151,500	72,500	100,000	128,000	151,000	157,000
Asymp. Sig. (2-tailed)	,000	,126	,000	,002	,035	,130	,216

Πίνακας 20. Σύγκριση ενδομυϊκής χορήγησης hydroxyzine και ενδοτυμπανικής χορήγησης rioxicam στο μοντέλο φλεγμονής του βλεννογόνου του μέσου ωτός

	ΟΙΔΗΜΑ	ΑΓΓΕΙΑΚΗ ΔΙΑΤΑΣΗ	ΦΛΕΓΜΟΝΗ	ΟΞΕΙΑ ΦΛΕΓΜΟΝΗ	ΗΩΣΙΝΟΦΙΛΑ	ΕΝΕΡΓΟΤΗΤΑ ΦΛΕΓΜΟΝΗΣ	ΙΝΩΣΗ
Mann-Whitney U	58,000	123,000	137,000	133,500	112,000	149,500	159,000
Asymp. Sig. (2-tailed)	,000	,019	,058	,046	,009	,127	,198

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η εκκριτική μέση ωτίτιδα (ΕΜΩ) αποτελεί την κύρια αιτία βαρηκοΐας αγωγιμότητας στην παιδική ηλικία, με ποσοστό 15-20% για παιδιά ηλικίας 2-4 ετών (Schousboe, 2001). Πολλοί είναι οι προδιαθεσικοί παράγοντες που έχουν σχετιστεί με την εμφάνιση της ΕΜΩ: η ηλικία, το φύλο, οι συνήθειες σίτισης, η ατοπία, οι συχνές λοιμώξεις του ανώτερου αναπνευστικού, υπερτροφία αδενοειδών εκβλαστήσεων, κληρονομικά νοσήματα (π.χ. κυστική ίνωση, σύνδρομο δυσκινησίας κροσσών) και το παθητικό κάπνισμα (Zeisel, 1999· Chole, 1986). Κάποια παιδιά εμφανίζουν χρόνια ΕΜΩ, η οποία εκδηλώνεται με παραμονή της συλλογής του υγρού επί μακρόν και παρουσία φλεγμονωδών παραγόντων στο μέσο ουσ. Η ΕΜΩ εμφανίζεται και σε ενήλικες ασθενείς με κύριους προδιαθεσικούς παράγοντες την ατοπία, την καλοήγη υπερτροφία του λεμφικού ιστού στον ρινοφάρυγγα, το καρκίνωμα του ρινοφάρυγγα, ή ως επιπλοκή ακτινοβολίας στην περιοχή κεφαλής και τραχήλου. Το ποσοστό των ατοπικών ασθενών που εμφανίζουν ΕΜΩ ποικίλλει στις διάφορες εργασίες, από πολύ χαμηλό μέχρι σχεδόν 80% (Bernstein, 1992), με πλέον συνήθη ποσοστά από 15-35% (Bernstein, 1993).

Η ΕΜΩ δεν παρουσιάζεται μόνο σαν νόσημα πολυπαραγοντικής αιτιολογίας αλλά και σαν νόσος με ποικίλη κλινική εμφάνιση, καλύπτοντας το φάσμα από ένα μεμονωμένο επεισόδιο μέχρι εμμένουσα φλεγμονή ανθεκτική σε κάθε είδους θεραπεία (Hurst D, 1990). Κλασσικά η αντιμετώπιση της ΕΜΩ διακρίνεται σε συντηρητική και χειρουργική. Η συντηρητική θεραπεία περιλαμβάνει τη χρήση αντιβιοτικών, ρινικών αποσυμφορητικών-αντιισταμινικών και κορτικοστεροειδών σε μορφή ρινικών sprays. Η χειρουργική αντιμετώπιση περιλαμβάνει την τοποθέτηση σωληνίσκων αερισμού σε συνδυασμό ή όχι με αδενοτομή.

Οι επιπλοκές της παραμελημένης ή επίμονης ΕΜΩ εκτός της βαρηκοΐας αγωγιμότητας, που παρατηρείται είναι: ατροφία του τυμπανικού υμένα, τυμπανοσκλήρυνση, ατελεκτασία και συμφυτική ωτίτιδα, χρόνια μέση ωτίτιδα και χολοστεάτωμα, διάβρωση οσταρίων, χοληστερινικό κοκκίωμα, διαταραχές

ανάπτυξης του λόγου, διαταραχές συμπεριφοράς και νευροαισθητήρια βαρηκοΐα (Bluestone & Klein, 2003 · Paparella, 1991).

Η χρήση πειραματοζώων έχει κάνει εφικτή τη μελέτη της ΕΜΩ, αλλά και γενικότερα της φλεγμονής του βλεννογόνου του μέσου ωτός, δεδομένου ότι η κλινική μελέτη στον άνθρωπο θα ήταν σε κάποιες περιπτώσεις αδύνατη ή ασύμβατη με τους κανόνες της βιοηθικής.

Μία φλεγμονώδης διαδικασία ξεκινάει γενικά με χάλαση των λείων μυϊκών ινών με επακόλουθη αγγειοδιαστολή και αύξηση της αιματικής ροής. Καθώς η διαδικασία εξελίσσεται, παρατηρούνται μεταβολές στην αγγειακή διαπερατότητα και χημειοτακτική μετακίνηση φλεγμονωδών κυττάρων.

Η ισταμίνη θεωρείται ένας από τους κύριους προσχηματισμένους μεσολαβητές της φλεγμονής, αποθηκευμένη στα κοκκία των σιτευτικών κυττάρων. Φαίνεται ότι συμμετέχει στη δημιουργία και τη διατήρηση της φλεγμονώδους αντίδρασης που παρατηρείται στην ΕΜΩ. Μελέτες δείχνουν ότι πρόκειται μάλλον για τοπικό προϊόν του επιθηλίου του μέσου ωτός και όχι συστατικό διιδρώματος του πλάσματος (Esaki, 1991). Έχει αποδειχθεί ότι η απόφραξη του τυμπανικού στομίου της ευσταχιανής σάλπιγγας (ΕΣ) προκαλεί συλλογή υγρού με υψηλή συγκέντρωση ισταμίνης στον αττικό χώρο του μέσου ωτός αρουραίων. Στην ίδια μελέτη βρέθηκε ότι η ισταμίνη εκκρίνεται από σιτευτικά κύτταρα, που βρίσκονται στις υποεπιθηλιακές στιβάδες της χαλαράς μοίρας του τυμπανικού υμένα (Alm, 1982).

Οι Berger και συν. μελετώντας τη συγκέντρωση ισταμίνης στο υγρό του μέσου ωτός 96 ασθενών, ηλικίας από 1 έως 60 έτη, έδειξε ότι η ισταμίνη ήταν παρούσα σε όλους τους τύπους συλλογής υγρού (ορώδες, βλεννώδες, πυώδες) και κατέληξε στο συμπέρασμα ότι η ισταμίνη απελευθερώνεται από τα σιτευτικά κύτταρα, που βρίσκονται στην υποεπιθηλιακή στιβάδα του βλεννογονοπερισστέου του μέσου ωτός, ο αριθμός των οποίων αυξάνεται σημαντικά σε περιπτώσεις φλεγμονής. Στην ίδια μελέτη παρατηρήθηκε ότι δεν υπήρχε σημαντική διαφορά στη συγκέντρωση ισταμίνης στο υγρό του μέσου ωτός ανάμεσα σε ατοπικούς και μη ατοπικούς ασθενείς, καταλήγοντας στο συμπέρασμα ότι η αντίδραση υπερευαισθησίας τύπου I (μέσω IgE) δεν είναι η

μόνη φλεγμονώδης αντίδραση απελευθέρωσης ισταμίνης (Berger, 1984). Η απελευθέρωση της ισταμίνης ως αποτέλεσμα της αντίδρασης του αντιγόνου και της ανοσοσφαιρίνης IgE στην επιφάνεια των σιτευτικών κυττάρων, παίζει σημαντικό ρόλο στην αντίδραση άμεσης υπερευαισθησίας και γενικότερα στις αλλεργικές απαντήσεις. Η προκαλούμενη αγγειοδιαστολή σχετίζεται τόσο με τους H₁, όσο και με τους H₂ υποδοχείς ισταμίνης. Οι H₁ υποδοχείς εμφανίζουν μεγαλύτερη συγγένεια για την ισταμίνη και η δράση μέσω αυτών οδηγεί σε αγγειοδιαστολή, που είναι πιο άμεση και μικρότερης διάρκειας από ότι συμβαίνει μέσω των H₂ υποδοχέων (Brown, 2001) .

Στη μελέτη που διενεργήθηκε χρησιμοποιήθηκαν υγιή κουνέλια παρόμοιου βάρους στα οποία προκλήθηκε in vivo φλεγμονή του βλεννογόνου του μέσου ωτός με ενδοτυμπανική έγχυση ισταμίνης, αφού είχε προηγηθεί «προετοιμασία» με διάφορες αντιφλεγμονώδεις ουσίες, οι οποίες χορηγήθηκαν είτε συστηματικά είτε τοπικά.

Από τη σύγκριση της ενδοτυμπανικής και ενδομυϊκής χορήγησης dexamethasone, επί τρεις ημέρες πριν την πρόκληση φλεγμονής, βρέθηκε ότι πολύ μικρότερης έντασης ήταν η φλεγμονή μετά την ενδοτυμπανική χορήγηση του στεροειδούς. Μάλιστα, η στατιστική ανάλυση έδειξε ότι σε όλες τις παραμέτρους, εκτός της ίνωσης (δηλαδή: οίδημα, αγγειοδιαστολή και αγγειακή υπεραϊμία, φλεγμονή, στοιχεία οξείας φλεγμονής, ηωσινόφιλα και διήθηση του επιθηλίου από φλεγμονώδη κύτταρα), οι διαφορές μεταξύ των δύο ομάδων ήταν στατιστικά πάρα πολύ σημαντικές ($p < 0.001$).

Η τοπική χορήγηση θεραπευτικών σκευασμάτων έχει αποδειχθεί σε συγκεκριμένες τοπικές φλεγμονές ιδιαίτερα αποτελεσματική. Σαν παραδείγματα μπορούν να αναφερθούν η εξωτερική ωτίτιδα (γενικευμένη ή εντοπισμένη), η ωτομύκωση, η χρόνια μέση ωτίτιδα με ωτόρροια όπου η τοπική αγωγή μόνη ή σε συνδυασμό με συστηματική αγωγή θεωρείται αναγκαία. Η ενδοτυμπανική χορήγηση κορτικοστεροειδών αναφέρεται ευρέως στη θεραπεία της νόσου Ménière με ανθιστάμενο ίλιγγο, υπάρχουν όμως κλινικές μελέτες εφαρμογής σε αυτοάνοση νόσο του έσω ωτός, αιφνίδια πτώση ακοής και εμβοές. Από τη παρούσα μελέτη φαίνεται ότι η

ενδοτυμπανική χορήγηση dexamethasone είναι ιδιαίτερα αποτελεσματική και στην αντιμετώπιση φλεγμονώδους αντίδρασης στο μέσο ους.

Από τη σύγκριση της δράσης των H₁ ανταγωνιστών βρέθηκαν καλύτερα αποτελέσματα με την ενδομυϊκή χορήγηση hydroxyzine hydrochloride, ενώ η σύγκριση της από του στόματος χορήγησης levocetirizine και desloratadine έδειξε ότι η στατιστική διαφορά των αποτελεσμάτων ήταν σημαντική ($p < 0.05$) και για τις επτά παραμέτρους που μελετήθηκαν με υπεροχή της ομάδας των πειραματοζών που έλαβε levocetirizine. Τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης δείχνουν την ισχυρή δράση των παλαιότερων H₁ ανταγωνιστών έναντι των δράσεων της ισταμίνης, τα οποία όμως, λόγω της επίδρασής τους στο κεντρικό νευρικό σύστημα, έχουν ουσιαστικά εγκαταλειφθεί στη θεραπεία αλλεργικών νοσημάτων. Φαίνεται ότι νεότερα ασφαλή σκευάσματα με εύκολο δοσολογικό σχήμα, όπως η levocetirizine, έχουν ικανοποιητική δράση στο έλεγχο της αλλεργικής φλεγμονής. Επιπλέον, πρέπει να σημειωθεί ότι σε κλινικές μελέτες που αφορούν τον έλεγχο πομφού και ερυθήματος που προκαλείται στο δέρμα μετά από πρόκληση ισταμίνης ορισμένοι H₁ ανταγωνιστές, όπως η cetirizine, είναι πιο αποτελεσματικοί από άλλους όπως η loratadine ή η terfenadine (Monroe E, 1997).

Ιδιαίτερα ενδιαφέροντα ήταν τα αποτελέσματα της σύγκρισης της δράσης της ενδομυϊκής χορήγησης dexamethasone και από του στόματος χορήγησης levocetirizine+ modelukast sodium. Από τη στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων της ημι-ποσοτικής κλίμακας βρέθηκε ότι όλες οι παράμετροι που μελετήθηκαν [εκτός της ίνωσης ($p = 0.16$)] είχαν σημαντική στατιστική διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων ($p < 0.05$) με υπεροχή της ομάδας που έλαβε levocetirizine+ modelukast sodium. Είναι γνωστό ότι το αραχιδονικό οξύ και οι μεταβολίτες του σχηματίζονται σε όλους τους ιστούς. Ο χρόνος ημίσειας ζωής τους είναι μικρός και έτσι ασκούν τη δράση τους στις περιοχές όπου συντίθενται. Σε περιπτώσεις φλεγμονής, η κύρια δράση των προϊόντων της κυκλοξυγενάσης είναι η αγγειοδιαστολή και η αύξηση της αγγειακής διαπερατότητας. Τα προϊόντα της οδού της λιποξυγενάσης επίσης θεωρούνται ουσίες που μπορούν προκαλέσουν μεταβολές στην αγγειακή διαπερατότητα. Τόσο σε ανθρώπους όσο και σε πειραματόζωα (τσιντσιλά)

έχουν ανιχνευθεί προσταγλανδίνες στο υγρό ΕΜΩ και έχει βρεθεί κυκλοξυγενάση στον βλεννογόνο του μέσου ωτός (Jung, 1983). Φαίνεται λοιπόν, ότι το αραχιδονικό οξύ και οι μεταβολίτες του παίζουν κάποιο ρόλο στην παθογένεια της ΕΜΩ και μάλιστα έχει βρεθεί ότι σε οξείες μορφές οι LTC₄ και PGE₂ είναι οι ουσίες που προεξάρχουν, ενώ η παρουσία 6-keto PGF_{1α} αποτελεί δείκτη χρονιότητας (Goldie, 1993). Η συγχορήγηση λοιπόν ενός αντιϊσταμινικού νεότερης γενιάς με έναν αναστολέα των λευκοτριενών επιδρά μέσω δύο οδών στην προκαλούμενη φλεγμονή: ανταγωνίζεται τους H₁ υποδοχείς ισταμίνης και αναστέλλει τη δράση των προϊόντων της οδού της λιποξυγενάσης.

Η ενδοτυμπανική χορήγηση ranitidine στην 4^η μελέτη δεν φάνηκε να έχει σημαντικό αποτέλεσμα στην προκληθείσα in vivo φλεγμονή με ισταμίνη. Η ιστολογική εξέταση των παρασκευασμάτων του βλεννογόνου του μέσου ωτός έδειξε σοβαρού βαθμού φλεγμονή με έντονο οίδημα χορίου και πυκνές φλεγμονώδεις διηθήσεις κυρίως από ηωσινόφιλα πολυμορφοπύρρηνα και αρκετά λεμφοκύτταρα και μονοπύρρηνα. Όπως έχει προαναφερθεί στο γενικό μέρος, οι H₂ υποδοχείς ανευρίσκονται σε πολλούς ιστούς, συμπεριλαμβανομένων των αγγείων και των λείων μυϊκών ινών των βρόγχων, αλλά φαίνεται ότι οι H₂ ανταγωνιστές σχετίζονται ελάχιστα με φυσιολογικές λειτουργίες άλλες, εκτός της γαστρικής έκκρισης (Brunton, 1996). Μελέτη in vivo μοντέλου φλεγμονής του βλεννογόνου μέσου ωτός τσιντσιλά, με χρήση ισταμίνης ενδοτυμπανικά και μαγνητικής τομογραφίας, έδειξε ότι η προετοιμασία με ρανιτιδίνη δεν ανέστειλε την αγγειοδιασταλτική δράση της ισταμίνης στα 40 λεπτά από την πρόκληση της φλεγμονής (Chan, 1994). Η ισταμίνη έχει βρεθεί ότι επιδρά στα πολυμορφοπύρρηνα λευκοκύτταρα μέσω των H₂ υποδοχέων (χημειοταξία ουδετερόφιλων, κυτταρική πρόσφυση και απελευθέρωση λυσοσωμικών ενζύμων), ενώ υπάρχουν μελέτες που δείχνουν ότι υπάρχει πιθανότητα η εκκρινόμενη από τα βασεόφιλα ισταμίνη να επιδρά στους επιφανειακούς H₂ υποδοχείς και να ελαττώνει την έκκριση της IL-4, εφόσον η κυτταρική πυκνότητα των βασεόφιλων είναι σημαντική (McGlashan, 2003). Επομένως η χρήση ανταγωνιστών των H₂ υποδοχέων είναι πιθανό όχι μόνο να μη βοηθάει στην αντιμετώπιση αλλεργικών καταστάσεων αλλά και να μειώνει την ανασταλτική επίδραση της ισταμίνης επί της έκκρισης της IL-4. Η

δράση τους στην αγγειοδιαστολή φαίνεται ότι είναι μία όψιμη επίδραση σε σύγκριση με εκείνη των H_1 (Babe, 1996).

Η ενδοτυμπανική χορήγηση μη στεροειδούς αντιφλεγμονώδους (NSAIDS) φαρμάκου και συγκεκριμένα *rioxicam* (πιροξικάμης) στην 4^η πειραματική μελέτη, εμφάνισε σημαντικά καλύτερα αποτελέσματα σε σχέση με την ενδοτυμπανική χορήγηση H_2 ανταγωνιστή. Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων έδειξε πάρα πολύ σημαντικές στατιστικές διαφορές ($p < 0.001$) για τις παραμέτρους: φλεγμονή, αριθμό ηωσινοφίλων και ενεργότητα φλεγμονής, υπέρ της ομάδας που έλαβε την πιροξικάμη. Σημαντική ήταν η διαφορά για το οίδημα, την διάταση των αγγείων και τα στοιχεία οξείας φλεγμονής ($p < 0.01$), ενώ για την ίνωση δεν υπήρχε σημαντική στατιστική διαφορά ($p = 0,501$). Είναι γνωστή η τοπική χρήση των NSAIDS κυρίως στην οφθαλμολογία όπου χρησιμοποιούνται για την αντιμετώπιση μετεγχειρητικών φλεγμονών, οιδήματος ωχράς κηλίδος και αλλεργικής επιπεφυκίτιδας (Gaynes, 2002). Τα αποτελέσματα της μελέτης υποστηρίζουν την τοπική χρήση των NSAIDS στις φλεγμονώδεις παθήσεις του μέσου ωτός, όπου εμφανίζουν αντιφλεγμονώδη δράση αναστέλλοντας τη δράση των προϊόντων της οδού της κυκλοξυγενάσης, ενώ επιπλέον αποφεύγονται οι ανεπιθύμητες ενέργειες από τη συστηματική χορήγησή τους.

Η κλινική σημασία της μελέτης έγκειται στην πιθανή αλλαγή της θεραπευτικής κατεύθυνσης σε περιπτώσεις ανθεκτικών ΕΜΩ αλλεργικής αιτιολογίας. Φαίνεται ότι σε αυτές τις περιπτώσεις οι σωληνίσκοι αερισμού δεν βοηθούν ιδιαίτερα, αφού δρουν μόνο μηχανικά και μετά την απομάκρυνσή τους εμφανίζεται συνηθέστατα υποτροπή. Με τον κατάλληλο έλεγχο των ασθενών και τη σωστή διάγνωση των ατοπικών, είναι πιθανή η εισαγωγή μιας σύνθετης αγωγής, που να περιλαμβάνει εκτός των χειρουργικών παρεμβάσεων, συστηματική ή τοπική χορήγηση φαρμακευτικών ουσιών.

Μία δεύτερη ενδιαφέρουσα πιθανή εφαρμογή είναι η προετοιμασία του βλεννογόνου σε περιπτώσεις επεμβάσεων του μέσου ωτός (πχ αναβολοτομή, αποκατάσταση τυμπανο-οσταριώδους συστήματος), με ουσίες, που δρουν ανασταλτικά στους παράγοντες της φλεγμονής, με στόχο την ελαχιστοποίηση

των αντιδράσεων και των πιθανών απορρίψεων των μοσχευμάτων που χρησιμοποιούνται.

Η μελέτη, που διεξήχθη, αφορούσε την οξεία φάση της φλεγμονής στο βλεννογόνο του μέσου ωτός κουνελιών. Παρά το ότι η ισταμίνη είναι ένας σημαντικός μεσολαβητής των αλλεργικών αντιδράσεων, τα γεγονότα που ακολουθούν είναι ιδιαίτερα περίπλοκα περιλαμβάνοντας κύτταρα, νευρικές απολήξεις, αγγεία και ποικιλία φλεγμονωδών μεσολαβητών. Η αντίδραση οξείας φάσης πυροδοτείται από την σύνδεση του αντιγόνου στην IgE στην επιφάνεια των σιτευτικών κυττάρων ή των βασεοφίλων κυττάρων. Ακολουθεί μία αλυσιδωτή απελευθέρωση φλεγμονωδών μεσολαβητών, οι οποίοι είναι υπεύθυνοι για την έναρξη της αντίδρασης όψιμης φάσης. Η οξεία φάση διαρκεί από λεπτά έως μία ώρα, ενώ η όψιμη αντίδραση εμφανίζεται σε διάστημα πάνω από μία ώρα από την αλληλεπίδραση αντιγόνου- IgE και διαρκεί από 6 έως 48 ώρες. Το βασικό κυτταρικό συστατικό της οξείας φάσης είναι το σιτευτικό κύτταρο, ενώ στην όψιμη φάση η απελευθέρωση των κυτταροκινών ενισχύει τη δράση των βασεοφίλων και ηωσινοφίλων (Mongro, 1997).

Θα ήταν χρήσιμα τα συμπεράσματα από ανάλογη μελέτη της όψιμης φάσης καθώς και της μακρόχρονης επίδρασης ουσιών στο βλεννογόνο του μέσου ωτός για τη θεραπεία της αλλεργικής φλεγμονής. Έχει μελετηθεί και έχει διαπιστωθεί η ασφάλεια της ενδοτυμπανικής χορήγησης των κορτικοστεροειδών, αφού ήδη χρησιμοποιούνται ευρέως για νοσήματα του έσω ωτός. Έτσι μία επιπλέον παράμετρος, που θα πρέπει να μελετηθεί, είναι η ασφάλεια των ουσιών που θα επιλεγούν για ενδοτυμπανική χορήγηση όσον αφορά το έσω ους.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Οι πολυάριθμες κλινικές και πειραματικές μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί για την ΕΜΩ, έχουν οδηγήσει στο συμπέρασμα, ότι η αλλεργία αποτελεί ένα σημαντικό προδιαθεσικό παράγοντα για τις χρόνιες-ανθιστάμενες μορφές της ΕΜΩ.

Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν να διερευνηθεί η δράση διαφορετικών αντιφλεγμονωδών φαρμάκων σε πειραματικό μοντέλο φλεγμονής του μέσου ωτός κουνελιών. Οι φαρμακευτικές ουσίες δίνονταν ως προετοιμασία, είτε συστηματικά είτε ενδοτυμπανικά, ενώ η φλεγμονή προκαλούνταν *in vivo* με ενδοτυμπανική έγχυση ισταμίνης.

Από τα αποτελέσματα της μελέτης βρέθηκε ότι υπάρχουν ουσίες με πολύ ισχυρή αντιισταμινική/ αντιφλεγμονώδη δράση, η χρήση των οποίων αναστέλλει τις τοπικές παθοφυσιολογικές επιδράσεις της ισταμίνης στο μέσο ους. Από τις ουσίες που χρησιμοποιήθηκαν, την καλύτερη αντιισταμινική/ αντιφλεγμονώδη δράση εμφάνισαν οι ακόλουθες: dexamethasone (ενδοτυμπανική έγχυση), hydroxyzine hydrochloride (ενδομυϊκή χορήγηση), levocetirizine (από του στόματος χορήγηση) και piroxicam (ενδοτυμπανική έγχυση).

Επιπλέον, πολύ καλά αποτελέσματα στον έλεγχο της φλεγμονής, είχε η προσθήκη ενός αναστολέα των λευκοτριενίων (mometasone sodium) στη levocetirizine, εκφράζοντας διπλή αντιφλεγμονώδη/ αντιαλλεργική δράση μέσω α) ανταγωνισμού των H₁ υποδοχέων και β) αναστολής των προϊόντων της οδού της κυκλοξυγενάσης.

Ένα ενδιαφέρον συμπέρασμα που επιβεβαιώνεται και από άλλες πειραματικές μελέτες, είναι ότι η χορήγηση ενός H₂ ανταγωνιστή (ranitidine) δεν είχε σημαντική επίδραση στην αναστολή της προκαλούμενης από την ισταμίνη φλεγμονής.

Το μέσο ους θεωρείται θέση «στόχος» των αλλεργικών αντιδράσεων του ανώτερου αναπνευστικού συστήματος, όπως και ο ρινικός βλεννογόμος, οι

αδενοειδείς εκβλαστήσεις και η ευσταχιανή σάλπιγγα. Λόγω των γνωστών επιπλοκών της παραμελημένης ΕΜΩ είναι ιδιαίτερα σημαντικό να δημιουργηθούν νέες θεραπευτικές στρατηγικές, οι οποίες να στοχεύουν στην άρση του αιτίου ή στην αντιμετώπιση της χρόνιας τοπικής φλεγμονής. Σε κάθε επίμονη μορφή ΕΜΩ, τόσο σε παιδιά όσο και σε ενήλικες, θεωρείται αναγκαίος ο έλεγχος για πιθανή αλλεργική νόσο του ανώτερου αναπνευστικού.

Η ενδοτυμπανική έγχυση συγκεκριμένων φαρμακευτικών ουσιών θεωρείται ασφαλής θεραπευτική μέθοδος για νοσήματα του έσω ωτός. Θα ήταν ιδιαίτερα χρήσιμη η διεύρυνση των ενδείξεων της μεθόδου για φλεγμονώδη νοσήματα του μέσου ωτός. Με αυτόν τον τρόπο, η ενδοτυμπανική έγχυση αντιφλεγμονωδών ουσιών, μόνη ή σε συνδυασμό με την τοποθέτηση σωληνίσκων αερισμού, μπορεί να αποτελέσει μία νέα θεραπευτική προσέγγιση των επίμονων μορφών ΕΜΩ αλλεργικής αιτιολογίας. Επιπλέον, η μέθοδος αυτή, αλλά και η συστηματική χορήγηση των κατάλληλων αντιφλεγμονωδών φαρμάκων, μπορεί να φανεί χρήσιμη στην προεγχειρητική προετοιμασία ασθενών, που πρόκειται να υποβληθούν σε ωτοχειρουργική επέμβαση και κυρίως σε επέμβαση τοποθέτησης διαφόρων ειδών μοσχευμάτων.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός: Η αξιολόγηση της επίδρασης θεραπευτικών σχημάτων στο βλεννογόνο του μέσου ωτός σε in vivo μοντέλο φλεγμονής σε πειραματόζωα.

Μεθοδολογία: Στη μελέτη έλαβαν μέρος 170 υγιή κουνέλια βάρους από 1500 έως 1800 gr. Σε 10 πειραματόζωα (ομάδα ελέγχου) πραγματοποιήθηκε πρόκληση φλεγμονής μέσου ωτός με ενδοτυμπανική έγχυση διαλύματος ισταμίνης 0,5ml (20mg/ml). Πριν την ενδοτυμπανική έγχυση διαλύματος ισταμίνης προηγήθηκε επί τρεις ημέρες αντιφλεγμονώδης αγωγή τοπικά ή συστηματικά. Έγιναν οι ακόλουθες πειραματικές μελέτες: 1) σύγκριση ομάδας Α (N=20): ενδομυϊκή ένεση φωσφορικής δεξαμεθαζόνης σε δόση 1mg/kg και ομάδας Β (N=20): ενδοτυμπανική έγχυση 0,3 ml διαλύματος φωσφορικής δεξαμεθαζόνης στο δεξί ουσ, 2α) σύγκριση ομάδας Γ (N=20): ενδομυϊκή χορήγηση 0,1 ml υδροχλωρικής υδροξυζίνης (100mg/2ml) και ομάδας Ε (N=20): per os χορήγηση 1.25 mg δεσλοραταδίνης, 2β) σύγκριση ομάδας Δ (N=20): per os χορήγηση 1.25 mg λεβοσετιριζίνης και ομάδας Ε, 3) σύγκριση ομάδας ΣΤ (N=20): per os χορήγηση 1.25 mg λεβοσετιριζίνης + 1mg modelukast sodium και ομάδας Α, 4) σύγκριση ομάδας Ζ (N=20): ενδοτυμπανική έγχυση 0,3 ml (25mg/ml) υδροχλωρικής ρανιτιδίνης και ομάδας Η (N=20): έγχυση 0,3 ml (διάλυμα 20mg/ml) πιροξικάμης. Τριάντα λεπτά μετά την ενδοτυμπανική έγχυση ισταμίνης πραγματοποιούνταν λήψη του βλεννογόνου του μέσου ωτός για ιστολογική εκτίμηση. Εξετάζονταν οι εξής παράμετροι: οίδημα, αγγειακή διάταση και υπεραϊμία, φλεγμονή, παρουσία συστατικών οξείας φλεγμονής, παρουσία ηωσινοφίλων, φλεγμονώδης ενεργότητα και ίνωση. Τα αποτελέσματα συγκρίθηκαν χρησιμοποιώντας μία ημι-ποσοτική κλίμακα από το 0 έως το 3 και το μη-παραμετρικό Mann-Whitney U test.

Αποτελέσματα: 1) Πάρα πολύ σημαντική στατιστική διαφορά ($p < 0.001$), εκτός από την ίνωση, υπέρ της ομάδας Β. 2α) Πολύ σημαντική στατιστική διαφορά υπέρ της ομάδας Γ ($p < 0.01$). 2β) Η στατιστική διαφορά των αποτελεσμάτων των ομάδων Δ και Ε ήταν σημαντική ($p < 0.05$) υπέρ της ομάδας Δ. 3) Σημαντική στατιστική διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων ($p < 0.05$) με υπεροχή της ομάδας ΣΤ. 4) Πάρα πολύ σημαντικές στατιστικές διαφορές ($p < 0.001$) υπέρ της ομάδας Η βρέθηκαν για τα: οίδημα, διάταση των αγγείων, αριθμό ηωσινοφίλων.

Συμπεράσματα: Από τις ουσίες που χρησιμοποιήθηκαν, την καλύτερη δράση έναντι των επιδράσεων ισταμίνης στην οξεία φάση φλεγμονής, εμφάνισαν οι ακόλουθες: δεξαμεθαζόνη (ενδοτυμπανικά), υδροχλωρική υδροξυζίνη (ενδομυϊκά), λεβοσετιριζίνη + modelukast (per os) και πιροξικάμη (ενδοτυμπανικά).

ABSTRACT

Objective: Assessment of drug effect in a vivo experimental animal model of middle ear mucosal inflammation.

Methods: One hundred seventy healthy rabbits weighting 1500-1800 gr were randomly divided in nine groups. In 10 animals (control group) 0.5 ml of a 20mg/ml histamine solution was injected transtympanically on the right. In the rest histamine challenge followed a three day pretreatment with antiinflammatory drugs. The following experimental studies were performed: 1) comparison of group A (N=20): 1mg/kg per day dexamethasone im, and group B (N=20): 0.3 ml dexamethasone (1.2 mg) transtympanically on the right, 2a) comparison of group C (N=20): 0,1 ml hydroxyzine hydrochloride (100mg/2ml) im, and group E (N=20): 1.25 mg desloratadine per os, 2b) comparison of group D (N=20): 1.25 mg levocetirizine per os and group E, 3) comparison of group F (N=20): 1.25 mg levocetirizine + 1mg modelukast sodium per os and group A, 4) comparison of group G N=20): 0,3 ml ranitidine hydrochloride (25mg/ml) transtympanically on the right and group H (N=20): 0,3 ml piroxicam (20mg/ml) on the right. Middle ear mucosa was obtained for histopathology 30 minutes after histamine administration. The following parameters were assessed: inflammation, acute inflammatory component, presence of eosinophils, activity of the inflammation and fibrosis. A semi-quantitative grading of zero to three was used to quantify all parameters. Statistical analysis was performed with the non-parametric Mann-Whitney test.

Results: 1) All differences (except fibrosis) were found to be statistically highly significant ($p < 0.001$) for group B. 2a) All differences were found to be statistically very significant ($p < 0.01$) for group C. 2b) All differences were found to be statistical significant ($p < 0.05$) for group D. 3) All differences (except fibrosis) were found to be statistically significant ($p < 0.05$) for group F. 4) Group H showed statistically highly significant differences for the parameters: edema, vascular dilation and eosinophils.

Conclusions: The best antiinflammatory action against histamine's effects on middle ear mucosa was presented with dexamethasone (transtympanically), hydroxyzine hydrochloride (im), levocetirizine+ modelukast (per os) and piroxicam (transtympanically).

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

Ελεύθερες ή αναρτημένες ανακοινώσεις σε διεθνή συνέδρια

- Chimona Th., Panayiotides J., Papadakis Ch., Panagiotaki E., Helidonis E., Velegrakis G. The effect of transtympanic and intramuscular administration of antiinflammatory agents in a middle ear experimental inflammatory model. Preliminary report. 5th European Congress of Oto-Rhino-Laryngology Head and Neck Surgery. September 11-16, 2004, Rhodes- Greece.
- Chimona Theognosia, Papadakis Chariton, Panayiotides John, Panagiotaki Irene, Helidonis Emmanuel, Velegrakis George. The effect of transtympanic and intramuscular administration of antiinflammatory agents in a middle ear experimental inflammatory model. POSTER XVIII IFOS World Congress. Rome, 25-30 June 2005. (Auditorium Parco della Musica).
- Chimona Theognosia, Panayiotides John, Papadakis Chariton, Emmanuel Helidonis, Velegrakis George. Transtympanic versus intramuscular steroid administration in a histamine-induced inflammatory middle ear model. POSTER XXXV Meeting EHRS (European histamine research society). 10-13 May 2006. Delphi/ Greece.

Δημοσίευση

Αποδοχή εργασίας με τίτλο: «TRANSTYMPANIC VERSUS INTRAMUSCULAR STEROID ADMINISTRATION IN HISTAMINE-INDUCED INFLAMMATORY MIDDLE EAR MODEL» από το περιοδικό Journal of Laryngology & Otology, 7 Σεπτεμβρίου 2006.

Transtympanic versus intramuscular steroid administration in a histamine-induced inflammatory middle-ear model

T S CHIMONA, J G PANAYIOTIDES*, C E PAPADAKIS, E S HELIDONIS, G A VELEGRAKIS

Abstract

Objectives: Assessment of the histopathologic effect of transtympanic and intramuscular administration of dexamethasone in an *in vivo* experimental animal model of middle-ear mucosal inflammation.

Methods: Fifty healthy rabbits weighting 1500–1800 g were randomly divided in three groups. In 10 animals (control group), 0.5 ml of a 20 mg/ml histamine solution was injected transtympanically. In 20 rabbits (group A), histamine challenge followed a three day intramuscular pretreatment with dexamethasone at 1 mg/kg per day. In 20 rabbits (group B), histamine challenge followed pretreatment with dexamethasone via a transtympanic route (0.3 ml, 1.2 mg dexamethasone). Middle-ear mucosa was obtained for histopathology 30 minutes after histamine administration. The following parameters were assessed: inflammation, acute inflammatory component, presence of eosinophils, inflammatory activity and fibrosis.

Results: Oedema, vascular dilatation and congestion, inflammation, the presence of an acute (polymorphonuclear) inflammatory component, the presence of eosinophils, and inflammatory activity were found to be of a lesser grade in the mucosae of group B. All differences were found to be statistically highly significant ($p < 0.01$) using the Mann–Whitney test.

Conclusion: Our findings validate the transtympanic route of dexamethasone administration in counteracting histamine effects.

Key words: Middle Ear; Mucous Membrane; Inflammation; Steroids; Animal Model

Introduction

Otitis media with effusion (OME) remains a common problem in the Western World, often necessitating surgical intervention. Animal studies allow observation of the effects of manipulation, which would otherwise not be possible or ethical in humans, since OME is a difficult disease to study clinically.¹

The inflammatory response starts with relaxation of smooth muscle cells, causing vasodilation and an increase in blood flow. As the process continues, alterations in vascular permeability, migration of phagocytic leukocytes and phagocytosis are observed.

Histamine is involved in the production and persistence of the inflammatory reaction observed in OME.² It appears to be a local product of the middle-ear lining rather than a transudate from plasma. Animal studies have shown that histamine is released from mast cells located in the subepithelial layers of the tympanic mucoperiosteum.³ Mast cells were reported to be present in the pars flaccida of the tympanic membrane as well as in the lamina propria of the middle-ear mucosa, and their

number seems to increase considerably in certain types of OME.⁴

The absence of any significant difference between the histamine levels in the effusions of allergic and non-allergic patients indicates that allergy is not the sole mechanism involved in histamine release.³ Findings from previous studies suggest the importance of local histamine challenge when assessing the effects of anti-inflammatory drugs.⁵ On the other hand, little has been done to assess the efficacy of corticosteroid or antihistamine therapy as prophylaxis during an upper respiratory infection or in allergic patients with inhalant allergies.⁵

The present study explored the histopathologic effect of two different routes of steroid administration, within an experimental, histamine-induced middle-ear inflammation.

Materials and methods

Fifty healthy rabbits weighting 1500–1800 g were enrolled in the study and housed in the animal

From the Department of Otolaryngology, University of Crete School of Medicine, Crete, and the *Department of Pathology, University of Athens Medical School (Attikon Hospital), Athens, Greece.

Presented in part at the Fifth European Congress of Oto-Rhino-Laryngology Head and Neck Surgery, 11–16 September 2004, Rhodes, Greece, and at the XVIII ?? World Congress, 25–30 June 2005, Rome, Italy.

Accepted for publication: 7 September 2006.

65 vivarium at the University of Crete School of Medi-
 66 cine. The project was approved by the animal care
 67 and use committee of the University of Crete
 68 School of Medicine. Food and water were provided
 69 ad libitum throughout the study. Before intervention,
 70 all ears were found to be normal upon otoscopic
 71 examination, and the external auditory canals were
 72 cleaned with alcohol. Otorrhoea developed in two
 73 ears during the experimental procedure, resulting in
 74 exclusion of these rabbits from the study.

75 Ten animals were used as a control group. After
 76 baseline otomicroscopy, these animals received
 77 0.5 ml histamine 20 mg/ml, injected transtympani-
 78 cally with a 25-gauge needle into the inferior-
 79 anterior quadrant of the tympanic membrane on
 80 the right. In the 20 rabbits comprising group A, a
 81 three day intramuscular pretreatment with dexa-
 82 methasone at 1 mg/kg per day was followed by
 83 histamine challenge. In the remaining 20 rabbits
 84 comprising group B, pretreatment with dexametha-
 85 sone via a transtympanic route (0.3 ml, 1.2 mg dexa-
 86 methasone) was followed by histamine challenge.
 87 Animals were comparable regarding age, sex and
 88 weight in all groups. All otoscopic examinations
 89 and transtympanic injections were performed
 90 under general anaesthesia using ketamine HCl
 91 (35 mg/kg intramuscularly) and xylazine (5 mg/kg
 92 intramuscularly), according to the methods rec-
 93 ommended by the Hellenic National Bioethics
 94 Commission for anaesthesia of common laboratory
 95 animals.

96 The animals were sacrificed 30 minutes after hista-
 97 mine administration, using intravenous sodium
 98 pentobarbital (90 mg/kg) through the left marginal
 99 ear vein. Middle-ear mucosa was removed by
 100 opening the middle-ear bulla with the use of a surgi-
 101 cal microscope. Tissue fragments were fixed in a buf-
 102 fered 10 per cent formol saline solution for 24 hours
 103 and then processed and embedded in paraffin blocks.
 104 Six consecutive, 3 µm thick sections were cut and
 105 stained with a standard haematoxylin and eosin
 106 procedure.

107 The following parameters were blindly assessed by
 108 the same pathologist:⁶ oedema, vascular dilatation
 109 and congestion, inflammation, acute inflammatory
 110 component (i.e. polymorphonuclear neutrophils),
 111 presence of eosinophils, inflammatory activity (i.e.
 112 infiltration of the epithelium by inflammatory
 113 cells), and fibrosis. For all parameters, the number
 114 of cells or the vessel area was assessed in five
 115 optical fields selected according to the random
 116 method described by Fleege *et al.*⁷ Assessment was
 117 performed using a 63 square grid at a ×400 total
 118 magnification (i.e. with a ×40 objective and a ×10
 119 eyepiece, and with a standard optical tube length
 120 of 160 mm).⁸ A semi-quantitative grading of zero
 121 to three was used to quantify all parameters.⁹ More-
 122 over, epithelial alterations (squamous metaplasia,
 123 tumours) and necrosis, as well as the presence of
 124 bone, were noted. All sections were reviewed
 125 blindly by the same pathologist.

126 Statistical testing was performed with the
 127 non-parametric Mann-Whitney test. A *p* value of
 128 <0.05 was considered significant.

Results and analysis

All ears had normal tympanic membranes before the
 intervention. Figure 1 shows normal rabbit
 middle-ear mucosa, with a single layer of squa-
 moid-cuboidal epithelium and scant lymphocytes
 and histiocytes in the lamina propria. The effect of
 histamine on middle-ear mucosa was observed in
 the control group (Figure 2); sections of middle-ear
 mucosa observed 30 minutes after transtympanic
 injection of histamine revealed dilated, hyperaemic
 vessels, many eosinophilic leukocytes and excessive
 stromal oedema. Table I shows the results reported
 by the pathologist, using a semi-quantitative
 grading system, for the seven parameters studied.

The mucosae from group B (transtympanic admin-
 istration of dexamethasone) (Figure 3) was com-
 pared with that from group A (systemic
 administration of dexamethasone) (Figure 4).
 Group B mucosae showed lower grades of the fol-
 lowing: oedema, vascular dilatation and congestion,
 inflammation, the presence of an acute (polymor-
 phonuclear) inflammatory component, the presence
 of eosinophils, and inflammatory activity. All differ-
 ences were found to be statistically highly significant
 (*p* < 0.01) using the Mann-Whitney test. Fibrosis
 was the only parameter for which no statistically sig-
 nificant difference was found between the two groups
 (*p* = 0.560) (Table II).

An unexpected finding was a squamous cell carci-
 noma of the middle-ear mucosa in one rabbit of
 group A.

Discussion

The reported incidence of allergy in children with
 otitis media with effusion (OME) varies, with the
 highest reported incidences ranging from 15 to
 35 per cent.^{10,11} The child with OME is usually
 (80–90 per cent) atopic, with primed eosinophils,
 mast cells and neutrophils which, for undetermined
 reasons, respond in a different manner from those
 of non-atopic individuals. Like any other allergic
 disease, OME in an atopic child will resolve only
 when the patient's atopy is identified and

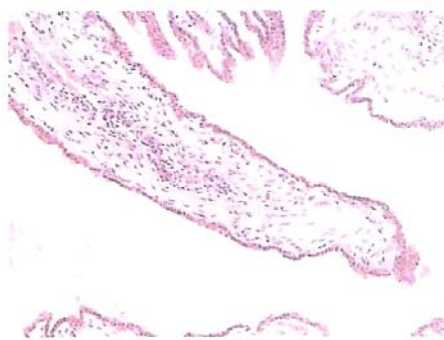


FIG. 1
 Normal middle-ear mucosa. (H&E: ×400)

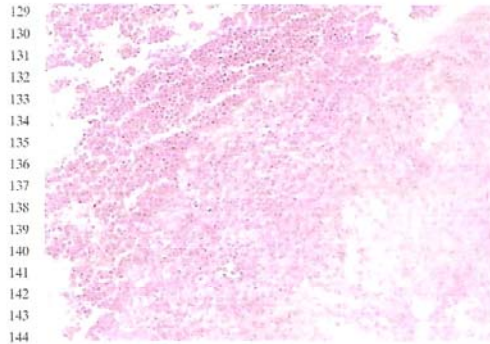


FIG. 2
Middle-ear mucosa after transtympanic administration of histamine, control group. (H&E; $\times 400$)

aggressively treated. On the other hand, allergy is not the only mechanism involved in histamine release.³ Q6

Rabbits are among the most frequently used animals in experimental models, as their maintenance, housing and reproduction are comparatively easy. Cases of human and rabbit OME have been reported commonly to share various airway features: effusion, goblet cell transformation, mucosal inflammation and bacterial colonisation.¹² The present study of middle-ear inflammation was based on ex vivo methodology. The inflammation model was designed with transtympanic administration of histamine solution. Q6

Histamine is a hydrophilic molecule comprising an imidazole ring and an amino group connected by two methylene groups. The pharmacologically active form at all histamine receptors is the monocationic N γ -H tautomer.¹³ Histamine is one of the preformed mediators stored in the mast cell. Its release

TABLE I
HISTOLOGICAL EFFECTS OF HISTAMINE ON RABBIT MIDDLE-EAR MUCOSA, GRADED FROM 0 TO 3*

Subject	Oedema	Vascular dilation	Inflammation	Acute inflammatory component	Eosinophils	Inflammatory activity	Fibrosis component
<i>Group A[†]</i>							
1	1	2	2	2	2	2	0
2	2	2	1	2	3	2	0
3	2	3	3	1	2	2	1
4	3	2	2	2	3	2	0
5	1	2	1	2	1	2	3
6	2	0	3	2	2	1	0
7	2	1	2	2	1	3	0
8	2	2	1	2	2	0	1
9	3	0	0	1	2	1	3
10	3	3	2	1	3	0	2
11	2	2	3	2	1	3	0
12	2	1	2	1	2	0	1
13	1	3	2	2	3	0	3
14	1	2	2	2	2	3	2
15	3	1	2	2	2	2	0
16	3	2	2	0	2	2	1
17	2	2	3	1	2	2	0
18	2	1	2	2	3	3	3
19	1	2	2	2	3	3	0
20	3	3	3	0	2	2	1
<i>Group B[‡]</i>							
21	1	1	0	0	1	0	0
22	0	0	0	0	0	0	0
23	0	1	0	0	0	0	0
24	0	0	1	0	1	1	2
25	1	2	0	1	0	1	2
26	0	0	1	1	0	1	0
27	0	1	0	1	1	2	2
28	1	0	1	0	0	0	0
29	0	1	0	0	0	0	2
30	0	0	0	1	2	0	0
31	0	1	1	0	0	1	1
32	0	0	0	1	2	1	0
33	1	2	1	0	0	0	0
34	2	0	0	1	1	1	0
35	0	2	0	1	0	0	3
36	0	1	0	1	2	1	3
37	1	0	0	0	0	1	0
38	0	1	1	0	1	0	0
39	1	0	1	1	0	2	1
40	0	1	0	1	0	0	1

*0 = normal middle-ear mucosa (no evidence of acute or chronic inflammation), and 3 = most intense effect (for each parameter).
[†]Group A (20 rabbits) = histamine challenge following 3 day intramuscular dexamethasone pre-treatment; [‡]group B (20 rabbits) = histamine challenge following transtympanic dexamethasone pretreatment. See text for explanation of parameters

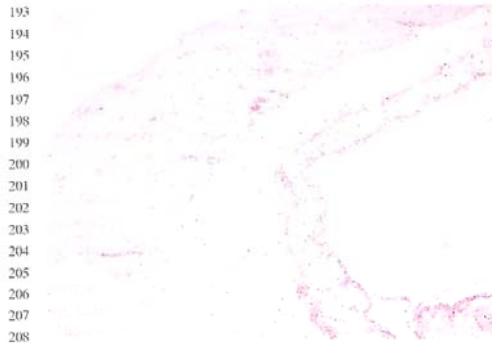


FIG. 3

Middle-ear mucosa after histamine challenge and pretreatment with transtympanic dexamethasone. A fragment of osseous tissue is seen on the left. (H&E; $\times 250$)

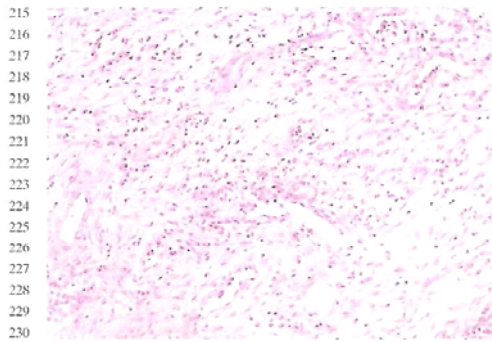


FIG. 4

Middle-ear mucosa after histamine challenge and pretreatment with systemic dexamethasone. (H&E; $\times 400$)

(as a result of interaction between antigen and immunoglobulin E antibodies on the mast cell surface) plays a central role in immediate hypersensitivity and allergic responses. Histamine causes dilation of the finer blood vessels and greater capillary permeability. Vasodilation involves both H1 and H2 receptors distributed throughout the resistance

vessels in most vascular beds. The H1 receptors have a higher affinity for histamine and mediate a dilator response that is relatively rapid in onset and short-lived. By contrast, activation of H2 receptors causes dilation that develops more slowly and is more sustained.¹³

It has been shown that histamine injection into the guinea pig middle-ear cavity produces dilation and endothelial disjunction in capillaries, leading to striking mucosal oedema and effusion, persisting for at least several hours.¹⁴ Increased capillary permeability results mainly from the actions of histamine on postcapillary venules; H1 receptors clearly are important in this response. Histamine causes the endothelial cells to contract and separate at their boundaries, thus exposing the basement membrane, which becomes freely permeable to plasma protein and fluid.¹³

Normal rabbit middle-ear mucosa is covered by a single layer of cuboidal epithelium, with scant lymphocytes and histiocytes in the lamina propria. Transtympanic administration of histamine caused histopathologic changes in the middle-ear mucosae of the control group (Figure 2). In order to determine the best administration route for anti-inflammatory agents (e.g. dexamethasone), the effect on histamine provocation was assessed.

Dexamethasone (9-fluoro-11 β ,17,21-trihydroxy-16 α -methylpregna-1,4-diene-3,20-dione) is a synthetic corticosteroid. Synthetic corticosteroids are primarily used for their potent anti-inflammatory effects on a variety of organ systems. They are metabolised primarily in the liver and are then excreted by the kidneys. Dexamethasone is a long-acting glucocorticoid with a 36- to 54-hour half-life. It is used therapeutically for endocrine disorders, rheumatic disorders, collagen and skin diseases, allergic states, ophthalmic diseases, respiratory diseases, neoplastic disorders, and oedema.¹⁵ However, the prolonged use of high-dose steroids is not innocuous. Their serious side effects include: diabetes mellitus, psychosis, glaucoma, osteoporosis, aseptic necrosis of femoral and humeral heads, peptic ulcers, menstrual irregularities, and development of a cushingoid state.¹⁵

Corticosteroids have been administered via the transtympanic route to treat inner-ear disorders (such as sudden idiopathic sensorineural hearing loss, autoimmune hearing loss and Ménière's disease), with the most common risks being pain, momentary vertigo, otitis media and tympanic membrane perforation.¹⁶

TABLE II

STATISTIC ANALYSIS OF HISTOLOGICAL PARAMETERS

Test	Oedema	Vascular dilatation	Inflammation	Acute inflammatory component	Eosinophils	Inflammatory activity	Fibrosis
Mann-Whitney U	24.500	74.000	24.000	55.000	33.000	81.000	180.000
Wilcoxon W	234.500	284.000	234.000	265.000	243.000	291.000	390.000
Z	-4.932	-3.558	-4.965	-4.166	-4.711	-3.357	-0.583
Asymp sig (2-tailed)	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.001	0.560
Exact sig [2*(1-tailed sig)]	0.000(a)	0.000(a)	0.000(a)	0.000(a)	0.000(a)	0.001(a)	0.602(a)
Asymp = ??; sig = ??							

257 Theoretically, the transtympanic route of corticosteroid administration has two main advantages.¹⁷
 258 Firstly, there is an immediate onset of action
 259 limited to the area of inflammation, thus reducing
 260 systemic steroid absorption and toxicity. Secondly,
 261 there does not seem to be any toxic effect on the
 262 inner ear. Shirwany *et al.* showed that transtympanic
 263 injection of dexamethasone increased cochlear blood
 264 flow and had no effects on auditory sensitivity or
 265 cochlear histology in a guinea pig model.¹⁷
 266 Anaesthesia and intratympanic injections were
 267 performed according to our institutional guidelines
 268 regarding animal experimentation. After specimen
 269 collection, preparation and standard haematoxylin
 270 and eosin staining, sections were assessed by the
 271 same pathologist in order to achieve uniformity of
 272 assessment.¹⁸ A semi-quantitative, zero to three
 273 scale was used to grade each of the inflammatory
 274 parameters assessed.⁶ Zero represented normal
 275 middle-ear mucosa, without any evidence of acute
 276 or chronic inflammation; three represented the
 277 most intense effect for each parameter.

- Rabbit middle-ear mucosa can be used as an ex vivo model for the study of otitis media with effusion (OME)
- Corticosteroids may be used against allergy-mediated OME, either by systemic or transtympanic administration
- Transtympanic dexamethasone administration seems to be more effective than systemic administration against histamine-induced OME in an ex vivo experimental model
- This study demonstrates the possible efficacy of transtympanic corticosteroid administration as a prophylactic treatment in allergic patients with persistent OME or in cases of immune-mediated OME

280
281
282
283
284
285
286
287
288
289
290
291
292
293
294
295
296
297
298
299
300
301
302
303
304
305
306
307
308
309
310
311
312
313
314
315
316
317
318
319
320

Based on Mann-Whitney statistical analysis, group B showed very significant statistical differences ($p < 0.01$) for all inflammatory parameters except fibrosis. Thus, our data validate the transtympanic route of dexamethasone administration in counteracting the inflammatory effects of histamine.

Future study will assess the use of other anti-inflammatory agents (e.g. methylprednisolone, ranitidine, piroxicam and loratadine), singly and in combination. We will aim to determine the optimal route of administration, and the most effective anti-inflammatory factors, for the treatment of allergy or immune-mediated otitis media with effusion.

References

1 Russell J, Giles S. Persistent otitis media with effusion: a new experimental model. *Laryngoscope* 1998;**108**:1181-4
 2 Esaki Y, Ohashi Y, Furuya H, Sugiura Y, Ohno Y, Okamoto H *et al.* Histamine-induced mucociliary

dysfunction and otitis media with effusion. *Acta Otolaryngol Suppl* 1991;**486**:116-34
 3 Berger G, Hawke M, Proops D, Ranadive N, Wong D. Histamine levels in middle ear effusions. *Acta Otolaryngol (Stockh)* 1984;**98**:385-90
 4 Stenfors L, Albiin N, Bloom G, Hellstrom S, Widemar L. Mast cells and middle ear effusion. *Am J Otolaryngol* 1985;**6**:217-19
 5 Chan K, Swarts J, Tan L. Middle ear mucosal inflammation: an in vivo model. *Laryngoscope* 1994;**104**:970-80
 6 Michaels L. Otitis media. In: ??, ed. *Ear, Nose and Throat Histopathology*. London: Springer Verlag, 1987:41-54
 7 Fleege J, van Diest P, Baak J. Reliability of quantitative pathological assessments, standards and quality control. In: Baak J, ed. *Manual of Quantitative Pathology in Cancer Diagnosis and Prognosis*. Berlin: Springer Verlag, 1991:151-81
 8 Nunn R, Rose A. Light microscopy. In: Bancroft J, Stevens A, eds. *Theory and Practice of Histological Techniques*, 3rd edn. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1990:1-20
 9 Aalto M, Collan Y. Periodic acid-Schiff (PAS) stain in serous tumours and clear cell carcinomas of the ovary. A morphometric study. In: Collan Y, ed. *Stereology and Morphometry in Pathology*. Kuopio: Kuopio University Press, 1984:193-7
 10 Hurst D. The allergic child: chronic sinusitis and otitis. In: Lim D, Bluestone C, eds. *Advances in Otolaryngology-Head and Neck Surgery*. Philadelphia: Mosby, 1999:229-47
 11 Papadakis H, Christodoulou P, Volitakis M, Helidonis E. Otitis media with effusion: allergic origin and management. *Acta Therapeutica* 1996;**22**:37-49
 12 Schousboe L, Rasmussen L, Ovesen T. Induction of mucin and adhesion molecules in middle ear mucosa. *Acta Otolaryngol* 2001;**121**:596-601
 13 Brown N, Roberts LJ. Histamine, bradykinin, and their antagonists. In: Hardman J, Limbird L, eds. *Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 10th edn. New York: McGraw-Hill, 2001:645-68
 14 Boisvert P, Wasserman S, Schiff M, Ryan A. Histamine-induced middle ear effusion and mucosal histopathology in the guinea pig. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1985;**94**:212-16
 15 Schimmer B, Parker K. Adrenocorticotropic hormone; adrenocortical steroids and their synthetic analogs; inhibitors of the synthesis and actions of adrenocortical hormones. In: Hardman JG, Limbird LE, eds. *Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 10th edn. New York: McGraw-Hill, 2001:1649-78
 16 Doyle K, Bauch C, Battista R, Beatty C, Hughes G, Mason J *et al.* Intratympanic steroid treatment: a review. *Otol Neurotol* 2004;**25**:1034-9
 17 Shirwany N, Seidman M, Tane W. Effects of transtympanic injection of steroids on cochlear blood flow, auditory sensitivity, and histology in the guinea pig. *Am J Otol* 1998;**19**:230-5
 18 Stevens A. The haematoxylin. In: Bancroft JD, Stevens A, eds. *Theory and Practice of Histological Techniques*, 3rd edn. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1990:107-18

Address for correspondence:

Dr T S Chimona,
 9 Iosif Vriga St,
 GR-73100 Chania,
 Crete, Greece.

E-mail: chimonath@yahoo.gr

Dr T S Chimona takes responsibility for the integrity of the content of the paper.

Competing interests: None declared

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Aalto M, Collan Y: Periodic acid-Schiff (PAS) stain in serous tumours and clear cell carcinomas of the ovary. A morphometric study. In: Collan Y (ed) Stereology and morphometry in pathology Kupio: Kupio University Press, 193-197, 1984.

Abbas A, Murphy K, Sher A: Functional diversity of helper T lymphocytes. Nature 383: 787-793, 1996.

Ackerman M, Friedman RA, Doyle WJ, et al: Antigen-induced eustachian tube obstruction: an intranasal provocative challenge test. J Allergy Clin Immunol 73: 604-609, 1984.

Aktan B, Gundogdu C, Ucuncu H, et al: Anti-inflammatory effect of erythromycin on histamine-induced otitis media with effusion in guinea pigs. J Laryngol Otol 118: 97-101, 2004.

Alm P, Bloom G, Hellström S, Salén B, Stenfors L: The release of histamine from the pars flaccida mast cells one cause of otitis media with effusion? Acta Otolaryngol (Stockh) 94: 517-522, 1982.

Alm P, Bloom G, Hellström S, Stenfors L, Widemar L: Middle ear effusion caused by mechanical stimulation of the external auditory canal. An experimental study in the rat. Acta Otolaryngol 96: 91-98, 1983.

American Veterinary Medical Association: 2000 Report of the AVMA Panel on Euthanasia. JAVMA 218: 669-696, 2001.

Babe K, Serafin W: Histamine, bradykinin and their antagonists. In: Goodman & Gilman's. The Pharmacological Basis of therapeutics. 9th ed. Mc Graw-Hill, 581-600, 1996.

Bancroft JD, Stevens A: Theory and practice of histological techniques, 3rd ed. Hurchill Livingstone ed, Edinburgh, 1990.

Baroody F, Naclerio R: Antiallergic effects of H1- receptor antagonists. Allergy 55: 17-27, 2000.

Berger G, Hawke M, Proops, Ranadive N, Wong D: Histamine levels in middle ear effusions. Acta Otolaryngol (Stockl) 98: 385-390, 1984.

Bernstein JM: Recent advances in immunological reactivity in otitis media with effusion. J Allergy Clin Immunol 81: 1004-1009, 1988.

Bernstein, JM: The role of IgE-mediated hypersensitivity in the development of otitis media with effusion. Otolaryngol Clin N Am 25: 197-211, 1992.

Bernstein JM: The role of IgE-mediated hypersensitivity in the development of otitis media with effusion: a review. *Otolaryngol Head Neck Surg* 109:611-620, 1993.

Bernstein JM: Allergic disease and the middle ear. In: Krouse J, Chadwick S, Cordon B, Derebery J. eds. *Allergy and immunology. An otolaryngic approach.* Philadelphia: Lippincott Williams& Wilkins, 192-200, 2002.

Bernstein JM, Doyle WJ: Role of IgE-mediated hypersensitivity in otitis media with effusion: pathophysiologic considerations. *Ann Otol Rhinol Laryngol Suppl* 163: 15-19, 1994.

Bernstein JM, Lee J, Conboy K, et al: Further observations on the role of IgE-mediated hypersensitivity in recurrent otitis media with effusion. *Otolaryngol Head Neck Surg* 93: 611-615, 1985.

Black J: Reflections on the analytical pharmacology of histamine H₂-receptor antagonists. *Gastroenterology* 105: 963-968, 1993.

Bluestone CD: Physiology of the middle ear and eustachian tube. In: Paparella, Shumrick, Gluckman, Meyerhoff (eds). *Otolaryngology*, vol I, Saunders, 163-197, 1991.

Bluestone C, Klein J: Otitis media and eustachian tube dysfunction. In: Bluestone CD, Stool SE, Alper CM, Arjmand EM, Casselbrant ML, Dohar JE, Yellon RF (eds). *Pediatric Otolaryngology*, 4th ed, vol I, Saunders, 474-685, 2003.

Brown N, Roberts LJ: Histamine, bradykinin, and their antagonists. In: Hardman J, Limbird L (eds). *Goodman & Gilman's The pharmacological basis of therapeutics.* 10th ed, New York: McGraw-Hill, 645-668, 2001.

Browning G: Pathology of inflammatory conditions of the external and middle ear, in: *Scott-Brown's Otolaryngology*, Vol. III, Butterworths, 53-87, 1987.

Brunton L: Agents for control of gastric acidity and treatment of peptic ulcers. In: *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of therapeutics.* 9th ed. Mc Graw-Hill, 901-915, 1996.

Campbell W, Halushka P: Lipid-derived autacoids. Eicosanoids and platelet-activating factor. In: *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of therapeutics.* 9th ed. Mc Graw-Hill, 1996.

Chan K, Swarts D, Tan L: Middle ear mucosal inflammation: an in vivo model. *Laryngoscope* 104: 970-980, 1994.

Chandrasekhar S, Rubinstein R, Kwartler J, et al: Dexamethasone pharmacokinetics in the inner ear: comparison of route of administration and use of facilitating agents. *Otolaryngol Head Neck Surg* 122: 521-528, 2000.

Chole RA: Acute and chronic infection of the temporal bone including otitis media with effusion. In: Cummings CW, Fredrickson JM, Harker LA, Kraus CJ, Schüller DE (eds). *Otolaryngology-Head and Neck Surgery*, vol. IV, Mosby, 2963-2988, 1986.

Cookson W, Young R, Sandford A, et al: Maternal inheritance of atopic IgE responsiveness on chromosome 11q. *Lancet* 340: 381-384, 1992.

Cutler J, Wall M, Labadie R: Effects of ototoxic steroid and NSAIDS in clearing middle ear effusion in an animal model. *Otolaryngol Head Neck Surg* 135:585-589, 2006.

Davidson J, Hyde M, Alberti P: Epidemiologic patterns in childhood hearing loss: a review. *Int J Ped Otorhinolaryngol* 17: 239-266, 1989.

Dodson K, Sismanis A: Intratympanic perfusion for the treatment of tinnitus. *Otolaryngol Clin North Am* 37: 991-1000, 2004.

Doyle K, Bauch C, Battista R, et al: Intratympanic steroid treatment: a review. *Otol Neurotol* 25: 1034-1039, 2004.

Doyle W, Friedman R, Fireman P, Bluestone C: Eustachian tube obstruction after provocative nasal antigen challenge. *Arch Otolaryngol* 110: 508-511, 1984.

Doyle W, Takahara T, Fireman P: The role of allergy in the pathogenesis of otitis media with effusion. *Arch Otolaryngol* 111: 502-506, 1985.

Doyle W, Tanner E, Skoner D, Fireman P: Middle ear response to nasal provocation in ascaris- sensitized cynomolgus monkeys. Recent advances in otitis media. Proceedings of the 5th international symposium. Florida, May 20-14, 1991.

Esaki Y, Ohashi Y, Furuya H, et al: Histamine-induced mucociliary dysfunction and otitis media with effusion. *Acta Otolaryngol Suppl* 486: 116-134, 1991.

Fleege J, van Diest P, Baak J: Reliability of quantitative pathological assessments, standards and quality control. In: Baak J (ed). *Manual of quantitative pathology in cancer diagnosis and prognosis*. Berlin: Springer Verlag, 151-181, 1991.

Florea A, Zwart J, Lee C et al: Effect of topical dexamethasone versus rimexolone on middle ear inflammation in experimental otitis media with effusion. *Acta Otolaryngol* 126: 910-915, 2006.

Galli. S: New concepts about the mast cell. *N Engl J Med* 328:257-265, 1993.

Gaynes B, Fiscella R: Topical nonsteroidal anti-inflammatory drugs for ophthalmic use: a safety review. *Drug Safety* 25: 233-250, 2002.

Goldie P, Hellström S, Idahl L: Middle ear effusion induced by various inflammatory mediators and neuropeptides. *Acta Otolaryngol* 108: 246-252, 1989.

Goldie P, Hellström S: middle ear effusion induced by a stream of air in the external auditory canal. A temperature-related phenomenon. *Acta Otolaryngol* 102: 248-256, 1986.

Goldie P, Jung T, Hellström S: Arachidonic acid metabolites in experimental otitis media and effects of anti-inflammatory drugs. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 102: 954-960, 1993.

Hadley J: Immunology of allergic upper respiratory disorders. In: Krouze J, Chadwick S, Gordon B, Derebery J. (eds). *Allergy and immunology. An otolaryngic approach*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 19-34, 2002.

Hardy S, Heavner S, White D, McQueen C, Prazma J, Pillsbury H: Late-phase allergy and eustachian tube dysfunction. *Otolaryngol Head Neck Surg* 125: 339-45, 2001.

Hillman T, Arriaga M, Chen D: Intratympanic steroids: do they acutely improve hearing in cases of cochlear hydrops? *Laryngoscope* 113: 1903–1907, 2003.

Holt PG: Immunoregulation of the allergic reaction in the respiratory tract. *Eur Respir J* 9: 85-89, 1996.

Hurst DS: Allergy management of refractory serous otitis media. *Otolaryngol Head Neck Surg* 102: 664-649, 1990.

Hurst DS, Venge P: Levels of eosinophil cationic protein and myeloperoxidase from chronic middle ear effusion in patients with allergy and/or acute infection. *Otolaryngol Head Neck Surg* 114: 531-544, 1996.

Insel P: Analgesic-antipyretic and antiinflammatory agents and drugs employed in the treatment of gout. In: Goodman & Gilman's *The Pharmacological Basis of therapeutics*. 9th ed. Mc Graw-Hill, 617-657, 1996.

Jackson L, Silverstein H: Chemical perfusion of the inner ear. *Otolaryngol Clin N Am* 35: 639-653, 2002.

Jeon E, Park Y, Choi Y, Yeo S, Jung T: Effect of inhibitor of tumor necrosis factor- alpha on experimental otitis media with effusion. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 110:917-921, 2001.

Juhn S, Tolan C, Antonelli P, Giebink G, Goycoolea M: The significance of experimental animal studies in otitis media. *Otolaryngol Clin North Am* 24: 813-827, 1991.

Jung T, Juhn S, Michael A: Localization of prostaglandin-forming cyclooxygenase in middle ear and external canal tissue. *Otolaryngol Head Neck Surg* 91: 187-192, 1983.

Kariyawasam H, Robinson D: The eosinophil: the cell and its weapons, the cytokines, its locations. *Semin Respir Crit Care Med* 27: 117-127, 2006.

Kubba H, Pearson J, Birchall J: The aetiology of otitis media with effusion: a review. *Clin Otolaryngol* 25: 181-194, 2000.

Kyrmizakis DE, Chimona TS, Kanoupakis EM, Papadakis CE, Velegrakis GA, Helidonis ES: QT prolongation and torsades de pointes associated with concurrent use of cisapride and erythromycin. *Am J Otolaryngol* 23: 303-307, 2002.

Labadie R, Jewett B, Hart C, Prazma J, Pillsbury H 3rd: Allergy increases susceptibility to otitis media with effusion in a rat model. Second place-- Resident Clinical Science Award 1998. *Otolaryngol Head Neck Surg* 121: 687-692, 1999.

Langermans J, Hazenbos W, van Furth R: Antimicrobial functions of mononuclear phagocytes. *J Immunol Methods* 174: 185-194, 1994.

Light J, Silverstein H: Transtympanic perfusion: indications and limitations. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg* 12: 378-383, 2004.

Litman G, Cannon J, Dishaw L: Reconstructing immune phylogeny: new perspectives. *Nat Rev Immunol* 5: 866-879, 2005.

McCurdy JA: Effects of nasal packing on Eustachian tube function. *Arch Otolaryngol* 103: 521-523, 1977.

McGlashan D: Histamine: a mediator of inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 112: S53-59, 2003.

- McHeyzer-Williams L, Malherbe L, McHeyzer-Williams M:** Helper T cell-regulated B cell immunity. *Curr Top Microbiol Immunol* 311: 59-83, 2006.
- Michaels L:** Otitis media. In: Michaels L. *Ear nose and throat histopathology*. London: Springer Verlag, 41-54, 1987.
- Miglets A:** The experimental production of allergic middle ear effusions. *Laryngoscope* 83: 1355-1384, 1973.
- Miyamoto N, Bakaletz LO:** Kinetics of the ascension of NTHi from the nasopharynx to the middle ear coincident with adenovirus-induced compromise in the chinchilla. *Microb Pathog* 23: 119-126, 1997.
- Mogi G, Suzuki M:** The role of IgE-mediated immunity in otitis media: a fact or fiction? *Ann NY Acad Sci* 830: 61-69, 1997.
- Monroe E, Daly A, Shalhoub R:** Appraisal of the validity of histamine-induced wheal and flare to predict the clinical efficacy of antihistamines. *J Allergy Clin Immunol* 99: S798-806, 1997.
- Mover-Lev H, Priner-Barenholtz R, Sadé J:** Quantitative analysis of gas losses and gains in the middle ear. *Respir Physiol* 114: 143-151, 1998.
- Mosmann TR, Coffman RL:** Th1 and Th2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. *Annu Rev Immunol* 7: 145-173, 1989.
- Μπαλατσούρας Δ., Καμπέρος Α:** Ανατομική κεφαλής και τραχήλου με στοιχεία εμβρυολογίας. Εκδόσεις Παρισιάνου Αθήνα, 2000.
- Nakamura H, Sakakihara J, Honjo I:** Experimental otitis media with mucoid effusion by combination of eustachian tube dysfunction and immunosuppression. Recent advances in otitis media. Proceedings of the 5th international symposium. Florida, May 20-14, 1991.
- Nell A, Grote J:** Efficacy of bactericidal/ permeability-increasing protein in experimental otitis media with effusion in rats: a new therapy for mucosal infections. *J Lab Clin Med* 137:303-309, 2001.
- Oda T, Morikawa N, Saito Y, Masuho Y:** Molecular cloning and characterization of a novel type of histamine receptor preferentially expressed in leukocytes. *J Biol Chem* 275: 36781-36786, 2000.
- Paparella MM, Jung TT, Goycoolea MV:** Otitis media with effusion. In: Paparella, Shumrick, Gluckman, Meyerhoff (eds): *Otolaryngology, Vol II*, 1317-42, Saunders, 1991.

Parnes L, Sun A, Freeman D: Corticosteroid pharmacokinetics in the inner ear fluids: an animal study followed- up by clinical application. *Laryngoscope* 109 (Suppl): 1-17, 1999.

Reichlin S : Neuroendocrine-immune interactions. *N Engl J Med* 329: 1246-1253, 1993.

Rich R, Fleisher T, Schwartz B, et al: *Clinical immunology: principles and practice.* St Louis, Mosby, 1996.

Rose A, Prazma J, Randell S, et al: Nitric oxide mediates mucin secretion in endotoxin-induced otitis media with effusion. *Otolaryngol Head Neck Surg* 116: 308-316, 1997.

Rus H, Cudrici C, Niculescu F: The role of the complement system in innate immunity. *Immunol Res* 33: 103-112, 2005.

Russell J, Giles S: Persistent otitis media with effusion: a new experimental model. *Laryngoscope* 108: 1181-1184, 1998.

Ryan A, Catanzaro A, Wasserman S, Harris J: Secondary immune response in the middle ear: immunological morphological and physiological observations. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 95: 242-249, 1986a.

Ryan A, Catanzaro A, Wasserman S, Harris J, Vogel C: The effect of complement depletion on immunologically mediated middle ear effusion and inflammation. *Clin Immunol Immunopathol* 40: 410-421, 1986b.

Sadé J: Pathology and pathogenesis of serous otitis media. *Arch Otolaryngol* 84: 297-305, 1966.

Sadé J, Luntz M: Eustachian tube lumen: a comparison between normal and inflamed specimens. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 98: 630-634, 1988.

Sale M, Barbey J, Woosley R et al: The electrocardiographic effects of cetirizine in normal subjects. *Clin Pharmacol Ther* 56: 295-301, 1994.

Samuelson B, Dahlen S, Lindgren J, Rouser C, Serhan C: Leukotrienes and lipoxins: structures, biosynthesis and biological effects. *Science* 239: 1191-1195, 1989.

Schousboe L, Rasmussen L, Ovesen T: Induction of mucin and adhesion molecules in middle ear mucosa. *Acta Otolaryngol* 121: 596-601, 2001.

Schwaber M: Transtympanic gentamicin perfusion for the treatment of Meniere's disease. *Otolaryngol Clin N Am* 35: 287-295, 2002.

Serafin W, Austen K: Mediators of immediate hypersensitivity reactions. *N Engl J Med* 34: 317-330, 1987.

Shea J Jr: The role of dexamethasone or streptomycin perfusion in the treatment of Meniere's disease. *Otolaryngol Clin North Am* 30: 1051–1059, 1997.

Shirwany N, Seidman M, Tane W: Effects of transtympanic injection of steroids on cochlear blood flow, auditory sensitivity, and histology in the guinea pig. *Am J Otol* 19: 20-235, 1998.

Silverstein H, Light J, Jackson L, et al.: Dexamethasone inner ear perfusion for the treatment of sudden deafness. Presented at Amer Acad Otolaryngol Head Neck Surg Annual Meeting. San Diego, CA: September 2002.

Simons F, Simons K: The pharmacology and use of H₁-receptor- antagonist drugs. *N Engl J Med* 330: 1663-1670, 1994.

Skoner DP, Doyle WJ, Chamovitz AH, et al: Eustachian tube function after provocative challenge with house dust mite. *Arch Otolaryngol* 112: 840-842, 1986.

Sullivan J: Saturday conference: steroid withdrawal syndromes. *South Med J* 75: 726-733, 1982.

Tada N, Furukawa M, Ogura M et al: Experimental otitis media with effusion induced by leukotriene D₄. *Auris Nasus Larynx* 29:127-132, 2002.

Volovitz B, Welliver RC, De Castro G, et al: The release of leukotrienes in the respiratory tract during infection with respiratory syncytial virus: the role in obstructive airway disease. *Pediatr Res* 24: 504-507, 1988.

Weisbroth S, Manning P, Ringler D, Newcomer C: *The Biology of the Laboratory Rabbit.* Academic Press Inc., U.S. 1994.

Wilson W, Byl F, Laird N: The efficacy of steroids in the treatment of idiopathic sudden hearing loss. A double-blind clinical study. *Arch Otolaryngol* 106: 772–776, 1980.

Woosley R, Darrow W: Analysis of potential adverse drug reactions-a case of mistaken identity. *Am J Cardiol* 74: 208-209, 1994.

Χελιδόνης Ε: Σύγχρονη Ωτορινολαρυγγολογία, Εκδόσεις Πασχαλίδη, Αθήνα, 2002.

Yamashita T, Okazaki N, Kumazawa T: Relation between nasal and middle ear allergy: experimental study. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 80 (Suppl):147-152, 1980.

Yang G, Song H, Keithley E, et al: Intratympanic immunosuppressives for prevention of immune-mediated sensorineural hearing loss. *Am J Otol* 21: 499–504, 2000.

Yost W: Fundamentals of hearing. An introduction. 4th ed. Academic Press, Elsevier, 2000.

Zeisel S, Roberts J, Burchinal M, Neebe E: Risk factors for otitis media during the first 5 years of life. Recent advances in otitis media with effusion. Proceedings of the seventh international symposium Florida :157-159, 1999.

Zhu Y, Michalovich D, Wu HL, et al: Cloning, expression, and pharmacological characterization of a novel human histamine receptor. *Mol Pharmacol* 59: 434-441, 2001.