

CYSTEINYLOVÉ RECEPTORY, CHRONICKÝ KAŠEL A LÉČBA MONTELUKASTEM U DĚTÍ

MUDr. František Kopřiva, Ph.D.¹, Mgr. Lucie Sobolová², RNDr. Jarmila Szotkowská³,
MUDr. Martin Zápalka¹

¹Dětská klinika FN a LF UP, Olomouc,

²Ústav farmakologie LF UP, Olomouc,

³Ústav klinické imunologie FN, Olomouc

Cysteinylóvé leukotrieny jsou tvořeny de novo z kyseliny arachidonové, která je součástí buněčné membrány, a významně se podílejí v patofyziologii astma bronchiale. Farmakologicky byly definovány dva receptory – CysLT1 a CysLT2. U kojenců a batolat s hvízdavým dýcháním a chronickým kašlem vyvolanými virovou infekcí byly prokázány vyšší hladiny IFN-gamma a cysteinylóvé leukotrienu ve sputu. U 22 dětí s chronickým kašlem jsme čtyři týdny podávali Singulair tbl. (montelukast) v dávce 5 mg jednou denně. U čtrnácti dětí (68 %) chronický vyčerpávající kašel odezněl a zdá se, že krátkodobá léčba anti-leukotrieny by mohla být v této indikaci velkým přínosem.

Kašel je nejčastějším nespecifickým příznakem onemocnění dýchacího ústrojí v ordinaci praktického lékaře. Má řadu forem a velmi širokou škálu příčin. Z fyziologického hlediska jde o účelný obranný mechanismus, který udržuje průchodnost dýchacích cest a na základě aktivního forsírovaného expirace z nich odstraňuje nejen vniknutá cizí tělesa, ale i hlen a produkty patologických procesů v dýchacích cestách a plicích.

Chronický perzistující kašel je dráždivý neproduktivní kašel trvající tři týdny a déle s negativním nálezem na rtg plic a většinou s normálními výsledky spirometrického vyšetření (1).

Chronický kašel zhoršuje kvalitu života dítěte, omezuje jeho aktivity, vede ke snížení celkové kondice i poruchám spánku. Někdy může být chronický kašel podceňován a je příznakem jiného chronického onemocnění. Při hodnocení intenzity a trvání kašle se musíme spoléhat na anamnestické údaje sdělené převážně rodiči a částečně i samotnými dětskými pacienty. Diferenciální diagnostika příčin patologického kašle z těchto důvodů není často jednoduchá.

Významnou roli u dráždivého kašle hraje zvýšení bronchiální hyperreaktivity. U dětí s hvízdavým dýcháním a chronickým kašlem vyvolanými virovou infekcí byly prokázány vyšší hladiny IFN-gamma a cysteinylóvé leukotrienu ve sputu (2). Chronický dráždivý kašel je tak následkem – stav po infekčním onemocnění, či symptomem – u pacienta s astma bronchiale (AB). Diagnóza AB u předškolních dětí je obtížná. Nejčastějšími příznaky jsou opakované stavy ztíženého dýchání s příznaky kašle zhoršujícího se v noci. Vyšetření plicních funkcí je v tomto věkovém období komplikované, dané spoluprací dítěte limitovaného věkem. Stále se chronický kašel jako první symptom bronchiálního astmatu podceňuje. Kašel trvající déle než dva–tři týdny je často pro dítě vysilující a narušuje život celé rodiny, je často příčinou nespokojenosti rodičů s léčbou jejich dítěte i ztrátou důvěry ve schopnosti lékaře. V naší studii jsme u dvaceti dvou dětí s déletrvajícím kašlem odeslaných obvodními lékaři a alergology čtyři týdny podávali antileukotrien (Singulair tbl. v dávce 5 mg jednou denně) a hodnotili efekt léčby.

Soubor pacientů a metodika

U 22 dětí (13 chlapců a 9 děvčat) ve stáří 4–8 (medián 5) let s neproduktivním, převážně nočním kašlem trvajícím déle než tři týdny jsme pečlivě vyhodnotili anamnézu a vyšetřili počet krevních eozinofilních leukocytů (absolutní počet eozinofilních leukocytů – EoA), hladinu celkového sérového imunoglobulinu E (S-IgE) a hladinu eozinofilního kationického proteinu (S-ECP) v séru. Ze studie byly vyloučeny děti s vrozenými anomáliemi dýchacích cest, prokázanou infekcí dýchacích cest v posledních dvou měsících nebo děti se závažným onemocněním dýchacího traktu např. cystickou fibrózou. Žádné z dětí nebylo léčeno inhalačními kortikosteroidy.

Za účelem přerušení „bludného kruhu“, ale i z terapeutického hlediska jsme zahájili po dobu čtyř týdnů léčbu antileukotriem (Singulair tbl. v dávce 5 mg jednou denně). S odstupem čtyř týdnů od prvního odběru jsme stanovili druhou hladinu sérového ECP. Podle údajů rodičů i dětí samotných o vymizení nebo nevymizení kašle byly po čtyřech týdnech děti rozděleny do dvou skupin:

- a) skupina s vymizením kašle
- b) skupina bez léčebného efektu.

Vyšetření krevních elementů bylo prováděno na automatizovaných přístrojích GenSTM Systém 2 firmy Coulter, USA a SysmexTM firmy Sysmex Corporation.

Pro stanovení celkového S-IgE bylo použito nefelometrické metody. Hodnoty S-IgE vyšší než 150 IU/ml považujeme za signifikantní ukazatel alergického onemocnění.

Stanovení hodnoty sérového ECP bylo provedeno fluorescenční metodou FEIA (Fluorescent Enzyme-Immuno Assay) CAP System firmy Pharmacia, Švédsko. Vlastní odběr krve pro vyšetření ECP byl prováděn do zkumavek typu Vacutainer s aktivátorem (Beckton-Dickinson, Anglie). Materiál byl 60–120 minut inkubován při pokojové teplotě, následně centrifugován a odsáté sérum bylo zamraženo před celkovým zpracováním. Hodnota S-ECP < 15 µg/l byla považována za fyziologickou.

Dosažené výsledky byly statisticky vyhodnoceny párovým a nepárovým t testem se stanovením normality souboru.

Při odeírání anamnézy jsme zjistili ve skupině s dobrým efektem léčby montelukastem u tří dětí pozitivní rodinnou anamnézu na atopii, dvě děti měly v prvním roce atopický ekzém a jiné tři měly manifestní atopický ekzém na končetinách. Při další návštěvě rodiče přiznali u čtyř dětí domácí miláčky v jejich domácnostech (psa, kočku), což by mohlo být příčinou recidivy potíží po vysazení léčby u těchto dětí (tabulka 1).

Výsledky

U 14 dětí (68%, 8 chlapců a 6 děvčat) došlo po nasazení antileukotrienu během 72 hodin ke snížení frekvence i tíže nočního kašle s úpravou spánku. V průběhu třetího týdne léčby kašel zcela vymizel.

U souboru dětí s efektem léčby jsme zjistili vyšší hladinu S-ECP před léčbou než u dětí bez efektu léčby (před léčbou $14,88 \pm 2,651 \mu\text{g/l}$ verus bez léčebného efektu $6,62 \pm 0,948 \mu\text{g/l}$; $p < 0,01$) a i za čtyři týdny po léčbě (u dětí s efektem $10,55 \pm 1,631 \mu\text{g/l}$ verus bez léčebného efektu $6,13 \pm 0,937 \mu\text{g/l}$; $p < 0,05$). Rozdíl mezi těmito hodnotami ve skupině s efektem léčby montelukastem je statisticky významný, kdežto u skupiny bez efektu se hladiny ECP nezměnily (tabulka 2, 3, graf 1). Jen ve skupině s efektem léčby jsme prokázali u čtyř dětí vyšší hladiny S-ECP než $18 \mu\text{g/l}$ před zahájením léčby.

U 11 dětí ze souboru s efektem jsme prokázali více jak $350 \times 10^6/\text{l}$ eozinofilů v periferní krvi před zahájením léčby. Mezi oběma soubory je signifikantně vý-

Tabulka 1. Charakteristika souboru dětí dle klinického efektu léčby montelukastem

	s efektem (n, %)	bez efektu (n, %)
pozitivní RA	3 (21,4 %)	0
atopický ekzém v anamnéze	2 (14,3 %)	1 (12,5 %)
atopický ekzém aktivní	3 (21,4 %)	0
domácí zvířata (pes, kočka)	4 (28,6 %)	0
GER	0	2 (25 %)
RA – rodinná anamnéza		
GER – gastroezofageální reflux		

Tabulka 2. Přehled hodnot laboratorních parametrů dle efektu léčby montelukastem

	s efektem (n=14)	bez efektu (n=7)
S-ECP před léčbou ($\mu\text{g/l}$)	14,88 (9,19)*	6,67 (2,35)*
S-ECP po léčbě ($\mu\text{g/l}$)	10,55 (6,10)*	6,25 (2,34)*
celková hladina S-IgE (IU/ml)	307 (253,72)	51 (42,11)
Abs. počet eozinofilů ($\times 10^6/\text{l}$)	684,1 (298,6)*	308,4 (248,5)*
* – statisticky významné ($p < 0,05$)		
S-ECP – hladina sérového eozinofilního kationického proteinu		
S-IgE – hladina celkového sérového imunoglobulinu E		

Tabulka 3. Hodnoty S-ECP před a po léčbě montelukastem dle klinického efektu

před léčbou		po léčbě	
s efektem	bez efektu	s efektem	bez efektu
14,88 (9,19)*	6,67 (2,35)	10,55 (6,10)*	6,25 (2,337)
* – statisticky významné ($p = 0,003$)			
S-ECP – hladina sérového eozinofilního kationického proteinu			

znamný rozdíl i v absolutním počtu eozinofilů v periferní krvi při vyšetření před zahájením léčby (tabulka 2, graf 2).

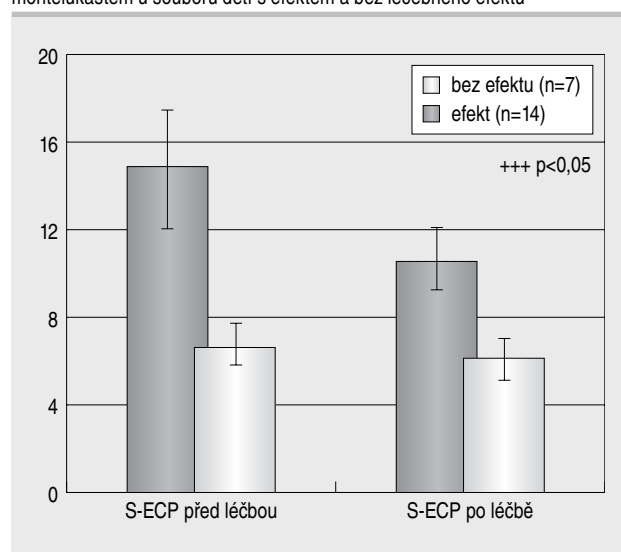
U deseti dětí ve skupině s efektem léčby a u jednoho dítěte ze skupiny bez efektu jsme zjistili hladinu S-IgE vyšší než 150 IU/ml . Po vyloučení jedince s vysokou hladinou S-IgE (692 IU/ml) ve skupině dětí bez efektu léčby, u kterého byl následně prokázán gastroezofageální reflux, jež byl pravděpodobně hlavní příčinou chronického kašle, je i mezi hladinami S-IgE u sledovaných souborů signifikantní rozdíl (graf 3).

U dvou dětí, u kterých nebyla odpověď na léčbu, jsme vyšetřením 24hodinové pHmetrie prokázali gastroezofageální reflux.

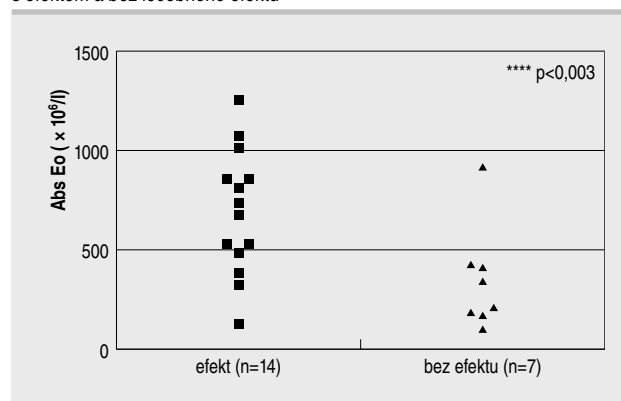
Diskuze

Chronický perzistující kašel je suchý/dráždivý neproduktivní kašel nebo produktivní s expektorací trvajícím obvykle více než tři–šest týdnů s negativním nálezem na rtg plic, s normálními výsledky spirometrického vyšetření bez zjevné nebo potvrzené příčiny (7).

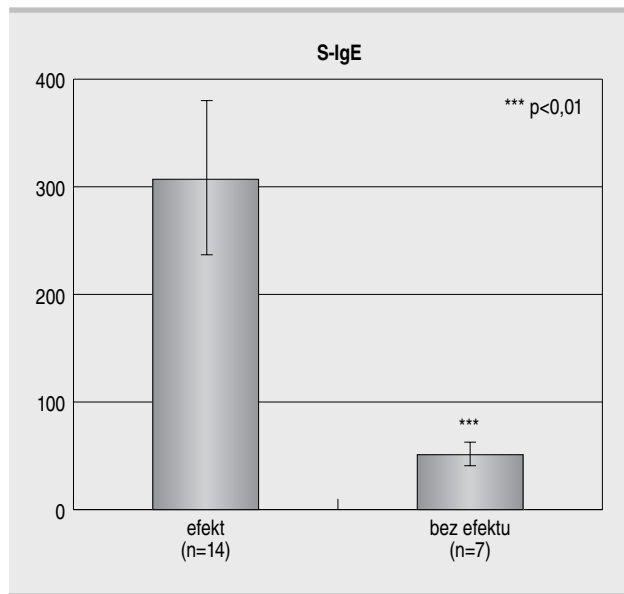
Graf 1. Hladina sérového eozinofilního kationického proteinu před a po léčbě montelukastem u souboru dětí s efektem a bez léčebného efektu



Graf 2. Absolutní počet eozinofilů před léčbou montelukastem u souboru dětí s efektem a bez léčebného efektu



Graf 3. Hladina sérového IgE před a po léčbě montelukastem u souboru dětí s efektem a bez léčebného efektu



AB je syndrom charakterizovaný obstrukcí dýchacích cest, měnící se výrazně jak spontánně, tak i vlivem léčby. Dnes je definováno jako chronické zánětlivé onemocnění dýchacích cest s opakujícím se bronchospazmem na podněty, které u většiny lidí zúžení dýchacích cest nevyvolávají. Svěbytný typ alergického zánětu zvyšuje hyperreaktivitu dýchacích cest na širokou škálu podnětů, která vede k výraznému zúžení průdušek. Zúžení průsvitu dýchacích cest je obvykle reverzibilní spontánně nebo vlivem léčby, ale u některých pacientů s chronickým astmatem se může stát výrazem obstrukce trvalé – ireverzibilní. Hlavními buňkami, které se na rozvoji chronického alergického zánětu účastní, jsou eozinofilní granulocyty a žírné buňky s minimální aktivitou neutrofilních a bazofilních granulocytů. Hlavním patogenetickým mechanismem AB je zvláštní forma chronického zánětu – chronický eozinofilní zánět sliznice průdušek (3).

Eozinofilní kationický protein (ECP) je cytotoxický produkt eozinofilních leukocytů a sledování jeho sérové hladiny můžeme využít ke kvantitativnímu posouzení zánětlivých procesů. Sérová hladina ECP odráží vlastní aktivitu eozinofilů v séru, t.j. schopnost uvolnit granulární proteiny při aktivaci v průběhu zánětlivé odpovědi. Aktivitu eozinofilů můžeme potvrdit i průkazem ECP ve tkáňích bronchů – ve formě EG2+ buněk pomocí monoklonální protilátky. Stanovení hladin sérového eozinofilního kationického proteinu se stalo za cca 15 let využívaní této metodiky ve světě další pomocnou metodou v rámci diagnostiky a především monitorování terapie protizánětlivými inhalačními léky u dětí i dospělých s bronchiálním astmatem (8).

V roce 1980 Bengt Samuelsson prokázal cysteinylóvé leukotrieny LTC₄, LTD₄ a LTE₄. Název „cysteinylóvé leukotrieny“ byl odvozen následně: obsahují cystein, vznikají z leukocytů a jejich molekula má tři dvojité vazby. Za tento objev obdržel v roce 1982 Nobelovu cenu.

Leukotrieny (LT) jsou mediátory zánětu. Jejich farmakologická a prozánětlivá aktivita byla prokázána v respiračním, kardiovaskulárním i gastrointestinálním traktu. LT ovlivňují bronchokonstrikci, zvyšují sekreci hlenu a mikrovaskulární permeabilitu, snižují kontraktilitu myokardu a průchod koronárním řečištěm, vedoucí k depresi srdeční činnosti.

Leukotrieny jsou vždy nově tvořeny z arachidonové kyseliny, která je přítomná ve všech buňkách. Kyselina arachidonová je dále přeměňována třemi cestami:

1. cyklooxygenázová – jejímiž produkty jsou prostaglandiny (PGE₂, PGD₂, PGF₂), prostacyklin (PGI₂) a tromboxan (TXA₂)
2. 5-lipoxygenázová – kdy postupně vznikají hydroperoxikosatetraenové kyseliny (nPETE), které jsou dále metabolizovány na hydroxyeicosatetraenové kyseliny (HETE, hlavní produkty 12- a 15-lipoxygenázy), leukotrieny (hlavní produkty 5-lipoxygenázy) a lipoxiny (vznikající společným působením 5- a 15-lipoxygenázy)
3. oxygenaci v přítomnosti cytochromu P-450 vznikají epoxykosaatrienové kyseliny (EET).

Aktivita enzymu 5-lipoxygenáza byla poprvé popsána v lidských neutrofilech. LT jsou tvořeny převážně žírnými buňkami a buňkami zánětu – makrofágy, monocyty, eozinofily a bazofily.

Leukotrien A₄ může být metabolizován na LTB₄, což je charakteristické pro neutrofile, nebo konjugován s glutathionem na sulfidopeptidový LTC₄. LTC₄ je aktivně transportován vně buňky, kde je následně metabolizován na LTD₄ a potom na LTE₄.

LTE₄ je buď nezměněn vyloučen močí, nebo je dále metabolizován na několik biologicky inaktivních metabolitů. Stanovení jeho hladiny v moči nás může informovat o tvorbě leukotrienů.

Leukotrieny společně s dalšími faktory vyvolávají:

1. vzestup cévní permeability a rozvoj edému
2. produkci hlenu
3. bronchokonstrikci
4. buněčnou infiltraci.

Leukotrienové receptory CysLT1 jsou na povrchu žírných buněk, makrofágů, buněk hladkého svalstva, monocytů, B lymfocytů, ale i eozinofilů. Dále byl definován receptor CysLT2, jehož úloha v patogenezi alergického zánětu není jednoznačná, snad ovlivňuje stabilitu cévní stěny. Jeho největší zastoupení bylo prokázáno v srdci a v mozku. Mezi těmito dvěma receptory je překvapivě velmi nízká míra homologie aminokyselin, a to jen 28 % aminokyselin je identických. Zajímavým zjištěním byl i nález, že IL-5 zvyšuje expresi CysLT1 receptorů, čímž významně zasahuje do rozvoje alergického zánětu (2).

Receptor CysLT1 je funkčně charakterizován jako receptor se sedmi transmembránovými doménami (337 AMK) – G-protein-coupled receptor. Tento receptor je strukturálně podobný s chemokinovými receptory, např. s CXCR4. I na povrchu CD34+ progenitorových buněk je exprimován CysLT1 receptor. Po vazbě leukotrienu LTD₄ dochází

zí k uvolnění Ca^{++} iontů, k polymerizaci aktinu a ke zvýšení chemotaxe buněk. Na základě reakcí s různými antagonisty leukotrienových receptorů byla prokázána specifická aktivita receptoru pro $\text{LTD}_4/\text{LTE}_4$. LTC_4 se přednostně váže na nereceptorová místa na membráně plicního parenchymu. Existují tedy dvě vazebná místa s vysokou vazebnou aktivitou a s rozdílným farmakologickým profilem. Místo pro vazbu LTD_4 je klasifikováno jako CysLT_1 receptor, zatímco místa s vysokou vazbou pro LTC_4 jsou jiná než CysLT_1 , ale není to receptor CysLT_2 , a nyní se nazývá jako atypický CysLT_1 receptor vyskytující se v dýchacích cestách. (4).

V průběhu časně alergické reakce po přemostění dvou molekul IgE antigenem na povrchu žírných buněk dochází k uvolnění mediátorů, následně i leukotrienů, které se pak naváží na CysLT_1 receptor (autokrinní proces) na povrchu mastocytů. Následně dochází k uvolnění Ca^{++} , které se podílí na ovlivnění alergické zánětlivé odpovědi. Tento autokrinní signál následně vede opět ke zvýšené tvorbě leukotrienů a jejich uvolnění, což uzavírá „cysteinylový *circulus vitiosus* mastocytů“ v rámci alergické reakce a reguluje tak funkci mastocytů a částečně i buněk hladkého svalstva parakrinně uvolněnými leukotrieny (obrázek 1). Dalším vztahem ovlivňujícím dynamiku alergické odpovědi je vzájemný vztah mezi histaminem a leukotrieny. V histaminem aktivovaných makrofázích dochází ke zvýšené tvorbě leukotrienů – LTD_4 , a na druhé straně leukotrieny mohou podporovat uvolňování mediátorů zánětu v dýchacích cestách, z čehož vyplývá, že tyto mediátory se v časně i pozdní fázi alergického zánětu potencují ve svých účincích (5).

V průběhu zánětlivé odpovědi u virové infekce dochází v dýchacích cestách ke zvýšené tvorbě $\text{IFN}\gamma$ Th1 lymfocytů. I u neastmatických jedinců může virová infekce vyvolat zvýšenou reaktivitu dýchacích cest a kašel přetrvávající několik týdnů až měsíců. Přesný mechanismus, kterým viry narušují funkci hladkých svalů dýchacích cest, není znám. $\text{IFN}\gamma$ zvyšuje expresi CysLT_1 receptorů v dýchacích cestách a zvyšuje také odpověď na LTD_4 . Zdá se pravděpodobné, že $\text{IFN}\gamma$ ovlivňuje úroveň bronchiální hyperreaktivitu v průběhu virové infekce a také alergické reakce. $\text{IFN}\gamma$ zvyšuje expresi CysLT_1 proteinu i mRNA v bronchiálních hladkých svaích. U kojenců a batolat s hvízdavým dýcháním vyvolaným virovou infekcí byla prokázána velká množství $\text{IFN}\gamma$ a leukotrienů jak v bronchoalveolární tekutině, tak i ve sputu (6).

Na základě uvedených znalostí jsme u dětí s chronickým kašlem, které byly odeslány do imuno-alergologické ordinace Dětské kliniky ke konziliárnímu vyšetření, kdy léčba antitusiky, antihistaminiky či antibiotiky byla neúspěšná, zahájili léčbu antileukotrieny – montelukastem. Překvapivými, ale na druhé straně potvrzujícími deklarovaný léčebný efekt antileukotrienů potlačením aktivit leukotrienů, byly pro nás zprávy rodičů, že třetí noc po zahájení léčby se u skupiny dětí s léčebným efektem již neobjevil záchvat kašle. Následně po vyhodnocení výsledků provedených vyšetření vyplývá, že u dětí s léčebným efektem montelukastu byly signifikantně vyšší hladiny celkového S-IgE, S-ECP i absolutní počet eozinofilů v perifer-

ní krvi ve srovnání se skupinou dětí bez léčebného efektu. Na základě získaných výsledků a klinické zkušenosti můžeme u dětí s chronickým kašlem, po vyloučení jiné patologie, se zvýšeným absolutním počtem eozinofilů v periferní krvi a S-IgE nebo S-ECP, doporučit zvážení zahájení léčby montelukastem jako terapeutický i diferenciálně diagnostický krok.

Chronický kašel je relativně častý klinický příznak, který bývá neprávem lékaři podceňován. V různých souborech dráždivý perzistující kašel jako jedna z forem astmatu tvoří 6,5–57 % jedinců. Diagnostika se opírá o pozitivní bronchomotorický test s nespecifickým podnětem. Léčba je stejná jako u jiných forem AB dle stupně potíží.

Záchvaty suchého, dráždivého kašle, hlavně v noci, někdy s expiračními pískoty, bez typické astmatické dušnosti s úpravou po bronchodilatancích se v literatuře popisují jako astmatické ekvivalenty nebo „cough variant asthma“. Antitusika nemají efekt! Často u těchto pacientů prokazujeme v krvi i sputu eozinofilii i hyperreaktivitu dýchacích cest.

V literatuře jsou uváděny následující frekvence příčin chronického kašle:

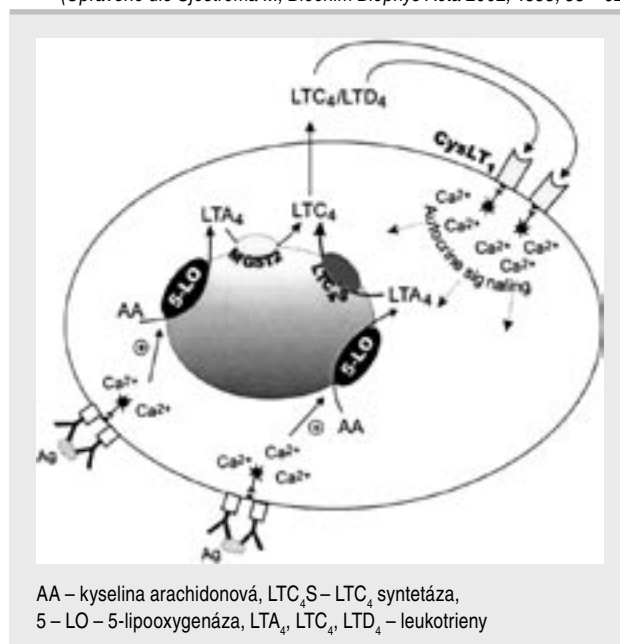
- astma bronchiale a postinfekční hyperreaktivita průdušek 33 %
 - syndrom „kapajícího“ nosu 28 %
 - chronická bronchitida 12 %
 - gastroezofageální reflux (GER) 10 %
 - kašel po virové infekci, asymptomatický GER .. 25 %
 - jiné příčiny 10 %
- Asi u 20% pacientů se kombinuje více příčin (9).

Obrázek 1. Model dvojí stimulace tvorby leukotrienů mastocyty:

1. V průběhu časně alergické reakce po přemostění antigenem (Ag) dvou molekul imunoglobulinu E na povrchu mastocytů dochází k následnému uvolnění mediátorů (AA – kyselina arachidonová)

2. Po vazbě uvolněných leukotrienů na CysLT_1 receptory na povrchu mastocytů dochází k autokrinní stimulaci tvorby leukotrienů uvolněnými Ca^{2+} ionty

(Upraveno dle Sjöström M, *Biochim Biophys Acta* 2002, 1853, 53 – 62)



Chronický kašel je relativně častý klinický příznak, který bývá neprávem lékaři podceňován. Seriózní patofyziologický rozbor může významně přispět ke stanovení diagnózy. Časná a racionální léčba kašle vede k ústupu nepříjemného symptomu. U vyčerpávající formy chronického kašle by mohla léčba montelukastem snížit intenzitu potíží, urychlit vyhojení zánětu nebo pozitivně ovlivnit imu-

nopatologické mechanismy alergie. Nezanedbatelným přínosem je i snížení nepříjemných subjektivních pocitů dítěte a obav rodičů o jeho zdravotní stav.

Přeloženo z: Treatment of chronic cough in children with montelukast, a leukotriene receptor antagonist, Klinická farmakologie a farmacie 2003; 2: 78–82.

Literatura

1. Hay D, Trophy TJ, Undem BJ. Cysteinyl leukotrienes in asthma: old mediators up to new tricks. *Trends Pharmacol Sci* 1995; 16: 304–309.
2. Sarau MH, Ames RS, Chmabers J, Ellis C, Elshourbagy N, Foley JJ, Schmidt DB, Muccitelli RM, Jenkins O, Murdock PR, Herrity NC, Halsey W, Sathe G, Muir AI, Nuthulaganti P, Dytko GM, Buckley PT, Wilson S, Bergggsma DJ, Hay DWP. Identification, molecular cloning, epression, nad characterization of cysteinyl leukotriene receptor. *Mol Pharmacol* 1999; 56: 657–663.
3. Ravasi S, Capra V, Panigalli T, Rovati GE. Micosia S Pharmacological differences among CysLT1 receptor antagonists with respect to LTC4 and LTD4 in human lung parenchyma. *Biochem Pharmacol* 2002; 63: 1537–1546.
4. Figueroa D, Breyer RM, Defoe SK, Kargman S, Daugherty BL, Waldburger K, Liu Q, Clements M, Zeng Z, O'Neill GP, Jones TR, Lynch LR, Austin CHP, Evans JF. Expression of the cysteinyl leukotriene 1 receptor in normal human lung and peripheral blood leukocytes. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163: 226–233.
5. Sjoström M, Jakobsson P-J, Juremalm M, Ahmed A, Nilsson G, Macchia L, Haeggstrom JZ. Human mast cells express two leukotriene C4 isoenzymes and the CysLT1 receptor. *Biochim Biophys Acta* 2002; 1583: 53–62.
6. van Schaik SM, Tristram DA, Nagpal IS, Hintz KM, Welliever RC II, Welliever RC. Increased production of IFN.γ nad cysteinyl leukotrienes in virus-induced wheezing. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 103: 630–636.
7. Kolek V. Chronický kašel Příčiny Diagnostika Léčba Vltavín 2000, 72 s.
8. Global strategy for asthma management and prevention, Global initiative for asthma. NHLBI/WHO. NIH Publication No. 02–3659, 2002.
9. Irwin RS, Curley FJ, French CL. Chronic cough: the spectrum and frequency of the diagnosis evalution and outcomes of specific therapy. *Am Rev Respir Dis* 1990; 141: 640–647.