

Mediatori di infiammazione nell'espriato condensato di bambini con sindrome delle apnee ostruttive*

Aviv D. Goldbart, MD, MSc; Jyoti Krishna, MD; Richard C. Li, MD, PhD;
Laura D. Serpero, PhD; David Gozal, MD, FCCP

Razionale: L'infiammazione delle alte vie aeree è ora riconosciuta in adulti con sindrome delle apnee ostruttive (OSA) ma il ruolo degli eicosanoidi come i leucotrieni e le prostaglandine non è ancora chiaro.

Obiettivo: Investigare se gli eicosanoidi sono misurabili nell'espriato condensato (EBC) e determinare se emergono differenze nel livello di questi mediatori infiammatori tra i bambini con e senza disturbi respiratori nel sonno (SDB)

Metodi: L'EBC è stato raccolto da 50 bambini con fenomeni di russamento sottoposti a polisonnografia notturna per sospetto di SDB e da 12 controlli sani senza fenomeni di russamento. I livelli di prostaglandina E₂ (PGE₂), leucotriene B₄ (LTB₄) e cisteinil-leucotrieni (cys-LT: leucotriene C₄ [LTC₄]/leucotriene D₄ [LTD₄]/leucotriene E₄ [LTE₄]) sono stati analizzati tramite test di immunoassorbimento enzimatico.

Risultati: I livelli di LTB₄ erano elevati in bambini con un indice apnea-ipopnea (AHI) > 5/h 8 (SDB; 97,6 ± 6,3 pg/mL) rispetto ai bambini con un AHI < 5/h (lieve SDB; 66,4 ± 19,1 pg/mL; p < 0,01) e ai controlli (27,8 ± 3,7 pg/mL; p < 0,01). Similmente, anche le concentrazioni di cys-LT (LTC₄/LTD₄/LTE₄) erano più elevate nei pazienti con SDB (45,1 ± 10,6 pg/mL) se confrontati coi pazienti con SDB lieve (27,6 ± 8,3 pg/mL, p < 0,01) e coi controlli (15,7 ± 7,6 pg/mL; p < 0,01). Di contro, non sono state osservate differenze nelle concentrazioni di PGE₂ tra i 3 gruppi.

Conclusioni: I mediatori infiammatori come i leucotrieni e le prostaglandine possono essere prontamente quantificati nell'EBC raccolto dalle alte vie aeree nei bambini. La concentrazione dei leucotrieni (LTB₄ e LTC₄/LTD₄/LTE₄) aumenta a seconda della gravità della malattia nel nostro gruppo di bambini e pertanto questa metodica potrebbe essere usata come uno strumento non-invasivo di valutazione clinica.

(CHEST Edizione Italiana 2006; 3:30-35)

Parole chiave: adenoidi; eicosanoidi, infiammazione; leucotrieni; iperplasia linfoide; apnea del sonno; disturbi respiratori nel sonno; tonsillectomia e adenoidectomia; tonsille

Abbreviazioni: AHI = indice apnea-ipopnea; BMI = indice di massa corporea; cys-LT = cisteinil-leucotriene; EBC = espriato condensato; LTB₄ = leucotriene B₄; LTC₄ = leucotriene C₄; LTD₄ = leucotriene D₄; LTE₄ = leucotriene E₄; OSA = apnea ostruttiva del sonno; PGE₂ = prostaglandina E₂; SDB = disturbi respiratori nel sonno; SpO₂ = saturazione d'ossigeno misurata usando la piossimetria; T&A = tonsillectomia e adenoidectomia

La sindrome delle apnee ostruttive (OSA) è una malattia comune nei pazienti pediatrici e colpisce dal 2 al 3% di tutta la popolazione infantile,¹ ed è frequentemente associata alla presenza di ipertrofia adenotonsillare.^{2,3} Se non trattata, l'OSA può portare a serie morbilità, che colpiscono i sistemi cognitivo, neuro-comportamentale e cardiovascolare.^{4,11} Nei pazienti adulti con OSA è presente infiammazione della mucosa nasale e orofaringea¹²⁻¹⁴ e i livelli di proteina C reattiva, un marker di infiammazione

sistemica, sono aumentati sia negli adulti¹⁵ che nei bambini con OSA, e sono correlati con la gravità dei disturbi respiratori durante il sonno.¹⁶ Più recentemente, sono stati raccomandati trattamenti antinfiammatori non chirurgici per i disordini respiratori nel sonno (SDB) nei bambini come alternativa alla tonsillectomia e all'adenoidectomia (T&A). Questo approccio era principalmente riservato a quei bambini con SDB non troppo grave da giustificare l'intervento chirurgico o per quelli con residui SDB

dopo T&A, e ha dato risultati promettenti in alcuni trial clinici in aperto non randomizzati.¹⁷⁻²⁰ Il nostro gruppo ha dimostrato che i recettori clonati 1 e 2 del cisteinil leucotriene (cys-LT)^{21,22} sono altamente espressi nei tessuti adenoidali e tonsillari dei bambini con SDB.^{19,23} L'esalato condensato (EBC) può essere facilmente ottenuto dai bambini²⁴ e può essere un mezzo diagnostico non invasivo e conveniente per esplorare il ruolo dell'infiammazione nella patogenesi della patologia delle vie aeree.^{25,26} Sulla base di tali considerazioni, abbiamo esaminato la quantità relativa di leucotrieni e di prostaglandine nell'EBC dei bambini che russano con SDB. La nostra ipotesi è che in bambini con più grave SDB sono presenti aumentati livelli di infiammazione.

MATERIALI E METODI

Pazienti

Lo studio è stato approvato dal Comitato Etico dell'Università di Louisville, e il consenso informato è stato ottenuto dal rappresentante legale di ogni partecipante. Il consenso è stato ottenuto anche dai bambini se con più di 6 anni di età. I criteri di inclusione erano la presenza di russamento abituale (russamento dei bambini per più di 3 notti per settimana riferito dai genitori) e età da 6 a 16 anni. Inoltre, sono anche stati inclusi 12 bambini che erano stati sottoposti a polisonnografia per un altro studio. Criteri di esclusione includevano la presenza di anomalie cranio-facciali neuro-muscolari o genetiche; uso corrente o nei 6 mesi precedenti di montelukast; infezioni acute delle prime vie respiratorie; uso di corticosteroidi o antibiotici nelle 4 settimane precedenti lo studio e precedente T&A.

I pazienti sono stati reclutati e valutati durante la loro prima visita medica al Kosair Children's Hospital Sleep Medicine and Apnea Center. Ad ogni partecipante sono state richieste le seguenti informazioni: età e sesso, uso di farmaci (corticosteroidi [nasali, inalatori e sistemici], antistaminici, broncodilatatori, antibiotici e antileucotrieni) e presenza di comorbilità (asma, rinite

*Dal Kosair Children's Hospital Research Institute (Drs. Goldbart, Li, and Serpero), Department of Pediatrics (Dr. Krishna), Division of Sleep Medicine, and Department of Pharmacology and Toxicology (Dr. Gozal), University of Louisville, Louisville, KY. Il Dr. Gozal è supportato dal finanziamento HL-65270 dei National Institutes of Health grant HL-65270, dalla The Children's Foundation Endowment for Sleep Research e dal Commonwealth of Kentucky Challenge for Excellence Trust Fund. I Drs. Goldbart e Krishna hanno contribuito in maniera equivalente a questo lavoro.

Manoscritto ricevuto il 22 luglio 2005; revisione accettata il 17 gennaio 2006.

Gli autori non hanno conflitti d'interesse da dichiarare in relazione a questo lavoro. Il Dott. Gozal fa parte dei relatori nazionali della Merck.

La riproduzione di questo articolo è vietata in assenza di autorizzazione scritta dell'American College of Chest Physicians (www.chestjournal.org/misc/reprints.shtml).

Corrispondenza: David Gozal, MD, FCCP; Kosair Children's Hospital Research Institute, University of Louisville, 570 South Preston St, Suite 321, Louisville, KY 40202; e-mail: david.gozal@louisville.edu
(CHEST 2006; 130:143-148)

allergica e altre allergie; deficit dell'attenzione e disturbi di iperattività; condizioni psichiatriche). Tutti i soggetti sono stati misurati (altezza e peso), quindi è stato calcolato l'indice di massa corporea (BMI, massa corporea/altezza²) espresso come BMI relativo tramite la seguente formula: (BMI/BMI del 50esimo percentile per età e sesso) X 100, basato su curve percentili standardizzate. Bambini con BMI > 95% soddisfacevano i criteri per l'obesità.

Polisonnografia notturna

Tutti i bambini che hanno partecipato allo studio sono stati sottoposti a polisonnografia notturna. Gli studi sul sonno sono stati fatti in una stanza apposita, buia e quieta nel laboratorio del sonno presso il Kosair Children's Hospital.

Una descrizione dettagliata e tutti gli aspetti tecnici delle registrazioni polisunnografiche sono descritte in dettaglio da un'altra parte.¹⁹ L'analisi del polisunnogramma è stata eseguita tramite tecniche standard. Brevemente, lo stadio del sonno è stato valutato usando criteri standard.²⁷ L'indice delle apnee ostruttive-ipopnee (AHI) è stato definito come il numero di apnee e ipopnee per ora di sonno totale, e l'apnea ostruttiva è stata definita come l'assenza di flusso aereo con presenza di movimento della parete toracica e addominale per una durata di almeno 2 cicli respiratori. L'ipopnea è stata definita come una riduzione del flusso nasale $\geq 50\%$ con una corrispondente riduzione della saturazione dell'O₂ misurata tramite pulsossimetro (SpO₂) $\geq 4\%$ e/o risvegli. Sono state determinate la SpO₂ media insieme alla SpO₂ nadir. I risvegli sono stati definiti come raccomandato dalla relazione della task force dell'America Sleep Disorders Association²⁸ e includono risvegli spontanei, indotti dal tecnico e collegati alla respirazione (che si verificano immediatamente dopo un'apnea, ipopnea o russamento). I risvegli sono stati definiti come numero totale di risvegli per ora di sonno.

Raccolta EBC

L'EBC è stato raccolto nei bambini che soddisfacevano i criteri d'inclusione ed esclusione e sottoposti a polisunnografia notturna. L'aria nasale espirata è stata raccolta in un tempo tra 15 e 20 minuti tramite un metodo artigianale derivato da quello di Griese e coll.²⁹ Per la raccolta, è stata usata una pompa a pressione negativa costante ad alte prestazioni collegata ad una camera fredda (-5°C) e ad una maschera nasale circondata sulla superficie esterna da schiuma morbida per evitare perdite (Figura 1). Il bambino rimaneva seduto per tutto il periodo di raccolta. Dopo aver pulito il naso con acqua fredda, una lieve suzione negativa (da 3 a 5 mm Hg) veniva esercitata all'estremità libera dei tubi a livello degli orifizi nasali. Ai bambini veniva chiesto di

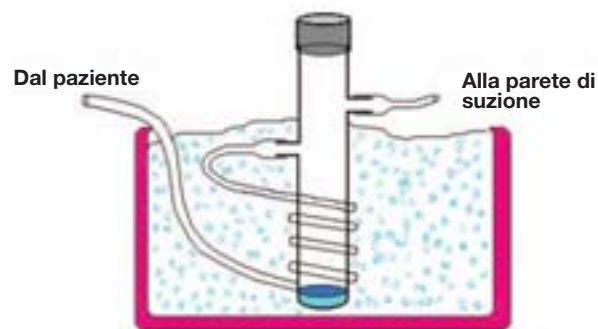


FIGURA 1. Disegno schematico del metodo artigianale (modificato da Griese et al.²⁹) usato per la raccolta dell'EBC dalle alte vie aeree nei bambini.

respirare normalmente per tutto il periodo della raccolta mentre guardavano la televisione. L'EBC veniva raccolto in provette criogene (2 provette per paziente, ognuna contenente circa 1 mL senza aggiunta di nessun diluente). I campioni venivano immediatamente messi in ghiaccio e poi in congelatore a -80°C e lì conservati. I campioni qui riportati sono stati raccolti in un periodo di 4 mesi e poi analizzati.

Analisi per i marker infiammatori

Tutti gli EBC raccolti (da 50 su 56 bambini russanti e 12 su 12 bambini non-russanti) sono stati analizzati per i livelli di cys-LT (leucotriene C_4 [LTC_4]/leucotriene D_4 [LTD_4]/leucotriene E_4 [LTE_4]), leucotriene B_4 (LTB_4) e prostaglandina E_2 (PGE_2) tramite kit di immunoassorbimento enzimatico disponibili in commercio: $\text{LTC}_4/\text{LTD}_4/\text{LTE}_4$ (Cayman Chemical; Ann Arbor MI), LTB_4 (Amersham Biosciences; Piscataway NJ) e PGE_2 (Cayman Chemical). I campioni sono stati processati in duplicato e saggiati in almeno 2 diluizioni e i risultati di assorbimento sono stati analizzati con una curva a 4 parametri logistici. La variabilità intra ed interanalisi per LTB_4 , $\text{LTC}_4/\text{LTD}_4/\text{LTE}_4$ e PGE_2 era $< 10\%$. La specificità di LTB_4 , $\text{LTC}_4/\text{LTD}_4/\text{LTE}_4$ e PGE_2 era del 100% (tranne per LTE_4 , dove era del 67%). I limiti di rilevamento dell'analisi erano di 6,2 pg/mL per LTB_4 , 7,8 pg/mL per $\text{LTC}_4/\text{LTD}_4/\text{LTE}_4$ e 2 pg/mL per PGE_2 . Da notare come durante le prime fasi del progetto quattro set di campioni sono stati analizzati 3 volte in un periodo di 7 giorni, 1 mese e 6 mesi dal momento della raccolta, e i valori per ogni campione erano entro $< 10\%$ l'uno con l'altro.

Analisi statistica

I risultati sono stati presentati come media \pm DS tranne quando specificato. Tutte le analisi sono state condotte tramite un software statistico (SPSS; versione 11.5; Chicago, IL). Il confronto dei gruppi è stato fatto con t-test indipendenti o analisi della varianza seguite da confronti *post hoc*, con i valori p corretti per varianze ineguali quando appropriato (test Levene per l'uguaglianza delle varianze) o l'analisi del χ^2 tramite il test esatto di Fisher (risultati dicotomi). Un valore di p a due code $< 0,05$ è stato considerato statisticamente significativo.

RISULTATI

L'EBC è stato raccolto in 53 su 56 bambini. 3 bambini avevano accettato di partecipare, ma è stato raccolto un volume insufficiente di EBC. I rimanenti 3 bambini si sono rifiutati di partecipare. Dei 50 bambini la cui quantità di EBC risultava idonea, la polisonnografia notturna ha rivelato che 29 bambini avevano un $\text{AHI} < 5/\text{h}$ di sonno (SDB lieve) e 21 bambini avevano un $\text{AHI} > 5/\text{h}$ (SDB). Per questi sottogruppi, l'età ($9,6 \pm 2,9$ vs $10,3 \pm 2,7$ anni) e il sesso (maschi, rispettivamente 58% vs 57% del totale) risultavano simili. Comunque, il BMI era significativamente più elevato nel gruppo con $\text{AHI} > 28,6 \pm 10,1 \text{ kg/m}^2$ vs $21,6 \pm 6,0 \text{ kg/m}^2$; $p = 0,003$. L'età media dei 12 bambini di controllo era leggermente più bassa ($7,1 \pm 1,6$ anni) ma sia il sesso (58% maschi) che il BMI ($20,8 \pm 2,3 \text{ kg/m}^2$) erano simili ai bambini con SDB lieve. Nella Tabella 1 sono riportate le

Tabella 1—Caratteristiche dei 3 gruppi di soggetti*

Caratteristiche	Controlli	SDB Lieve	SDB
Età, aa	$7,1 \pm 1,6$	$9,6 \pm 2,9$	$10,3 \pm 2,7$
Maschi	58	58	57
BMI, kg/m^2	$20,8 \pm 2,3$	$21,6 \pm 6,0$	$28,6 \pm 10,1$
Deficit dell'attenzione e iperattività (n = 13)	38	31	31
Asma (n = 7)	28	28	44
Rinite allergica (n = 12)	50	16	34
Disturbi psichiatrici (n = 7)	44	28	28
Uso di Beta-2 Agonisti (n = 5)	20	60	20
Antistaminici (n = 3)	33	33	33

*I dati sono presentati come media \pm DS o %.

informazioni riguardanti comorbidità come asma, rinite allergica, deficit dell'attenzione, iperattività ed altri disturbi psichiatrici, così come l'uso di farmaci. Non sono state osservate differenze tra i 3 gruppi riguardo alle comorbidità e all'uso di farmaci, eccetto per un leggero aumento della prevalenza di rinite allergica tra i controlli (Tabella 1). Nessuno dei soggetti aveva mai usato corticosteroidi o anti-leucotrieni.

Le analisi di immunoassorbimento enzimatico hanno rilevato nel gruppo di soggetti con SDB livelli più elevati sia di LTB_4 che di $\text{LTC}_4/\text{LTD}_4/\text{LTE}_4$, se confrontati col gruppo con lieve SDB ($\text{AHI} < 5/\text{h}$), che a sua volta presentava livelli più alti rispetto ai controlli ($p < 0,01$ per tutti i confronti). Infatti, i pazienti con SDB avevano concentrazioni più alte di $\text{LTC}_4/\text{LTD}_4/\text{LTE}_4$ ($45,1 \pm 10,6 \text{ pg/mL}$) se confrontati coi pazienti con SDB lieve ($27,6 \pm 8,3 \text{ pg/mL}$, $p < 0,01$; Figura 2, *in alto a sinistra*, A) e coi controlli ($15,7 \pm 7,6 \text{ pg/mL}$; $p < 0,01$). Allo stesso modo, sono state trovate concentrazioni più alte di LTB_4 in bambini con SDB in un modo dose-dipendente ($97,6 \pm 6,3 \text{ pg/mL}$ nel gruppo SDB vs. $66,4 \pm 3,6 \text{ pg/mL}$ nel gruppo SDB lieve, e $27,8 \pm 3,7 \text{ pg/mL}$ nei controlli; $p < 0,01$, Figura 2 *in alto a destra*, B). Di contro, non sono state osservate differenze nelle concentrazioni di PGE_2 tra i 3 gruppi (Figura 2, *in basso*, C).

DISCUSSIONE

Questo studio ha valutato la presenza e la varianza dei marker infiammatori nell'EBC in bambini con fenomeni di russamento sottoposti a studi del sonno per sospetta SDB. Mentre i livelli di PGE_2 erano simili nei pazienti con lieve e medio-grave SDB e nei controlli, le concentrazioni nell'EBC di leucotrieni sono risultate più alte nei bambini con SDB più grave, suggerendo la presenza di aumentata infiammazione nelle alte vie respiratorie dei bambini in relazione alla gravità e alla frequenza degli episodi di ostruzione delle vie aeree durante il sonno. L'EBC è

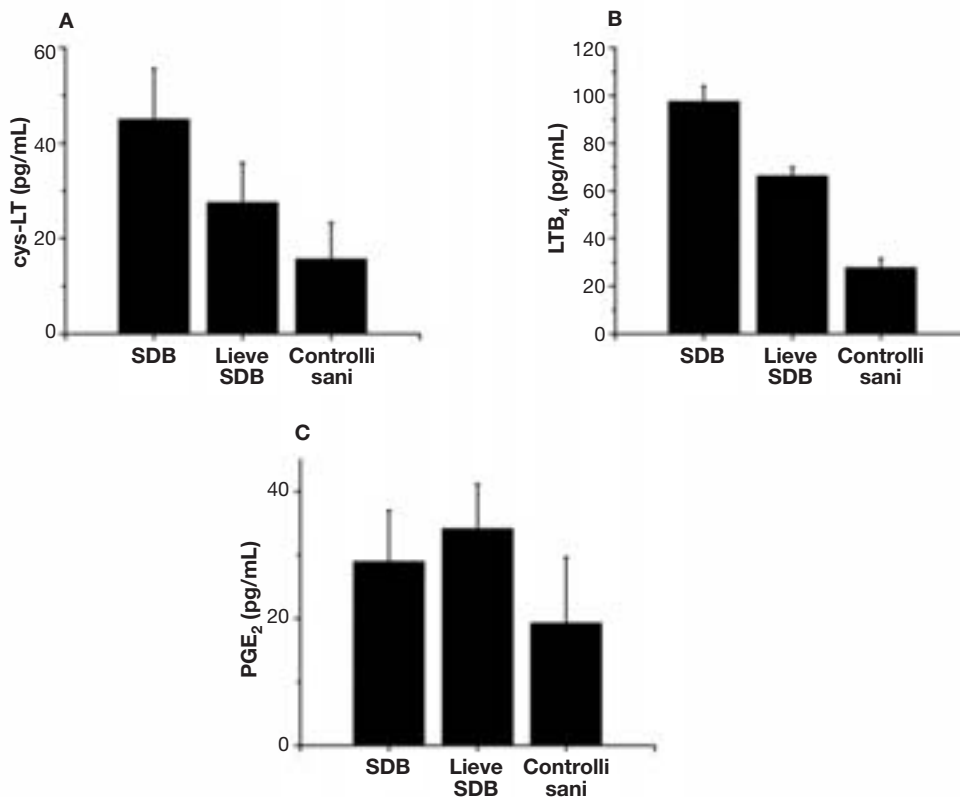


FIGURA 2. In alto a sinistra, A: livelli di cys-LT ($LTC_4/LTD_4/LTE_4$) nell'EBC ottenuto da bambini con SDB, con lieve SDB e controlli sani (SDB vs. lieve SDB vs. controlli, $p < 0,01$). In alto a destra, B: livelli di LTB_4 nell'EBC ottenuto da controlli con SDB, lieve SDB e controlli sani (SDB vs. lieve SDB vs. controlli, $p < 0,01$). In basso, C: livelli di PGE_2 nell'EBC ottenuto da bambini con SDB, con lieve SDB e controlli sani.

stato facilmente raccolto nei bambini anche di 6 anni, suggerendo quindi che questa metodica non invasiva possa fornire un mezzo di valutazione non invasivo dell'infiammazione delle alte vie aeree nella popolazione pediatrica. La nostra esperienza è compatibile con quella di uno studio³⁰ con bambini, da cui l'EBC è stato facilmente ottenuto anche a 4 anni di età ed è risultato utile come mezzo non-invasivo per accertare l'infiammazione polmonare in questo giovane gruppo di pazienti.³¹ Non abbiamo però trovato in letteratura dati su misurazioni dei livelli di leucotrieni nell'EBC di adulti o bambini con SDB, cosicché non sono possibili confronti tra i nostri dati e quelli di altri. Da notare che diversi gruppi hanno esaminato la concentrazione di leucotrieni in adulti con altre malattie respiratorie infiammatorie come fibrosi cistica,³² asma³³ e BPCO durante riacutizzazioni, e hanno trovato tali concentrazioni elevate se confrontate ai controlli o durante i periodi di maggiore malattia.³⁴ Livelli aumentati di leucotrieni sono stati anche riportati nell'EBC di bambini asmatici^{35,36} e tali livelli si abbassavano dopo terapia corticosteroidica.³⁷

Il ruolo dell'infiammazione nella patogenesi delle

SDB nei bambini sta diventando sempre più chiaro nell'ultimo decennio. L'infiammazione sistemica, rappresentata dagli aumentati livelli della proteina C reattiva, è stata rilevata nel siero di pazienti adulti¹⁵ e di bambini con SDB, e correlata col grado di gravità della patologia.¹⁶ In più, l'infiammazione locale delle alte vie respiratorie è stata adesso descritta in adulti con SDB,¹²⁻¹⁴ e tali cambiamenti infiammatori sono stati associati ad un alterato innervamento della mucosa delle alte vie aeree e ad una ridotta funzionalità muscolare dilatatoria delle prime vie respiratorie in adulti con SDB.^{38,39} Pertanto, i processi infiammatori sembrano essere un elemento intrinseco costitutivo della patogenesi e delle disfunzioni delle alte vie aeree nelle SDB.⁴⁰

Da notare come un'attenta analisi dei potenziali fattori confondenti tra i nostri pazienti come atopia, rinite, asma e precedenti allergie suggerisce che le concentrazioni di leucotrieni nell'EBC sono aumentate nei SDB pediatrici, indipendentemente da questi fattori confondenti. È anche importante enfatizzare che non è possibile escludere una contaminazione nell'EBC dalle basse vie aeree usando il nostro metodo di raccolta, e perciò bisognerebbe considerare

i nostri campioni EBC come di maggiore espressione delle vie aeree alte rispetto alle basse invece che di esclusiva espressione delle alte vie aeree.

Abbiamo precedentemente riportato che elevate concentrazioni di leucotrieni erano presenti nel tessuto adenotonsillare di bambini con SDB sottoposti a T&A.¹⁹ Questo studio espandeva i dati e mostra che l'innalzamento dei valori di leucotrieni nelle alte vie aeree nei bambini con SDB può essere identificato nei bambini con fenomeni di russamento, e particolarmente quando il loro SDB è di sufficiente gravità da giustificare un intervento T&A. Diversamente da altre condizioni di infiammazione delle vie respiratorie,⁴¹ non abbiamo rilevato nessun aumento dei livelli di prostaglandine nell'EBC di bambini con SDB. Mentre non possiamo dedurre gli esatti meccanismi patogenetici sottostanti all'attivazione e all'amplificazione dei processi infiammatori nelle alte vie aeree dei bambini con fenomeni di russamento, e in particolare di quelli che richiedono trattamento per SDB, l'aumento dell'espressione dei leucotrieni può riflettere l'attivazione di sottopopolazioni selettive di cellule infiammatorie (come neutrofili o altre cellule infiammatorie mieloperossidasi positive)¹⁹ che migrano verso questi siti di infiammazione o sono state up-regolate dalle locali citochine in questi siti infiammatori (cioè tonsille ed adenoidi). Infatti, i neutrofili possono migrare nei tessuti tonsillari,⁴² esprimono il recettore 1 cys-LT¹⁹ e perciò possono avere un ruolo, come in altre condizioni tra cui l'asma,⁴³ nella proliferazione del tessuto linfo-adenideo o nell'aumentata collassabilità delle alte vie aeree associata con SDB nei bambini.⁴⁴ Mentre abbiamo in precedenza mostrato che l'antagonista del recettore 1 cys-LT è di beneficio nella gestione dei bambini con lieve SDB,¹⁹ il fatto che sia LTB₄ che cys-LT sono aumentati nell'EBC dei bambini con più grave SDB fa sorgere la possibilità di usare un inibitore della 5-lipossigenasi per trattare questa condizione, visto che così sarebbe inibita la sintesi sia del LTB₄ che dei cys-LT.

Da notare come le differenze nel BMI tra i vari gruppi potrebbero in teoria influenzare il grado di infiammazione, in quanto l'obesità è stata collegata all'aumentata presenza di mediatori dell'infiammazione. Noi crediamo che l'infiammazione delle alte vie aeree, manifestata come un aumento dei livelli di leucotrieni nell'EBC, rappresenti processi locali nelle vie aeree piuttosto che riflettere un coinvolgimento sistemico; perciò, la possibilità che l'obesità contribuisca a questo processo sembra essere meno probabile.⁴⁵

Riassumendo, abbiamo mostrato come l'EBC possa essere prontamente usato come un metodo di valutazione dell'infiammazione delle alte vie aeree nei bambini con SDB. Questo strumento potrebbe esse-

re potenzialmente utile in campo clinico per la valutazione di pazienti pediatrici con fenomeni di russamento.

BIBLIOGRAFIA

- 1 Young T, Peppard P, Gottlieb J. Epidemiology of obstructive sleep apnea, a population health perspective. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 165:1217-1239
- 2 Arens R, McDonough JM, Corbin AM, et al. Upper airway size analysis by magnetic resonance imaging of children with obstructive sleep apnea syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 167:65-70
- 3 Rosen CL. Racial differences in the diagnosis of children obstructive sleep apnea (OSA) [abstract]. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157:A535
- 4 Tal A, Leiberman A, Margulis G, et al. Ventricular dysfunction in children with obstructive sleep apnea: radionuclide assessment. *Pediatr Pulmonol* 1988; 4:139-143
- 5 Brouillette RT, Fernbach SK, Hunt CE. Obstructive sleep apnea in infants and children. *J Pediatr* 1982; 100:31-40
- 6 Marcus CL, Greene MG, Carroll JL. Blood pressure in children with obstructive sleep apnea. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157:1098-1103
- 7 Gozal D. Sleep-disordered breathing and school performance in children. *Pediatrics* 1998; 102:616-620
- 8 Guilleminault C, Winkle R, Korobkin R, et al. Children and nocturnal snoring: evaluation of the effects of sleep related respiratory resistive load and daytime functioning. *Eur J Pediatr* 1982; 139:165-171
- 9 Owens J, Oipari L, Nobile C, et al. Sleep and daytime behavioral sleep disorders. *Pediatrics* 1998; 102:1178-1184
- 10 O'Brien LM, Gozal D. Behavioral and neurocognitive implications of snoring and obstructive sleep apnea in children: facts and theory. *Paediatr Respir Rev* 2002; 3:3-9
- 11 O'Brien LM, Mervis CB, Holbrook CR, et al. Neurobehavioral implications of habitual snoring in children. *Pediatrics* 2004; 114:44-49
- 12 Rubinstein I. Nasal inflammation is present in patients with obstructive sleep apnea. *Laryngoscope* 1995; 105:175-177
- 13 Sekosan M, Zakkar M, Wenig B, et al. Inflammation in the uvula mucosa with obstructive sleep apnea. *Laryngoscope* 1996; 106:1018-1020
- 14 Olopade CO, Christon JA, Zakkar M, et al. Exhaled pentane and nitric oxide levels in patients with obstructive sleep apnea. *Chest* 1997; 111:1500-1504
- 15 Shamsuzzaman AS, Winnicki M, Lanfranchi P, et al. Elevated C-reactive protein in patients with obstructive sleep apnea. *Circulation* 2002; 105:2462-2464
- 16 Tauman R, Ivanenko A, O'Brien LM, et al. Plasma C-reactive protein levels among children with sleep-disordered breathing. *Pediatrics* 2004; 113:564-569
- 17 Brouillette RT, Manoukian JJ, Ducharme FM, et al. Efficacy of fluticasone nasal spray for pediatric obstructive sleep apnea. *J Pediatr* 2001; 138:838-844
- 18 Alexopoulos EI, Kaditis AG, Kalampouka E, et al. Nasal corticosteroids for children with snoring. *Pediatr Pulmonol* 2004; 38:161-167
- 19 Goldbart AD, Goldman JL, Veling MC, et al. Leukotriene modifier therapy for mild sleep-disordered-breathing in children. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 172:364-370
- 20 Kheirandish L, Goldbart AD, Gozal D. Intranasal steroids and oral leukotriene modifier therapy in residual sleep-disordered breathing following tonsillectomy and adenoidectomy in children. *Pediatrics* 2006; 117:e61-e66

- 21 Lynch KR, O'Neill GP, Liu Q, et al. Characterization of the human cysteinyl leukotriene CysLT1 receptor. *Nature* 1999; 399:789–793
- 22 Heise CE, O'Dowd BF, Figueroa DJ, et al. Characterization of the human cysteinyl leukotriene 2 receptor. *J Biol Chem* 2000; 275:30531–30536
- 23 Goldbart AD, Goldman GL, Li RC, et al. Differential expression of cysteinyl leukotriene receptors 1 and 2 in tonsils of children with obstructive sleep apnea and recurrent infection. *Chest* 2004; 126:13–18
- 24 Shahid SK, Kharitonov SA, Wilson NM, et al. Increased interleukin-4 and decreased interferon- in exhaled breath condensate of children with asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 165:1290–1293
- 25 Kharitonov SA, Barnes PJ. Exhaled markers of pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163:1693–1722
- 26 Kharitonov SA, Barnes PJ. Exhaled markers of inflammation. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2001; 1:217–224
- 27 Rechtschaffen A, Kales A. A manual of standardized terminology, techniques and scoring systems for sleep stages of human subject. Washington, DC: National Institutes of Health, 1968; publication No. 204
- 28 American Thoracic Society. Standards and indications for cardiopulmonary sleep studies in children. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 153:866–878
- 29 Griese M, Latzin P, Beck J. A non-invasive method to collect nasally exhaled air condensate in humans of all ages. *Eur J Clin Invest* 2001; 31:915–920
- 30 Formanek W, Inci D, Lauener RP, et al. Elevated nitrite in breath condensates of children with respiratory disease. *Eur Respir J* 2002; 19:487–491
- 31 Straub DA, Ehmann R, Hall GL, et al. Correlation of nitrites in breath condensates and lung function in asthmatic children. *Pediatr Allergy Immunol* 2004; 15:20–25
- 32 Carpagnano GE, Barnes PJ, Geddes DM, et al. Increased leukotriene B₄ and interleukin-6 in exhaled breath condensate in cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 167:1109–1112
- 33 Antezak A, Montuschi P, Kharitonov S, et al. Increased exhaled cysteinyl-leukotrienes and 8-isoprostane in aspirin-induced asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 166:301–306
- 34 Biernacki WA, Kharitonov SA, Barnes PJ. Increased leukotriene B₄ and 8-isoprostane in exhaled breath condensate of patients with exacerbations of COPD. *Thorax* 2003; 58:294–298
- 35 Csoma Z, Kharitonov SA, Balint B, et al. Increased leukotrienes in exhaled breath condensate in childhood asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 166:1345–1349
- 36 Zanconato S, Carraro S, Corradi M, et al. Leukotrienes and 8-isoprostane in exhaled breath condensate of children with stable and unstable asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 113:257–263
- 37 Mondino C, Ciabattini G, Koch P, et al. Effects of inhaled corticosteroids on exhaled leukotrienes and prostanoids in asthmatic children *J Allergy Clin Immunol* 2004; 114:761–767
- 38 Hatipoglu U, Rubinstein I. Inflammation and obstructive sleep apnea syndrome: how many ways do I look at thee? *Chest* 2004; 126:1–2
- 39 Kimoff RJ, Sforza E, Champagne V, et al. Upper airway sensation in snoring and obstructive sleep apnea. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164:250–255
- 40 Boyd JH, Petrof BJ, Hamid Q, et al. Upper airway muscle inflammation and denervation changes in obstructive sleep apnea. *Am J Respir Crit Care Med* 2004; 170:541–546
- 41 Montuschi P, Kharitonov SA, Ciabattini G, et al. Exhaled leukotrienes and prostaglandins in COPD. *Thorax* 2003; 58:585–588
- 42 Ebenfelt A, Ivarsson M. Neutrophil migration in tonsils. *J Anat* 2001; 198:497–500
- 43 Gibson PG, Simpson JL, Saltos N. Heterogeneity of airway inflammation in persistent asthma: evidence of neutrophilic inflammation and increased sputum interleukin-8. *Chest* 2001; 119:1329–1336
- 44 Gozal D, Burnside MM. Increased upper airway collapsibility in awake children with obstructive sleep apnea. *Am J Respir Crit Care Med* 2004; 169:163–167
- 45 Leung TF, Li CY, Lam CW, et al. The relation between obesity and asthmatic airway inflammation. *Pediatr Allergy Immunol* 2004; 15:344–350