

اثر استنشاق اسپورهای قارچ پنیسیلیوم بر شدت آسم آلرژیک در مدل موشی

قاسم واحدی^۱، دانیال مطلبی^۲، فرشاد رهبر^۳، عبدالرحمن محرابی نسب^۳، سید شمس الدین اطهاری^{۴*}

۱. مرکز تحقیقات سلامت و ایمنی غذا، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران
۲. دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارومیه، ارومیه، ایران
۳. گروه گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی، مشهد، ایران
۴. گروه ایمنولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، زنجان، ایران

*نشانی برای مکاتبه: SS.Athari@gmail.com

پذیرش برای چاپ: دی نود و هفت

دریافت مقاله: آبان نود و هفت

چکیده

سابقه و هدف: با توجه به صنعتی شدن جوامع امروزی و آلودگی هوا در شهرهای بزرگ، معرفی انواع مواد تغذیه‌ای جدید فرآوری شده و آزاد شدن مواد جدید مستعدکننده آلرژی در مواد غذایی و هوا و آپارتمان نشینی خانواده‌ها، اسپورهای قارچی می‌توانند در افراد حساس، به عنوان یکی از مشکلات اصلی درگیرکننده در کودکان و باعث ایجاد ابتلا به بیماری آسم باشند. لذا در این مطالعه سعی گردیده است تا بررسی اثر مواجهه با قارچ‌ها بر روی بیماری آسم در مدل حیوانی بررسی شود.

روش کار: موش های Balb/C در چهار گروه شش تایی تقسیم شدند: گروه آسمی شده، گروه آسمی شده که قارچ پنیسیلیوم کریزوژنوم را دریافت کردند، گروه آسمی شده که قارچ پنیسیلیوم و داروی ضدقارچ نیستاتین را دریافت کرده اند و گروه سالم (کنترل منفی) که بافر فسفات (PBS) دریافت کردند. پس از القای آسم و استنشاق اسپورهای قارچی و در نهایت پس از آخرین تجویز در روز ۳۱ مایع لاواژ و بافت ریه اخذ و بیان ژن اینترلوکین های ۴، ۵ و ۱۳ و نیز وضعیت پاتولوژی بافت ریه بررسی شد.

یافته ها: در گروهی که آسمی شده و در معرض اسپورهای قارچی قرار گرفته است میزان بیان ژن اینترلوکین ها و التهاب اطراف برونشها، التهاب اطراف رگها، ترشح موکوس و همچنین هایپرپلازی گابلت سل ها نسبت به گروه آسمی افزایش داشته است. در گروه آسمی دریافت کننده اسپورهای قارچی که داروی نیستاتین را نیز دریافت کرده اند کاهش موارد مذکور مشاهده شد.

نتیجه گیری: در موارد مواجهه با قارچها، درمان دارویی ضد قارچی توصیه می شود. مخصوصا در کودکان و افراد دارای اسم آلرژیک که موارد آسیب زایی قارچها در گروه های مذکور می تواند با شدت بیشتر و عوارض شدیدتری همراه باشد.

واژگان کلیدی: آلرژی، آسم، قارچ، پنی سیلیوم، اسپور

مقدمه

گروه سنی می شود و یکی از علل اصلی غیبت کودکان از مدرسه است(۶). عوامل زیادی در محیط اطراف می توانند باعث ایجاد بیماری آسم گشته و یا وضعیت بیماری افراد دارای استعداد ژنتیکی ابتلا به آسم را وخیم تر کنند. از جمله عوامل محیطی می‌توان به گرد و غبار، دود و دخانیات، مواد شیمیایی، عطر و ادکلن، گرده گیاهان، پشم و موی حیوانات و نیز اسپورهای قارچی و سایر موارد اشاره نمود(۶ و ۷).

با توجه به تغییر وضعیت زندگی جوامع امروزی و شیوع وضعیت آپارتمان نشینی در خانواده ها، محیط داخلی آپارتمان که یک محیط بسته با رطوبت و دمای بالا می باشد باعث رشد یک سری از قارچها شده و سپس اسپور این قارچها می‌توانند به عنوان یکی از عوامل اصلی مشکلات تنفسی و آلرژی و آسم در کودکان عمل نمایند(۸-۱۰). رشد این

آسم یک بیماری التهابی مجاری هوایی است که در آن، واکنش های سیستم ایمنی و پاسخ های ایمنولوژیک منجر به تغییرات مجاری هوایی گشته و باعث تنگی مجاری هوایی شده و به سرفه و خس خس سینه در افراد مبتلا منجر می‌شود(۱ و ۲). علت عمده آسم واکنش های آلرژیک می باشد که در طی آن فرد ابتدا حساس شده و سپس در نهایت برخورد با آلرژن موجب واکنش های آسمی مانند تنگی مجاری هوایی و افزایش ترشح موکوس، التهاب برونش ها و کاهش میزان تنفس فرد می‌شود(۲-۴). آسم یکی از مشکلات اصلی جامعه امروزی بوده که با صنعتی شدن جوامع میزان بروز و شیوع آن به شدت رو به افزایش است. همچنین با افزایش سطح بهداشت جوامع، میزان شیوع بیماری های آلرژیک از جمله آسم به شدت رو به افزایش است(۴ و ۵). آسم بیماری هست که کودکان را بیشتر درگیر میکند و باعث مشکلات شدیدی در این

میکروسکوپ، میزان 10^2 اسپور قارچی را به صورت استنشاقی به مدت سه روز در روزهای ۲۵ و ۲۷ و ۲۹ دریافت کردند.

۳- گروه آسمی شده و مواجهه شده با اسپور قارچی و درمان شده با داروی ضدقارچ: اسپور قارچ پنیسیلیوم کشت شده را به روشی که گفته شد، به صورت استنشاقی به مدت سه روز در روزهای ۲۵ و ۲۷ و ۲۹ دریافت کردند و همچنین در روزهای ۲۳ تا ۳۰ نیز داروی نیستاتین را دریافت کرده اند.

۴- گروه سالم (کنترل منفی) که همانند گروه ۱ بوده ولی بجای دریافت اوآلبومین فقط PBS دریافت نموده اند.

در نهایت در روز ۳۱ موش ها به شکل انسانی یوتانایز شده و نمونه مایع لاواژ و بافت ریه اخذ گردید و آزمایشات زیر بر روی آنها انجام گردید:

بررسی بیان ژن اینترلوکین های ۴، ۵ و ۱۳: برای بررسی وضعیت این سه سایتوکاین ابتدا از نمونه سلول های مایع لاواژ ریه RNA کل استخراج و سپس cDNA از روی آن با استفاده از پرایمرهای ویژه (۱۴) ساخته شده و میزان بیان ژن های مذکور با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ژن و با روش Real-Time PCR مورد بررسی قرار گرفت.

بررسی وضعیت پاتولوژی مقاطع ریه: از بافت ریه مقاطع هیستوپاتولوژی تهیه شد و با رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین مورد بررسی قرار گرفت. شدت التهاب اطراف رگ و التهاب اطراف برونشها و همچنین هایپرپلازی گابلت سل ها و افزایش ترشح موکوس در مجاری هوایی با استفاده از یک روش امتیازدهی توسط دو متخصص پاتولوژیست مستقل مورد بررسی قرار گرفت.

در نهایت میانگین اعداد و امتیازات ثبت شده، مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. برای مقایسه میان گروهها از آزمون دانت (Dunn's test) و برای مقایسه گروهها با گروه کنترل از آزمون توکی (Tukey's test) استفاده شد. نتایج مقایسه ای که اعداد پی (P values) کمتر از ۰/۰۵ داشتند به عنوان معنادار در نظر گرفته شدند.

یافته ها

در گروهی که آسمی شده و در معرض اسپورهای قارچی قرار گرفته بود میزان بیان ژن اینترلوکین ۱۳ و ۴ به میزان معناداری افزایش داشته (P < ۰/۰۵). همچنین میزان بیان اینترلوکین ۵ هم افزایش مختصری نسبت به گروه آسمی بدون در معرض اسپور قرار گرفته داشته است ولی این تغییر معنی دار نبوده است (نمودارهای ۱).

قارچها نه تنها می تواند عفونت قارچی را در بافت های مختلف بدن این افراد به وجود آورد بلکه با درگیر کردن ریه و تحریک سیستم ایمنی باعث افزایش شدت بیماری آسم شود (۹ و ۱۱).

از جمله قارچ های بیماری زا که می توانند مشکلات بهداشتی و سلامتی را در افراد به وجود بیاورند و همچنین باعث تشدید بیماری آسم شوند، گونه های قارچی اسپریلوس و پنیسیلیوم و گونه های دیگر قارچ های پاتوژن یا فرصت طلب می باشد. قارچ ها با توجه به ترکیبات دیواره اسپورهایی که در هوا آزاد می کنند (شامل پروتئین های قارچی آلرژن)، باعث تشدید وضعیت بیماری آسم و یا شروع مراحل ابتدایی آن می شوند (۱۲ و ۱۳).

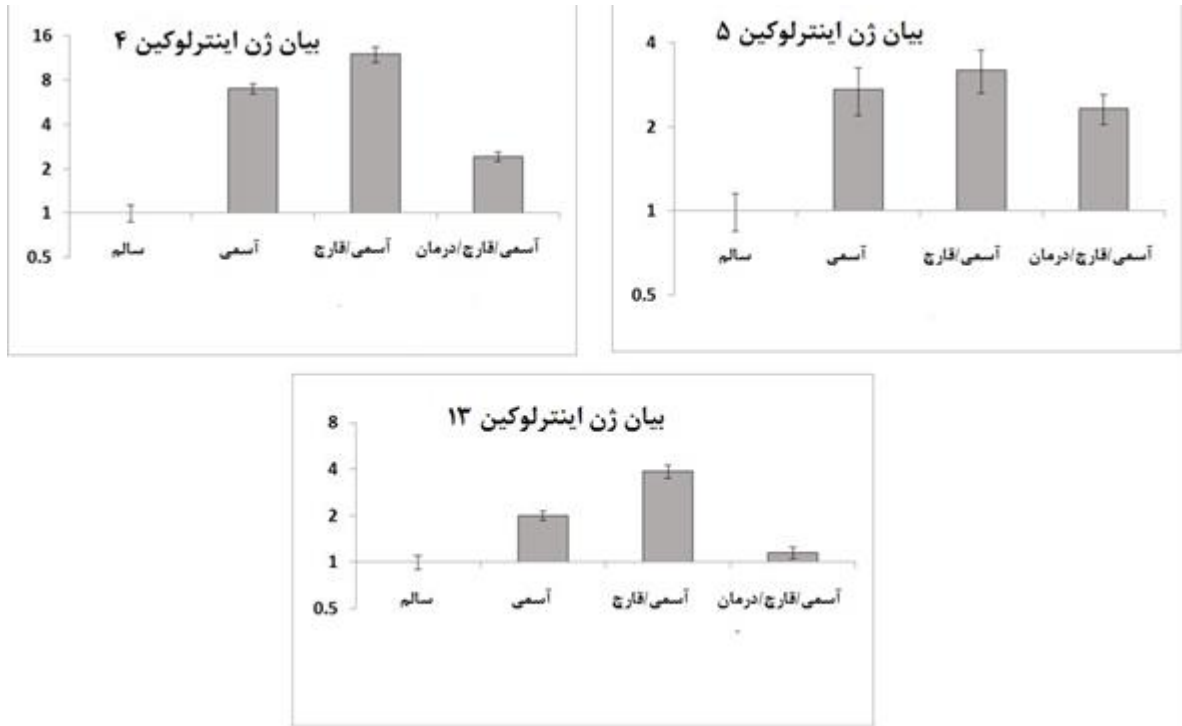
در این مطالعه سعی شده است تا اثر مواجهه با اسپورهای قارچی بر روی بیماری آسم در مدل حیوانی بررسی شود و نیز مشخص شود قرار گرفتن در معرض اسپورهای قارچی چه تاثیری بر وضعیت سیستم ایمنی در بیماری آسم می تواند داشته باشد.

روش کار

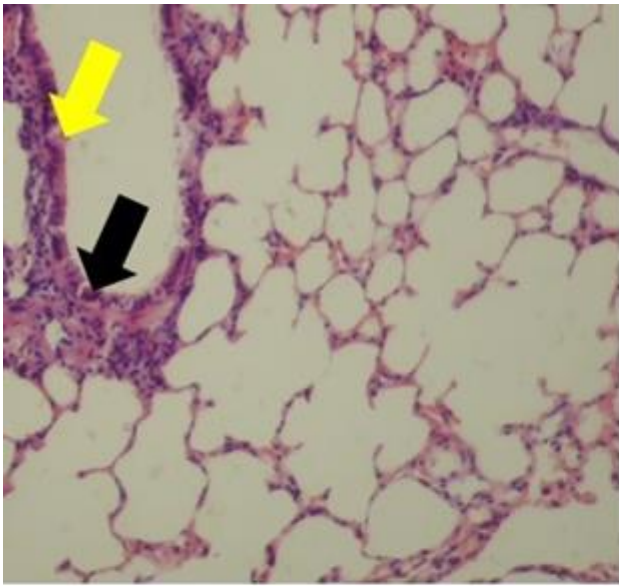
حیوانات مورد استفاده در این مطالعه موش های Balb/C ۸-۶ هفته ای بوده اند که در شرایط استاندارد از نظر دما و رطوبت و روشنایی به مدت ۲ هفته نگهداری شدند تا نسبت به شرایط آزمایشگاه سازگار شوند. موش های ۶ الی ۸ هفته ای در چهار گروه شش تایی به شرح زیر تقسیم بندی شدند:

۱- گروه آسمی شده (کنترل مثبت). ابتدا موش ها در روز های ۱ و ۱۴ اوآلبومین را همراه با اجوانت (یاور) آلوم در حجم یک دهم سی سی PBS به صورت زیر جلدی دریافت کردند و در روزهای ۲۴ و ۲۶ و ۲۸ و ۳۰ محلول ۱٪ اوآلبومین در PBS را به مدت نیم ساعت صورت استنشاقی (از طریق تنفسی) با دستگاه نبولایزر دریافت کردند (۱۴).

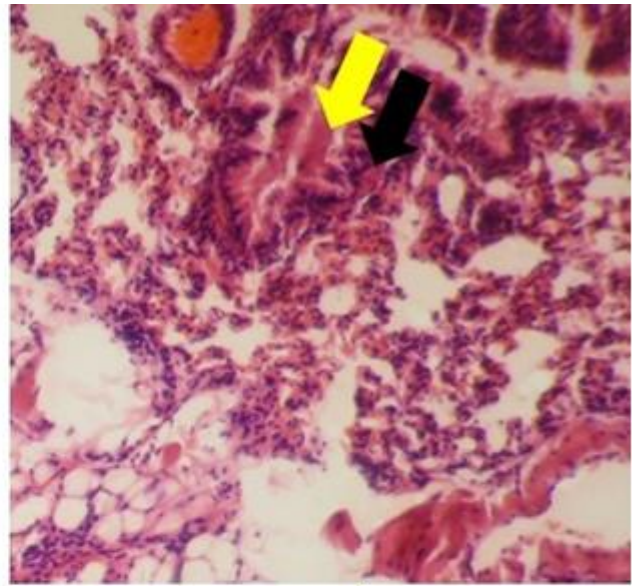
۲- گروه آسمی شده و مواجهه شده با اسپور قارچی: در ابتدا قارچ پنسیلیوم کریزوژنوم در محیط کشت Potato Dextrose Agar در دمای ۳۵ درجه به مدت ۵ روز کشت شد. سپس میزان یک میلی لیتر از محلول استریل سالین (۰/۸۵ درصد نمک) که حاوی ۱ درصد ماده Tween 20 بود، روی سطح محیط کشت ریخته شده و بعد از چند ثانیه جمع آوری شد. پس از شمارش اسپورها زیر



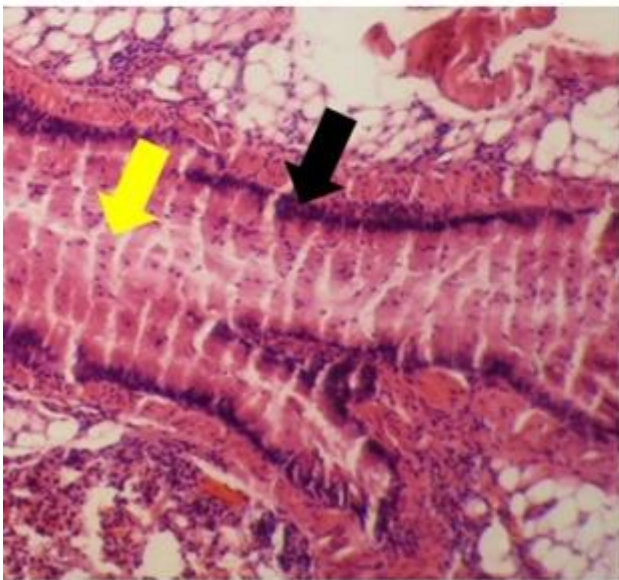
نمودار ۱. نتایج حاصل از بررسی بیان ژن اینترلوکین های ۴، ۵ و ۱۳ در نمودارها PBS نشان دهنده گروه دریافت کننده بافر فسفات، OVA مخفف اوالبومین و گروه آسمی، OVA/Fungi گروه آسمی و مواجهه شده با اسپور قارچی و OVA/Fungi/Drug گروه آسمی و مواجهه شده با اسپور و همچنین تیمار شده با داروی نیستاتین است. نتایج به صورت میزان چندبرابر شدن (Fold change) بیان ژن در گروهها نسبت به گروه کنترل نشان داده شده است. میزان انحراف از معیار به صورت خطوط خطا (Error bars) در نمودار نشان داده شده است. ستونهای دارای یک ستاره به معنای تفاوت معنادار میزان آن ستون نسبت به گروه آسمی است.



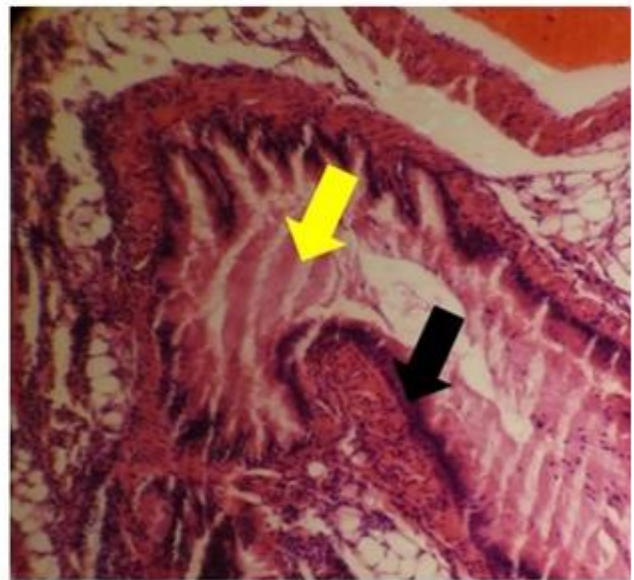
سالم



آسمی



آسمی/قارچ

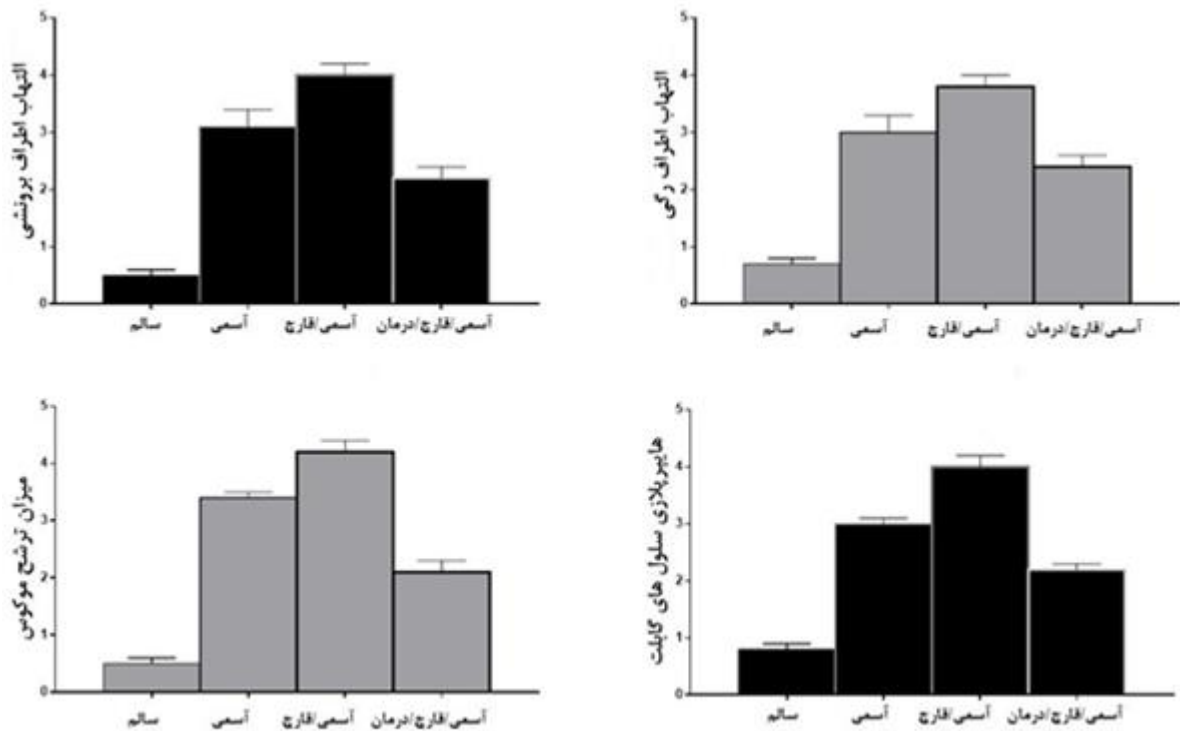


آسمی/قارچ/درمان

تصویر ۱. مقاطع هیستوپاتولوژی از بافت ریه گروه های مورد مطالعه که التهاب، ترشح موکوس و هایپرپلازی سلول های گابلت را نشان میدهد. در تصاویر بافتی، PBS نشان دهنده گروه دریافت کننده بافر فسفات، OVA مخفف اوالبومین و گروه آسمی، OVA/Fungi گروه آسمی و مواجهه شده با اسپور قارچی و OVA/Fungi/Drug گروه آسمی و مواجهه شده با اسپور و همچنین تیمار شده با داروی نیستاتین است. موکوس به رنگ صورتی درون برونشیول ها قابل مشاهده است (فلش زرد). سلول های گابلت (فلش سیاه) نیز از طریق رنگ صورتی و شکل پیازی خود قابل تشخیص هستند. لایه های اپیتلیال اطراف برونشیول ها نشان دهنده هایپرپلازی و التهاب دور برونشی است.

هایپرپلازی گابلت سل ها در موشهای آسمی و مواجهه شده با اسپور نیز افزایش پیدا کرد هر چند این افزایش معنادار نبود (نمودارهای ۲ و تصویر ۱).

همچنین در گروه آسمی دریافت کننده اسپورهای قارچی، التهاب اطراف برونشهاو التهاب اطراف رگها به میزان معناداری افزایش داشته است ($P < 0/05$). میزان ترشح موکوس و همچنین



نمودار ۲. نتایج حاصل از بررسی التهاب در اطراف برونشهای ریوی، التهاب در اطراف رگهای ریوی، میزان ترشح موکوس و هایپرپلازی سلولهای گابلت. در نمودارها PBS نشان دهنده گروه دریافت کننده بافر فسفات، OVA مخفف اوالبومین و گروه آسمی، OVA/Fungi گروه آسمی و مواجهه شده با اسپور قارچی و OVA/Fungi/Drug گروه آسمی و مواجهه شده با اسپور و همچنین تیمار شده با داروی نیستاتین است. نتایج به صورت میانگین امتیازات در بررسی بافت شناسی توسط پاتولوژیست نمایش داده شده است. میزان انحراف از معیار به صورت خطوط خطا (Error bars) در نمودار نشان داده شده است. ستون های دارای یک ستاره به معنای تفاوت معنادار میزان آن ستون نسبت به گروه آسمی است.

کل آلرژن های عصاره قارچی مورد ارزیابی کلینیکی قرار گیرند (۱۶ و ۱۸ و ۱۹). در مطالعه حاضر مشخص شد که وجود عفونت قارچی یا حضور اسپوره های قارچی می تواند وضعیت بیماری آسم را تشدید کند و با استفاده از داروی ضد قارچی می توان این وضعیت آسم را تا حدودی کنترل کرد.

در آلرژی های قارچی که عفونت قارچی ریه هم مطرح می باشد ترومبوز و نکروز سلولهای بافتی ریه رخ می دهد و حتی ممکن است در موارد شدید توپ قارچی در ریه تشکیل شود. تظاهرات بالینی بسیار متنوع بوده و التهاب پلوری نیز شایع است. بیمار سرفه های خشک یا خلط خونی دارد. بررسیهای اولیه شامل رادیوگرافی سینه، همچنین انجام آزمایشهای میکروسکوپی و کشت از نمونه های برونکوالوئولار (لاواژ BAL) و تست های سرولوژی و مولکولی می تواند در تشخیص مفید واقع شود (۲۰ و ۲۱). وجود اسپوره های قارچی در گروه آسمی شده در این مطالعه نشان داد که گرفتگی مجاری هوایی به واسطه افزایش التهاب در ریه و نیز افزایش ترشح موکوس در مخاط برونش ها موجب وخیم تر شدن وضعیت آسم در گروه مواجهه شده با اسپور قارچی شد.

در ازدیاد حساسیت ریوی و آسم، ائوزینوفیلی خون محیطی بوجود می آید. حضور آنتی ژن های قارچی در برونش پاسخ شدید آلرژیک را برمی انگیزد که متعاقب آن واسطه های ایمنی آزاد شده و ائوزینوفیلی مشاهده می شود. ترشح بیش از حد موکوس موجب انسداد برونشی و ممکن است باعث برونشکتازی می شود. بیماری اغلب به فرم آسم حاد وابسته به کورتیکوستروئید درمانی درآمده و در مراحل آخر بیماری فرم فیبروزی بخود می گیرد (۱۷ و ۲۲). حضور قارچ ها و محصولات آنها در مجاری هوایی می تواند بیان ژن های سایتوکاین های آسم را افزایش دهد و درمان ضد قارچی تا حدودی در کنترل بیان ژن های اینترلوکین های ۴ و ۵ و ۱۳ موثر بوده است.

از آنجائیکه اسپوره های قارچ بطورگسترده در محیط پراکنده اند، استنشاق اسپوره های قارچ شایعترین راه عفونت می باشد و کنترل محیطی جهت کاهش تماس با اسپوره های قارچی در محیط بسیار دشوار است. بنابراین اولین اقدام پیشگیرانه در بیماران پرمخاطره (به ویژه بیماران بستری در بخش های ویژه بیمارستان و بیماران دچار انواع نقص های ایمنی و افراد اتوپیک یا حساس به آلرژی) کاستن و یا در صورت امکان حذف کردن منابع آلوده کننده محیطی است. تمیز کردن

در گروه آسمی دریافت کننده اسپوره های قارچی که داروی نیستاتین را نیز دریافت کرده اند میزان بیان ژن های هر سه سایتوکاین نسبت به گروه آسمی پایین بوده و همچنین التهاب اطراف رگها و التهاب اطراف برونشها و نیز ترشح موکوس و هیپرپلازی سلول های گابلت کمتر بوده است که این کاهش معنادار بوده است. همچنین مجاری هوایی این گروه نسبت به گروه آسمی و گروه آسمی دریافت کننده اسپوره های قارچی از وضعیت بهتری برخوردار بوده است (تصویر ۱).

بحث

شیوع آلرژی های قارچی در دهه های اخیر افزایش یافته و موجب بروز مشکلات بهداشتی زیادی در جهان شده است (۲ و ۳). به طور کلی ذرات کپک ها و یا قارچ ها شامل اسپور (کنیدی) و یا قطعات خرد شده اجزای رویشی آنها با تنفس فرد حساس به درون مجاری تنفسی وارد شده و باعث ایجاد و یا تشدید بیماری آسم می شود. بیش از ۸۰ جنس قارچ آلرژیک را شناخته شده اند که از مهمترین آنها آلترناریا، کلادوسپوریوم، پنسیلیوم، کورولاریا، اولوکلا دیوم و آسپرژیلوس می باشد (۱۵-۱۷). آلودگی قارچی با افزایش میزان Ige اختصاصی آنتی ژن قارچی در سرم افراد مبتلا به آسم آلرژیک می تواند به عنوان یکی از عوامل با اهمیت آلرژیک در این گروه از بیماران مطرح باشد. قارچ ها و کپک ها تقریباً در همه منازل و محیط های زندگی ما به خصوص زیرزمین های مرطوب، اطراف پنجره حمام، گنجه های مرطوب، مناطق نگهداری مواد غذایی، یخچال، دستگاه تهویه هوا، گلدان ها و سطل زباله وجود دارند (۱۵ و ۱۸).

قارچ ها علاوه بر آسم مسبب تعداد زیادی از انواع آلرژیک از جمله: آلرژیک برونکوپلمونری میکوزیس، رینیت، سینوزیت آلرژیک و پنومونی ناشی از بیش حساسیتی می باشند. آزمون پوستی به عنوان یک آزمون غربالگری اولیه و ایمونواسی فاز جامد به عنوان آزمون تکمیلی در شناسایی آسم آلرژیک قارچی کاربرد دارد. همچنین جهت مشخص شدن میزان آلرژیک زایی و آنتی ژن مسئول آلرژیک قارچ در هر بیمار نیاز است که

واکنش های ازدیاد حساسیت جلوگیری شود و اگر برخوردی صورت گرفت و عفونت قارچی مشاهده شد درمان دارویی ضد قارچی به همراه درمان های ضد حساسیتی و کمکی برای بهبود تنفس در افراد درگیر با آسم صورت پذیرد. در کودکان و افراد دارای آسم آلرژیک آسیب زایی قارچها می تواند با شدت و حدت بیشتری رخ دهد و عوارض شدیدتری همراه باشد. بنابراین پیشگیری از مواجهه با عوامل حساسیت زا (از جمله اسپوره های قارچی) در این گروه از افراد اهمیت بیشتری دارد.

مرتب و جلوگیری از انباشت گرد و غبار و استفاده از فیلترهای ویژه هوا و ممانعت از هرگونه اقدام ساختمانی در نزدیکی محل بستری بیماران یا افراد حساس به آسم و آلرژی موجب کاهش و حتی حذف اسپوره های قارچ از هوا و در نتیجه کاهش شانس ابتلا به آسم آلرژیک می شود (۲۲، ۲۳). با توجه به نتایج مطالعه حاضر، باید حداکثر تلاش در جهت کاهش مواجهه با قارچها و مواد تولیدی آنها به عمل آید تا از بروز

REFERENCES

1. Bush, RK, Prochnau, JJ., 2004. *Alternaria* induced asthma. *Journal of allergy and clinical immunology*, 113(2):227-34.
2. Agarwal, R., Nath, A., Aggarwal, AN., Gupta, D., Chakrabarti, A., 2010. *Aspergillus* hypersensitivity and allergic bronchopulmonary aspergillosis in patients with acute severe asthma in a respiratory intensive care unit in North India. *Mycoses*, 53(2):138-43.
3. Becker, A., Chan-Yeung, M., 2008. Primary asthma prevention: Is it possible? *Current allergy and asthma reports*, 8(3):255-61.
4. Bateman, E., Hurd, S., Barnes, P., Bousquet, J., Drazen, J., FitzGerald, M et al., 2008. Global strategy for asthma management and prevention: GINA executive summary. *European Respiratory Journal*, 31(1):143-78.
5. Fahy, JV., Liu, J., Wong, H., Boushey, HA., 1993. Cellular and biochemical analysis of induced sputum from asthmatic and from healthy subjects. *American Review of Respiratory Disease*, 147(5):1126-31.
6. Denning, DW, O'Driscoll, BR., Powell, G., Chew, F., Atherton, GT., Vyas, A et al., 2009. Randomized controlled trial of oral antifungal treatment for severe asthma with fungal sensitization: The Fungal Asthma Sensitization Trial (FAST) study. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 179(1):11-8.
7. Wenzel, SE, Schwartz, LB., Langmack, EL., Halliday, JL., Trudeau, JB., Gibbs, RL et al., 1999. Evidence that severe asthma can be divided pathologically into two inflammatory subtypes with distinct physiologic and clinical characteristics. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 160(3):1001-8.
8. Zureik, M., Neukirch, C., Leynaert, B., Liard, R., Bousquet, J., Neukirch, F., 2002. Sensitisation to airborne moulds and severity of asthma: cross sectional study from European Community respiratory health survey. *BMJ: British Medical Journal*, 325(7361):411.

9. Nakamura, Y., Hoshino, M., 2005. TH2 cytokines and associated transcription factors as therapeutic targets in asthma. *Current Drug Targets-Inflammation & Allergy*, 4(2):267-70.
10. Kiliç, M., Altintas, DU., Yilmaz, M., Bingöl-Karakoç, G., Burgut. R., Güneser-Kendirli, S., 2011. Evaluation of efficacy of immunotherapy in children with asthma monosensitized to *Alternaria*. *The Turkish Journal of Pediatrics*, 53:285-94.
11. Khosravi, A., Hedayati, M., Mansouri, P., Shokri, H., Moazzeni, M., 2007. Immediate hypersensitivity to *Malassezia furfur* in patients with atopic dermatitis. *Mycoses*, 50(4):297-301.
12. Mitakakis, TZ, Barnes, C., Tovey, ER, 2001. Spore germination increases allergen release from *Alternaria*. *Journal of allergy and clinical immunology*, 107(2):388-90
13. O'Driscoll, BR., Hopkinson, LC, Denning, DW, 2005. Mold sensitization is common amongst patients with severe asthma requiring multiple hospital admissions. *BMC pulmonary medicine*, 5(1):4.
14. Seyyed Shamsadin Athari, Zahra Pourpak, Gert Folkerts, Johan Garssen, Mostafa Moin, Ian M. Adcock, Masoud Movassaghi, Mehdi Shafiee Ardestani, Seyed Mohammad Moazzeni, Esmail Mortaz. 2016. Conjugated Alpha-Alumina nanoparticle with vasoactive intestinal peptide as a Nano-drug in treatment of allergic asthma in mice. *European Journal of Pharmacology*; 791:811–820
15. Dales, RE., Cakmak, S., Judek, S., Dann, T., Coates, F., Brook, JR et al., 2003. The role of fungal spores in thunderstorm asthma. *CHEST Journal*, 123 (3):745-50.
16. Fair, A., Agbetile, J., Hargadon, B., Bourne, M., Monteiro, WR, Brightling, CE et al., 2010. IgE sensitization to *Aspergillus fumigatus* is associated with reduced lung function in asthma. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 182(11):1362.
17. Maurya, V., Gugnani, HC., Sarma, PU., Madan, T., Shah, A., 2005. Sensitization to *Aspergillus* antigens and occurrence of allergic bronchopulmonary aspergillosis in patients with asthma. *CHEST Journal*, 127(4):1252-9
18. Noverr, MC., Noggle, RM., Toews, GB., Huffnagle, GB., 2004. Role of antibiotics and fungal microbiota in driving pulmonary allergic responses. *Infection and immunity*, 72(9):4996-5003.
19. Patterson, R., Greenberger, PA., Harris, KE., 2000. Allergic bronchopulmonary aspergillosis. *CHEST Journal*, 118(1):7-8.
20. Platts-Mills, T., Vaughan, J., Squillace, S., Woodfolk, J., Sporik, R., 2001. Sensitisation, asthma, and a modified Th2 response in children exposed to cat allergen: a population-based cross-sectional study. *The Lancet.*, 357(9258):752-6
21. Sakiyan, N., Inceoglu, O., 2003. Atmospheric concentrations of *Cladosporium Link* and *Alternaria Nees* spores in Ankara and the effects of meteorological factors. *Turkish Journal of Botany*, 27:77-81
22. Savolainen, J., 1995. A standardized densitometric immunoblotting analysis of *Candida albicans* protein allergens. *Clinical & Experimental Allergy*, 25(4):357-63.
23. Targonski, PV., Persky, VW., Ramekrishnan, V., 1995. Effect of environmental molds on risk of death from asthma during the pollen season. *Journal of allergy and clinical immunology*, 95(5):955-61.