



Univerzitet u Novom Sadu  
Medicinski fakultet  
Doktorske akademske studije

# **Uticaj šestomesečne inhalatorne kortikosteroidne terapije na vrednosti interleukina-33 u serumu kod dece sa alergijskom astmom**

Doktorska disertacija

Mentor:

Kandidat:

Doc. dr Gordana Vijatov Đurić

Asist. dr Borko Milanović

Novi Sad, 2018. godina

Najveću zahvalnost dugujem velikom čoveku, učitelju i mentoru, doc. dr Gordani Vijatov Đurić na ukazanom poverenju, bezrezervnoj podršci i sugestijama u realizaciji teze, kao i na ukupnom pozitivnom pristupu kojim me je hrabrila da istrajem u teškim trenucima ne samo u ostvarivanju ove disertacije, već i u celokupnom mom radu.

Neizmerno sam zahvalan mojoj životnoj saputnici Jovani na nesebičnoj i bezuslovnoj podršci, pomoći i osloncu na ovom i svakom mom putu kao i mojoj ćerki Leni i sinu Igoru, za sve osmehe, sreću i radost koju mi donose uz izvinjenje zbog trenutaka u kojima sam ih zanemarivao.

Posebno se zahvaljujem mojim roditeljima, za nesebičnu požrtvovanost, podršku i ljubav.

Bez njih ne bih bio ovde gde sam sada.

# UNIVERZITET U NOVOM SADU

## MEDICINSKI FAKULTET

### KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

Redni broj: RBR	
Identifikacioni broj: IBR	
Tip dokumentacije: TD	Monografska dokumentacija
Tip zapisa: TZ	Tekstualni štampani materijal
Vrsta rada (dipl., mag., dokt.): VR	Doktorska disertacija
Ime i prezime autora: AU	Borko Milanović
Mentor (titula, ime, prezime, zvanje): MN	Doc. dr Gordana Vijatov Đurić
Naslov rada: NR	Uticaj šestomesečne inhalatorne kortikosteroidne terapije na vrednosti interleukina-33 u serumu kod dece sa alergijskom astmom
Jezik publikacije: JP	Srpski (latinica)
Jezik izvoda: JI	Srpski/Engleski

Zemlja publikovanja: ZP	Republika Srbija
Uže geografsko područje: UGP	AP Vojvodina
Godina: GO	2018.
Izdavač: IZ	autorski reprint
Mesto i adresa: MA	Medicinski fakultet u Novom Sadu, Hajduk Veljkova Ulica 3, Novi Sad
Fizički opis rada: FO	Rad je napisan na 153 strane, ima 7 poglavlja, 21 tabelu, 9 grafikona, 1 sliku, 327 literaturna navoda i 3 priloga.
Naučna oblast: NO	Medicina
Naučna disciplina: ND	Pedijatrija, alergologija, pulmologija
Predmetna odrednica, ključne reči: PO	astma; dete; interleukin-33; hipersenzitivnost; anti-inflamatorni lekovi; testovi respiratorne funkcije; alergija i imunologija
UDK	616.248-097:615.357]-053.2 616-008.8/9
Čuva se: ČU	U biblioteci Medicinskog fakulteta Univerziteta u Novom Sadu Hajduk Veljkova Ulica 3, Novi Sad
Važna napomena: VN	
Izvod: IZ	<b>Uvod:</b> Interleukin 33 (IL-33) ima značajnu ulogu u inflamatornim i autoimunskim oboljenjima, ali se sve više proučava njegov značaj u imunopatogenezi različitih alergijskih oboljenja, uključujući i alergijsku astmu (AA).

	<p><b>Cilj:</b> Ispitivanje vrednosti IL-33 u serumu pacijenata sa AA pre i posle šestomesečne inhalatorne kortikosteroidne terapije (ICS Th) i povezanosti dobijenih vrednosti IL-33 sa određenim kliničkim i laboratorijskim karakteristikama ovih pacijenata.</p> <p><b>Metode:</b> Vrednost IL-33 u serumu određena je kod 61 pacijenta sa AA pre započinjanja i posle sprovedne šestomesečne ICS Th i kod 30 zdrave dece. U obradi podataka primenjene su standardne metode deskriptivne i analitičke statistike.</p> <p><b>Rezultati:</b> Kod pacijenata sa nelečenom AA, serumske vrednosti IL-33 su signifikantno veće u odnosu na pacijente kod kojih je sprovedena šestomesečna ICS Th (<math>p &lt; 0,05</math>), kao i u odnosu na zdravu decu (<math>p &lt; 0,01</math>). Pacijenti sa AA koji su tokom 6 meseci lečeni sa ICS Th i zdrava deca imaju slične vrednosti IL-33 u serumu (<math>p &gt; 0,05</math>). Kod pacijenata sa AA pre započinjanja i 6 meseci posle primene ICS Th ne postoji signifikantna korelacija između vrednosti IL-33 u serumu i eozinofilnih granulocita periferne krvi (<math>p &gt; 0,05</math>), eozinofilnih granulocita u nazalnom sekretu (<math>p &gt; 0,05</math>) i ukupnog IgE u serumu (<math>p &gt; 0,05</math>). Kod pacijenata sa nelečenom AA postoji signifikantna negativna korelacija između vrednosti serumskog nivoa IL-33 i sledećih parametara plućne fukcije: FEV1 (<math>p &lt; 0,05</math>), FEV1/FVC (<math>p &lt; 0,05</math>), PEF (<math>p &lt; 0,05</math>) i MEF 25/75 (<math>p &lt; 0,05</math>). Posle šestomesečne ICS Th poboljšava se plućna funkcija, odnosno</p>
--	---

	<p>dolazi do porasta brzine protoka vazduha u disajnim putevima kao i promena u plućnim volumenima u zavisnosti od stepena opstrukcije u odnosu na vrednosti pre uključenja antiinflamatorne terapije (FEV1, FVC, FEV1/FVC, PEF, MEF 25/75, za sve vrednosti <math>p &lt; 0,01</math>). Dok je signifikantna negativna korelacija dokazana između IL-33 i vrednosti FEV1 (<math>p &lt; 0,01</math>), FVC (<math>p &lt; 0,01</math>) i PEF (<math>p &lt; 0,05</math>).</p> <p><b>Zaključak:</b> Serumski nivo IL-33 je značajno povišen kod dece sa nelečenom, odnosno nekontrolisanom AA. Šestomesečna primena ICS dovodi do značajne redukcije IL-33 u serumu čije su vrednosti u negativnoj korelaciji sa vrednostima FEV1, FVC i PEF, odnosno pozitivnoj korelaciji sa težinom i kontrolom AA. Rezultati naše studije ističu da IL-33 ima značajnu ulogu u imunopatogenezi AA. Određivanje serumske vrednosti IL-33 može biti koristan indikator težine AA.</p>
Datum prihvatanja teme od strane Senata: DP	30.09.2016.
Datum odbrane: DO	
Članovi komisije: (ime i prezime / titula / zvanje / naziv organizacije / status) KO	predsednik: član: član:

**UNIVERSITY OF NOVI SAD**

**FACULTY OF MEDICINE**

**KEY WORD DOCUMENTATION**

Accession number: ANO	
Identification number: INO	
Document type: DT	Monograph documentation
Type of record: TR	Textual printed material
Contents code: CC	PhD Thesis
Author: AU	Borko Milanović
Mentor: MN	Assistant Professor Gordana Vijatov Đurić
Title: TI	The effect of six-month inhaled corticosteroid treatment on IL-33 serum levels in children with allergic asthma
Language of text: LT	Serbian (Roman)
Language of abstract: LA	Serbian/English
Country of publication: CP	Republic of Serbia

Locality of publication: LP	Province of Vojvodina
Publication year: PY	2018.
Publisher: PU	Author's reprint
Publication place: PP	Faculty of Medicine Novi Sad, Hajduk Veljkova Ulica 3, Novi Sad
Physical description: PD	Thesis has 153 pages, 7 chapters, 21 table, 9 graphs, 1 picture, 327 references and 3 supplements.
Scientific field SF	Medicine
Scientific discipline SD	Pediatrics, allergology, pulmology
Subject, Key words SKW	Asthma; Child; Interleukin-33; Hypersensitivity; Anti-Inflammatory Agents; Respiratory Function Tests; Allergy and Immunology
UC	616.248-097:615.357]-053.2 616-008.8/9
Holding data: HD	University of Novi Sad Library of the Faculty of Medicine Novi Sad Hajduk Veljkova Ulica 3, Novi Sad
Note: N	
Abstract: AB	<b>Introduction:</b> Interleukin 33 (IL-33) plays a significant role in inflammatory and autoimmune diseases, but its significance in the immunopathogenesis of various allergic diseases including allergic asthma (AA) has gained increasing attention in research over recent years.



	<p><b>Objective:</b> Testing serum levels of IL-33 in patients with AA before and after a six-month inhaled corticosteroid therapy (ICS Th) and correlation of IL-33 values with specific clinical and laboratory characteristics of these patients.</p> <p><b>Methods:</b> Serum levels of IL-33 were determined in 61 patients with AA prior to the initiation of ICS Th and following the six-month ICS Th as well as in 30 healthy children. Data processing was performed applying standard methods of descriptive and analytical statistics.</p> <p><b>Results:</b> In patients with untreated AA, serum levels of IL-33 were significantly higher as compared to the patients who have received a six month ICS Th (<math>p &lt; 0.05</math>) as well as to healthy children (<math>p &lt; 0.01</math>). Patients with AA, who were treated with ICS Th for six months, and healthy children have similar serum IL-33 (<math>p &gt; 0.05</math>). In patients with AA, significant correlation between serum IL-33 levels and eosinophilic peripheral blood granulocytes (<math>p &gt; 0.05</math>), eosinophilic granulocytes in nasal secretion (<math>p &gt; 0.05</math>) and the total IgE in serum has not been observed for the period prior to initiation and 6 months after the administration of ICS Th.</p> <p>In patients with untreated AA, there is significant negative correlation between serum IL-33 and the following pulmonary functions test results: FEV1 (<math>p &lt; 0.05</math>), FEV1/FVC (<math>p &lt; 0.05</math>), PEF (<math>p &lt; 0.05</math>) and MEF 25/75 (<math>p &lt; 0.05</math>). After a six-month ICS Th, significant improvement of pulmonary functions was evident, that is,</p>
--	--

	<p>increase in airflow speed and lung volume change as compared to the values determined before the initiation of the anti-inflammatory therapy (FEV1, FVC, FEV1/FVC, PEF, MEF 25/75, for all values <math>p &lt; 0.01</math>). Significant negative correlation between IL-33 and the values of FEV1 (<math>p &lt; 0.01</math>), FVC (<math>p &lt; 0.01</math>) and PEF (<math>p &lt; 0.05</math>) has been established.</p> <p><b>Conclusion:</b> Serum level of IL-33 is significantly elevated in children with untreated, i.e., uncontrolled AA. A six-month ICS asthma treatment results in significant reduction of serum levels of IL-33. This level is negatively correlated with FEV1, FVC and PEF values while positively correlated with the severity of the disease and control of AA. The results of our study point out that IL-33 plays an important role in the immunopathogenesis of AA. Quantification of serum IL-33 levels can be a useful indicator of the severity of AA.</p>
Accepted on Senate on: AS	30 <sup>th</sup> of September 2016.
Defended: DE	
Thesis Defend Board: DB	president: member: member:

# Sadržaj

<b>1. UVOD</b> .....	1
<b>1.1. INTERLEUKIN-33</b> .....	5
1.1.1. Ćelijski izvori IL-33 .....	6
1.1.2. IL-33 receptori .....	7
1.1.3. IL-33/ST2 signalni put .....	10
1.1.4. Biološka funkcija IL-33 .....	11
1.1.5. IL-33/ST2 signalni put u imunskim ćelijama .....	12
1.1.6. Značaj IL-33 u održavanju homeostaze organizma .....	16
1.1.7. Značaj IL-33 u infekciji .....	17
1.1.8. IL-33 kao alarmin .....	18
1.1.9. Značaj IL-33 u alergijskoj astmi .....	19
1.1.10. Značaj IL-33 u drugim atopijskim bolestima .....	21
1.1.11. Značaj IL-33 u drugima bolestima .....	22
<b>1.2. ALERGIJSKA ASTMA</b> .....	26
1.2.1. Definicija astme .....	26
1.2.2. Epidemiologija astme .....	27
1.2.3. Patofiziologija astme .....	28
1.2.4. Klasifikacija astme .....	30
1.2.5. Dijagnoza astme .....	33

1.2.6. Diferencijalna dijagnoza astme .....	39
1.2.7. Tok i prognoza astme .....	40
1.2.8. Farmakoterapija dečije astme .....	41
<b>1.3. ALERGIJSKI RINITIS .....</b>	<b>49</b>
1.3.1. Definicija .....	49
1.3.2. Epidemiologija .....	49
1.3.3. Etiopatogeneza.....	49
1.3.4. Klinički simptomi i znaci .....	51
1.3.5. Klasifikacija.....	52
1.3.6. Dijagnoza.....	53
1.3.7. Lečenje.....	53
<b>2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA I HIPOTEZE .....</b>	<b>56</b>
2.1. CILJEVI ISTRAŽIVANJA .....	56
2.2. RADNA HIPOTEZA .....	57
<b>3. MATERIJAL I METODE.....</b>	<b>58</b>
3.1. BOLESNICI .....	58
3.2. METODOLOGIJA RADA.....	60
3.3. STATISTIČKA OBRADA PODATAKA.....	65
<b>4. REZULTATI ISTRAŽIVANJA.....</b>	<b>66</b>
4.1. Poređenje polne strukture, uzrasta i stanja uhranjenosti između ispitivane i kontrolne grupe.....	66

4.2. Karakteristike ispitivane grupe .....	67
4.2.1. Porodična anamneza .....	67
4.2.2. Faktori rizika značajni za nastanak alergijske astme.....	70
4.2.3. Ranije potvrđena preosetljivost na inhalatorne i/ili nutritivne alergene.....	71
4.2.4. Ranije dijagnostikovana alergijska astma .....	71
4.2.5. Ranije dijagnostikovani alergijski rinitis .....	72
4.2.6. Prisustvo alergijskog rinitisa .....	72
4.2.7. Težina astme pre započinjanja lečenja .....	73
4.2.8. Rezultati SPT na inhalatorne alergene kod ispitanika.....	73
4.2.9. Vrsta i učestalost tegoba u ispitivanoj grupi dece .....	76
4.3. Vrednosti serumskog nivoa IL-33 (pg/ml) u ispitivanoj i kontrolnoj grupi .....	78
4.4. Vrednosti eozinofilnih granulocita periferne krvi, eozinofilnih granulocita u nosnom sekretu, ukupnog IgE u serumu kod ispitanika pre i posle sprovedene šestomesečne ICS terapije .....	79
4.5. Vrednosti nalaza plućne funkcije kod ispitanika pre započinjanja ICS, 3 meseca i 6 meseca od uvođenja ICS terapije.....	80
4.6. Vrednosti IL-33 u serumu kod dece uzrasta od 6 do 18 godina sa alergijskom astmom pre započinjanja ICS terapije i kod zdravih ispitanika istog uzrasta .....	82
4.7. Vrednosti IL-33 u serumu kod dece uzrasta 6 do 18 godina sa alergijskom astmom posle sprovedene šestomesečne ICS terapije i kod zdravih ispitanika istog uzrasta..	84
4.8. Vrednosti IL-33 u serumu pre i posle šestomesečne ICS terapije kod dece uzrasta 6 do 18 godina sa alergijskom astmom .....	86

4.9. Vrednosti IL-33 u serumu, ukupnog IgE u serumu, eozinofilnih granulocita u perifernoj krvi, eozinofilnih granulocita u nosnom sekretu, pre i posle šestomesečne ICS terapije kod dece uzrasta od 6 do 18 godina sa alergijskom astmom.....	88
4.10. Vrednost IL-33 u serumu i nalaza plućne funkcije kod dece uzrasta od 6 do 18 godina sa alergijskom astmom .....	92
4.11. Vrednosti IL-33 u serumu u odnosu na težinu, stepen kontrole alergijske astme i primenjenu dozu ICS leka kod dece uzrasta od 6 do 18 godina sa alergijskom astmom.....	95
4.12. Odnos vrednosti IL-33 u serumu kod dece uzrasta od 6 do 18 godina sa alergijskom astmom i kod dece koja su istovremeno imala alergijsku astmu i alergijski rinitis pre započetog lečenja .....	98
4.13. Odnos vrednosti IL-33 u serumu kod dece uzrasta od 6 do 18 godina sa alergijskom astmom i kod dece koja su istovremeno imala alergijsku astmu i alergijski rinitis posle šestomesečnog lečenja .....	101
4.14. Serumske vrednosti IL-33 u odnosu na broj pozitivnih inhalatornih alergena (mono, polisenzibilizacija) dobijenih SPT kod dece uzrasta od 6 do 18 godina sa nelečenom alergijskom astmom .....	104
<b>5. DISKUSIJA</b> .....	105
<b>6. ZAKLJUČCI</b> .....	125
<b>7. LITERATURA</b> .....	126

# Lista skraćenica

---

<b>IL</b>	interleukin
<b>fl-IL-33</b>	interlukin-33 pune dužine ( <i>engl. full-length interleukin-33</i> )
<b>mIL-33</b>	zreli oblik interleukina-33 ( <i>engl. mature interleukin-33</i> )
<b>Ig</b>	imunoglobulin
<b>IFN</b>	interferon
<b>TNF<math>\alpha</math></b>	faktor tumorske nekroze alfa ( <i>engl. Tumor necrosis factor alpha</i> )
<b>LT</b>	limfotoksin ( <i>engl. limfotoxin</i> )
<b>TGF</b>	faktor transformacije rasta ( <i>engl. transforming growth factor</i> )
<b>NF-HEV</b>	nuklearni faktor venula sa visokim endotelom ( <i>engl. nuclear factor from high endothelial venules</i> )
<b>GM-CSF</b>	granulocitno-makrofagni faktor stimulacije rasta ( <i>engl. granulocyte-macrophage colony-stimulating factor</i> )
<b>TSLP</b>	limfopoetina timusne strome ( <i>engl. thymic stromal lymphopietin</i> )
<b>Fc<math>\epsilon</math>RI</b>	visokoafinitetni receptora za IgE
<b>IL-1R</b>	receptora za IL-1
<b>IL-1RI</b>	receptor za interleukin 1-tip 1 ( <i>engl. interleukin 1 receptor-type I</i> )
<b>TLR</b>	receptor sličan Tolu ( <i>engl. Toll-like receptor</i> )
<b>ST2</b>	receptor za IL-33
<b>IL-1RAcP</b>	pomoćni receptorski protein za IL-1 ( <i>engl. IL-1 Receptor Accessory Protein</i> ).
<b>RANKL</b>	receptorski aktivator za nuklearni faktor $\kappa$ B ligand ( <i>engl. receptor activator of nuclear factor <math>\kappa</math>B ligand</i> )

---

---

<b>APRIL</b>	indukujući ligand proliferacije A ( <i>engl. A proliferation-inducing ligand</i> )
<b>RNK</b>	ribonukleinska kiselina
<b>mRNK</b>	informaciona RNK ( <i>engl. messenger RNK</i> )
<b>MyD88</b>	mijeloidni diferencijacijski primarni odgovor 88 ( <i>engl. myeloid differentiation primary response 88</i> )
<b>IRAK</b>	kinaza povezana sa receptorom za interleukin-1 ( <i>engl. interleukin-1 receptor-associated kinases</i> )
<b>TRAF6</b>	faktor 6 udružen sa receptorom za faktor tumorske nekroze ( <i>engl. tumor necrosis factor receptor associated factor 6</i> )
<b>NF-κB</b>	nuklearni faktor kB
<b>MAPK</b>	mitogenom aktivirana proteinska kinaza ( <i>engl. mitogen-activated protein kinase</i> )
<b>PI-3K</b>	fosfatidilinositol 3 kinaza ( <i>engl. phosphatidylinositol 3-kinase</i> )
<b>PKB</b>	proteinska kinaza B ( <i>engl. protein kinase B</i> )
<b>mTOR</b>	ciljni molekul za rapamicin kod sisara ( <i>engl. mammalian target of rapamycin</i> )
<b>JAK</b>	Janus kinaza ( <i>engl. Janus kinasa</i> )
<b>STAT</b>	signalni transduktor i aktivator transkripcije ( <i>engl. signal transducer and activator of transcription</i> )
<b>HMGB1</b>	proteinski kompleks visoke mobilnosti 1 ( <i>engl. high-mobility group box-1</i> )
<b>CD</b>	obeleživač limfocita ( <i>engl. cluster of differentiation</i> )
<b>kDa</b>	kilodalton
<b>ILCs2</b>	limfoidne ćelije urođene imunosti tip 2 ( <i>engl. innate lymphoid cells type 2</i> )
<b>NK</b>	urođenoubilačke ćelije ( <i>engl. natural killer cells</i> )
<b>MSCs</b>	mezenhimalne matične ćelije ( <i>engl. mesenchymal stem cells</i> )
<b>T<sub>H</sub></b>	pomoćni T limfociti ( <i>engl. T helper lymphocytes</i> )

---



---

<b><i>Tregs</i></b>	regulatorne T ćelije ( <i>engl. regulatory T cells</i> )
<b><i>CTL</i></b>	citotoksični T limfociti ( <i>engl. cytotoxic T lymphocytes</i> )
<b><i>DCs</i></b>	dendritske ćelije ( <i>engl. dendritic cells</i> )
<b><i>FELF</i></b>	tečnosti koja oblaže disajne putove ( <i>engl. respiratory extracellular lining fluid</i> )
<b><i>iNOS</i></b>	inducibilna sintetaza azotnog oksida ( <i>engl. inducible isoform nitric oxide synthase</i> )
<b><i>NO</i></b>	azot oksid
<b><i>NO FENO</i></b>	azotni oksid u izdahnutom vazduhu ( <i>engl. fractional exhaled</i> )
<b><i>ECP</i></b>	eozinofilni katjonski protein ( <i>engl. Eosinophil Cationic Protein</i> )
<b><i>BHR</i></b>	bronhijalna hiperreaktivnost
<b><i>RSV</i></b>	respiratorni sincicijalni virus
<b><i>SPT</i></b>	ubodni kožni test ( <i>engl. Skin Prick Test</i> )
<b><i>AA</i></b>	alergijska astma
<b><i>AR</i></b>	alergijski rinitis
<b><i>LAR</i></b>	lokalni alergijski rinitis
<b><i>AD</i></b>	atopijski dermatitis
<b><i>SEL</i></b>	sistemska eritemski lupus
<b><i>RA</i></b>	reumatoidni artritis
<b><i>IBC</i></b>	inflamatorna bolest creva
<b><i>MS</i></b>	multipla skleroza
<b><i>GVHD</i></b>	bolest kalem protiv domaćina ( <i>engl. Graft Versus Host Disease</i> )
<b><i>PEF</i></b>	vršni ekspiratorni protok ( <i>engl. peak expiratory flow</i> ).
<b><i>FEV1</i></b>	forsirani ekspiratorni volumen vazduha izdahnut u prvoj sekundi ( <i>engl. forced expiratory volume in 1 second</i> )
<b><i>FVC</i></b>	forsirani vitalni kapacitet ( <i>engl. forced forced vital capacity</i> )

---

---

<b>MEF</b>	srednji forsirani protok vazduha u ekspirijumu ( <i>engl. mid forced expiratory flow</i> )
<b>MDI</b>	merno-dozni inhaler ( <i>engl. metered-dose inhalers</i> )
<b>DPI</b>	inhaler sa suvim prahom ( <i>engl. dry powder inhaler</i> )
<b>ICS</b>	inhalatorni kortikosteroid ( <i>engl. inhaled corticosteroids</i> )
<b>INCS</b>	intranazalni kortikosteroidi
<b>LTRA</b>	antagonist leukotrijenskih receptora ( <i>engl. leukotriene receptor antagonist</i> ).
<b>LABA</b>	dugodelujući beta 2 agonist ( <i>engl. long-acting beta agonist</i> )
<b>SABA</b>	kartkodelujući beta 2 agonist ( <i>engl. short-acting beta agonist</i> )
<b>ASIT</b>	alergen specifična imunoterapija
<b>SLIT</b>	sublingvalna imunoterapija
<b>GINA</b>	Globalna inicijativa za astme ( <i>engl. Global Initiative for Asthma</i> )
<b>ARIA</b>	Alergijski rinitis i njegov uticaj na astmu ( <i>engl. Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma</i> )
<b>NAEPP 2007</b>	Nacionalni program za obrazovanje i prevenciju astme ( <i>engl. National Asthma Education and Prevention Program</i> )
<b>PRACTALL</b>	Primenljiva alergologija ( <i>engl. Practicing Allergology</i> )
<b>ATS</b>	Američko torakalno društvo ( <i>engl. American Thoracic Society</i> ).
<b>GWAS</b>	Studija povezanosti celokupnog genoma ( <i>engl. Genome-Wide Association Studies</i> )
<b>ISAAC</b>	Internacionalna studija o prevalenciji astme i alergija kod dece ( <i>engl. International Study of Asthma and Allergies in Children</i> )

---

## UVOD

Citokini su regulatorni peptidi koje mogu da proizvode sve ćelije koje u svojoj strukturi imaju jedro. Po prirodi su mali (8 – 40 kilodalton, kDa) proteini, peptidi ili glikoproteini koje proizvode ćelije kao odgovor na stimulaciju. Do sada je identifikovano više od 200 molekula koji pokazuju citokinske osobine uključujući i 38 interleukina. Mnogi citokini imaju funkcije koje se međusobno preklapaju, a mnoge funkcije nisu dovoljno ispitane. Citokini deluju preko specifičnih receptora na ciljnim ćelijama. Vezivanje citokina za receptor dovodi do transkripcije gena što rezultira fenotipskim i/ili funkcionalnim promenama ciljne ćelije. Opšte osobine citokina su: multifaktorijsnost (zavisno od tipa ćelije na koju deluje jedan citokin može ispoljiti različite funkcije), pleotropizam (jedan citokin može da deluje na više tipova ćelija), antagonizam (citokin može da umanjí/isključi dejstvo drugog citokina), sinergizam (citokini mogu međusobno da pojačavaju dejstvo) i hijerarhija (različita efikasnost i prioritet). Prema mestu delovanja citokini mogu imati: autokrini efekat (citokin deluje na ćeliju koja ga je proizvela), parakrini efekat (citokin deluje na susedne ćelije) i endokrini efekat (citokin izlučen u cirkulaciju deluje na udaljene ćelije).<sup>1</sup>

Citokini se mogu klasifikovati na osnovu njihovog ćelijskog porekla, dominantne funkcije i prema strukturnoj sličnosti.

Prema ćelijskom poreklu, citokini se dele na:

- Limfokine – citokini koje proizvode limfociti
- Monokine – citokini proizvodjeni od strane monocita i makrofaga
- Interleukine – citokini proizvodjeni od strane leukocita

U odnosu na dominantnu funkciju, citokini se klasifikuju na:

- Proinflamatorne citokine – odgovorni za akutnu inflamaciju
- Antiinflamatorne citokine – inhibitori inflamacije i pomažu u ozdravljenju
- Faktore rasta – neophodni za ćelijski rast i preživljavanje
- Hemokine – odgovorni za usmereno kretanje ćelija.

Prema strukturnim karakteristikama, citokini se klasifikuju u sledeće citokinske familije:

- Familija hematopoetina koju čine: interleukin-2 (IL-2), IL-4, IL-5, IL-13, IL-15, IL-21.
- Familija interferona (IFN): IFN $\alpha$ , IFN $\beta$ , IFN $\gamma$ .
- Familija faktora tumorske nekroze: TNF $\alpha$  (*engl.* Tumor necrosis factor  $\alpha$ , faktor tumorske nekroze  $\alpha$ ), LT $\alpha$  (*engl.* limfotoksin  $\alpha$ , limfotoksin  $\alpha$ ), LT $\beta$ , RANKL (*engl.* receptor activator of nuclear factor  $\kappa$ B ligand, receptorski aktivator za nuklearni faktor  $\kappa$ B ligand), APRIL (*engl.* A proliferation-inducing ligand, indukujući ligand proliferacije A) i drugi.
- IL-1 familija (IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-1Ra, IL-18, IL-33, IL-36 $\alpha$ , IL-36 $\beta$ , IL-36 $\gamma$ , IL-36Ra, IL-37, IL-38)
- IL-17 familija (IL-17, IL-25)
- IL-10 familija (IL-10, IL-22)
- IL-12 familija (IL-12, IL-23, IL-35, IL-27)
- TGF (*engl.* transforming growth factor, faktor transformacije rasta) familija (TGF- $\alpha$ ,  $\beta$ )
- Familija hemokina: hemokinski ligand sa C-C motivom (CCL) 1 do 28, hemokinski ligand sa CXC motivom (CXCL) 1 do 17, hemokinski ligand sa XC motivom (XCL) 1 i 2, hemokinski ligand 1 sa CX3C motivom (CX3CL1).<sup>2,3</sup>

IL-1 familiju citokina čini 11 sledećih članova: IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-1Ra, IL-18, IL-33, IL-36 $\alpha$ , IL-36 $\beta$ , IL-36 $\gamma$ , IL-36Ra, IL-37, IL-38.<sup>4</sup>

IL-1 familija citokina ima sledeće značajne osobine:

- Svi članovi IL-1 familije poseduju domen sličan IL-1 citokinu čija proteinska struktura ima karakteristike „lista deteline” (*engl.* trefoil).
- Članovi IL-1 familije se oslobađaju nezavisno od signalnih puteva i aktivnosti endoplazmatičnog retikuluma i Goldžijevog aparata. Njihovo oslobađanje se vrši alternativnim sekretornim mehanizmima, preko sekretornih lizozoma, egzozoma, egzocitoznih vezikula ili u sklopu ćelijske nekroze.
- Svi članovi aktiviraju sebi svojstvene signalne puteve preko heterodimerskog kompleksa koji sadrži receptor i koreceptor.
- Funkcija članova IL-1 familije je autoregulatorna preko solubilnog receptora ili antagonističkog peptida.
- Neki članovi IL-1 familije citokina imaju istovremeno dvojnu funkciju, kao transkripcioni faktor u jedru ili kao citokin kada se oslobode. Primer su IL-1 $\alpha$ , IL-33 i IL-37.

Funkcija članova IL-1 familije je veoma značajnu u imunskim procesima i patološkim stanjima. Kao što je prikazano u tabeli 1: IL-1 $\alpha$  i IL-1 $\beta$  su usko povezani sa inflamatornim odgovorom. Funkcija IL-1 se može regulisati preko antagonističkog receptora za IL-1 (IL-1Ra). IL-18 utiče na razvoj T<sub>H</sub>1 (*engl.* T helper, T pomoćnog) zapaljenskog odgovora tako što podstiče efekat IL-12. U odsustvu IL-12 i IL-15, IL-18 može stimulisati T<sub>H</sub>2 zapaljenski odgovor. IL-36 se sastoji iz IL-36 $\alpha$ , IL-36 $\beta$  i IL-36 $\gamma$  izoforme koje imaju zajednički receptorski kompleks i imaju proinflamatornu ulogu u dermatitisu i zapaljenju pluća. Funkcija IL-36 je kontrolisana preko antagonističkog receptora za IL-36 (IL-36Ra) i IL-36 vezujućeg proteina. IL-37 je skoro identifikovan kao imunski regulator koji inhibira inflamatorni odgovor. Sam mehanizam dejstva nije u potpunosti razjašnjen. IL-33 svoju aktivnost ispoljava aktivacijom ST2 i IL-1RAcP receptora. Aktivacija IL-33/ST2 signalnog puta indukuje T<sub>H</sub>2 zapaljenski odgovor u raznim imunskim i alergijskim bolestima. Aktivnost IL-33/ST2 osovine može biti regulisana uticajem solubilnog ST2 (sST2) receptora.<sup>5, 6, 7</sup>

**Tabela 1. Članovi IL-1 familije**

Naziv familije	Naziv	Receptor/ koreceptor	Osobina	Sintetiše se kao prekursor	Neophodna obrada za aktivnost	Hromosom lokacija
IL-1F1	IL-1 $\alpha$	IL-1RI IL-1RAcP	Proinflamatorno delovanje	Da	Ne	2q14
IL-1F2	IL-1 $\beta$	IL-1RI IL-1RAcP	Proinflamatorno delovanje	Da	Da	2q14
IL-1F3	IL-1Ra	IL-1RI nepoznat	Antagonist za IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$	Ne	Ne	2q14.2
IL-1F4	IL-18	IL-18R $\alpha$ IL-18R $\beta$	Proinflamatorno delovanje	Da	Da	11q22.2- q22.3
IL-1F5	IL- 36Ra	IL-1Rrp2 nepoznat	Antagonist za IL-36 $\alpha$ , IL-36 $\beta$ , IL-36 $\gamma$	Da	Da	2q14
IL-1F6	IL-36 $\alpha$	IL-1Rrp2 IL-1RAcP	Proinflamatorno delovanje	Da	Da	2q12 - q14.1
IL-1F7	IL-37	IL-18R $\alpha$ IL-18BP	Antinflamatorno delovanje	Da	Da	2q12 – q14.1
IL-1F8	IL-36 $\beta$	IL-1Rrp2 IL-1RAcP	Proinflamatorno delovanje	Da	Da	2q14
IL-1F9	IL-36 $\gamma$	IL-1Rrp2 IL-1RAcP	Proinflamatorno delovanje	Da	Da	2q12 – q21
IL-1F10	IL-38	IL-1Rrp2 nepoznat	Antinflamatorno delovanje	Da	? Ne	2q13
IL-1F11	IL-33	ST2 IL-1RAcP	T <sub>H</sub> 2 odgovor, proinflamatorno delovanje	Da	Ne	9p24.1

## **1.1 INTERLEUKIN-33**

IL-33 je prvobitno identifikovan u venulama sa visokim endotelom i nazvan je nuklearni faktor venula sa visokim endotelom (*engl.* nuclear factor in high endothelial venules, NF-HEV).<sup>8</sup> Sem što se pretpostavljalo da ima ulogu u kontroli specijalizovanog fenotipa visokih endotelnih ćelija venula, stvarna uloga ovog citokina nije bila poznata. Godine 2005. Schmitz i autori su utvrdili da je NF-HEV član IL-1 superfamilije i da deli mnoga molekularna svojstva sa nekoliko citokina ove familije kao što su IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-1Ra, IL-18. Kako je identifikovan kao član IL-1 citokinske familije NF-HEV je preimenovan u IL-33 (poznat još i kao IL-1F11).<sup>9</sup>

Gen za IL-33 je identifikovan 1999. godine u vazospastičnim cerebralnim arterijama kod psa posle eksperimentalno indukovane subarahnoidalne hemoragije i nazvan je DVS27 gen.<sup>10</sup> Humani gen za IL-33 je prvi put opisan 2003. godine kao gen nuklearnog faktora venula sa visokim endotelom (NF-HEV).<sup>8</sup> Humani gen za IL-33 je lokalizovan na hromozomu 9 i kodira protein koji sadrži 270 aminokiselina. Molekularna težina humanog IL-33 proteina iznosi 30 kDa. Kada se upoređi sa ostalim članovima IL-1 familije citokina, IL-33 najviše sličnosti ima sa IL-18.<sup>9</sup>

IL-33 se kao i ostali članovi familije IL-1 (izuzetak je IL-1Ra) sintetiše kao prekursor protein u punoj dužini - fl-IL-33 (*engl.* full-length IL-33, IL-33 pune dužine). N terminalni kraj fl-IL-33 sadrži HTH (*engl.* helix-turn-helix, heliks-zavoj-heliks) i NLS (*engl.* nuclear location sequence, jedarna lokalizaciona sekvenca) funkcionalne motive koji olakšavaju transport fl-IL-33 u ćelijsko jedro. fl-IL-33 poseduje nekoliko regiona na kojima se odvija enzimsko „cepanje” od strane proteaza. Humani fl-IL-33 sadrži 270 amino kiselina. U strukturi fl-IL-33 se razlikuju tri domena. Prvih 65 aminokiselina u molekulu fl-IL-33 čine nuklearni domen. Deo molekule fl-IL-33 od 66 do 111 aminokiseline predstavlja aktivacioni domen, dok segment fl-IL-33 od 112 do 270 aminokiseline čini domen sličan IL-1 citokinu. Identifikovana su različita mesta „cepanja” u aktivacionom domenu fl-IL-33 od strane različitih inflamatornih proteaza, pri čemu nastaju različiti oblici zrele forme IL-33 - mIL-33 (*engl.* mature IL-33). Proteinaze produkovane od strane neutrofila tokom inflamacije kao što su elastaza,

katepsin G i proteinaza 3 cepaju fl-IL-33 pri čemu nastaje mIL-33. U zavisnosti od mesta enzimskog cepanja fl-IL-33, mogu nastati tri aktivne forme mIL-33: IL-33<sub>95-270</sub>, IL-33<sub>99-270</sub>, IL-33<sub>109-270</sub>. Molekularna masa navedene tri humane mIL-33 forme se kreće od 18 do 21 kDa. Takođe, i druge proteinaze poreklom drugih inflamatornih ćelija kao što su granzim B, triptaza i himaza imaju mogućnost enzimskog delovanja u aktivacionom domenu fl-IL-33. Oba oblika IL-33, fl-IL-33 kao i mIL-33 mogu se vezati za ST receptor, međutim ispitivanja pokazuju da mIL-33 ima oko 10 puta veću biološku aktivnost u odnosu na fl-IL-33.<sup>11</sup> Kaspaza 3 i 7 su enzimi koji se oslobađaju u procesu ćelijske apoptoze. Svoje proteolitičko dejstvo mogu ispoljiti u domenu sličnom IL-1 citokinu unutar molekula IL-33 i dovesti do njegove degradacije i inaktivacije što dovodi do slabljenja njegovog proinflamatornog efekta.<sup>12</sup>

### 1.1.1 Ćelijski izvori IL-33

Ispitivanja na animalnim i humanim modelima su pokazala da je IL-33 konstitutivno prisutan kod zdravih jedinki i to prvenstveno u jedrima nehematopoetskih ćelija dok se u specijalizovanim populacijama epitelnih i endotelnih ćelija identifikuje u većim količinama.<sup>9, 13</sup>

Izvor humanog IL-33 mogu biti različiti organi. Do sada je dokazano da određene ćelije pluća, srca, creva, zglobova, kože, slezine, limfnih čvorova i mozga imaju sposobnost produkcije IL-33. IL-33 se eksprimira u raznim nehematopoetskim ćelijama, prvenstveno u ćelijama urođenog imunskog sistema kao što su fibroblasti, adipociti, glatko mišićne ćelije, endotelne i epitelne ćelije, makrofagi i dendritske ćelije. Nasuprot tome, stečene imunske ćelije (T i B limfociti) nemaju sposobnost sinteze IL-33.<sup>14</sup>

U uslovima homeostaze organizma, sinteza IL-33 je na veoma niskom nivou i veoma ga je teško detektovati u serumu.<sup>15</sup> Činjenica da se vrednosti IL-33 mogu veoma lako detektovati u inflamiranim tkivima i organima, kao i u serumu tokom traume, infektivnih i inflamatornih poremećaja, ukazuje na njegovu proinflamatornu funkciju.<sup>16</sup> Ispitivanje sprovedeno na miševima pokazuje da kada se jednom eksprimira, IL-33 je uvek lokalizovan u jedru ćelije koja ga sintetiše zahvaljujući prisustvu HTH i NLS domena na N terminalnom delu fl-IL-33, koji omogućuju translokaciju IL-33 u ćelijsko jedro.<sup>17</sup> Navedena činjenica daje objašnjenje zašto je inicijalno po otkriću, IL-33 dobio naziv nuklearni faktor venula sa visokim endotelom.<sup>8</sup>



Ispitivanja na kulturama ćelija su pokazala da IL-33 može biti sintetisan od strane određenih ćelijskih kultura i oslobođen kada ćelija pretrpi oštećenje ili nekrozu.<sup>13</sup> Studija sprovedena na kulturi humanih bronhijalnih epitelnih ćelija izloženih alergogenom ekstraktu gljive *Alternaria* pokazuje mogućnost stimulacije sekrecije IL-33 u odsustvu ćelijskog oštećenja.<sup>18</sup> Mehanizam sekrecije IL-33 od strane intaktnih ćelija nije u potpunosti jasan. Ističe se mogućnost nekonvencionalne sekrecije kao i kod drugih članova IL-1 familije, preko sekretornih lizozoma, egzozoma ili egzocitoznih vezikula ali i putem klasičnih mehanizama sekrecije proteina.<sup>19</sup>

Oslobađanje fl-IL-33 od strane ćelija koje su bile izložene hemijskim i fizičkim oštećenjima, infekcijama ili posle nekroze ćelija nezavisno od uzroka njenog nastanka, je dokumentovano u različitim in vitro sprovedenim ispitivanjima.<sup>11</sup> U in vivo uslovima kod ljudi i miševa, ekstracelularni (tkivne tečnosti, organi, krv) IL-33 se identifikuje u mnogim inflamatornim, traumatskim ili infektivnim uslovima.<sup>16</sup> Kada se oslobodi, fl-IL-33 može biti obrađen u pravcu m-IL-33 od strane neutrofilne serin proteaze, katepsina G i elastaze koji se oslobađaju tokom infekcije ili inflamacije. Oslobođen fl-IL-33 ili m-IL-33 predstavljaju citokine koji posle vezivanja za svoje receptore pokreću signalni put i imaju značajnu ulogu u imunitetu i bolesti.<sup>20</sup> Rezultati većeg broja studija su pokazali da IL-33 ukazuje na prisustvo traume, inflamacije ili infekcije domaćina.<sup>21</sup>

### **1.1.2. IL-33 receptori**

Citokini koji pripadaju porodici IL-1 svoju funkciju ostvaruju vezujući se za istoimenu porodicu receptora (IL-1R) koji po strukturi pripadaju superfamiliji TLR-IL-1R (*engl.* Toll-like receptor/interleukin-1 receptor, receptor sličan Tolu/interleukin 1 receptor). TLR čine porodicu transmembranskih signalnih proteina. Kod sisara je do danas opisano 13 TLR gena. Po sastavu, TLR su transmembranski glikoproteini. Njihov ekstracelularni domen se sastoji iz leucin-bogatih ponavljajućih sekvenci (*engl.* leucine-rich repeats, LRR). Citoplazmatski domen je homolog domenu receptora za interleukin 1 (IL-1R), pa se zajedno nazivaju Toll/IL-1R domen ili TIR i čine tzv. receptorsku superfamiliju. Za razliku od TLR, ekstracelularni domen IL-1R se sastoji iz Ig-sličnih sekvenci.<sup>22</sup>

Receptor za IL-33 je heterodimerski kompleks sačinjen od molekule ST2 (*engl.* suppression of tumorigenicity, supresor tumorogeneze) i IL-1RAcP (*engl.* IL-1 Receptor

Accessory Protein, pomoćni receptorski protein za IL-1). IL-33 svoje biološke efekte ostvaruje vezivanjem za specifični, primarni ST2 kao i za koreceptor - IL-1RAcP.<sup>23</sup> ST2 receptor je član porodice IL-1 receptora. IL-1RAcP predstavlja zajedničku komponentu receptora za veći broj citokina koji pripadaju familiji IL-1.<sup>24</sup>

Gen za ST2 receptor (raniji nazivi T1, DER4, Fit-1 gen) je izolovan od strane Tominag-e i saradnika 1989. u fibroblastima miša posle stimulacije sa onkogenom.<sup>25</sup> ST2 gen je kod ljudi smešten na drugom hromozomu, dok je kod miševa lokalizovan na prvom hromozomu.<sup>26</sup> Humani i mišji ST2 gen kodiraju dve mRNA: kraću mRNA (2,7 kilobaznih parova - kb) koja generiše sintezu solubilne (sekretorne) izoforme ST2 receptora (sST2) i dužu varijantu mRNA (5 kb) koja daljom obradom sintetiše transmembransku izoformu ST2 receptora (ST2L). Humani ST2 gen sem navedenih, alternativno kodira još dve mRNA koje generišu sintezu još dodatno dve izoforme ST2 proteina i obeležavaju se ST2V i ST2VL. sST2 i ekstracelularni domen ST2L su identični, osim što sST2 sadrži dodatnih devet amino kiselina na C terminalnom kraju molekule.<sup>33,27</sup>

Ekstracelularni domen membranske forme ST2 receptora se sastoji od tri motiva čija građa je slična imunoglobulinu (Ig). Prva dva, distalna motiva su međusobno spojena i povezana sa trećim, membranskim motivom. IL-33 se za ovaj kompleks vezuje između prva dva i trećeg motiva. Citoplazmatski deo membranske forme ST2 receptora čini TIR (Toll/IL-1 receptor) domen.<sup>23, 28</sup> Membranska forma ST2 receptora je eksprimirana na mnogim ćelijama urođenog imuniteta poput: monocita, makrofaga, dendritskih ćelija, eozinofilnih i bazofilnih granulocita, mast ćelijama, ILCs2 (*engl.* innate lymphoid cells type 2, limfoidne ćelije urođene imunosti tip 2), nuocitima, kao i na određenim podgrupama limfocita: NK ćelijama (*engl.* natural killer cells, urođenoubilačke ćelije), NK-T ćelijama (*engl.* natural killer T cells, urođenoubilačke T ćelije), CD8<sup>+</sup> T ćelijama, T<sub>H</sub>2 ćelijama (T helper type 2 cells, tip 2 pomoćne T ćelije) i B1 ćelijama. ST2 protein je visoko eksprimiran na MSCs ćelijama (*engl.* mesenchymal stem cells, mezenhimalne matične ćelije). Prisustvo ST2receptora na T<sub>H</sub>2 i odsustvo na T<sub>H</sub>1 ćelijama ga čini visoko selektivnim markerom između ove dve ćelijske linije.<sup>32, 29, 30, 31, 32, 33</sup>

ST2 receptor je identifikovan i na ćelijama različitih organa kao što su pluća, želudac, mozak, slezina, srce, bronhijalnim epitelnim ćelijama, fibroblastima, glatkomišićnim ćelijama, keratinocitima.<sup>9</sup> Dosadašnja ispitivanja su pokazala da mogućnost sinteze sST2 receptora imaju sledeće ćelija: T<sub>H</sub>2 limfociti, fibroblasti,

makrofagi, mnoge embrionalne ćelije i ćelije karcinoma dojke.<sup>34</sup> sST2 vezuje IL-33 u cirkulaciji i time onemogućuje njegovo vezivanje za transmembranski ST2 receptor. In vivo i in vitro ispitivanja potvrđuju antagonizam sST2 receptora u odnosu na funkciju IL-33.<sup>35</sup> Trauma, inflamacija i infekcija su snažni induktori ekspresije sST2 receptora. Međutim, navedeni faktori takođe dovode do sinteze i oslobađanja IL-33. IL-33 ima proinflamatornu ulogu, dok sST2 produkcija može imati protektivni efekat u slučaju prekomerne aktivnosti IL-33 posredovanog inflamatornog odgovora.<sup>36</sup> sST2 ima funkciju solubilnog receptorskog „mamca” koji negativno reguliše biološke efekte IL-33. Vezivanje sST2 za IL-33 dovodi do inaktivacije sistemskog efekta IL-33, ograničava potencijalno prekomerne, odnosno štetne efekte ovog citokina.<sup>37</sup> Izoforma receptora ST2V je identifikovana kod ljudi u gastrointestinalnom traktu i njegova funkcija nije razjašnjena.<sup>38</sup>

IL-1RAcP je unutar heterodimernog kompleksa udružen sa ST2 molekulom i inicijalno je identifikovan kao IL-1R koreceptor. IL-1 se vezuje za IL-1RI (*engl.* interleukin 1 receptor-type I, receptor za interleukin 1-tip 1) ali se ne vezuje za IL-1RAcP. IL-1RAcP se može vezati za IL-1RI i time mu povećati afinitet za IL-1 pet puta. IL-1RAcP predstavlja koreceptor i za IL-33 i IL-36. IL-33 se vezuje za ST2 receptor ali ne i za IL-1RAcP. Interakcija između IL-33 i ST2 receptora dovodi do angažovanja pomoćnog receptora IL-1RAcP. Vezivanje IL-33 indukuje receptorsku heterodimerizaciju potom i jukstapozicioniranje intracelularnog TIR domena oba receptora, što je neophodno za pokretanje nishodnog signalnog puta u ciljnim ćelijama.<sup>39</sup>

### 1.1.3. IL-33/ST2 signalni put

Mehanizmi kojima IL-33 ispoljava svoje dejstvo nisu u potpunosti razjašnjeni. Dosadašnja ispitivanja sugerišu da je dejstvo IL-33 slično ostalim članovima porodice IL-1, prvenstveno IL-1 $\beta$  i IL-18.

Posle sinteze pro-IL-33 dolazi do njegove obrade - „cepanja” od strane kaspaze-1 a potom do transporta u lizozom i fuzije sa plazma ćelijskom membranom što rezultira oslobađanjem IL-33 kao slobodnog citokina u intersticijum. Oslobođeni IL-33 se potom vezuje za njegov receptorski kompleks ST2 i IL-1RAcP.<sup>9, 40</sup>

Ispitivanja potvrđuju da je MyD88 (*engl.* myeloid differentiation primary response 88, mijeloidni diferencijacijski primarni odgovor 88) /IRAK (*engl.* interleukin-1 receptor-associated kinases, kinaza povezana sa receptorom za interleukin-1)/TRAF6 (*engl.* tumor necrosis factor receptor associated factor 6, faktor 6 udružen sa receptorom za faktor tumorske nekroze) put od najvećeg značaja u IL-33 signalizaciji.<sup>41</sup>

Vezivanje IL-33 za ST2/IL-1R pomoćni protein ima za cilj aktivaciju NF- $\kappa$ B (nuklearni faktor  $\kappa$ B). Navedeni efekat postiže se preko aktivacije IRAK 1, IRAK 4 i MyD88 i TRAF6. Interakcija između IL-33 i ST2/IL-1R pomoćnog proteina, sem opisane aktivacije NF- $\kappa$ B značajnog u inflamatornom odgovoru, dovodi i do aktivacije MAPK (mitogen-activated protein kinase, mitogenom aktivirana proteinska kinaza) i posledičnog stvaranja IL-4, IL-5, IL-13.<sup>9, 42</sup>

Nasuprot opisanom proinflamatornom efektu preko aktivacije NF- $\kappa$ B, ispitivanje na miokardiocitima i fibroblastima pokazuje da IL-33 vezivanjem za p65 subjedinicu NF- $\kappa$ B može da inhibiše aktivaciju NF- $\kappa$ B indukovanu angiotenzinom II i fenilefrinom.<sup>43</sup> Opisani efekat ukazuje da IL-33 ima mogućnost modulatornog dejstva na NF- $\kappa$ B i mogućnost redukcije inflamatornog odgovora.<sup>46</sup>

Aktivnost IL-33 može biti izmenjena od strane sST2 ukoliko se za njega veže pre nego za receptorski kompleks ST2/IL-1RAcP. sST2 je varijanta ST2 proteina pune dužine kojem nedostaje transmembranski i citoplasmatski domen. sST2 u ekstracelularnoj sredini može vezati slobodan IL-33, čime efikasno snižava koncentraciju IL-33 dostupnog za vezivanje za ST2L a time redukuje biološki efekat IL-33.<sup>49, 52</sup>

Opisani su i drugi mehanizmi koji mogu biti odgovorni za IL-33 signalizaciju u različitim ćelijama, uključujući PI-3K (*engl.* phosphatidylinositol 3-kinase, fosfatidilinositol 3 kinaza) /PKB (*engl.* protein kinase B, proteinska kinaza B) /mTOR

(*engl.* mammalian target of rapamycin, ciljni molekul za rapamicin kod sisara), kao i JAK (*engl.* Janus kinasa, Janus kinaza)/STAT (*engl.* signal transducer and activator of transcription, signalni transduktor i aktivator transkripcije) signalni put.<sup>32, 44</sup>

#### **1.1.4. Biološka funkcija IL-33**

IL-33 se u uslovima homeostaze konstitutivno eksprimira u jedru ćelija koje ga proizvode, uključujući epitelne ćelije, endotelne ćelije krvnih sudova, fibroblaste, retikularne ćelije limfoidnog tkiva i post-mitotičke oligodendrocite u mozgu.<sup>13, 45</sup>

Ekspresija nuklearnog IL-33 u uslovima homeostaze se dodatno pojačava ushodnom regulacijom tokom inflamacije, a IL-33 se može dodatno proizvoditi i od strane drugih ćelija.<sup>16, 46</sup>

fl-IL-33 je biološki aktivan i može se osloboditi iz jedra ćelija koja ga proizvode posle oštećenja ćelije ili ćelijske smrti usled nekroze. Citokinska aktivnost IL-33 je regulisana nuklearnom kompartmentizacijom, sekvencijom i proteolitičkom maturacijom. Tokom apoptoze, IL-33 je inaktiviran od strane kaspaze koja svoje proteolitičko dejstvo ispoljava unutar IL-1 sličnog domena.<sup>47</sup>

Tokom inflamacije, aktivacioni domen IL-33 je izložen dejstvu inflamatornih proteaza iz mastocita i neutrofilnih granulocita, što dovodi do formiranja zrele forma IL-33 – mIL-33 koja poseduje 10 do 30 puta veću biološku aktivnost u odnosu na fl-IL-33.<sup>11, 48</sup> IL-33 je dominantno produkt ćelija tkiva, mada su i aktivirani leukociti koji predstavljaju klasičan izvor drugih proinflamatornih citokina značajni izvor ovog citokina.<sup>49</sup> Kada se nađe u ekstracelularnoj sredini, mIL-33 se brzo inaktivira (<2 h) oksidacijom od strane cisteinskih ostataka.<sup>50</sup>

Nuklearna lokalizacija IL-33 je fundamentalna karakteristika ovog citokina koja je zapažena kod svih ćelija koje imaju sposobnost njegove produkcije.<sup>13</sup> U jedru IL-33 se vezuje za hromatin preko hromatin-vezujućeg motiva koji je smešten u N-terminalnom nuklearnom domenu IL-33. Ovaj domen je konzerviran u svim IL-33 sekvencama što ukazuje na njegov značaj u nuklearnoj lokalizaciji i u spajanju sa hromatinom. Ispitivanja su pokazala da IL-33 može imati dvojnu funkciju, ekstracelularno kao član IL-1 porodice citokina a intracelularno kao nuklearni faktor regulacije genske ekspresije.<sup>51</sup>

Glavna uloga IL-33 u ćelijskom jedru i posledica njegovog povezivanja sa hromatinom je regulacija ekstracelularne citokinske aktivnosti dok nuklearna kompartmentizacija ili

sekvestracija IL-33 predstavlja evolutivni mehanizam za održavanje imunske homeostaze i zaštite organizma od letalne inflamacije.<sup>52</sup>

### **1.1.5. IL-33/ST2 signalni put u imunskim ćelijama**

#### **1.1.5.1. Pomoćni T limfociti, tip 2 (engl. T helper type 2 lymphocytes, TH2)**

ST2 receptor je prvi put opisan kao receptor koji se nalazi na TH2 limfocitima dok je njegov ligand bio nepoznat. Njegova ekspresija je nezavisna od IL-4, IL-5 i IL-10 i njihovo odsustvo ne utiče na ST2 ekspresiju na TH2 ćelijama. ST2 ekspresija na TH2 ćelijama je zavisna od GATA3 signala, a IL-6, IL-1, IL-5 i TNF je pojačavaju. Navedene činjenice upućuju da se ST2 ekspresija javlja kasno tokom TH2 diferencijacije. IL-33 povećava gensku ekspresiju TH2 citokina, IL-4, IL-5 i IL-13, dovodi do eozinofilije i povećanja titra IgE i IgA u serumu.<sup>9</sup> Antigen specifične ST2 + TH2 ćelije pokazuju izraženiju produkciju IL-5 i IL-13 u poređenju sa antigen nespecifičnim ST2-/- TH2 ćelijama. IL-33 polarizacija naivne CD4+ T ćelije koja je stimulisana antigenom dovodi do visoke produkcije IL-5, ali ne i do produkcije IL-4. In vivo, aplikacija IL-33 dovodi do povećanja broja limfocita u cirkulišućoj krvi i povećane sekrecije TH2 citokinskog profila u timusu, slezini, jetri i plućima.<sup>53</sup> IL-33 je dozno zavisna hemotaktičan molekul za TH2 limfocite, što je pokazano u in vitro, i u in vivo uslovima.<sup>54</sup> Činjenice da odsustvo ST2 receptora na TH2 ćelijama tokom infekcije helmintskim parazitom *Nippostrongylus brasiliensis*-om nije uticalo na TH2 posredovan odgovor, kao i da na mišjem modelu astme aktivnost TH2 ćelija nije zavisila od prisustva ST2 receptora, ukazuje da ST2 receptor nije neophodan u TH2 funkcionisanju.<sup>55</sup> Nedavna studija je pokazala da ljudske i mišje TH2 ćelije ne proizvode sST2 u in vitro uslovima.<sup>56</sup>

#### **1.1.5.2. Pomoćni T limfociti, tip 9 (engl. T helper type 9 lymphocytes, TH9)**

TH9 ćelije proizvode IL-9 i predstavljaju najnoviju subpopulaciju T ćelija čija polarizacija je posredovana TGF- $\beta$  i IL-4 signalnim putevima.<sup>57, 58</sup> Ispitivanja pokazuju da TH9 ćelije čine značajne posrednike u imunskom odgovoru kod astme, autoimunskih oboljenja i parazitarne infekcije, dok je IL-9 povezan sa smanjenim TH1 imunskom odgovorom kod pacijenata sa tuberkulozom.<sup>59, 60</sup> In vitro studija pokazuje da izlaganje

T<sub>H</sub>2 polarizovanih humanih ćelija TGF- $\beta$  i IL-33 dovodi do povećane ekspresije IL-9 i ST2.<sup>61</sup>

### **1.1.5.3. Regulatorne T ćelije (engl. regulatory T cells, Tregs)**

Značaj ST2/IL-33 signalizacije u Tregs ćelijama je opisan u eksperimentalnom modelu kolitisa u kome je tretman sa IL-33 doveo do smanjenja oštećenja tkiva kolona i redukcije simptoma.<sup>62</sup> Dokazano je da IL-33 povećava broj Tregs ćelija kod miševa sa kolitisom. U eksperimentalnom modelu autoimunskog encefalomijelitisa, stimulacija ST2/IL-33 osovine u Tregs ćelijama dovodi do povećanja njihovog broja i smanjenja produkcije IL-17 i IFN- $\gamma$ .<sup>63, 64</sup> Ispitivanje na mišjem modelu GVHD (*engl.* graft-versus-host disease, bolest kalem protiv domaćina) je pokazalo da svakodnevni pretransplantacioni desetodnevni tretman sa IL-33, u posttransplantacionom periodu dovodi do povećanog broja ST2+ Tregs ćelija, smanjenog nakupljanja T ćelija u GVHD organima što ima za posledicu značajno blaži oblik bolesti.<sup>65</sup> Tretman miševa primaoca transplantiranog srca sa IL-33 dovodi do povećanja Tregs ćelija i mijeloidnih supresorskih ćelija, što rezultira njihovom većom stopom preživljavanja.<sup>66</sup> Slično, primena IL-33 kod miševa sa transplantiranom kožom dovodi do povećanja broja Tregs ćelija u graftu, smanjenje produkcije IL-17 i IFN- $\gamma$ , povećanja koncentracije IL-10, te posledično povećava opstanak grafta.<sup>67</sup> Takođe, i druge studije pokazuju da IL-33 signalizacija u Tregs ćelijama pojačava njihovu imunomodulatornu funkciju.<sup>68, 69</sup>

### **1.1.5.4. Urođene limfoidne ćelije tip 2 (engl. innate lymphoid cells type 2, ILCs2)**

ILCs2 su prvi put identifikovane u mišjem i humanom mezenterijumu kao c-Kit, Sca-1, IL-7R $\alpha$  i ST2 pozitivna ćelijska linija.<sup>70, 71</sup>

Ove ćelije su pokazale protektivnu ulogu u borbi protiv parazitarne infekcije crevnim glistama i u regulaciji metaboličke homeostaze.<sup>72</sup> Kasnije su ispitivanjima na humanim modelima identifikovane ST2+ ILCs2 u plućima i crevima, sa mogućnošću produkcije IL-5 i IL-13. Ispitivanje na mišjem modelu je pokazalo da stimulacija ILCs2 sa IL-33 dovodi do povećane produkcije IL-5 i IL-13.<sup>70</sup> Stimulacija ST2/IL-33 osovine dovodi do ekspanzije ILCs2 u in vivo uslovima.<sup>70, 73</sup> Neill i saradnici u svom istraživanju zaključuju da su ILCs2 ključne ćelije u produkciji T<sub>H</sub>2 citokinskog profila posle infestacije sa *Nippostrongylus brasiliensis*. Takođe, u istom istraživanju je dokazano da odsustvo IL-33 i IL-25 signalizacije na ILCs2 dovodi do izostanka ranog odgovora na

Nippostrongylus brasiliensis infekciju, usled smanjene ekspanzije ILCs2 ćelijske linije i nedostatka produkcije IL-13.<sup>70</sup> Tokom inflamacije pluća IL-33 podstiče produkciju citokina od strane ILCs2s ćelija.<sup>74</sup> Studija na mišjem modelu eozinofilne inflamacije disajnih puteva je pokazala da transkripcioni faktor T-bet reguliše produkciju IL-9 od strane IL-33 stimulisanih ILCs2.<sup>75</sup> Prekomerna stimulacija ILCs2 sa IL-33 tokom procesa remodeliranja jetre nastalog posle hemijskog oštećenja, dovodi do njenog ubrzanog fibroziranja.<sup>76</sup>

#### **1.1.5.5. Citotoksični T limfociti (*engl. cytotoxic T lymphocytes, CTL*)**

CTL igraju važnu ulogu u odbrani domaćina od infekcije i tumora. CTL svoju funkciju postižu preko sekrecije citotoksičnih molekula – perforina i granzima. CTL imaju mogućnost ekspresije ST2 i produkcije sST2.<sup>77, 78</sup> Uprkos činjenici da CTL pokazuju nizak nivo ST2 ekspresije, u potpunom odsustvu IL-33 ili ST2 receptora registruje se oslabljen odgovor CTL na infekciju sa virusom limfocitarnog horiomeningitisa.<sup>78</sup> Dokazano je da ST2/IL-33 signalni put poboljšava CD8+T ćelijsku antitumorsku aktivnost.<sup>79</sup>

#### **1.1.5.6. B ćelije**

ST2 ekspresija je dokazana na B1 B ćelijama dok na B2 B ćelijama se ne identifikuje. Limfociti B1 B proizvode IgM i imaju ključnu ulogu u ranoj odbrani od bakterijskih i virusnih infekcija. IL-33 dovodi do izraženije proliferacije B1B ćelija i produkcije IgM, IL-5 i IL-13 u in vitro i in vivo uslovima.<sup>80</sup> Nedavne studije su pokazale da tretman sa IL-33 kod miševa povećava broj cirkulišućih B ćelija koje proizvode IL-10 i koje se razlikuju od konvencionalnih B1 i B2 ćelija. Primena navedenih B ćelija koje proizvode IL-10 je kod IL-10 -/- miševa onemogućila razvoj spontanog kolitisa.<sup>81</sup>

#### **1.1.5.7. Urođeno ubilačke T ćelije (*engl. natural killer T, NK T*)**

Delovanje IL-33 na iNKT (*engl. invariant natural killer T, invarijantna urođeno ubilačka T*) ćelije dovodi do povećane produkcije IL-4, IL-5, IL-13, TNF $\alpha$  i INF- $\gamma$ . Aktivacija signalnog puta ST2/IL-33 u NKT ćelijama miševa dovodi do njihove ekspanzije i aktivacije. Miševi koji su tretirani sa IL-33 imali su dvostruko više NK T ćelija u slezini u jetri, u poređenju sa netretiranim miševima. Aktivacija signala u ST2 receptoru indukuje produkciju IFN- $\gamma$ .<sup>33</sup>



#### **1.1.5.8. Pomoćne T ćelije, tip 1 i tip 17 (engl. T helper type 1; T helper type 17, T<sub>H</sub>1; T<sub>H</sub>17)**

Nedavne studije pokazuju značaj ST2/IL-33 signalnog puta u T<sub>H</sub>1 i T<sub>H</sub>17 posredovanim oboljenjima. U mišjem modelu artritisa indukovano kolagenom, tretman sa anti-sST2 antitelom je smanjio produkciju IFN- $\gamma$  i IL-17.<sup>82</sup>

#### **1.1.5.9. Mastociti**

IL-33 deluje na mastocite tako što produžava njihovo preživljavanje i stimuliše ih da luče IL-8, IL-13 i histamin.<sup>83</sup>

#### **1.1.5.10. Makrofagi**

IL-33 može da aktivira makrofage.<sup>84</sup> Makrofagi su važne urođeno imunske ćelije koje poseduju tri ključne funkcije: fagocitoza mikroorganizama i apoptotskih ćelija, prezentacija antigena preko MHC klase I i lučenje širokog spektra citokina, hemokina i inflamatornih medijatora. Identifikuju se dva fenotipska podskupa makrofaga: M1 (klasično aktivirani od strane INF- $\gamma$  i LPS (lipopolisaharid) i M2 (alternativno aktivirani sa IL-4 i IL-13). Dokazano je da IL-33 potencira IL-13 posredovanu polarizaciju M2 i doprinosi zapaljenju disajnih puteva. In vitro, IL-33 potencira IL-13 indukovanu polarizaciju makrofaga u koštanoj srži i alveolama prema M2 fenotipu. Ispitivanje na mišjem modelu pokazuje da ubrizgavanje rekombinantnog IL-33 dovodi do M2 polarizacije alveolarnih makrofaga i pojačava inflamaciju disajnih puteva.<sup>85</sup>

IL-33 može imati protektivnu ulogu u keratitisu izazvanom *Pseudomonas aeruginosa*, tako što stimuliše lučenje antiinflamatornih citokina iz M2 makrofaga.<sup>86</sup> Stimulacija IL-33/ST2 osovine dovodi do intenziviranja prozapaljenjskog odgovora makrofaga posle stimulacije sa LPS.<sup>87</sup>

#### **1.1.5.11. Bazofilni granulociti**

Aktivacija ST2/IL-33 osovine osim što utiče na sekreciju T2 citokinskog profila kao što su IL-4 i IL-13, utiče i na sekreciju IL-8 preko aktivacije IL-3 ili Fc $\epsilon$  receptora na bazofilnim granulocitima. Bazofili mogu osloboditi sST2 posle aktivacije sa IL-3 i C5a ili anti-Fc $\epsilon$ R1 $\alpha$  antitelima, dok IL-33 sprečava otpuštanje sST2.<sup>32</sup>

#### **1.1.5.12. Eozinofilni granulociti**

IL-33 je identifikovan kao novi faktor diferenciranja eozinofila iz progenitorskih ćelija koštane srži. IL-33 može povećati ST2L ekspresiju na eozinofilima. U in vitro i in vivo uslovima IL-33 indukuje proizvodnju IL-13 i drugih proinflamatornih citokina od strane eozinofilnih granulocita koji značajno pojačavaju inflamatorni odgovor u alergijskim stanjima i alergijskoj astmi (AA).<sup>88</sup> Primena anti-ST2 antitela dovodi do smanjenog preživljavanja eozinofila.<sup>89</sup>

#### **1.1.5.13. Neutrofilni granulociti**

IL-33 može da aktivira neutrofile. Prisustvo ST2 na neutrofilima je jasno dokumentvano ali se malo zna o njegovoj funkciji.<sup>90</sup> Ispitivanje na miševima je pokazalo da IL-33 aplikovan u kožu dovodi do migracije i nakupljanja neutrofila.<sup>91</sup> IL-33 podstiče migraciju neutrofila na mesto infekcije preko povećane ekspresije CXCR2 (*engl.* C-X-C chemokine receptor type 2, CXC hemokinski receptor tip 2) i CR3 (*engl.* complement receptor 3, receptor komplementa 3).<sup>92</sup>

#### **1.1.5.14. Dendritske ćelije (*engl.* dendritic cells, DCs)**

IL-33 može da aktivira DCs.<sup>84</sup> DCs na svojoj ćelijskoj površini pokazuje nizak nivo ekspresije ST2 receptora. Izlaganje DCs rapamicionom snažno povećava ST2 receptorsku ekspresiju preko autokrine IL-1 $\beta$  signalizacije.<sup>93</sup>

Aktivacija ST2/IL-33 osovine u DCs dovodi do povećane produkcije IL-4, IL-5, IL-13, CCL17, TNF- $\alpha$  i IL-1 $\beta$ . U prisustvu naivnih CD4<sup>+</sup> T ćelija, IL-33 aktivirane DCs indukuju T ćelijsku produkciju IL-5 i IL-13 ali ne i IL-4 i INF- $\gamma$ .<sup>94</sup>

In vitro i in vivo studije pokazuju da su IL-33 aktivirane DCs neophodne za ekspanziju ST2 + Tregs ćelija preko produkcije IL-2 od strane DCs. Navedeni mehanizam ekspanzije Tregs ćelija bi mogao biti efikasan u tretmanu inflamatornih bolesti.<sup>95</sup>

#### **1.1.6. Značaj IL-33 u održavanju homeostaze organizma**

Sve više studija ukazuje na činjenicu da IL-33 igra značajnu ulogu u zdravlju i nastanku bolesti. Objašnjenje leži u činjenici da je IL-33 pleotropni citokin koji se sintetise kao odgovor na infekcije, stres i inflamaciju a ST2 receptorski protein se ekspimirira na širokom spektru imunskih ćelija.<sup>14</sup> Krajnji efekat aktivacije IL-33/ST2 osovine može biti prozapaljenjski ali i antizapaljenjski i protektivni, zato IL-33 i ST2

receptor predstavljaju sve češći predmet ispitivanja u cilju preciziranja njihove uloge u održavanju homeostaze organizma i posebno u nastanku zapaljenjskih bolesti.<sup>49, 96, 97</sup>

### **1.1.7. Značaj IL-33 u infekciji**

Do sada sprovedena ispitivanja pokazuju da IL-33 ima značajnu ulogu u parazitaranim, bakterijskim i virusnim infekcijama.

#### **1.1.7.1. Parazitarne infekcije**

Veliki broj studija potvrđuje značaj IL-33 u odbrani organizma od parazitarne infekcije. Zaštitina uloga IL-33 je dokazana kod *Toxoplasma gondii*, *Leishmania major*, *Trichuris muris*, *Nippostrongylus brasiliensis* i *Strongyloides venezuelensis* parazitaranim infekcijama. Antiparazitarni efekat IL-33 postiže indukcijom T<sub>H</sub>2 ćelijskog odgovora koji je ključni mehanizam u ubijanju parazita.<sup>14</sup>

#### **1.1.7.2. Bakterijske infekcije**

Signalni put ST2/IL-33 je od ključnog značaja u zaštiti od nekih bakterijskih infekcija. Dokazano je da IL-33 igra važnu ulogu u indukciji imunskog odgovora u gram negativnoj bakterijskoj sepsi i *Pseudomonas aeruginosa* infekciji. Nije dokazan značaj IL-33 u *Mycobacterium tuberculosis* infekciji jer miševi sa ST2 deficijencijom razvijaju normalnu odbranu protiv ovog patogena. Zaključak navedenog ispitivanja jeste da uloga IL-33 u bakterijskoj infekciji može varirati u zavisnosti od vrste bakterije, nivoa IL-33 u inficiranim ćelijama, kao i od imunskog statusa domaćina.<sup>14</sup>

Drugo istraživanje je pokazalo da IL-33 umanjuje sistemski zapaljenjski odgovor i da aktivacija IL-33/ST2 osovine podstiče baktericidne mehanizme, odnosno doprinosi efikasnijem uništavanju bakterija i smanjenoj smrtnosti usled sepse.<sup>90</sup>

#### **1.1.7.3. Gljivične infekcije**

Protektivna uloga IL-33 je opisana i u infekciji gljivicom *Candida albicans*. IL-33 dovodi do jačanja antimikotične aktivnosti neutrofilnih granulocita tako što im povećava fagocitnu aktivnost putem modulacije signalnih puteva urođenih imunskih receptora.<sup>92</sup>

#### 1.1.7.4. Virusne infekcije

Aktivacija ST2 receptora u ILCs2 od strane IL-33 je značajan mehanizam u zaštiti pluća od virusnih infekcija. Blokiranje ST2 signalizacije u mišjem modelu infekcije sa influencom dovodi do smanjenog broja ILCs2 u plućima, redukuje plućnu funkciju, narušava epitelni integritet disajnog puta i slabi remodeliranje respiratornog tkiva.<sup>98</sup> Odsustvo ST2 receptora na animalnim NK ćelijama nije uticalo na razvoj ćelija ali je značajno redukovalo njihovu protektivnu ulogu u citomegalovirusnoj infekciji.<sup>99</sup> U studiji sprovedenoj na 207 hospitalizovane dece u prvoj godini života sa bronhiolitisom uzrokovanim respiratornim sincicijalnim virusom (RSV) utvrđene su signifikantno veće vrednosti sST2 proteina kod odojčadi koja su imali teži oblik RSV bronhiolitisa i zahtevali mehaničku ventilaciju, što ukazuje na moguću vezu IL-33/ST2 osovine i težine bronhiolitisa.<sup>100</sup>

#### 1.1.8. IL-33 kao alarmin

Alarmini, u koje spadaju HMGB1 (*engl.* high-mobility group box-1, proteinski kompleks visoke mobilnosti 1) i IL-1 $\alpha$  imaju funkciju da „obaveštavaju“ imunski sistem da je došlo do oštećenja ćelije odnosno da regrutuju i aktiviraju imunske ćelije. Alarmini su endogeni molekuli koji se oslobađaju posle nekroze ćelije, a mogu ih stvarati i lučiti i imunske ćelije. Mogu biti hemotaktični za leukocite, uticati na sazrevanje dendritskih ćelija ili dovesti do stvaranja proinflamatornih citokina.<sup>101</sup>

Studije novijeg datuma ističu značaj IL-33/ST2 osovine kao alarmina u inflamatornom procesu.<sup>91</sup> Prilikom nekroze ćelija, IL-33 koji se nalazi u jedru ćelije oslobađa se u biološki aktivnom obliku tj. u punoj dužini, vezuje se za ST2 receptor na imunskim ćelijama, što dovodi do oslobađanja proinflamatornih i T<sub>H</sub>2 citokina (npr. IL-4, IL-5, IL-13 i TNF $\alpha$ ).<sup>49, 102</sup> Oštećenje tkiva koje može biti izazvano infekcijom (posebno virusnim infekcijama koje su povezane sa razvojem AA i njenim egzacerbacijama) dovodi do oslobađanja IL-33 iz epitelnih ćelija. Izlaganje preosetljivih osoba alergenu takođe može dovesti do oštećenja tkiva i oslobađanja IL-33. Zahvaljujući sposobnosti da aktivira dendrične ćelije i regrutuje, polarizuje i aktivira T<sub>H</sub>2 ćelije, IL-33 može da dovede do T<sub>H</sub>2 posredovanog zapaljenja u astmi. Direktnim dejstvom IL-33 na mast ćelije dolazi do oslobađanja TNF koji potencira reakciju senzibilizacije na antigen. Indirektno preko mast ćelija i IL-13, IL-33 indukuje eozinofiliju i hiperreaktivnost disajnih puteva. IL-33

indukovana mobilizacija eozinofila je jednim delom posredovana sa CCL11 oslobođenim od strane makrofaga.<sup>103</sup>

### 1.1.9. Značaj IL-33 u alergijskoj astmi

Astma je najčešća hronična bolest kod dece i odraslih. Uprkos činjenici da je AA  $T_H2$  posredovana bolest, terapijski koncept supresije  $T_H2$  funkcije nije pokazao efikasnost kod svih pacijenata. IL-33 je citokin novijeg datuma koji značajno implicira u patogenezi AA, što je jasno dokumentovano u većini studija koje su sprovedene do sada.<sup>104, 105</sup>

IL-33/ST2 osovina je od samog početka povezivana sa  $T_H2$  imunskim odgovorom te su i ispitivanja bila usmerena na uticaj IL-33 i ST2 receptora u  $T_H2$  posredovanim poremećajima. Većina rezultata ukazuju da aktivacija IL-33/ST2 osovine ima proinflamatorni efekat i pospešuju AA.<sup>106, 107</sup> Nivo sST2 i IL-33 su povećani u serumu i/ili plućima miševa sa indukovanom inflamacijom disajnih puteva.<sup>25</sup>

GWAS studija (*engl.* genome-wide association studies, studija povezanosti celokupnog genoma) pokazuje da se polimorfizam unutar gena koji je povezan sa funkcionalnim promenama za IL-33 i ST2 receptor identifikuje kod pacijenata sa astmom i predstavlja povećan rizik od razvoja astme.<sup>108</sup>

U holandskoj studiji sprovedenoj na porodicama koje boluju od AA, određeni polimorfizam gena za IL33 je bio povezan sa bronhijalnom hiperreaktivošću i povećanom koncentracijom serumskog nivoa ukupnog IgE.<sup>109</sup>

U plućima odraslih ispitanika obolelih od AA identifikuje se visok nivo ekspresije IL-33 u alveolarnim makrofagima, CD11c<sup>+</sup> ćelijama i epitelnim ćelijama.<sup>110</sup>

U glatko mišićnim i epitelnim ćelijama pluća odraslih pacijenta sa teškim oblikom astme se identifikuju značajno veće vrednosti IL-33 u odnosu na zdravu kontrolnu grupu. Uzorci biopsije bronhijalnog epitela pokazuju značajno veće koncentracije mRNA IL-33 kod odraslih osoba koje imaju astmu u odnosu na pacijente koji nemaju astmu.<sup>111</sup> Vrednosti nivoa IL-33 su značajno veće u bronhoalveolarnom lavatu kod adultnih pacijenata sa teškom astmom, u poređenju sa pacijentima koji su imali blagu astmu.<sup>112</sup> Bianchetti i saradnici su u svojoj studiji na adultnim ispitanicima pokazali da pacijenti sa AA imaju izraženiju ekspresiju ST2 receptora na cirkulišućim fibrocitima

u odnosu na zdravu, kontrolnu grupu i da izlaganje rekombinantnom, humanom IL-33 indukuje proliferaciju i migraciju fibrocita u plućno tkivo.<sup>113</sup>

U studiji sprovedenoj kod odraslih ispitanika, IL-33 je povezan sa pogoršanjem astme. Dokazana je pozitivna korelacija između serumskog nivoa ST2 i težine odnosno pogoršanja astme kao i negativna korelacija sa PEF-om (*engl.* peak expiratory flow, vršnim ekspiratornim protokom).<sup>37</sup>

Kod dece i odraslih pacijenata obolelih od astme se registruju povišene vrednosti sST2 i dokazana je pozitivna korelacija sa težinom egzacerbacije astme.<sup>47, 114</sup>

Ispitivanje sprovedeno na deci pokazuje da su prisustvo pojedinačnog nukleotidnog polimorfizma u genu za IL1RL1 i IL-33 kao i povećan nivo sST2 u serumu povezani sa većom incidencijom astme i atopije (definisana povišenim brojem eozinofila u krvi) u ranom detinjstvu. Pojedinačni polimorfizam u genu za IL-33 je bio značajno povezan sa prevalencijom astme u porodici (majka, otac, dete sa astmom) dok je polimorfizam u genu za IL1RL1 bio povezan sa povećanom incidencijom astme kod dece preko 8 godina života.<sup>115, 116</sup>

Saglani i saradnici su u studiji sprovedenoj na pedijatrijskoj populaciji obolelih od astme utvrdili da IL-33 promovise sintezu kolagena u fibroblastima. Isti proces je identifikovan i kod miševa posle intranazalne primene kućne prašine. Povišena aktivnost fibroblasta je povezana sa povećanom debljinom retikularne bazalne membrane u bioptatima bronhijalne mukoze kod dece sa steroid rezistentnom astmom. Navedeno remodeliranje nije bilo prisutno kod ST2 deficitarnih miševa posle tretmana sa kućnom prašinom.<sup>117</sup> Takođe, nivo IL-33 i ST2 je signifikantno veći u indukovanom sputumu kod dece sa umereno teškom astmom u odnosu na grupu koja je imala blagu astmu.<sup>118</sup>

Odnos između IL-33/ST2 i drugih T<sub>H</sub>1/T<sub>H</sub>2 citokina u pacijenata sa astmom, posebno njihova uloga u virusnim pogoršanjima astme, još nije precizirana.<sup>110</sup>

Dosadašnja istraživanja u pogledu funkcije i značaja pojedinih citokina kod bolesnika sa AA, posebno u dečijem uzrastu ne pružaju odgovore na sva pitanja. S obzirom na značajnu ulogu IL-33 u imunopatogenezi ne samo alergijske inflamacije nego i inflamacije u širem smislu i autoimunskih oboljenja, što je predhodno navedeno, nameće se potreba za preciziranjem njegove uloge i u imunopatogenezi AA. Značaj IL-33 u imunopatogenezi AA nedovoljno je istražen. Do sada je sproveden vrlo mali broj studija o ulozi ovog IL kod dece sa AA. Posebno u nama dostupnoj literaturi, nije zabeleženo

ispitivanje koje se tiče odnosa IL-33 i ICS (engl. inhalatory corticosteroids, inhalatorna kortikosteroidna) terapije primenjene kod dece sa AA. Potrebu za ispitivanjem značaja IL-33 u AA potenciraju rezultati do sada sprovedenih studija, koji sve više ističu ključnu ulogu IL-33 imunopatogenezi alergijske inflamacije i drugih autoimunskih bolesti.

Poseban značaj istraživanja na polju IL-33 bi obogučilo bolje definisanje njegove uloge kao potentnijeg biomarkera u dijagnostici i monitoringu AA, odnosno bilo bi omogućeno ranije dijagnostikovanje ali i prepoznavanje subkliničke alergijske inflamacije disajnih puteva što bi doprinelo većem stepenu individualizacije u terapijskom pristupu tj optimalnijem lečenju i konačno boljem ishodu.

#### **1.1.10. Značaj IL-33 u drugim atopijskim bolestima**

U eksperimentalnom modelu alergijskog rinitisa (AR) koji je izazvan polenom ambrozije dokazano je da miševi kojima je uklonjen gen za IL-33 imaju umanjenu produkciju T<sub>H</sub>2 citokina, smanjeno nakupljanje eozinofilnih i bazofilnih granulocita i T<sub>H</sub>2 limfocita u nosnoj sluznici, kao i smanjenu učestalost kihanja.<sup>119</sup>

Značajno viši nivo IL-33 je identifikovan u nazalnom sekretu kod pacijenta sa AR senzibilisanim na polen japanskog kedra u sezoni polinacije kada su najviše vrednosti polena, što sugerise da IL-33 učestvuje u pogoršanju AR.<sup>120</sup>

Polimorfizam gena za IL-33 pokazuje povezanost sa nazalnom polipozom i povećanom eozinofilijom u krvi.<sup>121</sup>

Studije sprovedena na miševima pokazuju da aktivacija ST2/IL-33 osovine u ILCs2 doprinosi razvoju inflamacije slične atopijskom dermatitis (AD).<sup>122, 123</sup>

Istraživanje je pokazalo da u koži zahvaćenoj AD postoji povećana ekspresija IL-33 i ST2 receptora, a da posle stimulacije sa IL-33 nuociti više migriraju i pokazuju povećanu ekspresiju T<sub>H</sub>2 citokina.<sup>136</sup>

Takođe je dokazano da su serumske vrednosti IL-33 bile veće kod obolelih od AD dok serumski nivo sST2 nije bio značajno veći u odnosu na kontrolnu grupu zdravih ispitanika. U toku su klinička ispitivanja efikasnosti anti-IL-33 antitela u AD.<sup>124</sup>

U studiji ispitivanja uticaja IL-33/ST2 signalnog puta u alergijskom konjuktivitisu dokazano je da stimulacija osovine pospešuje razvoj konjuktivitisa putem aktivacije mastocita.<sup>125</sup>

### **1.1.11. Značaj IL-33 u drugim bolestima**

#### **1.1.11.1. Reumatoidni artritis (RA)**

Ispitivanja novijeg datuma pokazuju da IL-33/ST2 osovina ima ulogu i u poremećajima koji nisu posredovani T<sub>H</sub>2 ćelijama. Ekspresija IL-33 i ST2 receptora se povećava u eksperimentalnom modelu reumatoidnog artritisa izazvanog metilisanim goveđim serumskim albuminom, a nakupljanje neutrofilnih granulocita je veće kod genetski neizmenjenih miševa u odnosu na miševe kojima je uklonjen gen za ST2 receptor, tj. u odsustvu uticaja IL-33/ST2 osovine.<sup>126</sup>

Dokazano je da IL-33/ST2 osovina ima proinflatorno dejstvo i da se IL-33 vezuje za ST2 receptor na mastocitima koji sekretuju citokine koji doprinose T<sub>H</sub>17 zapaljenjskom odgovoru u eksperimentalnom modelu artritisa izazvanom kolagenom.<sup>127</sup> Ispitivanje na mišjem modelu artritisa indukovano kolagenom je dokazano da sST2 ublažava artritis a primena anti-ST2 antitela na istom modelu je takođe bila povezana sa redukcijom destrukcije zglobova.<sup>128, 129</sup>

Rezultati studija pokazuju da su koncentracije IL-33 i sST2 u serumu i sinovijalnoj tečnosti kod pacijenata sa reumatoidnim artritisom bile značajno veće, posebno kod pacijenata koji su imali aktivni oblik bolesti u odnosu na zdrave kontrolne ispitanike i pacijente sa psorijaznim artritisom.<sup>130</sup>

Proinflatorna uloga IL-33 u artritisu indukovanim kolagenom i artritisu indukovanim antitelima je potvrđena nastankom egzacerbacije ove dve forme artritisa posle primene rekombinantnog IL-33, dok je kod ST2 deficijentnih miševa identifikovana smanjena produkcija proinflatornih citokina (IL-17, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ ) i manje izraženi znaci artritisa.<sup>138</sup>

#### **1.1.11.2. Sistemski eritemski lupus (SEL)**

Studija na adultima koji boluju od SEL i RA pokazuje da su vrednosti IL-33 bile najveće kod pacijenata sa RA, nešto niže vrednosti su izmerene kod pacijenata sa SEL dok su najniže vrednosti izmerene kod zdravih ispitanika. Više vrednosti serumskog IL-33 se identifikuju kod pacijenata sa SEL u akutnoj fazi bolesti.<sup>131</sup>



### **1.1.11.3. Druge autoimunske bolesti (ankilozirajući spondilitis, Behçet-ova bolest, autoimunski uveitis)**

Povišene vrednosti IL-33 su identifikovane i kod bolesnika sa drugim autoimunskim bolestima kao što su ankilozirajući spondilitis i Behçet-ova bolest.<sup>132</sup> Antizapaljenjska uloga IL-33/ST2 osovine je dokazana i na animalnom modelu autoimuskog uveitisa. Tretman sa IL-33 je doveo do blaže kliničke slike, što je objašnjeno smanjenim T<sub>H</sub>1 i T<sub>H</sub>17 odgovorom koji je bitan u patogenezi ovog oboljenja.<sup>133</sup>

### **1.1.11.4. Inflamatorna bolest creva (IBC)**

U eksperimentalnom modelu IBC identifikovano je značajno povećanje sST2 u sluznici intestinuma ali i u serumu pacijenata. Celularna ekspresija ST2 receptora u pacijenta sa IBC je ostala slična kao i kod zdravih ispitanika.<sup>134, 135</sup> Ispitivanje na mišjem modelu IBC su pokazala da je blokada ST2 signalizacije dovela do poboljšanja IBC u poređenju sa kontrolnom grupom. Navedeni rezultat je potvrđen blokadom IL-33.<sup>136</sup> Imajući u vidu da ST2/IL-33 signalizacija svoju protektivnu funkciju u ulceroznom kolitisu postiže promocijom i akumulacijom Tregs ćelija u mukozi kolona, selektivni tretman ST2+ Tregs ćelija sa IL-33 može biti terapijski modalitet lečenja UK.<sup>62</sup>

### **1.1.11.5. Kardiovaskularne bolesti**

IL-33 inhibira apoptozu kardiomiocita, redukuje razvoj ishemijskih lezija i fibrozu posle infarkta miokarda i poboljšava ventrikularne funkciju u in vivo ispitivanjima.<sup>137</sup>

Ispitivanje na ljudima je pokazalo da su vrednosti sST2 u pozitivnoj korelaciji sa vrednostima BNP-a (*engl.* brain natriuretic peptide, moždani natriuretski peptid) kod pacijenta sa neishemijskom kongestivnom srčanom insuficijencijom.<sup>138</sup> Protektivno dejstvo aktivacije IL-33/ST2 osovine je dokazano u procesu ateroskleroze mehanizmom inhibicije produkcije penastih ćelija koje su ključne u nastanku aterosklerotskog plaka.<sup>139</sup>

#### **1.1.11.6. Gojaznost i metaboličke komplikacije**

Antizapaljenjska uloga IL-33/ST2 osovine je dokazana u zapaljenju koje je udruženo sa gojaznošću.

Ispitivanja na mišjim kulturama adipocita pokazuju da IL-33 smanjuje ekspresiju gena povezanih sa adipogenezom i lipidnim metabolizmom i dovodi do smanjene akumulacije lipida. Primena IL-33 kod genetski gojaznih miševa sa diabetesom dovela je do smanjenja broja adipocita, redukcije glikemije, poboljšanja glikoregulacije i insulinske rezistencije, smanjene akumulacije T<sub>H</sub>2 ćelija i makrofaga M2 u masnom tkivu, te povećanja ST2+ Tregs ćelija u visceralnom masnom tkivu.<sup>140</sup>

Akumulacija visceralnog masnog tkiva koja se javlja u sklopu gojaznosti dovodi do inflamacije, insulinske rezistencije i razvoja dijabetesa tipa 2, kao posledica smanjene funkcije ST2 + T reg ćelija.<sup>141</sup>

#### **1.1.11.7. Multipla skleroza (MS)**

Kontradiktorni su stavovi u pogledu uticaja IL-33/ST2 osovine u multiploj sklerozi. Neke studije pokazuju protektivni uticaj u MS dok druge studije koje su takođe sprovedene na animalnom modelu MS ukazuju da aktivacija IL-33/ST2 osovine dovodi do progresije bolesti.<sup>63, 142</sup>

#### **1.1.11.8. Bolest kalem protiv domaćina (*engl. graft versus host disease, GVHD*)**

Efekat primena IL-33 u tretmanu GVHD je vremenski uslovljen i zavisi od opsežnosti inflamatornog odgovora. Primenjen tokom izraženog inflamatornog odgovora na mišjem modelu GVHD dovodi do povećanog mortaliteta i morbiditeta mehanizmom povećane migracije i sinteze proinflamatornih citokina.<sup>143</sup>

Preduslov uspešnog tretmana GVHD sa IL-33 je povezan sa većim brojem ST2 + Tregs ćelija. Adoptivni prenos ST2+ Tregs ćelija smanjuje težinu GVHD, u odnosu na model koji je primio ST2- Tregs ćelije.<sup>65</sup>

#### **1.1.11.9. Psorijaza i vitiligo**

U psorijatično izmenjenoj koži se registruje povećana ekspresija IL-33 u odnosu na zdravu kožu. ST2 -/- miševi imaju manje izraženu kožnu inflamatornu reakciju u poređenju sa ST2 +/+ miševima sa forbol ester indukovanoj psorijazi.<sup>91</sup>

Vitiligo predstavlja redukciju kutanih melanocita. Kod pacijenata sa vitiligom se registruju povišeni nivo ST2 i IL-33 u izmenjenoj koži, ali se povišene vrednosti IL-33 registruju i u serumu.<sup>144</sup>

#### **1.1.11.10. Maligne bolesti**

Stimulacija ST2/IL-33 osovine u karcinomu dojke je podsticalo rast tumora i njegovo metastaziranje.<sup>145</sup>

Stimulacija IL-33/ST2 osovine može dovesti do veće agresivnosti karcinoma skvamoznih ćelija jezika, a povećana ekspresija ovog citokina i receptora je povezana sa lošijom prognozom bolesti.<sup>84</sup>

#### **1.1.11.11. Akutni pankreatitis**

Aktivacija IL-33/ST2 osovina podstiče razvoj blaže kliničke slike eksperimentalno izazvanog akutnog pankreatitisa.<sup>146</sup>

## **1.2. ALERGIJSKA ASTMA**

### **1.2.1 Definicija astme**

Astma je najčešća hronična respiratorna bolest kod dece koja se manifestuje ponavljanim epizodama zviždanja u grudima, nedostatkom vazduha, stezanjem u grudima, kašljem i varijabilnom ekspiratornom opstrukcijom disajnih puteva.

Prema poslednjem konsenzusu Globalne inicijative za lečenje i prevenciju astme (*engl.* Global Initiative for Asthma, GINA), definicija astme glasi: “astma je heterogeno oboljenje koje ima karakteristike hronične upale disajnih puteva u čijoj patogenezi učestvuju mnoge imunske ćelije (eozinofilni granulociti, mastociti i T limfociti). Bolest je definisana pojavom simptoma poput ponavljanih epizoda sviranja u grudima, gušenja, teskobe u grudima i kašlja, različitog intenziteta, koje se javljaju u različito doba dana, češće noću ili pred jutro kod preosetljivih osoba. Bronhoopstrukcija je reverzibilna i prolazi spontano ili na terapiju. Bolest se karakteriše prisustvom bronhijalne hiperreaktivnosti (BHR). Hronična inflamacija, bronhijalna hipereaktivnost i bronhoopstrukcija mogu biti prisutni čak i kad su simptomi odsutni i mogu se normalizovati terapijskim postupcima”.<sup>147</sup>

U nastanku astme najznačajniju ulogu ima genetska predispozicija za nasleđivanje astme, dok je ukupan broj obolelih u određenoj populaciji dominantno uslovljen faktorima spoljašnje sredine. Sklonost ka prekomernoj produkciji specifičnih IgE antitela na aeroalergene (sezonske, perenijalne) predstavlja najsnažniji unutrašnji, genetski predisponirajući faktor u ispoljavanju astme. Faktori spoljašnje sredine koji pokazuju najveći potencijal na ispoljavanje astme su virusne respiratorne infekcije, aerozagađenje, lekovi, pušenje i stres.<sup>148</sup>

## 1.2.2 Epidemiologija astme

### 1.2.2.1 Prevalencija astme u svetu

Astma je najčešća hronična bolest kod dece u industrijalizovanim zemljama sveta.<sup>149</sup> Preciziranje broja obolelih od astme je teško, prvenstveno zbog neujednačene definicije astme u različitim epidemiološkim ispitivanjima. Takođe, evidentiranje obolelih na osnovu objektivnih znakova oboljenja (npr. BHR) nije pogodno za veće, internacionalne studije. Registrovanje pacijenata na osnovu simptoma bolesti je moguće, ali treba napomenuti da su oni odraz subjektivne percepcije, odnosno veoma su varijabilni, neujednačeni i nespecifični. Procena prevalencije astme na osnovu postavljene dijagnoze je uslovljena postojanjem odgovarajuće opreme, kadra i dostupnosti zdravstvene zaštite.<sup>150</sup> U periodu od 1991. do 2012. godine sprovedena je internacionalna studija o prevalenciji astme i alergija kod dece (International Study of Asthma and Allergies in Children - ISAAC) sa ciljem dobijanja jasnih i preciznih podataka. Ova studija je obuhvatila 106 zemalja širom sveta, 280 različitih centara i oko 2 miliona dece uzrasta od 2 do 16 godina. Stopa prevalencije astme u svetu pokazuje široku varijaciju. U razvijenim zemljama poput Velike Britanije, Kanade, Australije i Novog Zelanda se beleži visoka prevalencija i iznosi 17-30 %. Područja sa niskom prevalencijom između 1-7 % su Istočna Evropa, Kina i Indonezija.<sup>151</sup> Međutim, treba istaći da je navedena studija sprovedena pre 6 godina, zbog čega postoji mogućnost da su ovi podaci danas samo delimično tačni. Poslednje epidemiološke studije u svetu ukazuju na porast učestalosti AA kod dece, kao i na porast drugih atopijskih bolesti i alergijske senzibilizacije. Porast prevalencije astme je multifaktorijalno uslovljen. Faktori koji se navode kao najznačajniji su epidemija gojaznosti, sve više zastupljen sedenteran način života, duži boravak u zatvorenom prostoru (gde je izloženost alergenima kao što su grinje, kućna prašina, plesni, bubašvabe veća), a smanjena je prevalencija infekcije u detinjstvu, - odnosno poboljšanje higijenskih uslova. Pored porasta broja obolelih, u porastu je i broj teških slučajeva bolesti tj. broja hospitalizovanih i teških napada.<sup>152</sup> Astma u velikoj meri doprinosi ukupnom morbiditetu određene populacije i umanjuju kvaliteta života obolelih. Troškovi lečenja pacijenata sa astmom su veoma visoki, a ništa manje značajni nisu ni troškovi koji nastaju kao posledica gubitka radnih i školskih dana (diability-adjusted life years – DALYs), invaliditeta ili prerane smrti.<sup>153</sup> Astma je bolest

sa relativno niskom stopom mortaliteta (manje od 1% svih uzroka smrti). Stopa mortaliteta veoma varira među starosnim grupama i beleži značajan porast kod obolelih u starijem životnom dobu. Takođe, stopa mortaliteta veoma varira i u odnosu na različita geografska područja. Poslednju deceniju, najviša stopa mortaliteta je zabeležena u južnoj i istočnoj Aziji i centralnoj i istočnoj Africi, a najniža u Australiji, Evropi i Severnoj i Južnoj Americi. Najizraženija tendencija opadanja stope mortaliteta je u Australiji i Novom Zelandu.<sup>154</sup>

### **1.2.2.2 Prevalencija astme u Srbiji**

Tačna učestalost astme u Srbiji nije poznata. Nekoliko studija ukazuje da je ona slična kao u Evropi. Prevalencija alergijskih bolesti kod dece u Srbiji je analizirana u III fazi ISAAC studije. Istraživanje je sprovedeno u pet regionalnih centara različitih demografskih i socioloških karakteristika i obuhvatilo je oko 14.000 dece dve starosne grupe, od 6-7 godina i od 13-14 godina. U mlađoj starosnoj grupi prevalencija astme iznosila je 6,59%, a u starijoj 5,36%. U ukupnom zbiru prevalencija astme u Srbiji je iznosila 5,91%.<sup>155</sup>

### **1.2.3 Patofiziologija astme**

Glavni patofiziološki mehanizmi u astmi su upala, reverzibilna opstrukcija bronha, trajna BHR i remodelovanje bronha kao posledica prenaplašenog odgovora na spoljašnji stimulus (alergen, iritans). Inflamacijski proces u disajnim putevima ima centralno mesto u patofiziološkim dešavanjima u astmi. Aktuelni stav ističe ključni značaj inflamacije u razvoju ograničenog protoka vazduha i povećane reaktivnosti bronhijalnog stabla. Inflamatorna reakcija u astmi predstavlja složenu, kaskadnu interakciju brojnih ćelija humoralnog i ćelijskog imuniteta i njihovih medijatora. Inflamatorni supstrat u astmi može rezultirati sanacijom inflamatorne reakcije ili imati za posledicu hroničnu upalu disajnih puteva sa trajnim oštećenjem tkiva.<sup>1</sup> AA je poseban fenotip bolesti čiju patogenetsku osnovu čini prvi tip alergijske reakcije, odnosno reakcija posredovana IgE. Inflamatorna reakcija disajnih puteva se odvija u dve faze. Rana faza IgE posredovane reakcije podrazumeva ponovno izlaganje alergenu i posledično unakrsno povezivanja najmanje dve IgE molekule spojene za Fc receptore na membrani mastocita, makrofaga i bazofilnih granulocita u alergične osobe. Navedeni mehanizam izaziva rani ili neposredni alergijski odgovor koji, karakteriše degranulacija ovih ćelija i sekrecija niza medijatora

kao što su histamin, triptaza, eikosanoidi i ekspresija adhezijskih molekula. Ovi medijatori izazivaju kontrakciju glatke muskulature bronha, vazodilataciju i povećanu propustljivost krvnih sudova tokom prvih 4-6 sati posle izlaganja alergenu. Takođe, deluju hemotaktički na neutrofilne, bazofilne i eozinofilne granulocite i monocite.<sup>156</sup> Inflammatory medijatori aktiviraju i inducibilnu sintetazu azotnog oksida (*engl.* inducible isoform Nitric Oxide Synthase, iNOS) koja podstiče oslobađanje azotnog oksida (NO) primarno iz epitelnih ćelija disajnih puteva. Povećana količina NO je glavni promotor inflamatornog procesa u astmi.<sup>157</sup> Kasna faza IgE posredovane reakcije se razvija za 3-12 sati posle ekspozicije alergenu i dovodi do bronhoopstrukcije, hiperreaktivnosti bronha i posledičnog remodeliranja zida disajnog puta.<sup>158, 159</sup> Ekspozicija alergenu dovodi do oslobađanja TNF- $\alpha$  iz mastocita koji uzrokuje ekspresiju vaskularnih adhezijskih molekula na endotelnim ćelijama krvnih sudova i transendotelnu migraciju inflamatornih ćelija. TH2 citokinski profil (IL-3, IL-5) i granulocitno-makrofagni faktor stimulacije rasta (*engl.* granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF) omogućuju perzistiranje aktiviranih inflamatornih ćelija u bronhijalnom tkivu.

IL-4 i IL-13 stimulišu epitelne ćelije na proizvodnju TGF- $\alpha$  koji putem autokrinog signalnog mehanizma dovodi do metaplazije sluznice i proliferacije fibroblasta.<sup>160</sup> Istovremeno sa inflamatornim procesom, odvija se i proces reparacije i remodeliranja bronha. Remodelovanje bronha ima za posledicu, u zavisnosti od dužine trajanja, oštećenje epitela različitog stepena, subepitelno zadebljanje bazalne membrane, hipertrofiju i hiperplaziju glatkih mišićnih ćelija, stvaranje novih krvnih sudova, hipertrofiju mukusnih žlezda i hiperplaziju peharastih ćelija. Disajni putevi postaju rigidni, a bronhijalna hipereaktivnost je stalno prisutna. Pokazatelji protoka vazduha u disajnim putevima su sniženi a odgovor na bronhodilatatore je nezadovoljavajući. Zadebljanje bazalne membrane korelira sa težinom bolesti, hronicitetom i bronhijalnom hiperreaktivnošću.<sup>161, 162, 163</sup> Ispitivanja su pokazale da niže vrednosti pH tečnosti koja oblaže disajne puteve (*engl.* respiratory extracellular lining fluid, FELF) uzrokuje pojavu bronhokonstrikcije, povećava viskoznost sluzi, smanjuje pokretljivost cilija, podstiče upalni proces, oštećuje respiratorni epitel, te ima značajnu ulogu u patofiziologiji astme.<sup>164</sup>

Ekspozicija alergenima, kao i produkcija reaktivnih supstanci iz inflamatornih ćelija u astmi ima za posledicu oksidativni stres čija se objektivizacija vrši merenjem

povišenih koncentracija 8-izoprostana (produkt oksidisanе arahidonske kiseline) u kondenzatu izdahnutog vazduha i povišenog etana (produkt peroksidacije masnih kiselina) u izdahnutom vazduhu.<sup>165,166</sup> Ukratko, u etiopatogenezi AA ključnu ulogu imaju inflamatorne ćelije i medijatori koji pripadaju T<sub>H</sub>2 ćelijskom odgovoru, eozinofilni i bazofilni granulociti i mastociti. Antigeni spoljašnje sredine poput infekcije (virusne, bakterijske), alergena, aerozagađivača indukuju T<sub>H</sub>2 imunski odgovor koji ima za posledicu oslobađanje odgovarajućih citokina od strane epitelnih ćelija, posebno IL-33 i limfopoetina timusne strome (thymic stromal lymphopoietin- TSLP). IL-33 i TSLP, dovode do ekspresije OX40 liganda na antigen prezentujućoj ćeliji – DCs, a potom dolazi do mobilizacije DCs prema drenažnim limfnim čvorovima. U limfnim čvorovima DCs dovode do diferencijacije naivnih CD4<sup>+</sup> (cluster of differentiation 4) T ćelija u IL-4 kompetentne T ćelije. IL-4 kompetentne T ćelije u limfnim čvorovima migriraju u B ćelijske zone gde kooperacija između T i B limfocita dovodi do klasnog preusmeravanja (class switching), čime je omogućena produkcija antitela klase IgE. T<sub>H</sub>2 ćelije koje migriraju iz cirkulacije na epitel i subepitelnu mukožu disajnih puteva sintetišu IL-5 i IL-13, koji imaju značajno učešće u inflamaciji i kasnijem remodeliranju disajnih puteva. Oslobođeni Th2 citokinski profil i sintetisani IgE dovode do aktivacije eozinofilnih granulocita koji podržavaju alergijsku upalu tj. proliferaciju, diferencijaciju, privlačenje i duže preživljavanje eozinofila, odnosno predisponiraju individuu za nastanak astme i njeno pogoršanje.<sup>167</sup> Funkcija i značaj pojedinih citokina, između ostalog i IL-33, kod bolesnika sa AA, posebno u dečijem uzrastu nisu jasno precizirani. Do sada je sproveden vrlo mali broj studija o ulozi IL-33 kod dece sa AA. Definisane uloge IL-33 u imunopatogenezi AA kao i utvrđivanje njegovog potencijalnog značaja kao novog, potentnijeg biomarkera u dijagnostici i monitoringu AA, omogućilo bi ranije dijagnostikovanje, bolje definisanje fenotipa AA, ali i prepoznavanje subkliničke alergijske inflamacije disajnih puteva. Jasno definisanje značaja IL-33 u AA bi doprinelo većem stepenu personalizacije u terapijskom pristupu tj. optimalnijem lečenju i konačno boljem ishodu.

#### **1.2.4 Klasifikacija astme**

Prvi pregled i uzimanje podataka o karakteristikama bolesti je od neprocenjivog značaja u radu sa decom. Dopunskim dijagnostičkim pregledima i spirometrijskim



ispitivanjima dolazi se do procene stepena težine astme što je neophodno u odabiru farmakoterapije. Detaljna anamneza i klinički pregled pomažu u procenjivanju stepena progresije bolesti, posebno kod male dece kod koje se ne mogu uraditi testovi ispitivanja plućne funkcije. Prema vodiču američkog nacionalnog programa za edukaciju i prevenciju astme NAEPP 2007 (*engl.* National Asthma Education and Prevention Program, Nacionalni program za obrazovanje i prevenciju astme) astma u dečijem uzrastu se, pre nego što se započne lečenje, klasifikuje prema težini kliničke slike i pokazateljima plućne funkcije na 4 kategorije. **Povremena (intermitentna) astma** se karakteriše prisustvom simptoma (teškoće u disanju, sviranje, stezanje u grudima i kašalj) manje od 2 dana u nedelji uz neometanu dnevnu aktivnost. Noćni simptomi se javljaju manje od 2 dana mesečno. Kod dece iznad 5 godina, pokazatelji plućne funkcije (FEV1 ili PEF) su normalni u periodima kada dete nije u akutnoj fazi bolesti (FEV1 i PEF su 80 % ili više od očekivanih i variraju manje od 20 % tokom dana). **Laka – perzistentna astma** je praćena pojavom simptoma koji se javljaju više od 2 x nedeljno ali se ne javljaju svaki dan. Napadi utiču na svakodnevne aktivnosti. Noćni simptomi se javljaju 3-4 x mesečno. Pokazatelji plućne funkcije (FEV1 ili PEF) su normalni u periodima kada dete nema napad (FEV1 je 80 % ili više od očekivane vrednosti i PEF varira od 20 do 30 % tokom dana). Kod **srednje teške perzistentne astme** simptomi se javljaju svakodnevno, dete svakodnevno inhalira SABA (*engl.* Short-Acting Beta Agonist, kartkodelujući beta 2 agonist). Simptomi delimično ograničavaju svakodnevne aktivnosti. Noćni simptomi se javljaju češće od 1 x nedeljno, ali ne svaku noć. Pokazatelji plućne funkcije (FEV1 ili PEF) su patološki (FEV1 je manji od 80 % i veći od 60 % od očekivane vrednosti, PEF varira više od 30 % tokom dana). **Teška – perzistentna astma** podrazumeva pojavu simptoma više puta svakog dana. Dete u više navrata svakodnevno inhalira SABA, dnevne aktivnosti su ozbiljno narušene i limitirane. Noćni simptomi se javljaju često, ponekad svake noći. Pokazatelji plućne funkcije (FEV1 ili PEF) su patološki (FEV1 je 60 % ili manje od očekivane vrednosti, PEF varira više od 30 % tokom dana). Navedena klasifikacija dečije astme je jedna od primenljivih u pedijatrijskoj praksi koja pomaže u proceni težine bolesti i započinjanju terapije.

Težina ispoljavanja astme je odraz stepena razvijenosti patoloških promena u zidu disajnih puteva, što utiče na terapijski pristup u inicijalnom tretmanu svakog pojedinačnog pacijenta. Kontrola astme podrazumeva različite stepene poboljšanja

bolesti kojima se postižu zadati terapijski ciljevi (npr. smanjenje simptoma bolesti, miran san bez buđenja, normalizacija plućne funkcije, poboljšanje kvaliteta života i dr.). Klasifikacija bolesti prema težini ili stepenu kontrole, bazirana na proceni oštećenja u disajnim putevima, napravljena je radi davanja dijagnostičko terapijskih smernica kod pacijenata sa različitim stepenom rizika. Svakog bolesnika treba svrstati u određenu kategoriju prema težini ispoljavanja simptoma, kao i prema spirometrijskim nalazima (kod starije dece) u dužem vremenskom periodu. Zaključak o tome da li se radi o detetu sa određenim stepenom težine astme donosi se na osnovu podataka o simptomima (učestalost simptoma, njihov intenzitet, noćni problemi, limitirana fizička aktivnost itd.) u dužem vremenskom periodu. Pošto se radi o hroničnoj plućnoj bolesti sa nepredvidivim tokom, dugoročno praćenje treba da omogući globalni uvid u stanje bolesnika (da li je bolje ili gore od poslednjeg pregleda) i promenu terapije u skladu sa postignutom kontrolom. Ovo su razlozi zbog čega su za sve pacijente, a posebno za one sa najtežom formom bolesti, predložene smernice za dijagnostičko terapijske postupke (GINA, ATS, NAAEP, PRAKTAL i dr.).<sup>147, 168, 169, 170</sup>

Pristup lečenju dece sa astmom podrazumeva lečenje akutnog pogoršanja i lečenje hronične bolesti a farmakološki tretman podrazumeva upotrebu kratkododelujućih beta agonista i lekova za kontrolu simptoma kao što su inhalacioni kortikosteroidi, dugo delujući bronhodilatatori (beta agonisti i antiholinergici), lekovi antagonisti leukotrijenskih receptora (LTRA), teofilinski preparati, oralni kortikosteroidi i noviji lekovi (kao što su anti-imunoglobulin E (IgE) antitela (omalizumab) i anti- IL-5 antitelo i dr.) kod odabrane grupe pacijenata sa teškom astmom. Cilj terapije kod svih pacijenata je postizanje kontrole bolesti bez simptoma, sa maksimalnim poboljšanjem plućne funkcije i poboljšanjem kvaliteta života. Stepeničast pristup lečenju pacijenata (stepenica gore ukoliko je potrebno i stepenica prema dole kada je to moguće) prihvaćen je u brojnim vodičima za lečenje astme, a instrukcije za uvođenje lekova su uglavnom date po istom principu. U praksi se najčešće koriste instrukcije date u GINA smernicama, za koje se svake godine pravi revizija u stavovima u lečenju pacijenata. Terapija se prilagođava uzrastu deteta i stepenu kontrole.<sup>147</sup>

Prema stepenu kontrole GINA smernice predlažu podelu astme na kontrolisanu, delimično kontrolisanu i nekontrolisanu što je prikazano u tabeli broj 2.<sup>147</sup>

**Tabela 2. Podela astme prema stepenu kontrole**

Svojstva astme	Kontrolisana	Delimično kontrolisana (bilo koji pozitivan)	Nekontrolisana
<i>Dnevni simptomi</i>	Nema (<2 x nedeljno)	Da (>2 x nedeljno)	3 ili više karakteristika delimično kontrolisane astme istovremeno
<i>Ograničenje aktivnosti</i>	Nema	Da	
<i>Noćni simptomi</i>	Nema	Da	
<i>Upotreba SABA</i>	Nema (< 2x nedeljno)	Da (>2 x nedeljno)	
<i>Plućna funkcija (PEF ili FEV1)</i>	Normalna	< 80% predviđene ili najbolje lične vrednosti (ako je poznata)	
<i>Egzacerbacija</i>	Nema	1 ili više godišnje	Nedeljno

SABA - kartkodelujući beta 2 agonist (*engl. Short-Acting Beta Agonist*); FEV1 – forsirani ekspiratorni volumen vazduha izdahnut u prvoj sekundi (*engl. Forced Expiratory Volume in 1 second*); PEF – vršni ekspiratorni protok (*engl. peak expiratory flow*); Nedeljno – unutar bilo koje nedelje od poslednje kontrole

### 1.2.5 Dijagnoza astme

Na osnovu GINA smernica dijagnoza astme se postavlja na osnovu anamnestičkih podataka, fizičkog pregleda, dijagnostičkih testova i odgovora na primenjenu terapiju. **Anamnestički podaci** koji upućuju na dijagnozu astme su prisustvo kašlja, otežanog disanja, zviždanja, stezanja u grudima. Simptomi mogu biti različiti po intenzitetu, mogu se pogoršavati u toku noći, prilikom smejanja, vežbanja, na hladnom vazduhu. Od značaja je da li su simptomi prisutni tokom cele godine ili u određeno doba godine tj. da li su sezonskog karaktera. Prilikom rada sa pacijentom od roditelja treba uzeti podatke o postojanju simptoma drugih alergijskih bolesti deteta (kože, gornjih disajnih puteva, oka, digestivnog trakta i dr.) kao i podatke o eventualnim ranijim reakcijama na medikamente koje je dete dobijalo. Podaci o alergijskim bolestima u porodici su od posebnog značaja. Ako jedan od roditelja ima astmu i alergiju na neki od inhalacionih alergena, verovatnoća da i dete ima astmu je 30-50%. Ukoliko oba roditelja boluju od astme i alergije, verovatnoća da će je i dete imati je čak 60-80%. Ukoliko od astme boluje brat ili sestra, rizik za sledeće dete je oko 25% u višečlanim porodicama. Što je veći broj srodnika u

porodici, manji je rizik od nastajanja bolesti. Astma u srodnika van prvog stepena srodstva (najuža porodica, majka, otac i deca) ne povećava značajno rizik od nastajanja oboljenja u deteta.<sup>171, 172</sup> U dijagnostici astme značaj imaju i podaci o socijalno epidemiološkom statusu (socio-epidemiološka anamneza). Opis stana ili kuće, način grejanja, vlažnost prostorija, izloženost grinjama, plesnima, kućnim ljubimcima, duvanskom dimu, stepen edukacije roditelja, zaposlenost roditelja, itd.

**Klinički pregled pacijenta** je sledeća stepenica u dijagnostičkom algoritmu astme. Posebno su značajni opšti status bolesnika, određivanje vitalnih parametara (broj respiracija u minuti, frekvencija pulsa, saturacija krvi kiseonikom), uočavanje simptoma respiratornog napora i procena stepena dispnee kod dece sa astmom, auskultatorni nalaz na plućima i detaljan fizički pregled gornjih i donjih disajnih puteva.<sup>147</sup> U dijagnostici astme, osnovno je uraditi procenu stanja plućne funkcije.

**Funkcionalna dijagnostika** podrazumeva procenu stanja plućne funkcije primenom različitih aparata (spirometar, body pletizmograf, ergospirometar) u hospitalnim uslovima ili primenom aparata za merenje vršnog ekspiratornog protoka (peak flow-meter) u ambulantnim i kućnim uslovima. Merenja dobijena primenom ovih uređaja omogućuju utvrđivanje stepena i tipa oštećenja plućne funkcije, postojanja hiperreaktivnog disajnog puta, procenu stepena težine opstrukcije, odgovora na bronhodilatator i određenu terapiju za hroničnu bolest, odnosno praćenje varijabilnosti disajnog puta tokom dužeg vremenskog perioda.

Spirometrija je osnovni metod za procenu plućne funkcije. Termin spirometrija nastao je od latinske reči spirare (disati) i grčke reči metros (mera) i podrazumeva merenje volumena udahnutog, odnosno izdahnutog vazduha u funkciji vremena.<sup>173</sup> Spirometrijsko merenje vrši se uz pomoć spirometra, pri čemu se, tokom merenja, vrednosti prikazuju grafički krivuljama koje se nazivaju spirogrami. Dva osnovna tipa spirograma su volumen-vreme (na Y osi se prikazuju volumeni, dok se na X osi prikazuje vreme) i protok-volumen (na Y osi se prikazuju protoci, a na X osi volumeni). Parametri ventilacije pluća mogu biti *statički* i *dinamički*.

*Statički plućni volumeni i kapaciteti* mere se nezavisno od vremena i daju uvid u volumen vazduha u plućima. Postoje četiri volumena:

1. Disajni volumen (TV) je količina vazduha koju, tokom normalnog disanja udahnemo ili izdahnemo jednim respiratornim aktom. Kraj inspiratorne faze zove

se "kraj – inspiratornog nivoa", dok se kraj ekspiratorne faze naziva "kraj – ekspiratornog nivoa".

2. Inspiratorni rezervni volumen (IRV) je najveća količina vazduha koja se može udahnuti iznad kraja – inspiratornog nivoa disajnog volumena.
3. Ekspiratorni rezervni volumen (ERV) je najveća količina vazduha koja se može izdahnuti ispod kraja – ekspiratornog nivoa disajnog volumena.
4. Rezidualni volumen (RV) je količina vazduha koja ostaje u plućima posle maksimalnog izdaha.

Prva tri volumena se mere direktno spirometrijski, dok se rezidualni volumen određuje indirektno (pletizmografski ili metodom dilucije helijumom). Dva, ili više volumena, čine kapacitet.

Postoje četiri kapaciteta:

1. Vitalni kapacitet (VC) je najveća količina vazduha koja se posle maksimalnog udaha može maksimalno izdahnuti. Kada se izvodi forsirano, zove se forsirani vitalni kapacitet (FVC), a kada se izvodi polagano, spori vitalni kapacitet (SVC). Možemo ga opisati kao zbir:  $TV+IRV+ERV$ . Kod zdravih osoba iznosi oko 70% totalnog volumena pluća. Smanjen VC ukazuje na restriktivne poremećaje ventilacije. Javlja se pri redukciji respiratorne površine i/ili smanjenom širenju i skupljanju plućnog tkiva (infiltracija, destrukcija, hiperinflacija ili emfizem, pneumotoraks i hidrotoraks, deformitet grudnog koša, gojaznost ili slabost disajnih mišića). Vrednosti koje se kreću  $\pm 20\%$  od predviđene vrednosti se smatraju normalnim.
2. Inspiratorni kapacitet (IVC) je najveća količina vazduha koja se posle normalnog izdisaja može maksimalno udahnuti. On je zbir:  $IRV+TV$ . Obično iznosi 60-70% od FVC u zdravih osoba.
3. Funkcionalni rezidualni kapacitet (FRC) je volumen vazduha koji ostaje u plućima posle normalnog izdisaja. On sadrži:  $ERV+RV$ . Funkcionalni rezidualni kapacitet se određuje: metodom dilucije helijumom, ispiranjem azota ili pletizmografski.<sup>174, 175, 176</sup>
4. Ukupni plućni kapacitet(TLC) je volumen vazduha u plućima posle maksimalnog udaha. On sadrži sva četiri volumena: IRV, TV, ERV i RV. Takođe sadrži dva kapaciteta: IC i FRC.

*Dinamički plućni volumeni* vezani su za faktor - vreme i pokazatelji su stepena prohodnosti disajnih puteva. U dinamičke plućne volumene spadaju: forsirani ekspiratorni volumen (FEV), Tiffeneau index ( $100 \text{ FEV1/FVC}$ ) i krivulju protok-volumen.

1. Forsirani ekspiratorni volumen je volumen vazduha izdahnut forsiranim ekspirijumom, posle maksimalnog inspirijuma. Može se meriti u: 0,5 sekundi, prvoj, drugoj ili trećoj sekundi. Obično se meri u prvoj sekundi (FEV1), jer je početni deo krivulje zavisao od napora i saradnje ispitanika, a kraj više izražava promene kapaciteta. Zato je on jedan od važnih testova za otkrivanje opstruktivnih promena u većim disajnim putevima, ali reflektuje i promene u malim disajnim putevima. Normalno iznosi oko 80% FVC.
2. Tiffeneau indeks je odnos FEV1 prema VC  $\times 100$  ( $100 \text{ FEV1/FVC}$  ili % FEV1 od FVC).<sup>177</sup> Normalne vrednosti ovog indeksa su iznad 80%. Snižene vrednosti ukazuju na opstruktivne poromećaje ventilacije. Osnovni uzrok smanjenja FEV1 je otpor u strujanju vazduha u disajnim putevima, bilo kojeg mehanizma nastanka. Ukoliko je istovremeno VC normalan, radi se o opstruktivnim smetnjama ventilacije. Kada je uz Tiffeneau indeks smanjen i VC, poremećaj je mešovito, opstruktivno-restriktivnog tipa. Povećana vrednost volumena, uz istovremeno smanjenje vitalnog kapaciteta, ukazuje na hiperinflaciju pluća.
3. Krivulja protok-volumen ispituje se na aparatu koji istovremeno meri protok i volumen vazduha. Na X-osi se registruje volumen (u litrama), a na Y protok vazduha (u l/sek). Ispitanik treba da izvede maksimalni inspirijum, a potom što potpuniji i brži forsirani ekspirijum (kao kada se izvodi spirometrijski test forsiranog ekspirijuma). Krivulja koja se dobije pokazuje na horizontalnoj osovini ukupni volumen vazduha izdahnut tokom testa (forsirani vitalni kapacitet). Na verikalnoj osovini se prikazuje najveći ekspiratorni protok (PEF) koji se javlja u početnom delu ekspirijuma, a potom forsirani ekspiratorni protok pri 75 % FVC (FEF75), 50% FVC (FEF50) i 25 % FVC (FEF25). Na inspiratornom delu krivulje mere se identični parametri: najveći inspiratorni protok (PIF) kao i forsirani inspiratorni protok pri 25, 50 i 75% udahnutog vitalnog kapaciteta (FIF25, FIF50 i FIF75). Analiza forsiranog ekspirijuma putem krivulje protok-volumen zasniva se na zapažanju da ljudi sa poremećajima disajnih puteva proizvode

reproduktibilne promene u obliku krivulje u komparaciji sa zdravim osobama. Oblik krivulje menja se u dve dimenzije: na volumen osovini - X osi i na protok osovini - Y osi. Samo maksimalni forsirani ekspirijum iz maksimalne inspiratorne pozicije (=TLC) može osigurati reproduktibilnost. Procena promene krivulje na volumen osi je jednostavna: redukovani volumen je patološki, ukazuje na mešoviti, opstruktivno-restriktivni poremećaj. U proceni promena amplitude na osi ekspiratornog protoka, korisno je volumen osovini podeliti u tri dela: PEF do FEF75 (TLC - 25% VC). Ovaj deo zavisi od pacijentove saradnje bez koje je bilo kakva procena relativno nepouzdana. Nizak PEF i FEF75 dobijaju se kod ekstratorakalne stenoze. U jakoj plućnoj opstrukciji, PEF je znatno viši nego FEF50. Oblik prvog dela ekspiratorne krivulje protok-volumen najvećim delom zavisi od saradnje pacijenta. Procena o opstrukciji na ovom delu krivulje je loša. Srednji deo ekspiratorne krivulje kreće se od FEF75 do FEF25. Ovaj deo samo malo zavisi od pacijentove kooperacije i karakteriše se sa izmerenom vrednosti FEF50 (50% VC). Protočna krivulja ispod nivoa bazičnog disanja zavisi u potpunosti od pacijentove kooperativnosti, sve dok on nastavlja izdisati sa malom snagom. Amplituda protoka u ovom delu plućnog volumena je gotovo isključivo zavisna od plućne retrakcije (elastična sila pluća). Što se kasnije u ekspirijumu meri protok, to u većoj meri nalazi odražavaju otpore u veoma malim disajnim putevima. Neke studije su pokazale poremećaje u nalazima FEF25 kada su ostali pokazatelji forsiranog ekspirijuma kao što su FEV1 i FEF25-75 bili normalni.<sup>178,</sup>  
<sup>179, 180</sup> Takav funkcionalni nalaz ukazuje na postojanje opstruktivnih poremećaja lokalizovanih u perifernim delovima bronhijalnog stabla, tj. u malim disajnim putevima (<2 mm). Ukoliko je samo treći deo protok-volumen krivulje promenjen, mora se uzeti u obzir bolest malih disajnih puteva. Inspiratorni protok na krivulji protok-volumen nije zahvaćen dinamičkom kompresijom disajnih puteva, jer se tokom inspirijuma bronhije uvek šire (intrapulmonalni pritisak je niži od pritiska unutar disajnih puteva). Inspiratorni deo krivulje je koristan u otkrivanju opstrukcije gornjih disajnih puteva koja redukuju taj deo krivulje zbog ograničavanja maksimalnog protoka (npr. suženja u predelu glotisa i trahealna stenoza). Ekspiratorni deo krivulje je takođe redukovan kod fiksne opstrukcije gornjih disajnih puteva.<sup>174, 175</sup>

Uz spirometriju, kod dece sa astmom u postupku postavljanja dijagnoze kao i daljeg praćenja (procene stepena pogoršanja ili poboljšanja osnovne bolesti, tj. stanja plućne funkcije) rade se farmakodinamski testovi. U rutinskoj praksi koristi se bronhodilatatorni test. Bronhodilatatornim testom potvrđujemo prisustvo reverzibilnosti i stepena reaktivnosti disajnog puta. Test se izvodi tako što se posle prve spirometrije detetu daje salbutamol (2-4 puffa, u zavisnosti od uzrasta i TM deteta), a posle 15-20 minuta se vrši drugo merenje. American College of Chest Physicians preporučuje da se porast od 15 do 25% u barem dva od 3 spirometrijska testa (FVC, FEV1 i FEF25-75) prihvati kao pozitivan nalaz. Za pozitivnost testa FEV1 i FEF25-75 kod dece se uzima porast vrednosti 10-15% u odnosu na vrednosti pre primene bronhodilatatora. Dosta autora i vodiča za astmu u dečijem uzrastu smatraju porast FEV1 i /ili FVC znad 12% pozitivnim nalazom.<sup>181</sup>

Vršni ekspiratorni protok (peak expiratory flow, PEF) je najveći postignuti protok tokom forsiranog ekspirijuma, posle maksimalnog inspirijuma. PEF je pokazatelj koji postoji kao sastavni deo spirometrijskih merenja. U kućnim uslovima, kod dece sa srednje teškom i teškom formom astme, postoji potreba za monitoringom plućne funkcije koji se obavlja primenom aparata za merenje vršnog ekspiratornog protoka (peak flow meter-a). To su mali i jednostavni aparati, jeftini, prilagođeni za uzrast dece starije od 4 godine (koja su u stanju da izvedu manevar brzog, snažnog izdisanja posle maksimalnog udaha). Koristan je u proceni dnevnih varijacija protoka (odraz bronhijalne hiperreaktivnosti) kao i efekta terapije. Kod zdrave dece dnevne varijacije PEF-a su do 6%. Prednosti PEF-a su jednostavnost njegovog izvođenja pomoću jeftinih i dostupnih aparata. Takođe, pacijent može uočiti pogoršanje i nedovoljnost terapije te se na vreme može javiti lekaru. Može postojati opstrukcija na nivou malih disajnih puteva, a da PEF i FEV1 budu uredni. Za ranu dijagnostiku poremećaja malih disajnih puteva u dece i nadzor postignute remisije, specifičnija i osetljivija metoda je krivulja protok-volumen.<sup>182</sup>

**Laboratorijska dijagnostika** koja se rutinski koristi u dijagnostici alergijske astme podrazumeva određivanje apsolutnog broja eozinofilnih granulocita u krvi i sekretima iz disajnih puteva (nazalnom sekretu, sputumu, bronhoalveolarnom lavatu), koncentraciju ukupnog i specifičnih IgE u serumu. Određivanje biomarkera iz krvi i ostalih bioloških tečnosti i tkiva, npr. određivanje koncentracije eozinofilnog katjonskog proteina (*engl.* eosinophil cationic protein, ECP) u indukovanom sputumu, bronhoalveolarnom i



nazalnom ispirku, kondenzatu izdahnutog vazduha, je značajno u dijagnostici i monitoringu pacijenata koji boluju od alergijske astme. U cilju procene atopijskog statusa radi se SPT na inhalatorne alergene i/ili određivanje nivoa serumskog specifičnog IgE. Merenje azotnog oksida u izdahnutom vazduhu (*engl.* fractional exhaled NO FENO) se preporučuje kao poželjna dijagnostička metoda u proceni stepena inflamacije u disajnim putevima, kako u inicijalnoj dijagnostici tako i u daljem praćenju astme.<sup>147, 183, 184, 185, 186</sup>

**Radiološka dijagnostika** se ne koristi rutinski kod dece sa astmom. Potrebno je načiniti RTG pluća samo u nejasnim slučajevima, kada se sumnja da dete ima neku drugu bolest koja se klinički manifestuje otežanim disanjem, kod dece sa lošim terapijskim odgovorom i teške neregulirane astme, ili kod sumnje na postojanje komplikacija (emfizem, pneumotoraks, atelektaza, idr.). CT pluća se radi izuzetno retko, radi isključenja komplikacija hronične plućne bolesti (bronhiektazija, i dr.).<sup>187, 188, 189, 190, 191</sup>

### **1.2.6 Diferencijalna dijagnoza astme**

Kod odojčadi uzrasta do 6 meseci astma je veoma redak uzročnik vizinga. U prvom redu treba razmatrati bronhiolitis i gastroezofagealni refluks (GER) dok su aspiraciona pneumonija bronhopulmonalna displazija (BPD), kongestivna srčana insuficijencija i cistična fibroza (CF) ređi uzročnici vizinga. U ovom uzrastu prilikom evaluacije vizinga treba razmotriti i mogućnost postojanja kongenitalne anomalije sa oštećenjem disajnih puteva (traheozofagealna fistula, vaskularni ring, traheobronhijalna obstrukcija). Drugi uzroci otežanog disanja u ovom uzrastu su znatno ređi. Kod dece uzrasta 6 meseci do 2 godine astma je nešto češći uzročnik vizinga u odnosu na mlađu decu. Najčešće u ovom uzrastu otežano disanje ima u pozadini bronhiolitis i aspiraciju stranog tela. Ostali uzroci koje treba isključiti su: aspiraciona pneumonija, BPD, CF, GER. Miokardiopatija se može ispoljiti vizingom u ovom uzrastu, ali je to ređe. Kod dece uzrasta 2 do 6 godina sa vizingom na prvom mestu treba razmatrati astmu i aspiraciju stranog tela, a potom CF, GER, virusnu pneumoniju. Ostali uzročnici su mogući, ali ređe prisutni u ovom uzrastu. Takođe, u razmatranju diferencijalne dijagnoze astme, posebno kod mlađih uzrasta, treba razmotriti postojanje pertusisa. Tuberkuloza limfnih žlezda može dovesti do otežanog disanja i vizinga zbog ekstramuralne kompresije uvećanih žlezda na disajne puteve, pre svega bronhijalnog stable. Kod dece uzrasta od 6 do 12 godina u diferencijalnoj dijagnozi astme na prvom mestu treba razmatrati: sindrom

postnazalnog slivanja sekreta, sinusitis i alergijski rinitis, aspiraciju stranog tela, bronhiektazije, primarnu cilijarnu diskineziju, srčanu insuficijenciju, alfa 1 antitripsin deficijenciju i cističnu fibrozu. U uzrastu preko 12 godina diferencijalna dijagnoza astme podrazumeva: sindrom postnazalnog slivanja sekreta, disfunkciju glasnih žica, hiperventilaciju – disfunkcionalno disanje, bronhiektazije, cističnu fibrozu, urođenu srčanu bolest, alfa 1 antitripsin deficijenciju i aspiraciju stranog tela. U ovom uzrastu mogući uzrok otežanog disanja može da bude postojanje mediastinalne mase koja se ređe sreće u mlađem uzrastu.<sup>147, 168, 192, 193, 194, 195</sup>

### **1.2.7 Tok i prognoza astme**

Najznačajniji faktor rizika i predikcije potencijalnog perzistiranja dečije astme i u odrasloj dobi je porodična anamneza o postojanju atopijskih bolesti. Posebno se ističe prisustvo atopijske bolesti kod majke, na prvom mestu prisustvo AA i AR. Ženski pol se navodi kao značajan faktor rizika u perzistiranju astme i posle tranzicije iz dečijeg u adultni uzrast. Dečaci imaju veći rizik od oboljevanja u prepubertetskom period, ali manji rizik da imaju astmu u odrasloj dobi. Takođe je poznato da najveći broj dece sa ranim početkom astme imaju bolju prognozu. Navedena činjenica je dokumentovana u studiji sprovedenoj od strane Martineza, u kojoj je dokazano da većina dece sa simptomima astme pre 2 godine života je postala asimptomatska u period od 6-11 godine.<sup>196</sup> Oswald i saradnici su ispitivali povezanost pedijatrijske i adultne astme.

Zaključak studije sprovedena kod 286 ispitanika je glasio: „što je astma teža u detinjstvu manja je verovatnoća da će simptomi nestati u adultnom periodu”.<sup>197</sup> Studije koje su sprovedene na ispitanicima u adolescentnom uzrastu u zaključku iznose da posle puberteta, pretežno oboljevaju devojčice, a remisije su retke. Takođe, kod devojčica posle puberteta je potvrđena visoka bronhijalna hipereaktivnost disajnih puteva, dok je atopija definisana kao glavna determinanta BHR.<sup>198, 199, 200</sup> Analizirajući uticaj delovanja riziko faktora u ranom životnom dobu na razvoj ranog ili kasnog perzistentnog vizinga u dve velike studije sprovedena na 2711 i 1456 ispitanika, došlo se do zaključka da su u ranoj životnoj dobi najznačajniji faktori za pojavu bronhoopstrukcije pozitivan SPT u 4. godini, pojava ekcema do 2. godine, recidivirajuće infekcije donjih disajnih puteva, astma kod majke i brata ili sestre kao i pušenje roditelja. Za kasni početak astme od značaja su podaci da je dete imalo ekcem do 4 godine, da roditelji imaju alergijski rinitis i da su

majka ili oba roditelja pušači.<sup>201, 202</sup> Atopijski status deteta ima značaj u smislu da viši nivo markera atopije (npr. Eo u krvi, ukupni serumski IgE) kao i senzibilizacija većim brojem alergena povećava verovatnoću perzistiranja astme i u odrasloj dobi.<sup>203</sup> Težina astme, težina i učestalost napada dečije astme značajno opredeljuju da li će dečija astma perzistirati i u kasnijem uzrastu.<sup>204</sup> Studije novijeg datuma nisu dokazale da majčino pušenje, virusni bronhiolitis u odojčadskom uzrastu i prevremeno rođenje povećavaju rizik od perzistiranja astme i posle detinjstva.<sup>205</sup>

### 1.2.8 Farmakoterapija dečije astme

Glavni cilj terapije je postizanje dobre kontrole bolesti, smanjenje ili nestanak simptoma bolesti, očuvanje normalne aktivnosti deteta, smanjenje učestalosti pogoršanja bolesti uz što je moguće manje lekova, u najnižoj efikasnoj dozi. U lečenju astme koriste se dve grupe lekova: lekovi za brzo otklanjanje simptoma i grupa lekova koji se koriste u profilaksi hronične bolesti u cilju kontrole inflamatornih promena u disajnom putu. Osnovni lekovi, tzv. kontrolori astme (*engl.* controller medications) imaju antiinflamatorni efekat na alergijsku upalu disajnih puteva, sprečavaju egzacerbaciju bolesti. Simptomatski lekovi (*engl.* reliever medications) – primenjuju se u lečenju akutnog napada bronhoopstrukcije. Osnovni lekovi koji se koriste u kontroli astme kod dece su: inhalacioni kortikosteroidi (ICS, *engl.* Inhalatory CorticoSteroids), antagonisti leukotrijenskih receptora i dugo delujući  $\beta$ -2 receptor agonisti. Zbog slabijeg antiinflamatornog efekta i više nuspojava, kod dece se sve ređe primenjuju lekovi iz grupe kromona i ksantina. Farmakoterapija koja dovode do brze dezopstrukcije i redukcije ili potpunog nestanka simptoma bolesti, čine lekovi iz grupe beta 2-agonista kratkog delovanja tj. SABA i ostali bronhodilatatori. Najčešće se primenjuju salbutamol i fenoterol+ipatropijum-bromid.

Osnovni cilj svih mera koje se preduzimaju u cilju lečenja akutnih epizoda i postizanja kontrole astme su:

- Minimalni (idealno *je bez*) simptomi, uključujući i noćne simptome
- Minimalni broj (*retka*) pogoršanja
- Minimalno korišćenje brzodelujućih beta 2 agonista
- Bez poseta urgentnih službi i hospitalizacija
- Bez ograničenja fizičke aktivnosti

- Maksimalno poboljšanje (*normalizacija*) plućne funkcije
- Sa minimalnim (*ili bez*) nusjeftima lekova koji se daju u terapiji.

Lekove možemo kategorizovati na tri načina: lekove za lečenje akutnih pogoršanja i profilaksu, lekove za inhalatornu i sistemska terapiju i lekove sa antiinflamatornim i bronhodilatatornim efektom. Iako je od značaja poznavanje terapijskih mogućnosti unutar ove tri kategorije postoji preklapanje u grupama. Tako na primer, antiinflamatorni lekovi su primarni u lečenju hronične bolesti, ali se isto tako koriste i u akutnim epizodama. Slično, sistemska raspoloživost inhalatorne terapije je dozno zavisna a neki antiinflamatorni lekovi mogu takođe uzrokovati u izvesnom stepenu bronhodilatatorni efekat. Deca sa perzistentnom astmom zahtevaju uzimanje lekova na dnevnoj bazi radi održavanja kontrole astme, čak i ako dete nema simptome u vreme uvođenja leka. Ove lekove nazivamo lekovima za profilaksu astme, ili lekovima za dužu kontrolu astme. Uvode se u cilju kontrole inflamacije (ili edema sluznice) u zidovima malih disajnih puteva, tokom dužeg vremenskog perioda. Doza i vrsta leka koji se određuje pacijentu u zavisnosti je od stepena težine bolesti i stepena postignute kontrole u momentu uvođenja leka. Takođe treba istaći da neka deca neće imati zadovoljavajući odgovor na specifičnu terapiju. Svako dete kod koga se uvede lek za kontrolu astme mora da se prati i da se koriguje terapija prema stepenu postignute kontrole.<sup>206</sup>

Lekovi koji se koriste su:

Lekovi za akutne epizode bronhoopstrukcije

- Brzo delujući beta 2 receptor agonisti
- Drugi bronhodilatatori

Lekovi za kontrolu astme

- Inhalatorni kortikosteroidi
- Antagonisti leukotrijenskih receptora
- Dugo delujući  $\beta$ -2 receptor agonisti (kod dece u kombinaciji sa ICS)
- Sporo oslobađajući teofilin
- Kromolin natrijum
- Oralni glukokortikoidi
- Biološki lekovi

## Farmakoterapija hronične astme

### 1. Inhalatorni kortikosteroidi (ICS)

Primena inhalatornih kortikosteroida omogućava najdužu kontrolu inflamacije u disajnim putevima uz minimalne nuzefekte pa možemo reći da su bezbedni, što je dokazano u studijama dugog praćenja pacijenata.<sup>207, 208, 209, 210, 211, 212</sup> Dostupni su u formulacijama solucije sa raspršivanjem, merno doznim inhalerima (pMDIs) i suvim puderina (DPIs). Kortikosteroidi ulaze u ćelije i vezuju se za glukokortikoidne receptore u jedru. Oni inhibišu širok spektar kaskada inflamatornih procesa u disajnim putevima, a stimulišu i aktivnost beta receptora i na taj način povećavaju efikasnost bronhodilatatora. Međutim, ovi lekovi imaju i potencijalno loše, nuz efekte koji se pripisuju glukokortikoidima, pa se iz tog razloga vodi računa da se dnevne doze spuste na najniže koje će omogućiti dobru kontrolu. Generalno, terapijska efikasnost i nuz efekti leka su dozno zavisni, a lokalno dejstvo i sistemska bioraspoloživost su dve osobine ICS koje utiču na povoljan efekat i moguća oštećenja tokom upotrebe. Lokalna potencija leka odražava moć redukcije inflamatornih procesa u disajnom putu korišćenje specifične doze, pa ICS sa visokom lokalnom potencijom mogu redukovati inflamaciju pri nižim dozama. Sistemska bioraspoloživost je definisana količinom cirkulišućih glukokortikoida u sistemske cirkulaciji koju obezbeđuje fiksna udahnuta doza, tako da idealni ICS treba da obezbedi jako antiinflamatorno lokalno delovanje pri maloj sistemske bioraspoloživosti.<sup>213, 214, 215, 216, 217, 218, 219</sup> ICS se koriste na svim nivoima stepeničastog pristupa u lečenju AA kao antiinflamatorni „kontrolori” bolesti. Višestruka korist od strane ICS u AA je jasno dokumentovana. ICS značajno redukuju simptome astme, potrebu za SABA, smanjuju učestalost i težinu egzacerbacija, poboljšavaju plućnu funkciju.<sup>220</sup> U najvećem broju slučajeva dece koja imaju blagu astmu dobra kontrola se postiže primenom niskih doza ICS. Srednje doze ICS su dva puta veće od niskih dok su visoke doze ICS četverostruko veće od niskih (tabela broj 3.).<sup>147</sup>

**Tabela 3. Niske, srednje i visoke dnevne doze inhalacionih kortikosteroida koji se koriste u lečenju dece sa astmom**

Inhalacioni kortikosteroid	Ukupna doza (mcg)					
	Deca od 6-11 godina			deca $\geq$ 12 godina		
	Niska	Srednja	Visoka	Niska	Srednja	Visoka
Beclometasone dipropionate(MDI)	100-200	>200-400	> 400	200 – 500	>500-1000	> 1000
Budesonide (DPI)	100–200	>200-400	> 400	200-400	>400 - 800	> 800
Budesonide (preko raspršivača)	250-500	>500-1000	> 1000			
Fluticasone propionate (MDI)	100–200	>200-400	> 400	100 –250	>250-500	>500
Ciclesonide	80	>80-160	>160	80 –160	>160– 320	>320
Flunisolide	500-750	>750-1250	>1250	500-750	>750-1250	>1250
Mometasone furoate	100	>200-400	>400	100	>200-400	>400-1200
Triamcinolone acetonide	400-800	>800-1200	>1200	400-800	>800-1200	>1200

MDI (*engl.* metered-dose inhalers)-merno-dozni inhaler; DPI (*engl.* dry powder inhaler)-inhaler sa suvim prahom;

Kod dece ne postoji jasno definisana krivulja doznog odgovora za sve ICS u svim uzrastnim grupama. Za većinu dece zadovoljavajuća efikasnost u lečenju AA se postiže primenom srednjih doza ICS.<sup>147,221</sup> Sa postizanjem dobre kontrole AA, dozu ICS treba postepeno redukovati odnosno podesiti na minimalnu, a pri tome optimalnu efikasnu dozu individualno za svakog pacijenta. Rezultati studija u kojima je analiziran uticaj ICS na rast dece sa AA su kontradiktorni. Prema studiji sprovedenoj na velikom broju pacijenata u kojoj je vršena procena visine kod odraslih pacijenata sa AA, ne može se isključiti uticaj ICS na konačni rast.<sup>222</sup> Rezultati druge studije u kojima je analiziran uticaj ICS na rast dece sa AA u uslovima stvarnog života nisu pokazala značajnost.<sup>223</sup>

## 2. Antagonisti leukotrijenskih receptora (LTRA)

Modifikatori leukotrijena blokiraju efekte leukotrijena, biohemijskih medijatora koji se oslobađaju iz mast ćelija, eozinofila i bazofila. Dokazano je da leukotrijeni izazivaju

kontrakciju glatke muskulature disajnih puteva, povećavaju vaskularni permeabilitet, povećavaju sekreciju mukusa, privlače i aktiviraju inflamatorne ćelije kod pacijenata sa astmom. Pripremljeni su u obliku za oralno uzimanje. Podaci iz studija ukazuju na činjenicu da ovi lekovi kod određenog broja dece deluju efikasno, dok kod drugih nemaju efekta. Primenjeni kao monoterapija, LTRA su pokazali efikasnost samo kod pacijenata sa blagom astmom. Značajno je istaći da istovremena primena LTRA i ICS često omogućuje smanjenje doze ICS uz održavanje istog stepena kontrole simptoma. LTRA ne pokazuju efikasnost u brzom otklanjanju simptoma astme. Modifikatori leukotrijena poseduju relativno dobar bezbednosti profil kod dece. Iz grupe lekova koji pripadaju leukotrijenskim antagonistima (LTRA) u lečenju astme kod dece u našoj zemlji primenjuje se montelukast. Montelukast je dokazano delotvoran u kontroli simptoma astme, poboljšanju plućne funkcije, prevenciji pogoršanja stanja i hospitalizacije zbog astme.<sup>224, 225, 226, 227</sup>

### **3. Dugo delujući $\beta$ -2 receptor agonisti**

LABAs imaju duži početak delovanja (oko 20 minuta) i duže trajanje delovanja (do 12h) u odnosu na SABA. LABAs (salmeterol i formeterol) u lečenju astme kod dece primenjuju se samo u fiksnim kombinacijama sa ICS i to u lečenju astme kod dece starije od 5 godina. Neželjeni efekti, kao što su tahikardija, neurološke smetnje su mnogo manje učestale u odnosu na SABA. Studije se pokazale da upotreba LABAs omogućava značajnu redukciju doze ICS koja je neophodna za održavanje kontrole bolesti. LABAs su posebno korisni kod dece sa perzistentnim noćnim simptomima ili astme izazavane fizičkim naporom. Zbog sporog početka delovanja ova grupa lekova se ne koristi za lečenje akutnih egzacerbacija.<sup>228, 229, 230</sup>

### **4. Sporo oslobađajući teofilin**

Teofilin je najčešće korišćeni lek iz grupe metilksantina. Koristi se za lečenje akutnih egzacerbacija, kao i za dugotrajnu kontrolu astme. Pored bronhodilatatornog efekta, dokazano je da teofilin povećava snagu kontrakcije dijafragme, širi plućne arteriole, snižava plućnu hipertenziju, smanjuje pCO<sub>2</sub> u krvi. Zbog varijabilne apsorpcije, značajnog broja neželjenih efekata, potrebe za praćenjem nivoa leka u krvi, teofilin kao i ostali metilksantini, su manje povoljni lekovi za svakodnevnu upotrebu.<sup>231, 232</sup>

## 5. Kromolin natrijum

Smatra se da kromolin usporava oslobađanje inflamatornih medijatora iz mastocita i mobilizaciju eozinofilnih granulocita i na taj način čine disajne puteve manje podložnim bronhoopstrukciji. Antiinflamatorni efekat kromolina je značajno manji u odnosu na ICS te se ne preporučuju kao monoterapija. Korisni su u sprečavanju napada, ali ne i za lečenje napada. Posebno su korisni kod dece sa astmom izazavane naporom. Kromolin poseduje siguran bezbednosti profil, mora se koristiti više puta dnevno.<sup>233, 234, 235</sup>

## 6. Oralni glukokortikoidi

Dugotrajna upotreba oralnih steroida je rezervisana za decu sa teškom, perzistentnom astmom koja je slabo kontrolisana uprkos primeni visokih doza ICS i LABAs. Zbog značajnih štetnih efekata sistemskih kortikosteroida ovaj vid terapije je potisnut primenom novih, bioloških lekova.<sup>236, 237</sup>

## 7. Biološki lekovi

U poslednje vreme, sa ciljem postizanja boljeg antiinflamatornog efekta u vodećim protokolima za lečenje dečije astme svoje mesto su našli i biološki lekovi: omalizumab, mepolizumab i reslizumab. Omalizumab je humanizovano monoklonsko IgG1 antitelo upravljeno protiv IgE. Primena omalizumaba je indikovana kod dece uzrasta  $\geq 6$  godina koja imaju tešku AA, senzibilisani su na perenialne aeroalergene (pozitivan SPT ili povišen specifičan IgE), čiji simptomi nisu kontrolisani primenom visokih doza ICS-a u kombinaciji sa LABA. Mepolizumab je humanizovano monoklonsko antitelo klase IgG1 kapa upravljeno protiv IL-5. Reslizumab je humanizovano monoklonsko antitelo IgG 4 kapa upravljeno protiv IL-5. Oba anti IL-5 biološka agensa (mepolizumab, reslizumab) se primenjuju kod teške eozinofilne astme čija kontrola nije postignuta primenom visokih doza ICS u kombinaciji sa LABA. Mepolizumab se primenjuje subkutano kod dece  $\geq 12$  godina čiji su eozinofilni granulociti u krvi na početku terapije  $\geq 150/\mu\text{L}$  ili su u predhodnih 12 meseci imali vrednost  $\geq 300/\mu\text{L}$ . Reslizumab se primenjuje intravenski kod pacijenata uzrasta  $\geq 18$  godina. Preduslov primene je i da su eozinofilni granulociti u krvi  $\geq 400/\mu\text{L}$  pre započinjanja terapije. Sigurnosni profil nije do kraja ispitan te se



trenutno ne primenjuje kod dece.<sup>147</sup> Određen broj pacijenata sa AA uprkos primeni terapije prema važećim protokolima lečenja nema dobru kontrolu bolesti. Intenzivna predklinička i klinička istraživanja se sprovode radi pronalaženja još efikasnijih bioloških lekova, posebno u lečenju teških oblika AA. Povoljan terapijski efekat primene anti-IL33 antitela kod animalnih modela, ukazuje na mogućnost razmatranje IL-33 kao potencijalno nove terapijske mete, naravno uz prethodno definisanje njegovog značaja kod bolesnika sa AA. Dosadašnja istraživanja ukazuju da značajnu perspektivu u lečenju AA imaju i anticitokinski lekovi poput anti IL-4, anti IL-13 monoklonskih antitela, zatim blokatori receptorskih antagonista, transkripcionih faktora i alarmina.<sup>238</sup>

### 1.2.8.1 Stepeničasti pristup primene farmakoterapije u lečenju dečije astme

Za lečenje astme kod dece najčešće se primenjuju GINA smernice, PRACTALL smernice i smernice Internacionalnog konsenzusa za pedijatrijsku astmu (*engl. International consensus on [ICON] pediatric asthma*).<sup>147, 169, 239</sup>

Prema GINA 2017. smernicama, astma se u dečijem uzrastu klasifikuje prema vrsti i intezitetu terapije koja je neophodna u cilju dobre kontrole bolesti na 5 nivoa. Prvi nivo kontrole astme podrazumeva praćenje i lečenje pacijenata sa povremenim simptomima astme koji se leče samo primenom brzodelujućih beta 2 agonista, bez uključenja lekova iz grupe kontrolora. Ukoliko pacijent kod koga smo procenili da ima kontrolisanu astmu, prijavi nešto češće simptome, može se kao opcija razmotriti uvođenje niskih doza ICS, posebno ako se radi o deci sa AA, u sezoni kada su u riziku od pogoršanja. II stepen kontrole podrazumeva uvođenje profilakse sa niskim dozama ICS. Ako na kontrolnom pregledu ne dobijemo zadovoljavajuće poboljšanje (prestanak simptoma, pogoršanje plućne funkcije) mogu se u terapiju dodati lekovi iz grupe LTRA. Ako je i pri ovom stepenu kontrole terapija nedovoljno efikasna, ili inicijalno procenimo da pacijent ima već nekontrolisanu astmu sa lošom plućnom funkcijom, prelazi se na sledeći stepen kontrole (III) koji podrazumeva sledeće pristupe: započinjanje lečenja i korekcija na srednje visoke doze ICS, ređe sa visokim dozama, ili sa fiksnim kombinacijama niskih doza ICS sa LABA. Postoji i modalitet kada se terapiji preporučenoj na stepenici II (niske doze ICS+LABA) dodaju niske doze teofilinskih lekova, ali ovo se ne preporučuje za decu ispod 12 godina. IV stepen u terapijskom pristupu AA znači da je kod deteta loša kontrola bolesti i da je za kontrolu bolesti potrebna

terapija sa fiksnim kombinacijama koje sadrže srednje/visoke doze ICS sa LABA, ili – što je ređe se u terapiji primenjuju LTRA sa visokim dozama ICS. Ukoliko je uprkos primeni terapije IV stepena kontrole, astma nekontrolisana treba razmotriti primenu biološke terapije: anti IgE (omalizumab) kod dece uzrasta  $\geq 6$ , anti IL-5 (mepolizumab) kod dece  $\geq 12$ . Anti IL-5 biloški lek za intravensku upotrebu (reslizumab) se primenjuje kod pacijenata uzrasta  $\geq 18$  godina. Uz navedenu biološku terapiju se opciono, u cilju postizanja dobre kontrole može dodati ICS u niskoj dozi. Neki pacijenti imaju korist od primene oralnih kortikosteroida u niskim dozama, ali su česti dugoročni sistemski neželjeni efekti.<sup>147</sup>

## **1.3. ALERGIJSKI RINITIS**

### **1.3.1. Definicija**

AR je IgE posredovano zapaljenje sluznice nosa koja je izložena delovanju alergena. Bifazična inflamacija nazalne mukoze nastaje kao posledica interakcije alergena sa specifičnim IgE antitelom na površini mastocita.<sup>240</sup>

### **1.3.2. Epidemiologija**

AR se javlja u svim uzrasnim, rasnim i kulturnim grupama. Prema različitim epidemiološkim studijama AR se javlja u 15 do 30% populacije u zemljama Evropske unije sa prosečnom incidencijom od 22,7%.<sup>151</sup> Broj obolelih od alergijskih bolesti (AR, AA, AD) u svetu u stalnom je porastu poslednjih četrdeset godina, a očekuje se da će se isti trend zadržati i u narednom periodu. U oko 80% slučajeva AR se razvije do dvadesete godine života. Oko 80-90% dece sa AR simptome imaju i u odrasloj dobi.<sup>241</sup> Prema predviđanjima Svetske zdravstvene organizacije do 2020. godine u Evropi će jedno od dvoje dece imati AR.<sup>242</sup>

Prevalencija alergijskih bolesti kod dece u Srbiji je analizirana u fazi III internacionalne studija o prevalenci astme, AR i alergija kod dece - ISAAC. Istraživanje je obuhvatilo oko 14.000 dece dve starosne grupe, od 6-7 godina i od 13-14 godina. U mlađoj starosnoj grupi prevalencija AR je bila 7,17%, dok je kod starije dece učestalost iznosila 14,89%. U ukupnom zbiru prevalencija AR u Srbiji je 11,46%.<sup>155</sup>

### **1.3.3. Etiopatogeneza**

Etiloški faktori u nastanku AR su višestruki. Najveći uticaj na nastanak AR ima interakcija između genetske predispozicije i faktora iz okruženja. Ako je jedan roditelj atopičar verovatnoća da će dete biti atopičar se uvećava za 30%, a ako su oba roditelja atopičari verovatnoća se uvećava za 50-70%.<sup>243</sup> Inhalatorni alergeni spoljašnje sredine (polen i buđ) i alergeni zatvorenih prostora (grinje, prašina i produkti kućnih ljubimaca)

najčešći su uzrok AR.<sup>244</sup> U prvoj inflamatornoj fazi koja se dešava odmah posle ekspozicije alergenu, patohistološki supstrat podrazumeva infiltraciju nazalne mukoze eozinofilnim granulocitima uz istovremeno oslobađanje inflamatornih medijatora karakterističnih za reakciju preosetljivosti: histamina, citokina, leukotrijena i drugih. Navedena reakcija rane faze dovodi za 2 do 3 sata do povećane permeabilnosti krvnih sudova, edema mukoze i povećane cirkulacije krvi kroz nos. Navedena patofiziološka dešavanja imaju za posledici klinički korelat u vidu kihanja, rinoreje, svraba nosa, suzenja, kongestiju nazalne sluznice. Kasna faza koja se nadovezuje na ranu ima za posledicu infiltraciju nazalne mukoze limfocitima i mastocitima, otok nazalne mukoze se intenzivira ponekad do potpune nazalne blokade i nemogućnosti disanja na nos.<sup>245</sup>

Savremen koncept etiopatogeneze AR ističe značaj IL-33 kao alarmina u alergijskoj inflamaciji. Oštećenje epitelnih ćelija koje se javlja posle ekspozicije alergenu kod preosetljivih osoba dovodi do oslobađanja IL-33. Indirektno preko aktivacije dendričnih ćelija IL-33 dovodi do regrutacije, polarizacije i aktivacije T<sub>H</sub>2 ćelija, odnosno IL-33 dovodi do T<sub>H</sub>2 posredovane inflamacije.<sup>103</sup> T<sub>H</sub>2 ćelije dalje sintetišu IL-5 i IL-13, koji imaju takođe značajno učešće u inflamaciji.<sup>167</sup>

Značaj IL-33 u inflamaciji kod AR je posledica i direktnog dejstva IL-33 na mast ćelije i posledičnog oslobađanja TNF koji potencira reakciju senzibilizacije na antigen. Indirektno preko mast ćelija i IL-13, IL-33 indukuje eozinofiliju koja je značajan faktor u razvoju alergijske inflamacije. IL-33 zajedno sa TSLP utiče na diferencijaciju naivnih CD4<sup>+</sup> T ćelija u IL-4 kompetentne T ćelije. IL-4 kompetentne T ćelije dovode do klasnog preusmeravanja u B ćelijama, čime je omogućena produkcija antitela klase IgE.<sup>103, 246, 247</sup>

U odojčatskom periodu i uzrastu malog deteta AR se retko javlja, najčešće kao posledica preosetljivosti na nutritivne alergene (prvenstveno belance i kravlje mleko), a u sklopu oralnog alergijskog sindroma, AD, kontaktne urtikarije ili AA. Posle treće godine u etiopatogenezi AR dominantni postaju inhalatorni alergeni i to su najčešće grinje, dlake životinja, polen trava, stabala, korova i plesni.<sup>248</sup>

Ispitivanja nazalne mukoze kod obolelih sa AR su pokazala da se kod određenog broja pacijenata i u periodima kada ne postoji ekspozicija alergenima objektivizira minimalna perzistentna inflamacija, što objašnjava prisustvo simptoma AR i u periodima kada ne postoji izloženost alergenu na koji je potvrđena preosetljivost.<sup>249</sup>

Određeni broj pacijenata koji imaju negativna alergološka testiranja na koži ili u krvi pokazuju mogućnost lokalne proizvodnje specifičnog IgE i imaju jasnu povezanost simptoma i znakova AR sa izlaganjem alergenima. Ovakav oblik AR se naziva lokalni alergijski rinitis (LAR).<sup>250</sup>

Poseban značaj AR u dečijem uzrastu je njegova višestruka povezanost sa oboljenjima kao što su astma, rinokonjuktivitis, rinosinusitis i sekretorno zapaljenje srednjeg uha. Oko 40 % bolesnika sa AR ima i AA a oko 80 % bolesnika sa AA ima AR.<sup>251</sup>

Navedeni epidemiološki podaci dodatno potvrđuju opravdanost savremenog koncepta jedinstvene bolesti disajnog puta koji ističe postojanje inflamacije disajnog puta u celosti bez obzira na klinički korelat odnosno prisustvo simptoma i znakova AA i/ili AR. Značajna povezanost AA i AR nameće pravilo koje je ujedno i jasna preporuka u ARIA (*engl.* Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma, alergijski rinitis i njegov uticaj na astmu) vodiču da se svaki pacijent sa AR evaluiira u pravcu AA i obrnuto, kao i da se bolja kontrola AA postiže adekvatnim lečenjem AR.<sup>252</sup>

#### **1.3.4. Klinički simptomi i znaci**

Vodeći klinički znaci i simptomi AR su: vodenasta rinoreja, kihanje posebno ako je u salvama, nazalna blokada i nazalni svrab. Često se uz navedene tegobe javljaju i pridruženi simptomi alergijskog konjuktivitisa u vidu svraba ili osećaja peckanja u očima, pojačanog suzenja i crvenih konjunktiva.<sup>247</sup>

Klinički znaci koji se mogu opesrvirati kod dece sa AR su:

- "alergijski podočnjaci" odnosno tamno kolorisan otok donjeg kapaka i suborbitalne regije oka,
- "alergijska brazda" koja predstavlja transverzalni usek u predelu nosnog grebena neposredno iznad vrha nosa koji je posledica upornog podizanja vrha nosa prema gore prilikom brisanja dlanom ruke sa ciljem postizanja prohodnosti i češanja nosa a sam manevar se naziva "alergijski pozdrav".
- Dennie-Morgan nabori ili linije odnosno useci u infraorbitalnoj regiji takođe se mogu uočiti kod dece sa AR.<sup>253</sup>

### 1.3.5. Klasifikacija

AR se prema dužini trajanja simptoma klasifikuje u dve kategorije: intermitentni, povremeni (simptomi traju kraće od četiri dana nedeljno ili kraće od 4 nedelje godišnje) i perzistentni, stalni (simptomi traju više od 4 dana nedeljno i više od 4 nedelje godišnje). Intermitentni AR je povezan s raznim spoljašnjim alergenima poput polena trava, stabala i korova. Perzistentni AR je najčešće uzrokovan kućnim alergenima na prvom mestu grinjama, kućnom prašinom, dlakama životinja i plesni, obično je zimi jače izražen (manje provetravanje, veća je količina grinja u stanovima, češće držanje kućnih ljubimaca u stanu).

Prema težini simptoma AR je podeljen na blag, kod koga simptomi ne narušavaju kvalitet života, i umeren do težak oblik bolesti, čiji simptomi utiču na kvalitet života. Parametri kvaliteta života su: smetnje pri spavanju, smetnje pri dnevnim aktivnostima, uticaj na sport i rekreaciju, smetnje u školi. Navedenu klasifikaciju prema dužini trajanja i težini simptoma predložila je ARIA ekspertska grupa 2003. godine, od kada je u upotrebi.<sup>254</sup>

Prema ekspoziciji uzročnom alergenu u dečijem uzrastu AR se klasifikuje u dve kategorije: a) sezonski AR koji je izazvan različitim vrstama polena, b) perenijalni AR koji je izazvan alergenima koji postoje tokom cele godine. Na osnovu predhodno navedenih klasifikacija svaki oblik AR se može klasifikovati u jedan od četiri oblika AR: blagi intermitentni, blagi perzistentni, teški intermitentni i teški perzistentni AR. Svaki od četiri navedena oblika AR se može klasifikovati u jednu od dve kategorije prema vrsti alergena koji ga uzrokuje (sezonski, perenijalni). Značaj klasifikacije AR leži u činjenici da je definisanje terapijskog pristupa i njegovo trajanje u vodećim protokolima za lečenje AR zasnovano upravo na obliku AR.<sup>255</sup>

### 1.3.6. Dijagnoza

Dijagnostički algoritam AR podrazumeva pre svega uzimanje detaljnih anamnestičkih i/ili heteroanamnestičkih podataka, posebno podataka o tegobama, njihovoj težini, učestalosti, dužini trajanja, povezanost sa izlaganjem alergenima, prisustvo komorbiditetnih stanja.

Prilikom kliničkog pregleda se poseban akcenat stavlja na prednju rinoskopiju i prisustvo otečene, lividne sluznice nosa i vodenast sekret. Često se u kliničkom nalazu objektiviziraju: disanje na usta, nazalni govor, alergijski pozdrav i infraorbitalni nabori. Endoskopskim pregledom nosnih šupljina i epifarinksa mogu se uočiti hipertrofične nosne školjke, adenoidne vegetacije. Otokopskim pregledom se može verifikovati skraćen ili odsutan svetlosni refleks bubne opne, izliv u srednjem uhu. Orofaringoskopija može ukazati na slivanje sekreta niz zid orofarinksa iz epifarinksa uz blagu hiperemiju sluznice.

Dijagnostički testovi koji se sprovode u cilju evaluacije AR podrazumevaju kožni, alergološki test na inhalatorne, a kod mlađe dece i na nutritivne alergene, određivanje ukupnog serumskog nivoa IgE, kao i specifičnog IgE na određeni alergen. Normalna vrednost ukupnog IgE u serumu ne isključuje preosetljivost i AR. Povezanost ekspozicije alergenu i kliničke slike je od najvećeg značaja u identifikaciji etiologije AR, jer ne mora svaki pozitivan nalaz dobijen alergološkim testiranjem biti i klinički relevantan. Pozitivan citološki pregled brisa nosa na eozinofile ne ukazuje na alergijski proces već ukazuje na tip nazalne inflamacije. Rinoprovokacioni testovi se retko sprovode kod dece u rutinskoj kliničkoj praksi. Poseban značaj imaju u dijagnostici LAR.<sup>252</sup>

### 1.3.7. Lečenje

Lečenje AR ima za cilj da se umanjí težina simptoma i redukuje rizik od nastanka komplikacija, kao i da se poboljša kvalitet života obolelih. U odnosu na tip i težinu AR, vodeći protokoli za lečenje AR preporučuju sledeće terapijske modalitete: edukaciju pacijenta (roditelja), ekspozicionu profilaksu, farmakoterapiju i imunoterapiju. Biološka terapija u lečenju AR pokazuje značajnu efikasnost i pitanje je vremena kada će biti uključena u savremene terapijske protokole za lečenje AR.

Edukacija pacijenta (roditelja) sem pružanja informacije o karakteristikama bolesti, od ključnog značaja je edukacija sa ciljem postizanja što bolje komplijanse i adherence.

Izbegavanje alergena je relativno jednostavan terapijski postupak u slučajevima nutritivne, medikamentozne i kontaktne preosetljivosti. Problem sprovođenja ekspozicione profilakse se javlja kod preosetljivosti na inhalatorne alergene, posebno kod preosetljivosti na alergene otvorenog prostora (polen trave, stabala, korova).<sup>242</sup>

Ispiranje nosnica sa fiziološkim rastvorom ili slanom vodom je jednostavna a značajna terapijska mera koja značajno redukuje simptome AR.<sup>252</sup>

Kada se simptomi održavaju uprkos sprovođenju ekspozicione profilakse i ispiranju nosnica sa slanim rastvorima sprovodi se farmakološko lečenje. Stepeničast pristup u lečenju AR prema intenzitetu tegoba je napušten. ARIA smernice novijeg datuma preporučuju početak lečenja najefikasnijim lekom za određeni oblik AR čija je efikasnost jasno dokazana u kliničkim ispitivanjima na velikom broju ispitanika.

Medikamentozna terapija koja se koristi u lečenju AR kod dece podrazumeva: antihistaminike (oralni, intranazalni), intranazalne kortikosteroide (INCS), antagoniste leukotrijenskih receptora, dekonjestive (oralne, topikalne), kromoline.

U najvećem broju slučajeva AR kod dece i odraslih se kao najefikasniji lek pokazao INCS, te on poseduje i najviši stepen preporuke u lečenju AR. INCS pokazuju veću efikasnost od intranazalnih antihistaminika i antileukotrijena. Oralni antihistaminici pokazuju veću efikasnost u odnosu na intranazalne antihistaminike i antagoniste leukotrijena, ali su manje efikasni od INCS.

Izbor leka dobrim delom treba uskladiti prema fenotipu AR. U slučajevima AR kod kojeg dominira rinoreja lek izbora je antihistaminik, dok kod oblika u kome dominira nazalna blokada lek izbora treba da bude INCS u inicijalnom terapijskom pristupu.<sup>242</sup>

Evropska akademija za alergiju i kliničku imunologiju preporučuje primenu INCS od druge godine života.<sup>256</sup>

Iako pokazuju veću efikasnost u kontroli simptoma AR, antihistaminici prve generacije zbog izraženog antiholinergičnog, sedativnog efekta su ustupili mesto



nesedativnim, oralnim antihistaminicima novije generacije (npr, desloratadin, loratadin, cetirizin, levocetirizine).<sup>257</sup>

Topikalni antihistaminici (azelastin, olopatadin) uspešno redukuju simptome kao što su kihanje i rinoreja, kod određenog broja pacijenata, ali slabo deluju na nazalnu opstrukciju.<sup>258</sup> Nazalni dekongestivi (efedrin, pseudoefedrin) su efikasni u deblokadi nosnih hodnika i brzom uspostavljanju prohodnosti nosnica. Zbog mogućnosti nastanka medikamentoznog rinitisa njihova upotreba je ograničena na 7 do 10 dana.<sup>259</sup>

Upotrebu LTRA, (montelukast, zafirlukast) prema važećim protokolima za lečenje AR treba razmotriti kada terapija oralnim antihistaminicima ili INCS ostaje bez efekta u kontroli simptoma AR ili postoji loša tolerancija na ovu terapiju.

Natrijum kromoglikat (kromolin) ublažava kihanje, rinoreju i svrab nosa i predstavlja razumnu terapijsku opciju za određene pacijente.

Alergenska imunoterapija je jedina kauzalna terapijska procedura. Posebno pokazuje efikasnost kod alergijskog rinokonjuktivitisa sa polenskom etiologijom. Posebno je značajna za pacijente sa teškim oblikom AR, kod kojih se kontrola bolesti ne postiže farmakoterapijom.<sup>260</sup>

Iako su terapijske mogućnosti AR brojne, kod određenog broja pacijenata se i dalje ne postiže odgovarajuća kontrola simptoma bolesti, čime je narušen njihov kvalitet života. Ispitivanja efikasnosti anti-IL-33 antitela na animalnom modelu AR ističu značaj IL-33 kao potencijalne terapijske mete. Biološki lekovi koji u dosadašnjim kliničkim i predkliničkim ispitivanjima pokazuju jasnu efikasnost u kontroli pacijenta rezistentnim na farmakoterapiju su: omalizumab (anti IgE monoklonalno At), mepoli-, reslizumab (anti IL-5 monoklonalno At), lebrikizumab (anti IL-13 monoklonalno At), imatinib (anti tirozin-kinaza inhibitor At).<sup>261</sup>

## **CILJEVI ISTRAŽIVANJA I HIPOTEZE**

### **2.1 CILJEVI ISTRAŽIVANJA**

1. Ispitati odnos vrednosti IL-33 u serumu kod dece uzrasta od 6 do 18 godina sa alergijskom astmom i kod zdravih ispitanika istog uzrasta.
2. Ispitati odnos vrednosti IL-33 u serumu pre i posle šestomesečne ICS terapije kod dece uzrasta od 6 do 18 godina sa alergijskom astmom.
3. Ispitati odnos vrednosti IL-33 u serumu i vrednosti ukupnog IgE u serumu, eozinofilnih granulocita u perifernoj krvi, eozinofilnih granulocita u nosnom sekretu, pre i posle šestomesečne ICS terapije kod dece uzrasta od 6 do 18 godina sa alergijskom astmom.
4. Ispitati odnos vrednosti IL-33 u serumu i nalaza plućne funkcije kod dece uzrasta od 6 do 18 godina sa alergijskom astmom.

## 2.2 RADNA HIPOTEZA

1. Kod dece uzrasta od 6 do 18 godina koja boluju od alergijske astme detektuju se više vrednosti IL-33 u odnosu na zdravu decu istog uzrasta.
2. Posle šestomesečne ICS terapije kod dece uzrasta od 6 do 18 godina koja boluju od alergijske astme, dolazi do značajnog pada vrednosti IL-33 u serumu.
3. Kod dece uzrasta 6 do 18 godina sa alergijskom astmom posle šestomesečne ICS terapije dolazi do pada vrednosti ukupnog IgE u serumu, eozinofilnih granulocita periferne krvi, eozinofilnih granulocita u nosnom sekretu, odnosno postoji pozitivna korelacija između vrednosti IL-33 u serumu i vrednosti navedenih laboratorijskih nalaza.
4. Vrednosti IL-33 u serumu su u negativnoj korelaciji sa nalazima plućne funkcije kod dece uzrasta od 6 do 18 godina sa alergijskom astmom.

## **MATERIJAL I METODE**

### **3.1 BOLESNICI**

Ovo istraživanje predstavlja prospektivnu studiju i obuhvatilo je 91 dete oba pola, uzrasta od 6 do 18 godina koji se kontrolišu i leče u Institutu za zdravstvenu zaštitu dece i omladine Vojvodine u Novom Sadu. Metodom slučajnog izbora po redosledu dolaska na pregled uključeni su u ispitivanu ili kontrolnu grupu.

**Ispitivanu grupu** činilo je 61 dete sa lakom ili srednje teškom nekontrolisanom AA koja je definisana na temelju GINA smernica.<sup>147</sup>

Kriterijumi za uključenje ispitanika u istraživanje bili su:

- pristanak informisanog pacijenta
- potpisan od strane roditelja za sve pacijente
- potpisan od strane deteta starijeg od 10 godina
- uzrast ispitanika od 6 do 18 godina
- dijagnoza AA koja je potvrđena podacima iz medicinske dokumentacije, fizičkim nalazom, kliničkim ispitivanjima u skladu sa GINA smernicama<sup>147</sup>
- pacijent je obučen za korektno korišćenje uređaja za primenu lekova inhalatornim putem (merno dozni inhalatori, inhalatori sa suvim prahom).
- ispitanici koji od ranije imaju postavljenu dijagnozu AA bili su bez profilakse najmanje 6 meseci pre uključivanje u istraživanje.

Kriterijumi za isključenje iz istraživanja bili su:

- AD, urtikarija, nutritivne alergije
- hronične respiratorne infekcije
- nekontrolisani gastroezofagealni refluks, eozinofilni ezofagitis, parazitoze
- bilo koja druga hronična bolesti
- sprovođenje alergen specifične imunoterapije
- akutne infekcije ili druga akutna oboljenja
- upotreba sistemskih kortikosteroida neposredno pre i tokom planiranih ispitivanja

**Kontrolna grupa** je obuhvatila 30 zdrave dece, istog pola i uzrasta kao i dece u ispitivanoj grupi (matching groups) koja su se javila u Institut za zdravstvenu zaštitu dece i omladine Vojvodine u Novom Sadu radi sprovođenja laboratorijskog dela ispitivanja zbog ranije postavljene sumnje na preosetljivost na lekove (urednog su fizičkog nalaza, najmanje dve poslednje nedelje nisu imali znakove akutne infekcije, bez podataka o postojanju hroničnih bolesti).

Istraživanje je sprovedeno u periodu od septembra 2016. godine do marta 2018. godine u skladu sa etičkim načelima uz saglasnost: Etičke komisije Instituta za zdravstvenu zaštitu dece i omladine Vojvodine u Novom Sadu, Etičke komisije Kliničkog centra Vojvodine u Novom Sadu i Etičke komisije Medicinskog fakulteta u Novom Sadu.

Pre uključivanja u studiju, svaki roditelj, odnosno zakonski staratelj, kao i deca koja učestvuju u istraživanju starija od 10 godina a sposobna su da daju svoj pristanak posle dobijanja pune informacije o istraživanju, potpisali su informisani pristanak (prilog br. 3).

## 3.2 METODOLOGIJA RADA

Svakom detetu koje je obuhvaćeno ovom studijom registrovani su klinički i laboratorijski parametri prema protokolu koji su definisani posebno za ispitivanu i posebno za kontrolnu grupu (prilog br. 1 i prilog br. 2). Protokoli ispitivanja su konstruisani od strane autora.

Deca koja su činila ispitivanu grupu su pored prvog pregleda imala još dva kontrolna pregleda, posle 3 i posle 6 meseci lečenja.

Tokom prvog pregleda u ispitivanoj grupi dece, posebno su izdvojeni podaci o:

- faktorima rizika za nastanak AA:
  - perinatalni faktori (pušenje majke tokom trudnoće, porođaj carskim rezom, prevremeno rođenje, ishrana u prvim mesecima života)
  - izloženost ispitanika duvanskom dimu
  - život u gradskoj ili seoskoj sredini
  - ranije (u odojčadskom uzrastu) prisustvo AD i bronholitisa
- postojanju tegoba u pravcu AR
- hereditarnim atopijskim bolestima
  - članovi porodice koji boluju od AA
  - članovi porodice koji boluju od drugih atopijskih bolesti (AR, alergijski konjuktivitis, alergijski sinusitis, AD, alergija na hranu).

Svoj deci u ispitivanoj grupi su tokom prvog i tokom oba kontrolna pregleda:

- uzeti anamnestički/heteroanamnestički podaci (posebno je evidentirana vrsta tegoba, potreba za upotrebom SABA, njihova učestalost)
- urađen klinički pregled, a posebno su notirane: vrednosti telesne mase i visine, određen stepen uhranjenosti (BMI, Z score, percentili), vrednosti vitalnih parametara i saturacije kiseonikom kao i nalaz fizičkog pregleda pluća
- urađen je pregled plućne funkcije.

Pregled plućne funkcije je urađen na spirometru marke Master Screen IOS, proizvođač Jaeger, Germany prema smernicama ATS (*engl.* American Thoracic Society, Američko torakalno društvo).<sup>168</sup> Analizirani su sledeći parametri:

- Forsirani vitalni kapacitet (FVC) - volumen vazduha koji se može izdahnuti iz pluća forsiranim ekspirijumom posle maksimalnog inspirijuma.
- Forsirani ekspirijumski volumen u prvoj sekundi (FEV1) - volumen vazduha izdahnut u prvoj sekundi forsiranog vitalnog kapaciteta.
- Tiffeneau indeks – odnos FEV1 prema VC X 100 (FEV1%/VC x100).
- Srednji forsirani protok vazduha u ekspirijumu pri 25% - 75% FVC (MEF 25/75 %).
- Vršni ekspirijumski protok (PEF) - najveći protok vazduha ostvaren forsiranim ekspirijumom posle maksimalnog inspirijuma.

Rezultati spirometrije su prikazani kao postotak predviđenih vrednosti. Najbolji rezultat je korišćen za statističku analizu.

Na prvom pregledu je kod svih ispitanika urađen:

- SPT u skladu sa zvaničnim preporukama sa standardnom baterijom glicerinskih ekstrakta Instituta za Virusologiju, Vakcine i Serum, Torlak, Beograd, Srbija, na sledeće alergene: kućnu prašinu, grinje, buđ, životinjsku dlaku, perje, polen trava, polen stabala, polen korova. Histamin i fiziološki rastvor su korišćeni kao pozitivna i negativna kontrola. Kap svakog alergenskog ekstrakta sa posebnim lancetama se aplikovala na prednju stranu podlaktice. Posle 20 minuta se očitavala reakcija kao srednja vrednost zbira najdužeg dijametra i njemu upravnog dijametra. Reakcija se smatrala pozitivnom ako je srednja vrednost  $\geq 3$  mm.

Tokom prvog pregleda i na kontrolnom pregledu posle 6 meseci kod svih ispitanika su urađena laboratorijska ispitivanja koja su podrazumevala:

- Kompletnu krvnu sliku. Posebno su izdvojene vrednosti eozinofilnih granulocita. Normalna vrednost eozinofilnih granulocita u perifernoj krvi iznosi 0-4% odnosno 0-400 ćelija/  $\mu$ L.
- Citološki bris na eozinofilne granulocite. Analiza podrazumeva uzorkovanje nosnog sekreta iz svake nosnice uz pomoć tankog štapića sa vatom na vrhu, a potom pravljenja razmaza na mikroskopskoj pločici i pregleda na mikroskopu.

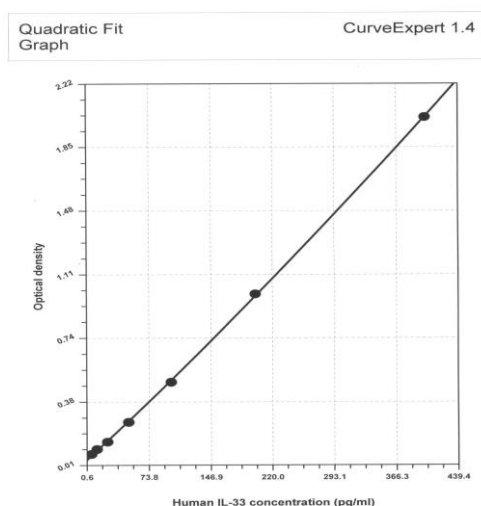
Prisustvo eozinofilnih granulocita u nosnom sekretu predstavlja pozitivan nalaz i izražava se u broju eozinofila u vidnom polju.

- Nivo ukupnog IgE u serumu (IU/ml). Laboratorijsko određivanje koncentracije ukupnog nivoa IgE u serumu je urađeno metodom hemiluminiscencije na automatizovanom imunoheмиjskom aparatu marke ACCESS 2, proizvođač Beckman Coulter, USA. Normalne vrednosti ukupnog serumskog nivoa IgE kod dece uzrasta od 6 do 9 godina iznose do 90 IU/ml, od 10 do 15 godina normalan opseg je do 200 IU/ml, a kod adolescenata preko 15 godina normalna vrednost je ispod 100 IU/ml.
- Serumski nivo IL-33 (pg/ml). Za potrebe određivanja nivoa IL-33 u serumu uzorkovana krv je centrifugirana u cilju izdvajanja seruma koji se dalje zamrzavao na -70 C do momenta kada je urađena analiza. Analiza IL-33 je urađena u laboratoriji Infektivne klinike Kliničkog centra Vojvodine u Novom Sadu. Vrednost serumskog nivoa IL-33 je određena direktnim (sendvič) imunoenzimskim-ELISA (*engl.* enzyme linked immunosorbent assay) testom koji sadrži rekombinantni humani IL-33 i poliklonalna antitela specifična za IL-33. Komercijalni naziv testa je Human IL-33 Quantikine® ELISA, proizvođač je R&D systems, USA. Prema uputstvu proizvođača, minimalna detektabilna vrednost IL-33 u serumu navedenog testa iznosi 0 pg/ml. Pre početka analize svi reagensi i uzorci seruma odmrznuti su do sobne temperature. Svi navedeni dalji postupci su sprovedeni prema uputstvu proizvođača. Posle rekonstrukcije bočice standarda IL-33 sa 1ml destilovane vode dobijen je standardni rastvor IL-33 koncentracije 4 000 pg/ml od kojeg je potom pripremljena serija od šest standardnih rastvora IL-33 različitih razblaženja u rastućem nizu, a poslednji sedmi standard (nulti standard) je sadržavao sam, nerazređeni rastvarač. U pojedinačna udubljenja mikrotitracione ploče (sastavni deo testa) koja su obložena poliklonskim antitelima specifičnim za IL-33 su pipetirani standardi i serumi ispitanika a u njima prisutan IL-33 se vezivao za ploču pomoću imobilizirajućih antitela. Dalje je sprovedena inkubacija tokom 2 sata na sobnoj temperaturi (+18°C do +25°C) na horizontalnom mešaču za mikrotitracione ploče. Potom je urađeno ispiranje nevezanog seruma, a zatim je u svako udubljenje pipetiran konjugat (poliklonalna antitela specifična za humani IL-33). Ponovo je



urađena inkubacija tokom 2 sata, kao i ispiranje na isti način kao i prvi put. Potom je u svako udubljenje mikroploče dodat pipetiranjem enzimi supstrat (tetramethylbenzidine) koji je doveo do pojave bojene reakcije čiji je intenzitet bio u proporciji sa količinom vezanog IL-33. Urađena je inkubacija u trajanju od 30 minuta a potom razvoj bojene reakcije prekinut dodavanjem 2 N sumporne kiseline. Intenzitet bojene reakcije je određen 30 minuta posle dodavanja rastvora za zaustavljanje reakcije na automatizovanom imunohemijskom analizatoru Chemwell, čiji proizvođač je Awareness Technology, USA. Fotometrijsko merenje optičke gustine intenziteta zelene boje je izvršeno na 450 nm. Standardna kriva sa koje se može naći koncentracija antitela u uzorku pacijenta dobija se nanošenjem vrednosti optičke gustine na x osu za poznate vrednosti serijski razblaženog rastvora, a na y osu nanošenjem vrednosti apsorbanci (optičke gustine) samih uzoraka i spajanjem tačaka (slika 1.). Na osnovu standardne krive je određena vrednost IL-33 za svakog ispitanika.

Slika 1. Standardna kriva za određivanje humanog IL-33 kod ispitanika koji su obuhvaćeni studijom



Svim ispitanicima je na prvom pregledu u odnosu na težinu kliničke slike i vrednosti testova plućne funkcije prema smernicama datih od strane vodiča američkog nacionalnog programa za edukaciju i prevenciju astme NAEPP 2007 određena težina astme pre započinjanja terapije.

Terapijski pristup u lečenju alergijske astme kod svih ispitanika je bio u skladu sa GINA preporukama za lečenje lake ili srednje teške astme, odnosno kod svih ispitanika je primenjena medikamentozna monoterapija ICS u odgovarajućem doznom režimu. U daljem toku, na kontrolnim pregledima, 3 i 6 meseci od započinjanja ICS terapije svim ispitanicima je na osnovu stepena kontrole alergijske astme (kontrolisana, delimično kontrolisana, nekontrolisana) i intenziteta lečenja (niska, srednja, visoka doza ICS), a na temelju GINA smernica, određena težina alergijske astme.

Svoj deci u kontrolnoj grupi ispitanika je:

- uzeta anamneza/heteroanamneza (sem podataka o vrsti leka na koji se ispituje preosetljivost, posebno su evidentirana podaci značajni za uključivanje u studiju, odnosno odsustvo tegoba i znakova akutnih infekcija dve nedelje pre pregleda, odsustvo hroničnih bolesti).
- urađen klinički pregled a posebno su notirane vrednosti telesne mase i visine, određen je stepen uhranjenosti (BMI, Z score, percentili) i evidentirano je odsustvo kliničkih znakova infekcije.
- određen serumski nivo IL-33 (pg/ml) na identičan način kao kod ispitivane grupe.

### 3.3 STATISTIČKA OBRADA PODATAKA

Priprema podataka za obradu koja podrazumeva identifikaciju i odstranjivanje međuzavisnih entiteta, atipičnih i ekstremnih vrednosti (outlejera), kao i zamenu nedostajućih podataka, sprovedena je u odgovarajućim modulima statističkog programskog paketa SPSS.

Statistička obrada podataka obuhvatila je:

- **prikaz osnovnih deskriptivnih pokazatelja:**
  - raspodela ispitanika po kategorijama,
  - grafički prikaz rezultata,
  - mere centralne tendencije (mod, medijana i aritmetička sredina),
  - mere raspršenja (raspon, kvartilna devijacija i standardna devijacija), i
  - mere asimetrije i zaobljenosti distribucija rezultata merenja;
- **analizu razlika**, u zavisnosti od nivoa merenja i prirode prikupljenih podataka primenjeni su sledeći testovi:
  - jednofaktorska analiza varijanse za ponovljena merenja, Friedmanov test.
  - Wilcoxon-ov test parova (za testiranje statističke značajnosti razlika vrednosti nalaza na početku tretmana i posle 6 meseci terapije),
  - t-test za nezavisne uzorke, Mann-Whitney U-test, test medijane i  $\chi^2$  test (za testiranje statističke značajnosti razlika između različitih grupa ispitanika); i
- **analizu međusobne povezanosti varijabli:** primenjen je Spearmanov koeficijent rang korelacije  $r_o$  ( $\rho$ ).

Statistička obrada podataka izvršena je u statističkom programskom paketu IBM SPSS Statistics 23.

## REZULTATI ISTRAŽIVANJA

U istraživanju je analizirana vrednost IL-33 kod 61 deteta sa dijagnozom lake ili srednje teške alergijske astme neposredno pre započinjanja i 6 meseci posle sprovođenja preventivne terapije ICS i kod 30 zdrave dece (kontrolna grupa), kao i odnos vrednosti IL-33 i određenih kliničkih i laboratorijskih karakteristika dece u ispitivanoj grupi.

Kontrolnu grupu je činilo 30 zdrave dece koja su se javila na Institut za zdravstvenu zaštitu dece i omladine Vojvodine u Novom Sadu radi sprovođenja laboratorijskog dela ispitivanja zbog ranije postavljene sumnje na preosetljivost na lekove.

### 4.1. Poređenje polne strukture, uzrasta i stanja uhranjenosti između ispitivane i kontrolne grupe

Posle analize relevantnih karakteristika, urađeno je diferenciranje polne strukture, uzrasta i stanja uhranjenosti između ispitivane i kontrolne grupe.

U ispitivanoj grupi je bilo 32 dečaka (52,5 %) i 29 devojčica (47,5 %) dok je u kontrolnoj grupi je bilo 16 (53,3 %) dečaka i 14 (46,6 %) devojčica.

Razlika u polnoj strukturi ( $\chi^2$  test,  $\chi^2=0,006$ ;  $p=0,937$ ) između ispitivane i kontrolne grupe nije statistički značajna ( $p>0,05$ ).

Prosečna starost u ispitivanoj grupi je 9 godina i 6 meseci dok je u u kontrolnoj grupi iznosila 9 godina i 8 meseci.

Razlika u uzrastu (t test,  $t = 0,187$ ;  $p = 0,852$ ) u vreme ispitivanja između ispitivane i kontrolne grupe nije statistički značajna ( $p > 0,05$ ).

U ispitivanoj grupi 52 (85,2%) pacijenta su bila normalno uhranjena, 4 (6,6%) predgojazna, 3 (4,9%) gojazna i 2 (3,3%) su bila pothranjena. Kontrolnu grupu je činilo 25 (83,3%) ispitanika koji su bili normalno uhranjeni, 4 (13,3%) ispitanika koja su bila predgojazna, 1 (3,3%) ispitanik je bio gojazan, pothranjenih nije bilo.

Razlika u stanju uhranjenosti ( $\chi^2$  test  $\chi^2 = 2,157$ ;  $p = 0,540$ ) u vreme ispitivanja između kontrolne i ispitivane grupe nije statistički značajna ( $p > 0,05$ ).

## 4.2. Karakteristike ispitivane grupe

Pre prikaza samih rezultata ispitivanja, analizirani su podaci o porodičnoj anamnezi; perinatalni i drugi faktori značajni u nastanku astme; podaci o ranije potvrđenom postojanju preosetljivosti na inhalatorne i/ili nutritivne alergene; podaci o ranijoj dijagnozi alergijske astme i sprovedenoj profilaksi; podaci o ranijoj dijagnozi AR; a takođe su prikazani i podaci o stepenu težine bolesti na početku tretmana.

### 4.2.1. Porodična anamneza

U tabeli 4. prikazani su podaci vezani za porodičnu anamnezu ispitanika iz ispitivane grupe u odnosu na alergijsku astmu.

**Tabela 4. Članovi porodice koji boluju od alergijske astme**

	Broj ispitanika	Procenat
Niko u porodici nema astmu	28	45.9%
Majka	9	14.8%
Majka + brat ili sestra	3	4.9%
Majka + majčin brat ili sestra	1	1.6%
Majka + majčini roditelji	2	3.3%
Otac	2	3.3%
Otac + brat ili sestra	1	1.6%
Otac + brat ili sestra	1	1.6%
Brat ili sestra	5	8.2%
Brat ili sestra + majčini roditelji	1	1.6%
Majčin brat ili sestra	3	4.9%
Majčin brat ili sestra + majčini roditelji	1	1.6%
Očev brat ili sestra	1	1.6%
Majčini roditelji	2	3.3%
Očevi roditelji	1	1.6%

Kod nešto više od polovine ispitanika (54,1%) neko od članova uže porodice boluje od alergijske astme. Ni kod jednog ispitanika nisu u isto vreme bolesni i majka i otac, majka od astme boluje u 15 slučajeva, otac u 4 slučaja, a braća i/ili sestre u 11 slučajeva. Kod 11 ispitanika od astme boluje neko od majčine rodbine, a kod samo 2 ispitanika neko od očeve rodbine.

U tabeli 5. prikazani su podaci vezani za porodičnu anamnezu ispitanika iz ispitivane grupe u odnosu na druge atopijske bolesti (AR, alergijski konjuktivitis, alergijski sinusitis, AD, alergija na hranu).

**Tabela 5. Članovi porodice koji boluju od drugih atopijskih bolesti**

	Broj ispitanika	Procenat
Niko u porodici nema atopijsku bolest	28	45.9%
Majka	12	19.7%
Majka + brat ili sestra	3	4.9%
Otac	5	8.2%
Otac + brat ili sestra	1	1.6%
Otac + majčin brat ili sestra	1	1.6%
Otac + očevi roditelji	1	1.6%
Brat ili sestra	4	6.6%
Brat ili sestra + majčini roditelji	1	1.6%
Majčin brat ili sestra	1	1.6%
Majčini roditelji	3	4.9%
Očevi roditelji	1	1.6%

Kod nešto više od polovine ispitanika (54,1%) neko od članova uže porodice boluje od drugih atopijskih bolesti. Ni kod jednog ispitanika nisu u isto vreme bolesni i majka i otac, majka od drugih atopijskih bolesti boluje u 15 slučajeva, otac u 8 slučajeva, a braća i/ili sestre u 9 slučajeva. Kod 6 ispitanika od drugih atopijskih bolesti boluje neko od majčine rodbine, a kod 2 ispitanika neko od očeve rodbine.

Kao što se može videti iz tabela 4. i 5, raspodela ispitanika u odnosu na porodičnu anamnezu astme i drugih atopijskih bolesti je veoma slična. Naime, majka i majčina rodbina imaju veću zastupljenost u porodičnoj istoriji bolesti u odnosu na oca i njegovu rodbinu.

#### 4.2.2. Faktori rizika značajni za nastanak alergijske astme

U tabeli 6. prikazani su perinatalni (pušenje majke tokom trudnoće, porođaj carskim rezom, prevremeno rođenje, ishrana u prvim mesecima života) i drugi faktori rizika značajni za nastanak alergijske astme (izloženost ispitanika duvanskom dimu, život u gradskoj ili seoskoj sredini; ranije, u odojčadskom uzrastu prisustvo ekcema i bronhiolitisa).

**Tabela 6. Faktori rizika za nastanak astme**

		Broj ispitanika	Procenat
Majka deteta je pušila tokom trudnoće		18	29.5%
Porođaj deteta carskim rezom		11	18.0%
Rođenje deteta u	28-32 g.n.	4	6.6%
	33-36 g.n.	2	3.3%
	preko 37 g.n.	55	90.2%
Dete izloženo duvanskom dimu		25	41.0%
Ishrana deteta u prvih 6 meseci	isključivo prirodna	18	29.5%
	prirodna + veštačka	30	49.2%
	isključivo veštačka	13	21.3%
Dete živi u	gradu	30	49.2%
	selu	31	50.8%
Dete u prvoj godini imalo ekcem		14	23.0%
Dete u prvoj godini imalo bronhiolitis		11	18.0%

g.n. – gestacijska starost

Kao što se može videti iz tabele 6, kod nešto manje od trećine ispitanika (29,5%) majka je pušila tokom trudnoće, a čak 41% ispitanika bilo je izloženo duvanskom dimu u detinjstvu. Prirodnim putem rođeno je 82% ispitanika, i velika većina (90,2%) bila je rođena u terminu. Nešto manje od polovine ispitanika (49,2%) je tokom prvih 6 meseci bilo na kombinovanoj ishrani majčinim mlekom i adaptiranim mlečnim formulama, njih 18 je isključivo dojeno, a samo 13 ispitanika je tokom prvih 6 meseci hranjeno isključivo adaptiranom mlečnom formulom. Polovina ispitanika odrasla je u urbanoj, gradskoj, sredini, a druga polovina na selu. Od ukupnog broja ispitanika, 14 je imalo odojčadki ekcem, a 11 je u u prvoj godini života imalo bronhilitis.



#### 4.2.3. Ranije potvrđena preosetljivost na inhalatorne i/ili nutritivne alergene

Kod određenog broja ispitanika u periodu koji je prethodio studiji bio je urađen SPT na standardizovane inhalatorne i/ili nutritivne alergene.

U tabeli 7. prikazani su rezultati ranije sprovedenog SPT kod ispitanika iz ispitivane grupe.

**Tabela 7. Podaci o rezultatima ranije sprovedenog SPT**

	Ranije nutritivni SPT		Ranije inhalatorni SPT	
	Broj ispitanika	Procenat	Broj ispitanika	Procenat
Nije sproveden	49	80.3%	49	80.3%
Sproveden-negativan	7	11.5%	3	4.9%
Sproveden-monosenzibilizacija	4	6.6%	3	4.9%
Sproveden-polisenzibilizacija	1	1.6%	6	9.8%
<b>Ukupno</b>	<b>61</b>	<b>100.0%</b>	<b>61</b>	<b>100.0%</b>

SPT-ubodni kožni test (*engl.* skin prick test-SPT)

Kao što se može videti iz tabele 7, kod 12 ispitanika je ranije tokom života bio urađen SPT, njih 5 je imalo pozitivan nutritivni SPT, dok je njih 9 imalo pozitivan inhalatorni SPT.

#### 4.2.4. Ranije dijagnostikovana alergijska astma

Kod najvećeg broja - 53 (86,9%) ispitanika AA je bila novodijagnostikovana odnosno dijagnostikovana na početku studije. Dijagnoza alergijske astme je u ranijem uzrastu bila postavljena kod jednog ispitanika (1,6%) u uzrastu 0-2 godine; kod 6 ispitanika (9,8%) u uzrastu 2-6 godina; dok je u uzrastu između 6 i 12 godina AA dijagnostikovana kod samo jednog ispitanika (1,6%).

Od ukupno osam ispitanika kod kojih je AA bila dijagnostikovana pre započinjanja studije, kod njih 6 je ranije sprovedena profilaksa sa ICS. Svih šestoro ispitanika je u ranijem periodu koristilo budesonide. Petoro ispitanika je dobijalo srednju i 1 ispitanik visoku dozu navedenog ICS. Kod 5 ispitanika od ukidanja profilakse prošlo je više od

godinu dana, a kod jednog ispitanika je vremenski razmak od ukidanja profilakse do započinjanja studije bio manji od godinu dana, ali veći od 6 meseci.

#### **4.2.5. Ranije dijagnostikovan alergijski rinitis**

Iako predstavlja poseban klinički entitet, AR i AA su višestruko povezani. AR predstavlja značajan faktor rizika za nastanak alergijske astme i obrnuto. Zbog toga je u ovoj studiji posebna pažnja posvećena povezanosti ove dve bolesti i njihovom uticaju na nivo IL-33 pre započinjanja i 6 meseci posle sprovedene terapije ICS.

Dijagnoza alergijskog rinitisa je u ranijem periodu bila postavljena kod 7 (11,47 %) ispitanika, i to kod 1 (1,63 %) u uzrastu do 2 godine; kod 2 (3,28 %) u uzrastu od 2 do 6 godine i kod 4 (6,56 %) ispitanika u uzrastu od 6 do 12 godina. Terapija alergijskog rinitisa u periodu od minimum 6 meseci pre započinjanja studije je bila sprovedena kod ukupno 6 (9,83 %) ispitanika, od kojih je 5 (8,19 %) lečeno sa oralnim antihistaminicima, dok je 1 (1,63 %) ispitanik primao kombinovanu terapiju - oralni antihistaminik i intranazalni kortikosteroid (INCS).

#### **4.2.6. Prisustvo alergijskog rinitisa**

Novodijagnostikovan AR je imalo 32 (52,46 %) ispitanika i njima je dijagnoza postavljena na prvom pregledu odnosno pre početka primene, kao i tokom šest meseci primene ICS.

Ukupno 39 (63,9%) ispitanika (7 ranije dijagnostikovanih i 32 novodijagnostikovana) obuhvaćenih ovom studijom imalo je i dijagnozu alergijskog rinitisa tokom šestomesečnog perioda praćenja. Od tih 39 ispitanika kod 23 (59%) AR je prethodio pojavi astme, kod 10 (25,6%) ispitanika astma je prethodila pojavi alergijskog rinitisa, dok su se kod 6 (15,4%) ispitanika u isto vreme javili i AR i astma.

U tabeli 8. je prikazan ukupan broj obolelih kao i podela ispitanika u odnosu na težinu i trajanje alergijskog rinitisa.

**Tabela 8. Podela ispitanika u odnosu na težinu i trajanje alergijskog rinitisa**

	Broj ispitanika	Procenat
Odsustvo AR	22	36.1%
Intermitentni + blag AR	4	6.6%
Intermitentni + srednje težak/težak AR	6	9.9%
Perzistentni + blag AR	11	18.0%
Perzistentni + srednje težak/težak AR	18	29.5%
<b>Ukupno</b>	<b>61</b>	<b>100.0%</b>

AR-alergijski rinitis

Čak 29 (47,5%) ispitanika je imalo perzistentan oblik alergijskog rinitisa od toga njih 11 (18%) je imalo blagi oblik a 18 (29,5%) ispitanika je imalo srednje težak/težak oblik bolesti. AR intermitentnog trajanja je bio zastupljen kod 10 (16,5%) ispitanika.

#### **4.2.7. Težina astme pre započinjanja lečenja**

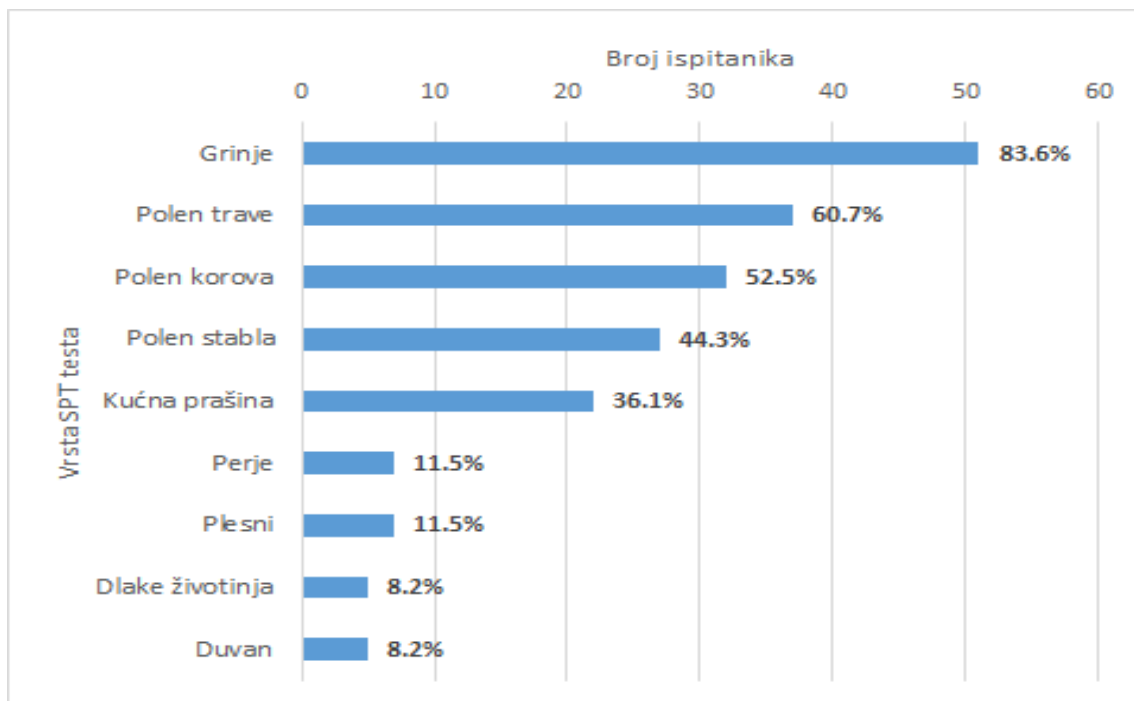
Na samom početku studije, pre započinjanja preventivne ICS terapije kod 27 (44,3%) ispitanika AA je klasifikovana kao srednje teška, dok je 34 (55,7%) ispitanika imalo laki oblik alergijske astme pri prvom pregledu, a pre primene profilakse.

#### **4.2.8. Rezultati SPT na inhalatorne alergene kod ispitanika**

Kod svih ispitanika u sklopu dijagnostičke obrade alergijske astme urađen je SPT na standardizovane inhalatorne alergene, odnosno ispitana je preosetljivost na kućnu prašinu, perje, dlake životinja, plesni, duvan, polen trave, polen stabala, polen korova i grinje.

Podela bolesnika u odnosu na vrstu pozitivnog inhalatornog alergena je prikazana na grafikonu 1.

**Grafikon 1. Grupisanje ispitanika u odnosu na vrstu pozitivnog alergena dobijenog primenom SPT testa**



SPT-ubodni kožni test (*engl.* skin prick test-SPT)

Od ukupnog broja ispitanika, njih 51 (83,6%) je imao pozitivan inhalatorni SPT na grinje. 37 (60,7%) ispitanika imalo je dokazanu preosetljivost na polen trave, 32 (52,5%) na polen korova, 27 (44,3%) na polen stabala dok je 22 (36,1%) ispitanika imalo preosetljivost na kućnu prašinu. (grafikon 1.).

**Tabela 9. Grupisanje ispitanika u odnosu na broj alergena na koje su ispitanici pokazali preosetljivost primenom SPT testa**

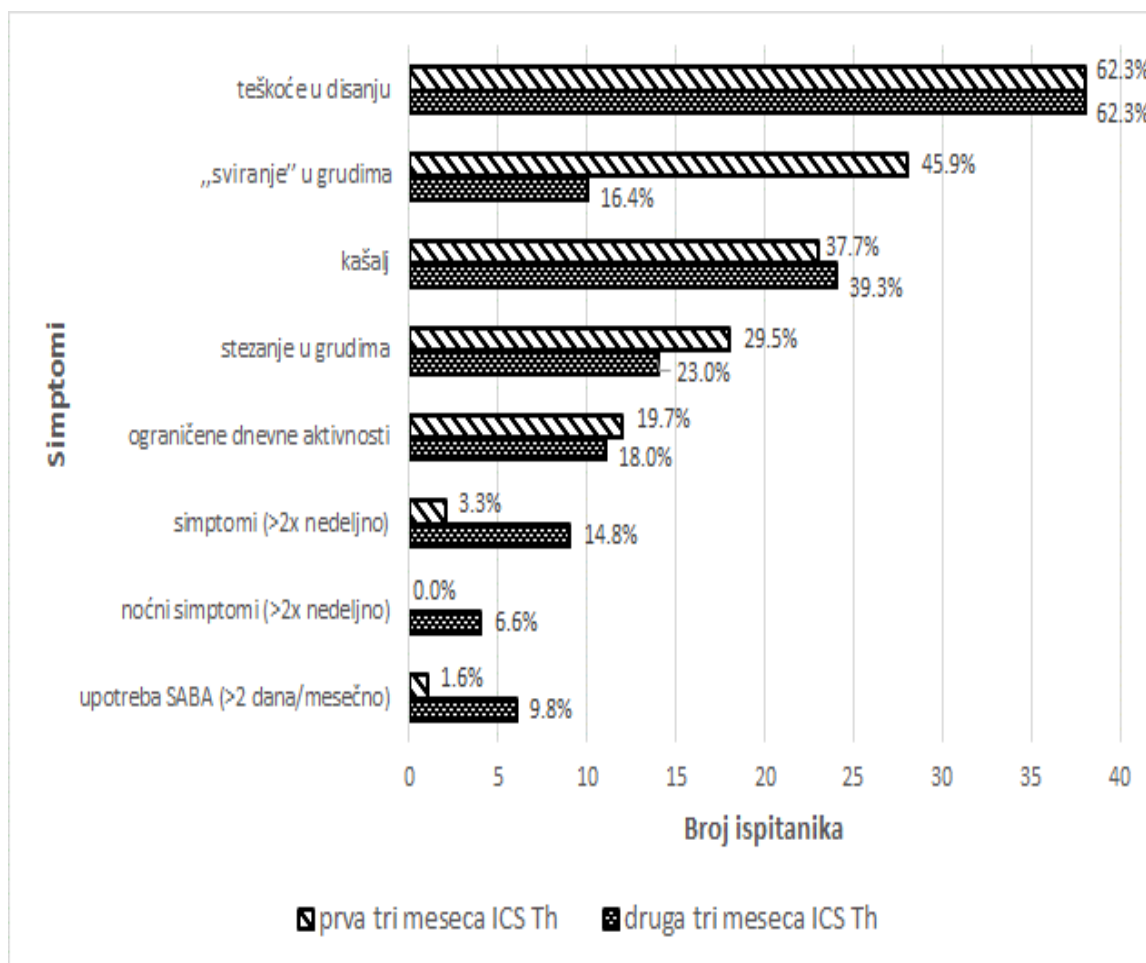
Broj pozitivnih alergena	Broj ispitanika	Procenat
1	14	23.0%
2	8	13.1%
3	18	29.5%
4	9	14.8%
5	6	9.8%
6	2	3.3%
7	3	4.9%
9	1	1.6%
<b>Ukupno</b>	<b>61</b>	<b>100.0%</b>

Svi ispitanici obuhvaćeni studijom su imali minimum po jedan pozitivan alergen primenom inhalatornog SPT. 14 ispitanika bilo je monosenzibilisano (preosetljivost na 1 alergen), dok je najveći broj ispitanika (35/57,4%) pozitivno reagovao na 2 do 4 ispitivana alergena. Samo jedan ispitanik je pozitivno reagovao na svih 9 ispitivanih alergena.

#### 4.2.9. Vrsta i učestalost tegoba u ispitivanoj grupi dece

Na grafikonu 2. prikazana je vrsta i učestalost simptoma astme tokom prvih 3 meseca i od 3. do 6. meseca ICS terapije.

**Grafikon 2. Vrsta i učestalost simptoma alergijske astme**



SABA - (*engl.* Short-Acting Beta Agonist, kartkodelujući beta agonist)

Teškoće u disanju je simptom koji se javljao kod najvećeg broja ispitanika (38/62,3%) i u prvom i u drugom tromesečju ICS terapije. Dosta ujednačenu učestalost imaju i kašalj (23/37,7% tokom prvih 3 meseca / 24/39,3% tokom drugog tromesečja) i ograničena dnevna aktivnost (12/19,7% u prvom tromesečju / 11/18,0% u drugom tromesečju). Sviranje u grudima (28/45,9% tokom prvih 3 meseca / 10/16,4% od 3. do 6. meseca) i osećaj stezanja u grudima (18/29,5% prvih 3 meseca / 14/23,0% od 3. do 6. meseca) su simptomi koji su

se javljali kod većeg broja pacijenata tokom prva tri meseca terapije nego tokom drugog tromesečja ICS terapije. Prisustvo simptoma dva puta ili češće nedeljno (2/3,3% tokom prvog tromesečja / 9/14,8% tokom drugog tromesečja), pojava noćnih simptoma dva puta ili češće tokom nedelju dana (0/0% tokom prva 3 meseca / 4/6,6% od 3 do 6 meseca) i upotreba SABA dva dana mesečno ili češće (1/1,6% u prvom tromesečju / 6/9,8% u drugom tromesečju ICS terapije) javljali su se kod većeg broja ispitanika u drugom tromesečju nego tokom prva 3 meseca ICS terapije (grafikon 2).

### 4.3. Vrednosti serumskog nivoa IL-33 (pg/ml) u ispitivanoj i kontrolnoj grupi

**Tabela 10. Vrednosti serumskog nivoa IL-33 (pg/ml) u ispitivanoj grupi (pre i 6 meseci posle ICS terapije) i u kontrolnoj grupi**

	N	Min.	Max.	Mod	M	AS	SD	Skjunis	Kurtozis
Pre ICS Th	61	.000	14.745	.041	1.491	2.550	3.387	2.252 <sup>a</sup>	5.138 <sup>a</sup>
6 mes. ICS Th	61	.000	7.801	.000	.261	.838	1.394	3.093 <sup>a</sup>	11.366 <sup>a</sup>
Kontrolna grupa	30	.000	2.682	.000	.261	.573	.632	1.543 <sup>b</sup>	2.813 <sup>b</sup>

<sup>a</sup>Standardna greška Skjunisa = 0,306; Standardna greška Kurtozisa = 0,604

<sup>b</sup>Standardna greška Skjunisa = 0,427; Standardna greška Kurtozisa = 0,833

ICS Th-inhalatorna kortikosteroidna terapija; N-broj ispitanika;

Mod-(najčešća vrednost); M-medijana (srednja vrednost); AS-aritmetička sredina (prosečna vrednost);

SD-standardna devijacija (odstupanje od AS);

Prosečna vrednost (AS) serumskog nivoa IL-33 je najveća kod dece sa alergijskom astmom pre započinjanja ICS terapije i iznosi 2,550 pg/ml. Nižu vrednost IL-33 u serumu su imala deca sa astmom posle sprovedene šestomesečne ICS terapije kod kojih je prosečna vrednost iznosila 0,838 pg/ml. Prosečna vrednost IL-33 kod zdrave dece je iznosila 0,573 pg/ml.



#### 4.4. Vrednosti eozinofilnih granulocita periferne krvi, eozinofilnih granulocita u nosnom sekretu, ukupnog IgE u serumu kod ispitanika pre i posle sprovedene šestomesečne ICS terapije

U tabeli 11. prikazane su vrednosti eozinofilnih granulocita periferne krvi (%), eozinofilnih granulocita u nosnom sekretu (broj u vidnom polju), ukupnog IgE u serumu (IU/ml) kod ispitanika, pre i posle sprovedene šestomesečne ICS terapije.

**Tabela 11. Vrednosti laboratorijskih nalaza kod ispitanika pre i posle 6 meseci ICS Th**

	Min.	Max.	Mod	M	AS	SD	Skjunis	Kurtozis
Pre ICS: Eo p.k.	0.5	19.0	2.00	5.00	5.307	3.583	1.542	3.422
6 mes. ICS: Eo.p.k.	0.4	12.5	5.00	4.10	4.351	2.602	0.901	0.840
Pre ICS: Eo.nos	0	800	.00	200.00	224.590	214.985	0.999	0.400
6 mes. ICS: Eo.nos	0	600	100.00	100.00	152.459	138.872	1.183	1.100
Pre ICS: U IgE	17.9	4345.0	25.00	173.00	473.146	732.388	3.282	13.315
6 mes ICS: U.IgE	15	3800	25.00	127.00	285.393	520.737	5.433	35.401

Standardna greška Skjunisa = 0,306; Standardna greška Kurtozisa = 0,604; Eo p.k. – eozinofilni granulociti periferne krvi (%); Eo nos- eozinofilni granulociti u nosnom sekretu (broj u vidnom polju); U IgE-ukupni serumski IgE (IU/ml); ICS Th-inhalatorna kortikosteroidna terapija; Mod-(najčešća vrednost); M-medijana (srednja vrednost); AS-aritmetička sredina (prosečna vrednost); SD-standardna devijacija (odstupanje od AS);

Prosečna vrednost eozinofilnih granulocita u krvi pre započinjanja lečenja je iznosila 5,307 %, dok je posle 6 meseci ICS terapije prosečna vrednost bila 4,351 %. Vrednost eozinofilnih granulocita u nosnom sekretu pre započetog lečenja sa ICS u proseku je iznosila 224,590 u vidnom polju, dok je prosečna vrednosti posle 6 meseci ICS iznosila 152,459 u vidnom polju. Viša prosečna vrednost ukupnog serumskog IgE je zabeležena pre ICS terapija i iznosila je 473,146 IU/ml, u odnosu na vrednost posle šestomesečne terapije sa ICS koja je iznosila 285,393 IU/ml.

#### 4.5. Vrednosti nalaza plućne funkcije kod ispitanika pre započinjanja ICS, 3 meseca i 6 meseca od uvođenja ICS terapije

U tabeli 12. prikazane su vrednosti nalaza plućne funkcije kod ispitanika pre započinjanja ICS, 3 meseca i 6 meseca od uvođenja ICS terapije.

**Tabela 12. Vrednosti nalaza plućne funkcije kod ispitanika tokom perioda praćenja**

	N	Min.	Max.	Mod	M	AS	SD	Skjunis	Kurtozis
Pre ICS: FEV1%	61	61	106	78	83	83.28	10.372	-.172	-.372
3 m. ICS: FEV1%	61	83	143	96	102	104.54	12.127	.780	.661
6 m. ICS: FEV1%	61	76	149	105	106	106.67	14.609	.535	.852
Pre ICS: FVC%	61	58	104	84	85	84.36	9.973	-.639	.271
3 m. ICS: FVC%	61	76	123	87	94	95.84	11.256	.576	-.232
6 m. ICS: FVC%	61	78	124	92	96	97.31	11.800	.354	-.468
Pre ICS: FEV1/FVC%	61	62	98	79	81	81.90	7.897	.020	-.174
3 m.ICS: FEV1/FVC%	61	64	113	94	94	92.00	9.995	-.490	.330
6 m.ICS: FEV1/FVC%	61	70	119	102	98	97.28	8.802	-.239	.634
Pre ICS: PEF%	61	56	104	89	82	80.23	11.765	-.145	-.864
3 m. ICS: PEF%	61	68	123	89	91	93.48	10.830	.567	.547
6 m. ICS: PEF%	61	56	145	96	100	100.39	17.005	-.127	.898
Pre ICS: MEF 25/75%	61	24	107	78	70	70.70	13.979	-.416	1.417
3 m.ICS: MEF 75/25%	61	56	146	89	96	98.08	18.174	.516	.594
6 m.ICS: MEF 75/25%	61	51	170	97	99	101.98	21.727	.516	1.296

FEV1- forsirani ekspirijumski volumen u prvoj sekundi; FVC-forsirani vitalni kapacitet; FEV1/FVC (Tiffeneau indeks), FEV1 izražen kao procenat VC; PEF-vršni ekspirijumski protok; MEF 25/75- srednji forsirani protok vazduha u ekspirijumu pri 25% - 75% FVC;

ICS-inhalatorni kortikosteroid; m-mesec; N-broj ispitanika; Mod-(najčešća vrednost); M-medijana (srednja vrednost); AS-aritmetička sredina (prosečna vrednost); SD-standardna devijacija (odstupanje od AS);

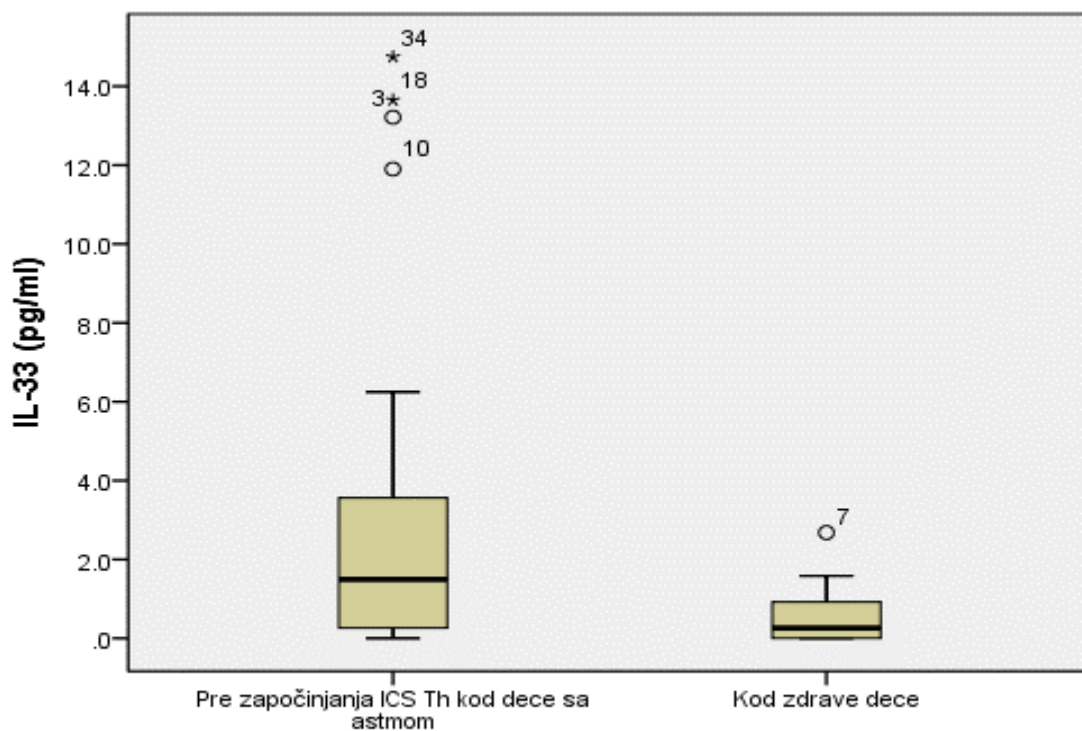
Prosečna vrednost nalaza plućne funkcije pre započinjanja ICS terapije je iznosila: FEV1 = 83,28 %, FVC = 84,36 %, FEV1/FVC = 81,90 %, PEF = 80,23 %, MEF 25/75=70,70 %.

Tri meseca posle započinjanja ICS terapije beleže se sledeće prosečne vrednosti spirometrijskih parametara: FEV1 = 104,54 %, FVC = 95,84 %, FEV1/FVC = 92,00 %, PEF = 93,48 %, MEF 25/75=98,08 %. Nalazi spirometrije koji su određeni posle 6 meseci primene ICS terapije su imali sledeće presečne vrednosti: FEV1 = 106,67 %, FVC = 97,31 %, FEV1/FVC = 97,28 %, PEF = 100,39 %, MEF 25/75=101,98 %.

#### 4.6. Vrednosti IL-33 u serumu kod dece uzrasta od 6 do 18 godina sa alergijskom astmom pre započinjanja ICS terapije i kod zdravih ispitanika istog uzrasta

Na grafikonu 3. je prikazana raspodela vrednosti IL-33 u serumu kod dece uzrasta od 6 do 18 godina sa alergijskom astmom pre započinjanja ICS terapije i vrednosti IL-33 u serumu kod zdrave, kontrolne grupe dece istog uzrasta.

**Grafikon 3. Raspodela vrednosti IL-33 kod ispitanice i kontrolne grupe pre započinjanja ICS terapije**



Na grafikonu su simbolima označeni ispitanici sa ekstremnim vrednostima IL-33 u serumu: ○ - umereno odstupanje; ★ - veliko odstupanje ICS Th-inhalatorna kortikosteroidna terapija

Srednja vrednosti IL-33 u serumu kod dece sa alergijskom astmom kod kojih nije započeto lečenje sa ICS bila je 1,49 pg/ml, a kod zdrave dece 0,26 pg/ml. 50 % dece sa alergijskom astmom pre započetog lečenja su imala vrednosti IL-33 u serumu koje su se kretale u opsegu od 0,25 do 3,67 pg/ml, a većina dece (izuzetak su ona sa ekstremnim odstupanjima) je imala vrednost serumskog nivoa IL-33 od 0,00 do 6,25 pg/ml. Polovina zdrave dece je imala vrednost IL-33 u serumu između 0,00 i 0,98 pg/ml, dok je većina njih (izuzev jednog deteta koje je imalo ekstremno odstupanje) imala vrednosti IL-33 u serumu od 0,00 do 1,58 pg/ml. Na grafikonu su posebno prikazani ispitanici koji su imali visoke vrednosti IL-33 u serumu i odstupali od srednjih vrednosti ostalih ispitanika unutar grupe. U grupi ispitanika sa alergijskom astmom odstupanja od srednje vrednosti većine ostalih ispitanika unutar grupe su imali deca obeležena rednim brojevima 10. (11,900 pg/ml), 3. (13,214 pg/ml), 18. (13,652 pg/ml), i 34 (14,745 pg/ml). U grupi zdrave dece odstupanje od srednjih vrednosti većine ostalih ispitanika unutar grupe je imao jedno dete obeleženo rednim brojem 7. (2,682 pg/ml) (grafikon 3.).

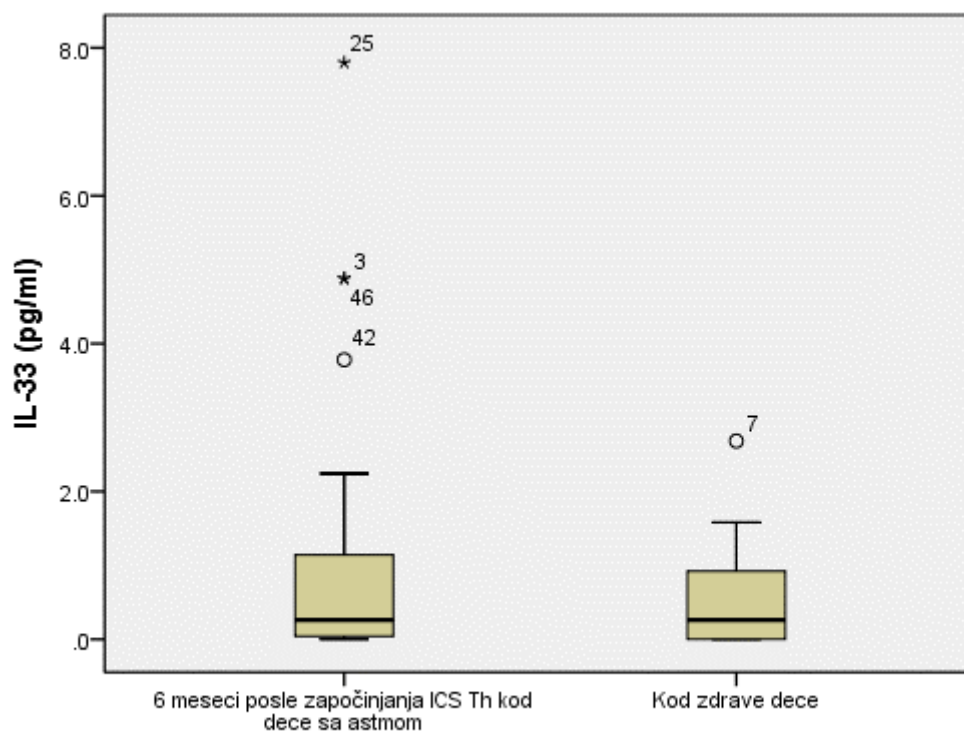
Rezultati Mann-Whitney U-testa pokazuju da postoji statistički visoko značajna razlika ( $U=509$ ;  $p=0,00$ ;  $p<0,01$ ;) u vrednosti IL-33 u serumu između dece uzrasta 6 do 18 godina sa alergijskom astmom pre započinjanja ICS terapije i vrednosti IL-33 u serumu zdrave dece istog uzrasta.

Deca uzrasta od 6 do 18 godina koja boluju od alergijske astme pre započinjanja lečenja sa ICS imaju statistički značajno više vrednosti serumskog IL-33 u odnosu na zdravu decu istog uzrasta.

#### 4.7. Vrednosti IL-33 u serumu kod dece uzrasta 6 do 18 godina sa alergijskom astmom posle sprovedene šestomesečne ICS terapije i kod zdravih ispitanika istog uzrasta

Na grafikonu 4. je prikazana raspodela vrednosti IL-33 u serumu kod dece uzrasta od 6 do 18 godina sa alergijskom astmom posle sprovedene šestomesečne ICS terapije i kod zdrave dece.

**Grafikon 4. Raspodela vrednosti IL-33 u serumu kod ispitivane grupe posle sprovedene šestomesečne ICS terapije i kontrolne grupe**



Na grafikonu su simbolima označeni ispitanici sa ekstremnim vrednostima: ○ - umereno odstupanje; ★ - veliko odstupanje; ICS Th-inhalatorna kortikosteroidna terapija;

Srednja vrednost IL-33 u serumu dece sa alergijskom astmom posle šestomesečne terapije sa ICS i kod dece u kontrolnoj grupi bila je ista i iznosila je 0,26 pg/ml. Polovina dece sa alergijskom astmom posle šestomesečnog lečenja su imala vrednosti IL-33 u serumu koje su se kretale u opsegu od 0,04 do 1,14 pg/ml, a većina dece (izuzetak su ona sa ekstremnim odstupanjima) je imala vrednosti serumskog nivoa IL-33 od 0,00 do 2,24 pg/ml.

Na grafikonu su posebno prikazani ispitanici koji su imali visoke vrednosti IL-33 u serumu i odstupali od srednjih vrednosti ostalih ispitanika unutar grupe. U grupi ispitanika sa alergijskom astmom odstupanja od srednje vrednosti većine ostalih ispitanika unutar grupe su imali deca obeležena rednim brojevima 42. (3,782 pg/ml), 3. (4,881 pg/ml), 46. (4,881 pg/ml) 25. (7,801 pg/ml). (grafikon 4.).

Rezultati Mann-Whitney U-testa pokazuju da kod dece uzrasta 6 do 18 godina sa alergijskom astmom posle sprovedene šestomesečne ICS terapije ne postoje statistički značajna razlika ( $U=897$ ;  $p=0,88$ ;  $p>0,05$ ) u serumskim vrednostima IL-33 u odnosu na zdravu decu istog uzrasta.

Vrednosti serumskog nivoa IL-33 kod dece koja boluju od alergijske astme, kod kojih je sprovedena šestomesečna ICS terapija, statistički se ne razlikuju značajno od serumske vrednosti IL-33 u grupi zdrave dece.

#### 4.8. Vrednosti IL-33 u serumu pre i posle šestomesečne ICS terapije kod dece uzrasta 6 do 18 godina sa alergijskom astmom

Podela ispitanika u odnosu na serumske vrednosti IL-33 pre započinjanja kao i posle sprovedene šestomesečne ICS terapije je prikazana u tabeli 13.

**Tabela 13. Grupisanje ispitanika u odnosu na serumske vrednosti IL-33 pre i posle šestomesečne ICS terapije**

Grupa ispitanika u odnosu na nivo IL-33	Broj ispitanika	Procenat
Viša vrednost pre Th	45	73.8%
Viša vrednost posle Th	13	21.3%
Iste vrednosti	3	4.9%
<b>Ukupno</b>	<b>61</b>	<b>100.0%</b>

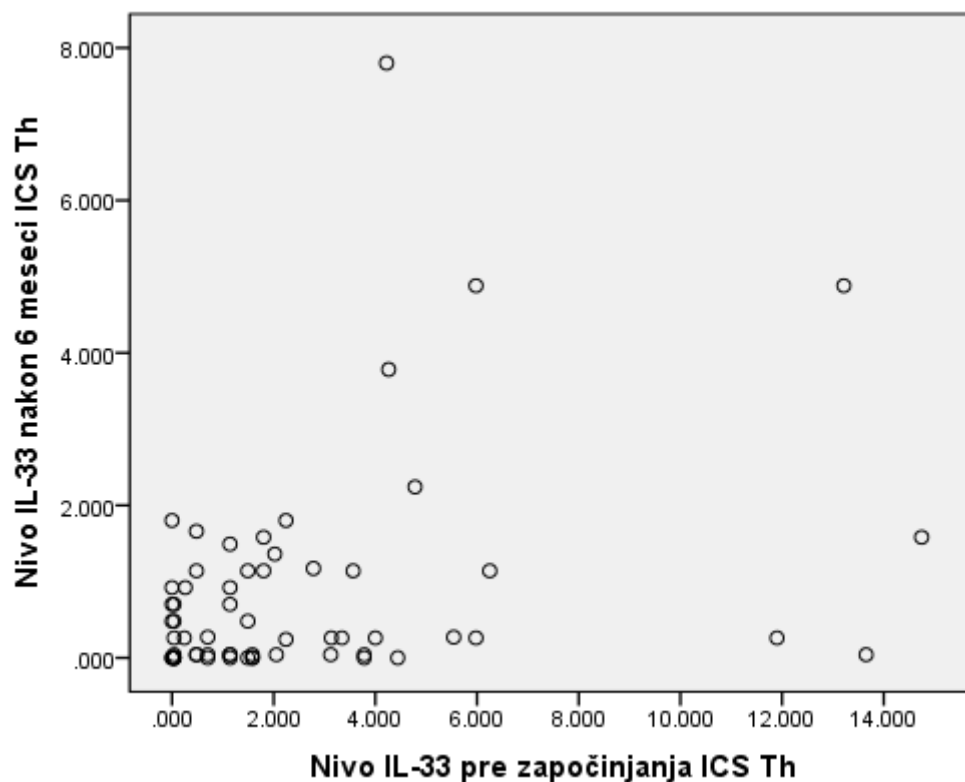
Kod 45 (73,77%) ispitanika došlo je do pada vrednosti IL-33 u serumu posle šestomesečne ICS terapije, kod 3 (4,92%) ispitanika vrednosti su ostale nepromenjene, a kod 13 (21,31%) vrednosti IL-33 u serumu su bile više posle sprovedenog tretmana.

Primenom Wilcoxon-ovog testa parova utvrđeno je da kod dece uzrasta od 6 do 18 godina sa alergijskom astmom postoji statistički visoko značajna razlika u vrednostima IL-33 u serumu pre započinjanja i posle šestomesečne ICS terapije ( $Z=-4.394$ ;  $p=0,00$ ;  $p<0,01$ ), odnosno kod dece sa alergijskom astmom pre započinjanja ICS terapije su bile statistički značajno više vrednosti IL-33 u serumu. Primenom Spearmanovog koeficijenta rang korelacije utvrđeno je da, kod dece uzrasta od 6 do 18 godina koja boluju od alergijske astme posle šestomesečne ICS terapije dolazi do značajnog pada vrednosti IL-33 u serumu ( $r_s=0,271$ ;  $p=0,04$ ;  $p<0,05$ ).

Na grafikonu 5. prikazan je odnos vrednosti IL-33 pre i posle 6 meseci lečenja sa ICS kod dece uzrasta od 6 do 18 godina sa alergijskom astmom.



**Grafikon 5. Odnos vrednosti IL-33 (pg/ml) pre i posle 6 meseci lečenja sa ICS kod ispitanika**



U ispitivanoj grupi postoji tendencija da pacijenti sa višim vrednostima IL-33 u serumu pre tretmana imaju više vrednosti i posle šestomesečne terapije. Vrednosti IL-33 kod pacijenata pre započete ICS terapije se najviše raspoređuju u opsegu od 0 do 6 pg/ml, dok se većina vrednosti serumskog nivoa IL-33 posle šestomesečne ICS terapije kreće u rasponu od 0 do 2 pg/ml (grafikon 5.).

4.9. Vrednosti IL-33 u serumu, ukupnog IgE u serumu, eozinofilnih granulocita u perifernoj krvi, eozinofilnih granulocita u nosnom sekretu, pre i posle šestomesečne ICS terapije kod dece uzrasta od 6 do 18 godina sa alergijskom astmom

U tabeli 13. prikazana je podela ispitanika u odnosu na vrednosti eozinofilnih granulocita periferne krvi, eozinofilne granulocite u nazalnom sekretu i ukupnog IgE u serumu, pre i posle šestomesečne ICS terapije

***Tabela 13. Grupisanje ispitanika u odnosu na vrednosti eozinofilnih granulocita periferne krvi, eozinofilne granulocite u nazalnom sekretu i ukupnog IgE u serumu, pre i posle šestomesečne ICS terapije***

Grupe ispitanika u odnosu na vrednosti laboratorijskih nalaza		Broj ispitanika	Procenat
Eos (%)	Viša vrednost pre Th	37	60.7%
	Viša vrednost posle Th	24	39.3%
	Iste vrednosti	0	.0%
	<b>Ukupno</b>	<b>61</b>	<b>100.0%</b>
Eos u nosu (br. u vidnom polju)	Viša vrednost pre Th	32	52.5%
	Viša vrednost posle Th	10	16.4%
	Iste vrednosti	19	31.1%
	<b>Ukupno</b>	<b>61</b>	<b>100.0%</b>
IgE u serumu (IU/ml)	Viša vrednost pre Th	50	82.0%
	Viša vrednost posle Th	5	8.2%
	Iste vrednosti	6	9.8%
	<b>Ukupno</b>	<b>61</b>	<b>100.0%</b>

Eos - eozinofilni granulociti u perifernoj krvi; Eos u nosu - eozinofilni granulociti u nosnom sekretu; IgE-imunoglobulin E;

Kod 50 (81,97%) pacijenata koji boluju od alergijske astme došlo je do smanjenja nivoa ukupnog IgE u serumu posle 6 meseci terapije ICS. Kod 32 (50,46%) došlo je do značajne redukcije broja eozinofilnih granulocita u nazalnom sekretu, a kod 10 (16,39%) ispitanika je broj eozinofila u nazalnom sekretu bio veći na kraju tretmana nego na početku studije. Smanjenje broja eozinofila u perifernoj krvi registrovano je kod 37 (60,66%) ispitanika, ali je takođe i povećanje tog broja registrovano kod 24 (39,34%) ispitanika.

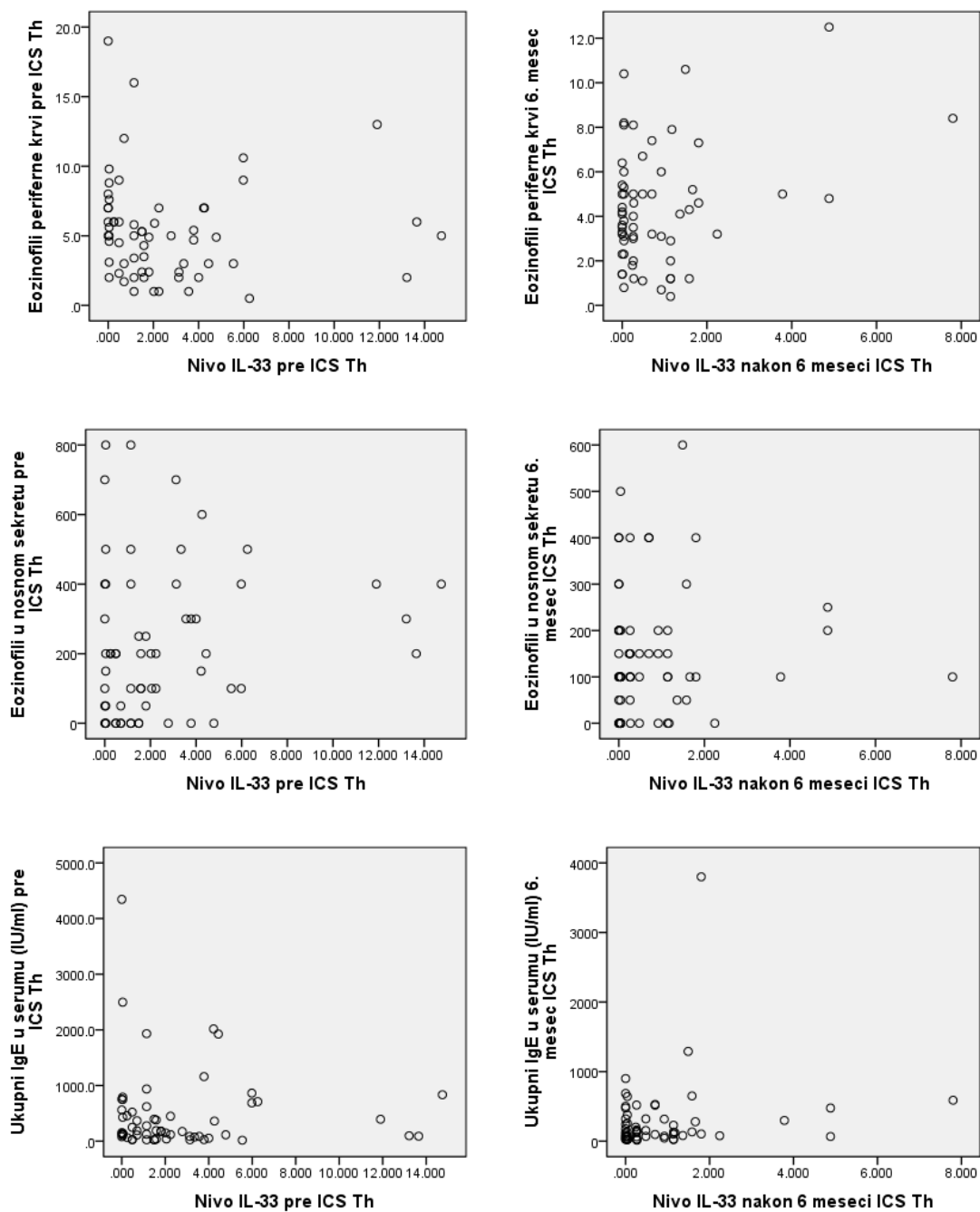
Rezultati ispitivanja razlika koji su dobijeni primenom Wilcoxon-ovog testa parova pokazuju da je smanjenje vrednosti ukupnog IgE u serumu ( $Z=-5,698$ ;  $p=0,00$ ;  $p<0,01$ ;) i broja eozinofilnih granulocita u nosnom sekretu ( $Z= -3,293$ ;  $p=0,00$ ;  $p<0,01$ ;) posle šestomesečne terapije sa ICS statistički visoko značajno, u odnosu na vrednosti pre započetog lečenja. Razlika u vrednostima eozinofilnih granulocita periferne krvi kod ispitanika pre početka ICS terapije i posle 6 meseci tretmana sa ICS nije statistički značajna ( $Z=-1,757$ ;  $p=0,08$ ;  $p>0,05$ ).

Rezultati dobijeni primenom Spearmanov-og koeficijenta rang korelacije pokazuju da pre započinjanja ICS terapije ne postoji statistički značajna povezanost između serumskog nivoa IL-33 u odnosu na vrednosti eozinofilnih granulocita periferne krvi ( $r_s = -0,243$ ;  $p = 0,059$ ;  $p>0,05$ ), eozinofilnih granulocita u nosnom sekretu ( $r_s = -0,173$ ;  $p = 0,182$ ;  $p>0,05$ ) i ukupnog IgE u serumu ( $r_s = -0,082$ ;  $p = 0,532$ ;  $p>0,05$ ).

Takođe, rezultati dobijeni primenom Spearmanov-og koeficijenta rang korelacije pokazuju da i posle sprovedene šestomesečne ICS terapije ne postoji statistički značajna povezanost između serumskog nivoa IL-33 u odnosu na vrednosti eozinofilnih granulocita periferne krvi ( $r_s = -0,104$ ;  $p = 0,426$ ;  $p>0,05$ ), eozinofilnih granulocita u nosnom sekretu ( $r_s = -0,012$ ;  $p = 0,930$ ;  $p>0,05$ ) i ukupnog IgE u serumu ( $r_s = -0,124$ ;  $p = 0,341$ ;  $p>0,05$ ).

Da bismo bolje sagledali odnos između vrednosti IL-33 i vrednosti ukupnog IgE u serumu, broja eozinofila u nazalnom sekretu i eozinofilnih granulocita periferne krvi, vrednosti navedenih laboratorijskih parametara pre i posle sprovođenja šestomesečne ICS terapije prikazane su na grafikonu 6.

**Grafikon 6. Odnos vrednosti IL-33 i eozinofilnih granulocita periferne krvi, broja eozinofila u nosnom sekretu, vrednosti ukupnog IgE u serumu, pre i posle sprovođenja šestomesečne ICS terapije**



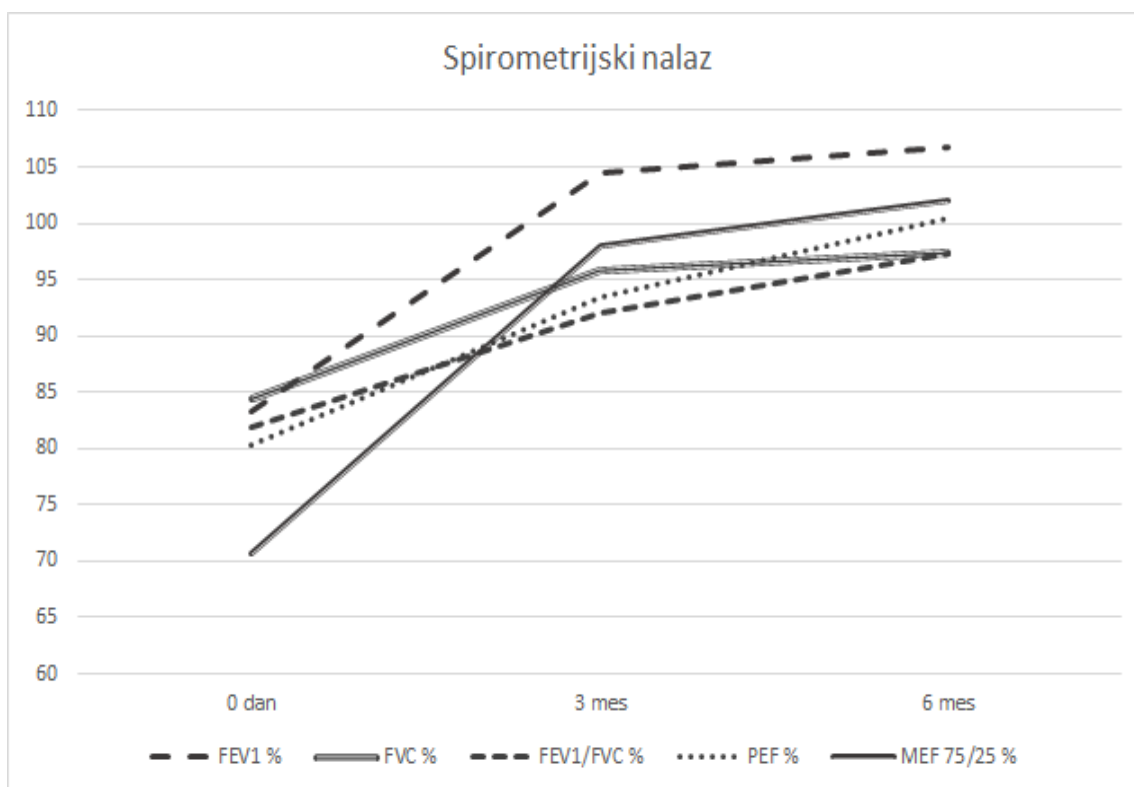
Kod ispitanika obuhvaćenih ovom studijom ne postoji jasna povezanost između nivoa IL-33 u serumu i eozinofilnih granulocita periferne krvi, eozinofilnih granulocita u nosnom sekretu i vrednosti IgE u serumu. Znanan broj ispitanika imao je visoke vrednosti na

jednom parametru, a niske na drugom (ovo je posebno primetno u odnosu između vrednosti IL-33 i eozinofilnih granulocita periferne krvi na početku tretmana). Takođe, na grafikonima se može primetiti da je posle šestomesečnog tretmana sa ICS smanjen nivo IL-33 u serumu, dok taj trend ne prati u tolikoj meri i smanjenje broja eozinofilnih granulocita u nazalnom sekretu, a posebno ne u perifernoj krvi. Na grafikonima se može primetiti i to da, iako posle šestomesečne ICS terapije postoji smanjenje vrednosti IL-33 i vrednosti IgE, ova dva parametra nisu povezana, pa postoje pacijenti sa visokim vrednostima IL-33 i niskim vrednostima IgE, i obrnuto, dok pacijentata sa visokim vrednostima oba parametra praktično nema.

#### 4.10. Vrednost IL-33 u serumu i nalaza plućne funkcije kod dece uzrasta od 6 do 18 godina sa alergijskom astmom

Kretanje prosečnih vrednosti svih nalaza plućne funkcije kod dece sa alergijskom astmom pre započinjanja, posle 3 i 6 meseci sprovođenja ICS terapije prikazane su na grafikonu 7.

**Grafikon 7. Prosečne vrednosti nalaza plućne funkcije kod ispitanika tokom perioda praćenja**



FEV1- forsirani ekspirijumski volumen u prvoj sekundi; FVC-forsirani vitalni kapacitet; FEV1/FVC (Tiffeneau indeks), FEV1 izražen kao procenat VC; PEF-vršni ekspirijumski protok; MEF 25/75- srednji forsirani protok vazduha u ekspirijumu pri 25% - 75% FVC;

Vrednosti FEV1 i MEF 75/25 pokazuju tendenciju naglog rasta u prva tri meseca tretmana, dok je u druga tri meseca porast bio takođe prisutan ali u manjoj meri. Vrednosti FEV1/FVC i PEF pokazuju tendenciju kontinuiranog rasta, dok vrednost FVC pokazuje tendenciju skromnog povećanja u prva tri meseca tretmana do nivoa koji se održavao naredna tri meseca terapije (grafikon 7.).

Rezultati Post Hoc LSD testa ukazuju da su sve vrednosti testiranih parametara plućne funkcije kod dece sa alergijskom astmom pre započinjanja ICS terapije statistički značajno niže u odnosu na vrednosti koje su dobijene posle 3 meseca lečenja sa ICS (razlike aritmetičkih sredina dobijene primenom Post Hoc LSD testom i njihova statistička značajnost iznose: za FEV1 -21,262;  $p=0,00$ ;  $p<0,01$ ; za FVC -11,475;  $p=0,00$ ;  $p<0,01$ ; za FEV1/FVC -10,098;  $p=0,00$ ;  $p<0,01$ ; za PEF -13,246;  $p=0,00$ ;  $p<0,01$ ; za MEF 75/25 -27.377;  $p=0,00$ ;  $p<0,01$ ).

Takođe, rezultati testiranja ukazuju da su sve vrednosti parametara plućne funkcije kod dece sa alergijskom astmom pre započinjanja ICS terapije statistički značajno niže u odnosu na vrednosti plućne funkcije dobijene posle 6 meseci lečenja sa ICS (razlike aritmetičkih sredina dobijene primenom Post Hoc LSD testom i njihova statistička značajnost iznose: za FEV1 -23,393;  $p=0,00$ ;  $p<0,01$ ; za FVC -12,951;  $p=0,00$ ;  $p<0,01$ ; za FEV1/FVC -15,377;  $p=0,00$ ;  $p<0,01$ ; za PEF -20,164;  $p=0,00$ ;  $p<0,01$ ; za MEF 75/25 -31.279;  $p=0,00$ ;  $p<0,01$ ).

Statistički značajno veće vrednosti posle 6 meseci ICS terapije u odnosu na vrednosti izmerene posle 3 meseca ICS tretmana imaju samo FEV1/FVC % i PEF % (razlike aritmetičkih sredina dobijene primenom Post Hoc LSD testom i njihova statistička značajnost iznose: za FEV1/FVC -5,276;  $p=0,01$ ;  $p<0,05$ ; za PEF  $X=-6,918$ ;  $p=0,02$ ;  $p<0,05$ ), dok kod ostalih parametara (razlike aritmetičkih sredina dobijene primenom Post Hoc LSD testom i njihova statistička značajnost iznose: za FEV1 -2,131;  $p=0,27$ ;  $p>0,05$ ; za FVC -1,475;  $p=0,32$ ;  $p>0,05$ ; MEF 75/25 -3.902;  $p=0,17$ ;  $p>0,01$ ;) nije dokazana statistički značajna razlika u vrednostima.

Primenom Spearmanovog koeficijenta rang korelacije utvrđeno je da pre započinjanja ICS terapije postoji statistički značajna negativna korelacija između nivoa IL-33 i vrednosti FEV1 ( $r_s = -0,198$ ;  $p=0,126$ ;  $p<0,05$ ), FEV1/FVC ( $r_s = -0,291$ ;  $p=0,023$ ;  $p<0,05$ ), PEF ( $r_s = -0,265$ ;  $p=0,039$ ;  $p<0,05$ ) i MEF 25/75 ( $r_s = -0,287$ ;  $p=0,025$ ;  $p<0,05$ ) dok u odnosu na FVC ( $r_s = -0,082$ ;  $p=0,532$ ;  $p>0,05$ ) nije dokazana statistički značajna povezanost.

Takođe je utvrđeno da posle 6 meseci ICS terapije postoji statistički visoko značajna negativna korelacija između nivoa IL-33 u serumu i vrednosti FEV1 ( $r_s = -0,341$ ;  $p = 0,007$ ;  $p < 0,01$ ), FVC ( $r_s = -0,335$ ;  $p = 0,008$ ;  $p < 0,01$ ). Posle 6 meseci ICS terapije postoji statistički značajna negativna korelacija između nivoa IL-33 u serumu i i PEF ( $r_s = -0,325$ ;  $p = 0,011$ ;  $p < 0,05$ ) dok za vrednosti FEV1/FVC ( $r_s = -0,065$ ;  $p = 0,617$ ;  $p > 0,05$ ) i MEF 25/75 ( $r_s = -0,210$ ;  $p = 0,104$ ;  $p > 0,05$ ) nije dokazana statistički značajna korelacija.



#### 4.11. Vrednosti IL-33 u serumu u odnosu na težinu, stepen kontrole alergijske astme i primenjenu dozu ICS leka kod dece uzrasta od 6 do 18 godina sa alergijskom astmom

Podela ispitanika prema težini alergijske astme pre, 3. mesec i 6. mesec ICS terapije je prikazana u tabeli 14.

**Tabela 14. Podela ispitanika u odnosu na težinu astme pre, 3. mesec i 6. mesec ICS Th**

Težina astme	Pre ICS Th		3 meseca ICS Th		6 meseci ICS Th	
	Broj ispitanika	Procenat	Broj ispitanika	Procenat	Broj ispitanika	Procenat
Laka	34	55.7%	46	75.4%	39	63.9%
Srednje teška	27	44.3%	15	24.6%	18	29.5%
Teška	0	0%	0	.0%	4	6.6%
<b>Ukupno</b>	<b>61</b>	<b>100.0%</b>	<b>61</b>	<b>100.0%</b>	<b>61</b>	<b>100.0%</b>

ICS Th – inhalatorna kortikosteroidna terapija

Najveći broj ispitanika je sve vreme praćenja imalo karakteristike lake astme (pre ICS Th 55,7 %; 3. mesec ICS Th 75,4 %; 6. mesec ICS Th 63,9 %). Posle 6 meseci sprovođenja ICS terapije kod 4 pacijenta (6,6%) je AA imala karakteristike teške bolesti.

U tabeli 15. je prikazana podela ispitanika prema stepenu kontrole AA tokom perioda praćenja.

**Tabela 15. Podela ispitanika u odnosu na stepen kontrole alergijske astme posle 3 i 6 meseci ICS terapije**

Kontrola astme	3 meseca ICS Th		6 mesec ICS Th	
	Broj ispitanika	Procenat	Broj ispitanika	Procenat
Kontrolisana astma	59	96.7%	45	73.8%
Delimično kontrolisana astma	2	3.3%	15	24.6%
Nekontrolisana astma	0	.0%	1	1.6%
<b>Ukupno</b>	<b>61</b>	<b>100.0%</b>	<b>61</b>	<b>100.0%</b>

ICS Th – inhalatorna kortikosteroidna terapija

Posle tri meseca terapije sa ICS dva pacijenta su imala delimično kontrolisanu, dok su svi ostali imali dobro kontrolisanu alergijsku astmu. Posle šest meseci ICS tretmana 15 ispitanika je imalo delimično kontrolisanu bolesti, a kod jednog ispitanika AA je bila nekontrolisana.

**Tabela 16. Podela ispitanika u odnosu na dozu ICS leka koju su primali tokom prva 3 meseca i od 3 do 6 meseca terapije**

Doza ICS leka	Tokom prva 3 meseca Th		Od 3 do 6 meseca Th	
	Broj ispitanika	Procenat	Broj ispitanika	Procenat
Niska	23	37.7%	47	77.0%
Srednja	38	62.3%	14	23.0%
<b>Ukupno</b>	<b>61</b>	<b>100.0%</b>	<b>61</b>	<b>100.0%</b>

ICS Th – inhalatorna kortikosteroidna terapija

Tokom prva tri meseca praćenja od uključivanja u studiju najveći broj ispitanika primao je srednju dozu leka. Trećeg meseca tretmana doza leka redukovana je kod 24 pacijenta, pa je od trećeg do šestog meseca terapije najveći broj ispitanika (ukupno 47) primao nisku dozu ICS.

Primenom Spearmanovog koeficijenta rang korelacije analiziran je odnos vrednosti IL-33 u serumu u odnosu na težinu bolesti, stepen kontrole alergijske astme i primenjenu dozu ICS leka pre započinjanja i posle 6 meseci ICS terapije (tabela 17).

**Tabela 17. Odnos vrednosti IL-33 u serumu sa težinom, stepenom kontrole alergijske astme i primenjenom dozom ICS leka**

Klinički pokazatelji stepena inflamacije	Pre ICS Th:IL-33 pg/ml		6 meseci ICS Th: IL-33 pg/ml	
	r <sub>s</sub>	p	r <sub>s</sub>	p
Težina astme pre ICS Th	0.289*	0.024	0.073	0.577
Težina astme 3 mes. ICS Th	0.518**	0.000	0.225	0.082
Težina astme 6 mes. ICS Th	0.419**	0.001	0.445**	0.000
Kontrola astme-3 mes. ICS Th	0.288*	0.024	0.140	0.283
Kontrola astme-6 mes. ICS Th	0.385**	0.002	0.387**	0.002
Doza leka: prva 3 mes. ICS Th	0.076	0.560	-0.021	0.870
Doza leka: druga 3 mes. ICS Th	0.476**	0.000	0.166	0.200

r<sub>s</sub> - Spearmanov-og koeficijenta rang korelacije \*p<0,05; \*\*p<0,01

ICS Th- inhalatorna kortikosteroidna terapija; mes.- mesec;

Nivo IL-33 u serumu određen pre započinjanja ICS terapije je u statistički značajnoj pozitivnoj korelaciji je sa: težinom astme (koju su deca imala pre započinjanja ICS terapije, posle 3 i posle 6 meseci od uvođenja ICS terapije), dozom leka koja je primenjena (tokom drugog tromesečja ICS terapije) i stepenom kontrole astme (koju su ispitanici imali posle 3 i u 6 meseci lečenja sa ICS). Ukratko, pacijenti koji su pre započinjanja ICS terapije imali više vrednosti IL-33 u serumu imali su i teži oblik alergijske astme sve vreme praćenja, lošiju kontrolu astme tokom perioda lečenja i zahtevali su primenu veće doze ICS leka u drugom tromesečju lečenja.

Nivo IL-33 u serumu određen posle šest meseci primene ICS terapije je u statistički značajnoj pozitivnoj korelaciji sa: težinom i stepenom kontrole alergijske astme koju su ispitanici imali posle 6 meseci lečenja sa ICS. Ukratko, pacijenti koji su posle šest meseci terapije sa ICS imali teži oblik i lošiju kontrolu alergijske astme imali su i više vrednosti IL-33 u serumu.

4.12. Odnos vrednosti IL-33 u serumu kod dece uzrasta od 6 do 18 godina sa alergijskom astmom i kod dece koja su istovremeno imala alergijsku astmu i alergijski rinitis pre započetog lečenja

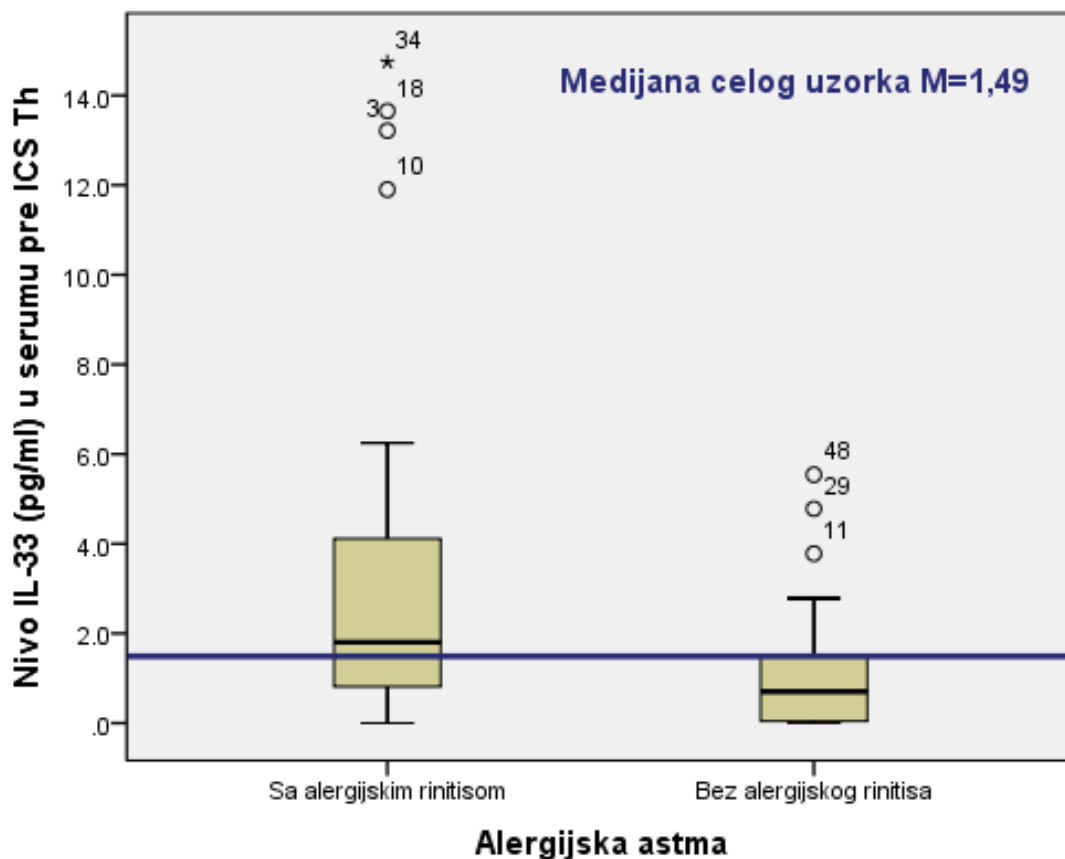
Od ukupno 61 deteta sa alergijskom astmom koji su obuhvaćeni ovom studijom njih 39 (64%) je imalo istovremeno i AR. Preostala 22 (36%) deteta je imalo alergijsku astmu bez alergijskog rinitisa.

***Tabela 18. Podela ispitanika u odnosu na prisustvo alergijskog rinitisa i srednje vrednosti IL-33 u serumu pre započetog lečenja***

	Broj ispitanika	Procenat	Srednja vrednost IL-33 (pg/ml)
Astma i alergijski rinitis	39	64%	1,80
Astma bez alergijskog rinitisa	22	36%	0,70
Ukupno	61	100%	

Srednja vrednost IL-33 u serumu pre započetog lečenja, kod dece sa alergijskom astmom i alergijskim rinitisom iznosila je 1,80 pg/ml, dok je srednja vrednost IL-33 u serumu kod dece sa alergijskom astmom bez alergijskog rinitisa iznosila 0,70 pg/ml.

**Grafikon 8. Distribucija vrednosti IL-33 u serumu pre započinjanja lečenja kod ispitanika koji su imali dijagnozu alergijskog rinitisa i astme i kod ispitanika koji su imali samo alergijsku astmu bez alergijskog rinitisa.**



Na grafikonu su simbolima označeni ispitanici sa ekstremnim vrednostima: ○ - umereno odstupanje; ★ - veliko odstupanje

Srednja vrednost IL-33 u serumu pre započetog lečenja, kod dece sa alergijskom astmom i alergijskim rinitisom iznosila je 1,80 pg/ml, što je iznad srednje vrednosti IL-33 za ceo uzorak ispitanika (1,49 pg/ml). Srednja vrednost IL-33 u serumu kod dece bez alergijskog rinitisa je iznosila 0,70 pg/ml, odnosno imali su nižu srednju vrednost u odnosu na srednju vrednost celog uzorka (M=1,49 pg/ml). 50 % ispitanika koji su istovremeno imali alergijsku astmu i rinitis su pre započetog lečenja imali vrednosti IL-33 u serumu koje su se kretale u opsegu od 0,48 do 4,22 pg/ml, dok je većina dece (izuzetak su ona sa ekstremnim odstupanjima) imala vrednosti od 0,00 do 6,26 pg/ml. Polovina ispitanika bez alergijskog rinitisa je imala vrednost IL-33 u serumu između 0,04 i 1,49 pg/ml pre

započinjanja lečenja dok je većina dece (izuzetak su ona sa ekstremnim odstupanjima) imala vrednosti od 0,00 do 2,78 pg/ml. Na grafikonu su posebno prikazani ispitanici koji su imali visoke vrednosti IL-33 u serumu i odsupali od srednjih vrednosti ostalih ispitanika unutar grupe. U grupi ispitanika sa alergijskim rinitisom ekstremna odstupanja od srednje vrednosti ostalih ispitanika unutar grupe su imali ispitanici obeleženi rednim brojevima 10. (11,900 pg/ml), 3. (13,214 pg/ml), 18. (13,652 pg/ml), i 34 (14,745 pg/ml). U grupi ispitanika bez alergijskog rinitisa ekstremna odstupanja od srednjih vrednosti ostalih ispitanika unutar grupe su imala 3 ispitanika obeležena brojevima 11. (3,134 pg/ml), 29. (3,781 pg/ml) i 48. (5,541 pg/ml). (Grafikon 8.).

**Tabela 19. Grupisanje ispitanika koji su pre započinjanja ICS Th imali dijagnozu alergijskog rinitisa i astme i ispitanika koji su imali samo alergijsku astmu bez alergijskog rinitisa u odnosu na srednju vrednosti IL-33 u serumu za ceo uzorak ispitanika**

		Dg Alergijski rinitis	
		ne	da
Nivo IL-33 (pg/ml) pre ICS Th	> 1,49	5 (8,2%)	24 (39,34%)
	≤ 1,49	17(27,87%)	15 (24,59%)

ICS Th- inhalatorna kortikosteroidna terapija

Svega 5 ispitanika koja nisu imala AR je pre započetog lečenja imalo veće vrednosti IL-33 u serumu u odnosu na srednju vrednost IL-33 za ceo uzorak ispitanika (M=1,49 pg/ml). 24 ispitanika koja su istovremeno imala alergijsku astmu i AR pre započetog lečenja je imalo više vrednosti IL-33 u odnosu na srednju vrednost IL-33 celog uzorka (M=1,49 pg/ml) .

Primenom Hi-kvadrat testa je dokazano da deca uzrasta od 6 do 18 godina koja su pre započinjanja lečenja imala istovremeno alergijsku astmu i AR imaju statistički visoko značajno više vrednosti IL-33 u serumu u odnosu na decu koja su imala alergijsku astmu bez AR ( $\chi^2$  7,01; p=0,008; p<0,01).

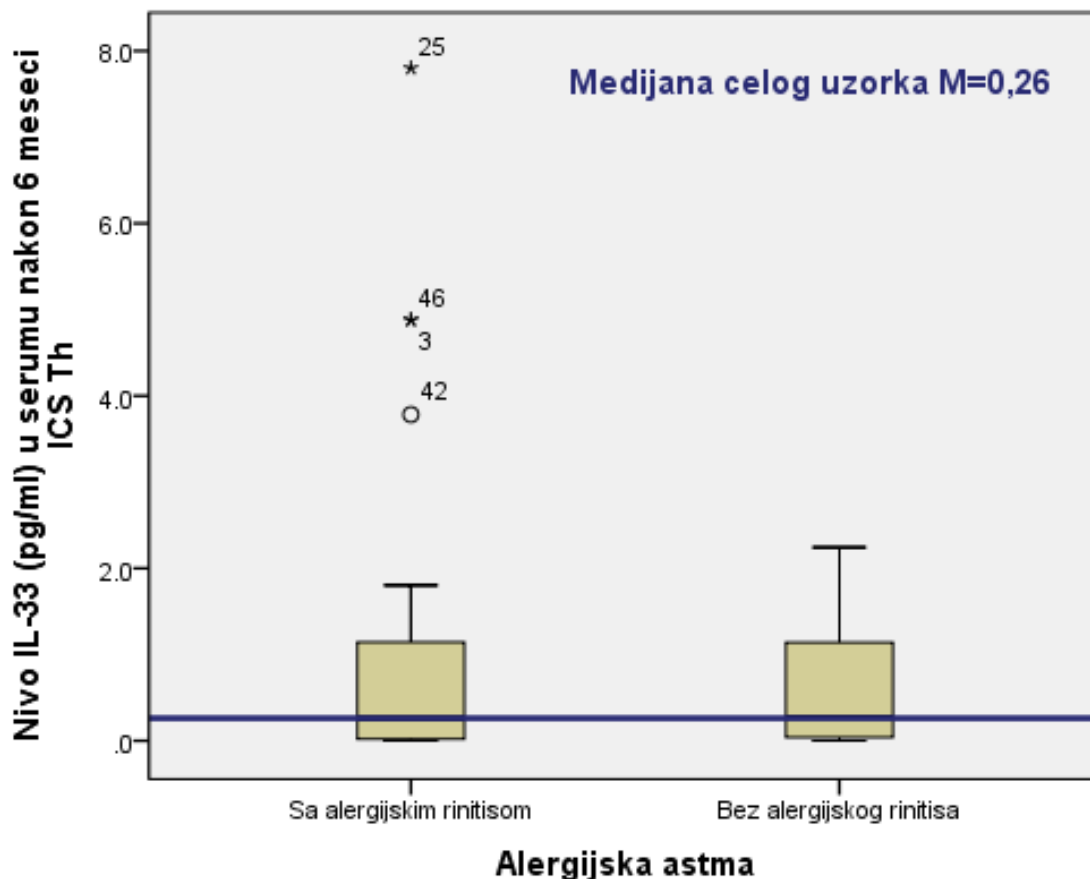
4.13. Odnos vrednosti IL-33 u serumu kod dece uzrasta od 6 do 18 godina sa alergijskom astmom i kod dece koja su istovremeno imala alergijsku astmu i alergijski rinitis posle šestomesečnog lečenja

*Tabela 20. Podela ispitanika u odnosu na prisustvo alergijskog rinitisa i srednje vrednosti IL-33 u serumu posle šestomesečnog lečenja*

	Broj ispitanika	Procenat	Srednja vrednost IL-33 (pg/ml)
Astma i alergijski rinitis	39	64%	0,26
Astma bez alergijskog rinitisa	22	36%	0,27
Ukupno	61	100%	

Srednja vrednost IL-33 u serumu posle šestomesečnog lečenja, kod dece sa alergijskom astmom i alergijskim rinitisom iznosila je 0,26 pg/ml. Srednja vrednost IL-33 u serumu kod dece bez alergijskog rinitisa je iznosila 0,27 pg/ml.

**Grafikon 9. Distribucija vrednosti IL-33 u serumu posle šest meseci ICS terapije kod ispitanika koji su imali dijagnozu AR i astme i kod ispitanika koji su imali samo astmu bez AR**



Na grafikonu su simbolima označeni ispitanici sa ekstremnim vrednostima: ○ - umereno odstupanje; ★ - veliko odstupanje; ICS Th- inhalatorna kortikosteroidna terapija;

Srednja vrednost IL-33 u serumu posle šestomesečnog lečenja, kod dece sa alergijskom astmom i alergijskim rinitisom iznosila je 0,26 pg/ml, odnosno identična je sa srednjom vrednosti IL-33 za ceo uzorak ispitanika koja je takođe iznosila 0,26 pg/ml. Srednja vrednost IL-33 u serumu kod dece bez alergijskog rinitisa je iznosila 0,27 pg/ml, odnosno imali su nešto višu srednju vrednost u odnosu na srednju vrednost celog uzorka (M=0,26 pg/ml). 50 % ispitanika koji su istovremeno imali alergijsku astmu i rinitis posle šestomesečnog lečenja imali su vrednosti IL-33 u serumu koje su se kretale u opsegu od 0,00 do 1,14 pg/ml, dok je većina dece (izuzetak su ona sa ekstremnim odstupanjima) imala vrednosti od 0,00 do 1,80 pg/ml. Polovina ispitanika bez alergijskog rinitisa je posle šestomesečnog lečenja imala vrednost IL-33 u serumu između 0,04 i 1,14 pg/ml a većina



njih je imala vrednosti od 0,00 do 2,24 pg/ml. Na grafikonu su posebno prikazani ispitanici koji su imali visoke vrednosti IL-33 u serumu i odstupali od srednjih vrednosti ostalih ispitanika unutar grupe. U grupi ispitanika sa alergijskim rinitisom odstupanja od srednje vrednosti ostalih ispitanika unutar grupe su imali ispitanici obeleženi rednim brojevima 42. (3,782 pg/ml), 3. (4,881 pg/ml), 46. (4,881 pg/ml) 25. (7,801 pg/ml). Kao što se može videti iz grafikona 9, posle šestomesečne ICS terapije razlike u pogledu vrednosti IL-33 u serumu između ispitanika sa i bez AR su se izgubile i distribucije su skoro identične.

**Tabela 21. Podela ispitanika koji su imali dijagnozu alergijskog rinitisa i astme i ispitanika koji su imali samo alergijsku astmu bez alergijskog rinitisa u odnosu na srednju vrednosti IL-33 celog uzorka posle 6 meseci lečenja**

		Dg alergijski rinitis	
		ne	da
Nivo IL-33 pg/ml posle 6 mes. ICS Th	> 0,26	12 (19,67%)	17 (27,87%)
	≤ 0,26	10 (16,39%)	22 (36,07%)

ICS Th- inhalatorna kortikosteroidna terapija

12 ispitanika koji nisu imali AR je posle šestomesečnog tretmana imalo više vrednosti IL-33 u odnosu na srednju vrednosti IL-33 za ceo uzorak (M=0,26 pg/ml). 17 ispitanika sa AR je posle 6 meseci lečenja imalo više vrednosti IL-33 u serumu u odnosu na srednju vrednost celog uzorka (M=0,26 pg/ml).

Primenom Hi-kvadrat testa je dokazano da između grupe dece uzrasta od 6 do 18 godina sa dijagnozom alergijske astme i AR kod kojih je sprovedeno šestomesečno lečenje i grupe dece koja su mala alergijsku astmu bez AR ne postoji statistički značajna razlika u vrednostima IL-33 u serumu ( $\chi^2= 0,31$ ;  $p=0,578$ ;  $p>0,05$ ).

4.14. Serumske vrednosti IL-33 u odnosu na broj pozitivnih inhalatornih alergena (mono, polisenzibilizacija) dobijenih SPT kod dece uzrasta od 6 do 18 godina sa nelečenom alergijskom astmom

Primenom Spearmanov-og koeficijenta rang korelacije nije dokazana statistički značajna razlika ( $r_s = -0,123$ ,  $p=0,343$ ,  $p>0,05$ ) kod dece sa alergijskom astmom u odnosu na broj pozitivnih inhalatornih alergena, odnosno nema statistički značajne razlike u vrednostima IL-33 u serumu između dece uzrasta od 6 do 18 godina sa alergijskom astmom koja su monosenzibilisana u odnosu na onu sa polisenzibilizacijom na inhalatorne alergene.

## **DISKUSIJA**

Alergijska astma je vodeća hronična bolest kod dece, čija se učestalost u poslednjim decenijama stalno povećava kako na globalnom nivou tako i kod nas u Srbiji. Jasno preciziranje patofizioloških mehanizama koji dovode do hronične inflamacije disajnih puteva ima višestruki značaj. Veće razumevanje funkcije pojedinačnih citokina, kao i dalja istraživanja na polju imunopatologije alergijske astme mogu da definišu nove, potentnije biomarkere u njenoj dijagnostici. Sa boljim poznavanjem funkcije citokina bilo bi omogućeno preciziranje endotipskih i fenotipskih karakteristika bolesti, kao i prepoznavanje izmena fenotipova astme tokom rasta i razvoja, što omogućava veći stepen individualizacije u terapijskom pristupu. Ispitivanja na polju citokinskog profila alergijske astme mogu da identifikuju efikasnije prediktore težine i kontrole bolesti, kao i prediktore odgovora na primenjenu terapiju. Konačno, nova saznanja o funkciji i mehanizmima delovanja pojedinih citokina omogućila bi bolju optimalizaciju lečenja.

Preciziranje funkcije citokina kao i drugih medijatora inflamacije, omogućava ne samo bolje razumevanje bolesti, već i primenu novih terapijskih opcija, odnosno bioloških lekova koji blokiraju specifične komponente imunskog sistema i posledično moduliraju inflamatorni proces. Poslednjih godina jasno su dokumentovani povoljni efekti bioloških lekova kod bolesnika sa neadekvatnim odgovorom na konvencionalnu terapiju. Prvi biološki agens koji je našao svoje mesto u vodećim protokolima za lečenje alergijske astme je lek koji blokira biološke efekte IgE, odnosno anti IgE monoklonalno antitelo (omalizumab). Takođe, lekovi koji su odobreni za humanu upotrebu od strane Američke

agencije za hranu i lekove (*eng.* Food and Drug Administration, FDA) mepolizumab 2015. godine i reslizumab 2016. godine, a postali zvanična terapijska preporuka u GINA vodiču iz 2017. godine, predstavljaju lekove koji blokiraju biološke efekte IL-5.<sup>147</sup> Navedena biološka terapija predstavlja dovoljnu terapijsku meru kod određenog broja bolesnika čija kontrola alergijske astme nije bila zadovoljavajuća sa primenom konvencionalne terapije. Međutim, kod određenog broja bolesnika sa alergijskom astmom, bolest i pored primene navedenih lekova ostaje nedovoljno kontrolisana a kvalitet života umanjen.<sup>262</sup>

Dosadašnja istraživanja jasno pokazuju da centralnu ulogu u imunopatogenezi alergijske astme imaju inflamatorne ćelije kroz sekreciju citokina. Uprkos jasnim dokazima da T<sub>H</sub>2 posredovan imunski odgovor ima ključnu ulogu u patogenezi astme, mehanizmi koji dovode do T<sub>H</sub>2 polarizacije imunskog odgovora, kao i biološka aktivnost T<sub>H</sub>2 citokinskog profila nisu u potpunosti razjašnjeni.<sup>263</sup> U patogenezi alergijske astme učestvuje veliki broj proinflamatornih citokina, ali posebno se ističe značaj IL-4, IL-5 i IL-13.<sup>264</sup> U poslednje vreme se sve više razmatra i uloga IL-33 u patogenezi alergijske astme. Istraživanja novijeg datuma ukazuju da je IL-33 jedan od najvažnijih citokina odgovornih za indukciju i T<sub>H</sub>2 imunske polarizaciju.<sup>265</sup>

Značaj IL-33 u pokretanju hipereaktivnosti disajnih puteva i njihovom remodelovanju dokazan je u istraživanjima sprovedenim na animalnim modelima. Glatkomišićne ćelije, ILCs2 i T<sub>H</sub>2 ćelije proizvode IL-33 kao odgovor na proinflamatorne citokine i izlaganje aeroalergenima.<sup>111</sup> IL-33 je hemotaktični molekul za T<sub>H</sub>2 ćelije, što dovodi do njihove akumulacije u plućnom tkivu i stvaranja alergijskog i inflamatornog odgovora u disajnim putevima.<sup>266</sup>

Takođe je dokazano da aktivacija IL-33/ST2 osovine dovodi do aktivacije eozinofilnih granulocita, bazofilnih granulocita i mastocita, indukuje oslobađanje histamina i eotaksina, povećava aktivnost triptaze u disajnim putevima i plućnom parenhimu.<sup>32, 267</sup>

U našoj studiji analizirane su vrednosti IL-33 u serumu kod dece uzrasta 6 do 18 godina sa alergijskom astmom i kod zdrave dece. Prosečna vrednost serumskog nivoa IL-33 bila je najveća kod dece sa alergijskom astmom pre započinjanja ICS terapije i iznosila je  $2,550 \pm 3,387$  pg/ml. Niže vrednosti IL-33 u serumu imala su deca sa astmom posle sprovedene šestomesečne ICS terapije kod kojih je prosečna vrednost iznosila  $0,838 \pm$

1,394 pg/ml. Najniža prosečna vrednost IL-33 je izmerena kod zdrave dece i iznosila je  $0,573 \pm 0,632$  pg/ml.

Utvrđeno je da su vrednosti IL-33 u serumu značajno veće kod dece koja boluju od alergijske astme pre započinjanja lečenja u odnosu na zdravu decu.

Slično i u straživanju Bahrami-a i saradnika poređene su vrednosti IL-33 kod 61 deteta sa astmom, u odnosu na kontrolnu grupu koju je činilo 63 zdrave dece i utvrđeno je da su serumske vrednosti IL-33 bile značajno veće kod dece sa astmom. U navedenoj studiji prosečna vrednost IL-33 u serumu kod dece sa astmom je iznosila  $15,17 \pm 32,3$  pg/ml.<sup>268</sup>

Veće prosečne vrednosti IL-33 u serumu kod dece koja boluju od astme u studiji sprovedenoj od strane Bahrami-a i saradnika, u odnosu na vrednosti u našoj studiji koje su imala deca sa alergijskom astmom pre započinjanja ICS terapije mogu se objasniti različitim kriterijumima za uključenje bolesnika u studiju. U istraživanje Bahrami-a i saradnika bila su uključena deca sa alergijskom astmom bez obzira na trajanje (intermitentna, perzistentna) i težinu astme (laka, srednje teška, teška), za razliku od ispitanika u našoj studiji koji su imali isključivo karakteristike perzistentne, lake i srednje teške alergijske astme.

I u drugim studijama u kojima su poređene vrednosti IL-33 kod dece sa alergijskom astmom i kod zdrave dece dobijeni su slični rezultati. Meta-analiza koja je obuhvatila 8 ranije sprovedenih studija, odnosno koja je uključila 330 dece sa astmom i 248 zdrave dece pokazuje da su serumske vrednosti IL-33 bile veće kod dece sa astmom u odnosu na zdravu decu.<sup>269</sup>

Vrednost IL-33 u serumu koji su imala zdrava deca u kontrolnoj grupi ispitanika naše studije slična je rezultatima drugih istraživanja sprovedenih u pedijatrijskoj populaciji. Na primer, prosečna vrednost IL-33 u serumu kod zdrave dece u iranskoj studiji je iznosila  $0.61 \pm 2.16$  pg/ml.<sup>267</sup> Međutim, rezultati ispitivanja sprovedenih u zdravoj adultnoj populaciji pokazuju veće vrednosti IL-33 u odnosu na vrednosti koje smo dobili kod zdrave dece u našem istraživanju. Navedena činjenica sugerise da uzrast ispitanika može biti značajan faktor u definisanju normalnog opsega vrednosti IL-33 u serumu, što je u najvećem broju laboratorijskih nalaza uobičajena praksa.

Ispitivanja sprovedena na adultnoj populaciji ispitanika takođe su pokazala da oboleli od astme imaju značajno veće serumske vrednosti IL-33 u odnosu na zdravu grupu ispitanika.<sup>270, 271</sup>

Srednja vrednost IL-33 u serumu koju su imali odrasli pacijenti koji boluju od alergijske astme u istraživanju sprovedenom od strane Momen-a i saradnika je iznosila 202,6 pg/ml kod pacijenta sa blagim oblikom perzistentne astme i 380,4 pg/ml kod pacijenata sa umereno teškom alergijskom astmom. Treba istaći da je studija sprovedena na seriji adultnih pacijenata koji su sem alergijske astme, imali i druge alergijske bolesti. Takođe, u navedenom ispitivanju vrednosti IL-33 su određene upotrebom testa koji se razlikuje u pogledu senzitivnost, standardnog opsega, minimalne detektabilne vrednosti pa i samog proizvođača u odnosu na test koji je korišćen u našoj studiji.<sup>269</sup>

Razlika u dobijenim vrednostima IL-33 u serumu između ispitanika koji su obuhvaćeni našim ispitivanjem u odnosu na rezultate studije sprovedene od strane Momen-a i saradnika može se objasniti karakteristikama ispitanika u našoj studiji, koje su u cilju dobijanja što veće homogenosti uzorka bile definisane drugačijim kriterijumima za isključenje i uključanje u studiju. Naime, kriterijumi isključenja u našoj studiji su između ostalog podrazumevali (izuzev alergijskog rinitisa) postojanje drugih alergijskih bolesti što je verovatno mogli uticati na vrednost IL-33 u serumu. Takođe, ne treba zanemariti i činjenicu da je naša studija sprovedena kod dece, dok je u studiji Momen-a i saradnika ispitivana adultna populacija.

Astma je hronična inflamatorna bolest čije su glavne osobine hiperreaktivnost disajnih puteva, alergijska inflamacija, povećan nivo IgE u serumu i povećana proizvodnja  $T_H2$  citokina. Smatra se da IL-33 igra značajnu ulogu u nastanku alergijske inflamacije zahvaljujući svojoj alarminskoj funkciji, odnosno dovodi do snažne indukcije  $T_H2$  imunskog odgovora.<sup>272</sup> Ekspozicija preosetljive osobe alergenu dovodi do oštećenja i nekroze respiratornih epitelnih ćelija a samim tim i do oslobađanja jedarnog IL-33 u biološki aktivnom obliku koji se vezuje za ST2 receptore na imunskim ćelijama i dovodi do oslobađanja proinflamatornih,  $T_H2$  citokina (IL-4, IL-5, IL-13 i TNF).<sup>12, 21, 47, 49, 103, 106</sup> Citokini regulišu biološke procese kao što su imunski odgovor ili hematopoeza i uključeni su u patogenezu mnogih bolesti. U fiziološkim stanjima njihove koncentracije u biološkim tečnostima se ne detektuju ili su vrlo niske. Povećanje njihove koncentracije u

biološkim tečnostima ukazuje na aktivaciju puteva koji su uključeni u zapaljenski odgovor ili razvoj bolesti. Zbog navedene činjenice, citokini mogu poslužiti kao potencijalni biomarkeri različitih bolesti, a promene u njihovoj koncentraciji mogu biti korisne u praćenju bolesti. Određivanje koncentracija citokina je od izuzetnog značaja u dijagnostici bolesti i njihove koncentracije često pozitivno koreliraju sa težinom bolesti.<sup>273</sup>

Značajno veće vrednosti IL-33 u serumu ispitanika sa alergijskom astmom u našoj studiji u odnosu na zdrave ispitanike je u skladu sa predhodno iznešenim stavovima i potvrđuje proinflamatorni uticaj IL-33 u T<sub>H</sub>2 posredovanoj inflamaciji alergijske astme verovatno putem alarminske funkcije.

Naša studija pokazuje da posle šestomesečne ICS terapije kod dece koja boluju od alergijske astme, dolazi do signifikantnog pada serumske vrednosti IL-33. U nama dostupnoj literaturi nisu zabeležena slična ispitivanja.

Kortikosteroidi su danas lekovi prvog izbora u lečenju svih fenotipova astme i predstavljaju nesumnjivo najefikasnije lekove za kontrolu simptoma, redukciju inflamacije disajnih puteva, poboljšanje kvaliteta života, plućne funkcije i bronhijalne hiperreaktivnosti. Smanjenje inflamacije dovodi do redukcije simptoma astme, što se postiže već u prvih nekoliko dana primene lekova, a svoj maksimum dostiže za tri meseca.<sup>274</sup> Navedene efekte ostvaruju na različite načine, dovodeći do direktne ili indirektno regulacije genske transkripcije ili modifikujući inflamaciju različitim posttranskripcionim mehanizmima. ICS deluju na celularnu komponentu inflamacije zahvaljujući suprimiranju produkcije hemotaksičnih medijatora i adhezivnih molekula čime se smanjuje influks inflamatornih ćelija i zahvaljujući povećanju apoptoze čime se smanjuje njihovo preživljavanje.<sup>275</sup> ICS supresijom transkripcije proinflamatornih gena, smanjuju produkciju brojnih citokina i hemokina kao što su: IL1 $\beta$ , IL-4, IL-5, IL-8, GM-CSF, TNF-alfa, RANTES i drugi.<sup>276</sup>

Odnos i uticaj ICS na IL-33 u alergijskoj astmi nije razjašnjen. Dosadašnja ispitivanja na kulturama ćelija su ukazala na značaj IL-33 u nastanku kortikosteroidne rezistencije. Naime, ispitivanje sprovedeno od strane Kabata i saradnika ukazuje da jedan od potencijalnih mehanizama kortikosteroidne rezistencije koji se može javiti kod T<sub>H</sub>2 posredovane inflamacije disajnih puteva može nastati usled uticaja IL-33 na prirodne pomoćne ćelije (*engl.* natural helper-NH) koje predstavljaju vrstu ILCs2, odnosno

rezistencija se može razviti kao posledica IL-33 posredovane proliferacije i proizvodnje citokina tipa 2 od strane navedenih ćelija.<sup>277</sup>

Saglašeno je u studiji sprovedenoj na pedijatrijskoj populaciji obolelih od astme utvrdio da IL-33 promoviše sintezu kolagena u fibroblastima. Povišena aktivnost fibroblasta je povezana sa povećanom debljinom retikularne bazalne membrane u biopsijama bronhijalne mukoze kod dece sa steroid rezistentnom astmom. Navedeno remodeliranje nije bilo prisutno kod ST2 deficitarnih miševa posle tretmana sa kućnom prašinom.<sup>117</sup>

U našoj studiji deca sa alergijskom astmom kod kojih je sprovedena šestomesečna ICS terapija ne razlikuju se u pogledu vrednosti serumskog nivoa IL-33 u odnosu na zdravu decu istog uzrasta. Radovi u kojima je vršeno poređenje vrednosti IL-33 u serumu pre i posle primene ICS terapije nisu dokumentovani u dostupnoj literaturi.

Slične vrednosti IL-33 u serumu kod dece sa alergijskom astmom posle sprovedene šestomesečne ICS terapije i kod zdrave dece kao i značajan pad vrednosti IL-33 posle šest meseci terapije sa ICS se na prvom mestu može objasniti predhodno navedenim antiinflamatornim efektom ICS. Takođe, rezultati našeg ispitivanja se mogu objasniti i karakteristikama same grupe ispitanika. U studiju su bila uključena isključivo deca koja su imala laku i srednje tešku astmu dok su pacijenti sa teškim oblikom astme kao i pacijenti koji su zahtevali dodatno lečenje u cilju postizanja dobre kontrole bolesti (LABA, kombinaciju ICS+LABA, sistemske kortikosteroide) bili isključeni iz studije. Održavanje visokih vrednosti IL-33 uprkos primeni ICS monoterapije se eventualno mogu očekivati kod pacijenata sa teškim i/ili steroid rezistentnim oblikom alergijske astme što nije bio predmet ispitivanja naše studije.

U našem istraživanju prosečna vrednost eozinofilnih granulocita u perifernoj krvi kod dece sa alergijskom astmom pre započinjanja lečenja sa ICS terapijom je bila povišena i iznosila je  $5,30 \pm 3,58$  %. Posle 6 meseci ICS terapije prosečna vrednost eozinofilnih granulocita u perifernoj krvi je iznosila  $4,35 \pm 2,60$  %.

Vrednost eozinofilnih granulocita u nosnom sekretu pre započetog lečenja u proseku je iznosila  $224,590 \pm 214,985$  u vidnom polju, dok je prosečna vrednost posle 6 meseci ICS bila  $152,459 \pm 138,872$  u vidnom polju.



Viša prosečna vrednost ukupnog serumskog IgE kod pacijenta sa alergijskom astmom je zabeležena pre ICS terapije i iznosila je  $473,146 \pm 732,388$  IU/ml u odnosu na vrednost posle šestomesečne terapije sa ICS koja je iznosila  $285,393 \pm 520,737$  IU/ml.

Navedene vrednosti laboratorijskih analiza pokazuju odstupanja u odnosu na referentni opseg za ispitivanu grupu pacijenata, što je u skladu sa vladajućim teoretskim znanjima i dobro dokumentovano kroz veliki broj drugih studija sprovedenih kod pacijenata sa alergijskom astmom.<sup>278</sup>

Eozinofilni granulociti ističu fenotipsku osobinu astme. Povišena vrednost eozinofilnih granulocita u krvi i sputumu kod pacijenata sa astmom upućuje na njenu alergijsku etiopatogenezu.<sup>279</sup>

Brojne studije ističu značajnu ulogu eozinofila u patogenezi astme, posebno u kasnoj fazi alergijske reakcije disajnih puteva. Ispitivanja (in vivo i in vitro) su pokazala da lučenje i oslobađanje eozinofilnih hemoatraktanata predstavlja inicijalni događaj koji dovodi do migracije eozinofila kroz vaskularni endotel, adhezije eozinofila za epitel disajnih puteva i oslobađanja toksičnih produkata eozinofila što se manifestuje i povećanjem broja eozinofila u disajnim putevima i/ili krvi. Navedena serija događaja ima za posledicu modulaciju imunološkog odgovora, opstrukciju, hipereaktivnost i remodeliranje disajnih puteva, što su glavne osobine astme.<sup>280</sup>

Posle ekspozicije antigenu kod preosetljivih osoba, oslobađanje eozinofilnih granulocita iz koštane srži je posledica efekta IL-5 i specifičnog hemoatraktanta eotaksina.<sup>281</sup> Ispitivanja su pokazala da Klara ćelije, koje su celularna komponenta imunomodulatorne barijere epitela disajnih puteva, predstavljaju glavni izvor eotaksina u plućima.<sup>282</sup> Takođe ekspozicija antigenu indukuje proliferaciju IL-5 produkujućih T limfocita u koštanoj srži što dodatno potencira eozinofilopoezu u astmi. IL-13 indirektno preko IL-5 i eotaksina dovodi do eozinofilije u astmi.<sup>283</sup>

Rezultati novijih ispitivanja ukazuju da potencijalno značajan uticaj na razvoj eozinofilije u alergijskoj astmi ima i IL-33, jednim delom indirektno preko IL-13 signalizacije (IL-5 i eotaksina), a delom i preko CC-hemokinskog liganda 11 (CCL11) oslobođenog od strane makrofaga.<sup>103</sup>

Više studija ukazuje da je IL-33 značajan induktor u aktivaciji eozinofilnih granulocita, ali za razliku od IL-5, nije jasno dokumentovan njegov direktan eozinofilo-poetski efekat.<sup>284</sup>

Vladajući stav u pogledu patogeneze alergijskih bolesti uključujući i alergijsku astmu je da eozinofilni granulociti predstavljaju centralne efektorske ćelije dok IgE ima ulogu glavnog imunskog reaktanta.<sup>285</sup>

Iako IgE predstavlja samo jedan u nizu faktora koji učestvuju u T<sub>H</sub>2 ćelijski posredovanom imunskom odgovoru, neosporna je njego-va ključna uloga u alergijskoj inflamaciji kod astme.<sup>286</sup>

Značaj IgE posredovane preosetljivosti u astmi je potvrđen i kroz terapijske postupke poput izbegavanje alergena, imunoterapijom, kao i novim pristupom u lečenju alergijske astme primenom anti IgE antitela (omalizumab).<sup>287, 288</sup>

Studija sprovedena na mišjem modelu pokazuje da IL-33 stimuliše ekspresiju B ćelija i sintezu IgE, uz istovremeno povećanu sekreciju IL-4.<sup>86</sup>

Ispitivanje sprovedeno na mišjem modelu anafilaksije je pokazalo da IL-33 posle vezivanja za ST2 receptore na mast ćelijama dovodi do njihove proliferacije i povećane sinteze IL-4. IL-4 aktivira B ćelije što dovodi do njihove proliferacije i proizvodnje IgE. Sintetisan IL-4R od strane mast ćelija može aktivirati T ćelije i dovesti do ekspresije CD40L koji posle interakcije sa CD40 molekulom na B ćelijama takođe potencira proizvodnju IgE.<sup>83</sup>

Na mišjem modelu je dokazano da IL-33 povećava produkciju IgE preko IL-4, i da pojačava kontraktilnost glatkomišićnih ćelija.<sup>86, 266</sup>

Studija izvedena od strane Schmitza i saradnika je pokazala da IL-33 povećava gensku ekspresiju T<sub>H</sub>2 citokina, IL-4, IL-5 i IL-13, što dovodi do eozinofilije i povećanja titra IgE.<sup>9</sup>

Rezultati naše studije pokazuju da kod dece sa alergijskom astmom posle šestomesečne ICS terapije dolazi do značajnog pada vrednosti IgE u serumu i eozinofilnih granulocita u nazalnom sekretu, ali ne i vrednosti eozinofilnih granulocita periferne krvi.

Kod ispitanika obuhvaćenih ovom studijom nije dokazano postojanje jasne povezanosti između nivoa IL-33 u serumu i eozinofilnih granulocita periferne krvi, eozinofilnih granulocita u nosnom sekretu i vrednosti IgE u serumu.

Naime, u našoj studiji iako posle šestomesečne ICS terapije postoji značajno smanjenje vrednosti IL-33 i vrednosti eozinofilnih granulocita periferne krvi, eozinofilnih granulocita u nosnom sekretu i vrednosti IgE u serumu, navedeni parametri nisu povezani. Postoje pacijenti sa visokim vrednostima IL-33 i niskim vrednostima eozinofilnih granulocita periferne krvi, eozinofilnih granulocita u nosnom sekretu i vrednosti IgE u serumu, i obrnuto, dok pacijenata sa visokim vrednostima oba parametra praktično nema.

Studija sprovedena od strane grupe autora sa Medicinskog fakulteta u Severnoj Karolini na 234 adulta pacijenta sa alergijskom astmom takođe ukazuje na odsustvo povezanosti između vrednosti IL-33 u serumu i sputumu u odnosu na ukupni serumski IgE, pozitivnost skin prick testa i izdahnuti azot oksid (NO).<sup>289</sup>

Nasuprot tome, analiza serumskog IL-33 i IgE koja je sprovedena u iranskoj studiji ukazuje na pozitivnu korelaciju između ova dva parametara, odnosno pacijenti koji su imali više vrednosti IL-33 imali su i više vrednosti IgE i obrnuto. Treba uzeti u obzir da je studija sprovedena na adultnoj populaciji, da su bili uključeni pacijenti i sa drugim, pratećim atopijskim bolestima (AR, AD), kao i da su bili uključeni pacijenti nezavisno od tipa astme (intermitentna, perzistentna, laka, srednje teška, teška).<sup>269</sup>

Azazi i saradnici su ispitivali odnos serumskog nivoa IL-33, IgE i FEV1 u istraživanju sprovedenom na seriji adultnih bolesnika sa astmom koji su bili podeljeni u dve grupe: grupu ispitanika sa stabilnom astmom i ispitanike koji su imali akutno pogoršanje astme. Kod pacijenata sa stabilnom astmom prosečne vrednosti eozinofilnih granulocita u krvi bile su  $5,13 \pm 2,3 \%$ , ukupnog IgE u serumu  $324,7 \pm 133,4$  IU/ml, dok je prosečna vrednost IL-33 u serumu bila  $732,2 \pm 68,3$  ng/ml. Svi navedeni laboratorijski parametri imali su više vrednosti kod pacijenata u akutnom pogoršanju astme, dok je vrednost FEV1 bila niža. Takođe, studija je pokazala da ne postoji povezanost između vrednosti IL-33 i nivoa IgE u serumu.<sup>290</sup>

Odsustvo korelacije između serumskog nivoa IL-33 u odnosu na vrednosti ukupnog serumskog IgE, broja eozinofilnih granulocita periferne krvi, kao i broja eozinofilnih

granulocita u nosnom sekretu, u skladu je sa rezultatima drugih studija sprovedenih kod obolelih od alergijske astme. Objašnjenje leži u činjenici da IL-33 pokazuje prevashodno karakteristike proinflatornog markera nezavisno od tipa inflamacije (atopijska, neatopijska), dok serumski nivo IgE i eozinofilni granulociti predstavljaju značajne markere u proceni atopijskog statusa, ali ne i stepena inflamacije.<sup>86, 291</sup>

U našoj seriji ispitanika vrednosti nalaza plućne funkcije pre započinjanja ICS terapije su u proseku iznosile: FEV1 =  $83,28 \pm 10,372$  %, FVC =  $84,36 \pm 9,973$  %, FEV1/FVC =  $81,90 \pm 7,897$  %, PEF =  $80,23 \pm 11,765$  %, MEF 25/75 =  $70,70 \pm 13,979$  % u odnosu na predviđene vrednosti kod ispitanika. Najveći broj ispitanika je imao vrednost FEV1 koji je iznosio 78%, FVC= 84%, FEV1/FVC = 79 %, PEF= 89 % i MEF 25/75%=78%.

Jedna od glavnih kararakteristika astme je reverzibilna bronhoopstrukcija, što se može objektivizirati spirometrijskim merenjem plućne funkcije. Opstruktivni poremećaj ventilacije se karakteriše sniženim vrednostima FEV1, FEV1/FVC, MEF 25-75% i PEF. FVC je normalan, ali kod težih oblika bronhoopstrukcije može biti snižen.<sup>292</sup>

Vrednosti nalaza plućne funkcije koje su ispitanici u našem ispitivanju imali pre započinjanja ICS terapije su u skladu sa očekivanim, odnosno zadatim kriterijumima za uključenje ispitanika u studiju. Spirometrijski nalazi su imali osobine opstruktivnog tipa ventilacije čije su vrednosti karakteristične za blagi (FEV1 >80%, FEV1/FVC >80%) i srednje težak oblik astme (FEV1 60-80%, FEV1/FVC >80%).<sup>162</sup>

Posle tri meseca primene ICS terapije ispitanici su imali sledeće prosečne vrednosti spirometrijskih parametara: FEV1 =  $104,54 \pm 12,127$  %, FVC =  $95,84 \pm 11,256$  %, FEV1/FVC =  $92,00 \pm 9,995$  %, PEF =  $93,48 \pm 10,830$  %, MEF 25/75 =  $98,08 \pm 18,174$  %.

Nalazi spirometrije koje su zabeležene posle 6 meseci lečenja sa ICS su imali sledeće prosečne vrednosti: FEV1 =  $106,67 \pm 14,609$  %, FVC =  $97,31 \pm 11,800$  %, FEV1/FVC =  $97,28 \pm 8,802$  %, PEF =  $100,39 \pm 17,005$  %, MEF 25/75 =  $101,98 \pm 21,727$  %.

Više vrednosti nalaza plućne funkcije koji su zabeležene u daljem periodu praćenja, odnosno 3 i 6 meseci od uključivanja u studiju, u odnosu na inicijalne vrednosti, posledica su jasno dokumentovanog terapijskog efekta kako ICS ali i ekspozicione profilakse koja je sprovedena kod naših ispitanika.<sup>274</sup>

Rezultati istraživanja naše studije pokazuju da kod dece sa nelečenom alergijskom astmom postoji statistički značajna negativna korelacija između nivoa IL-33 i vrednosti parametara plućne funkcije (FEV1, FEV1/FVC, PEF i MEF 25/75), odnosno više vrednosti serumskog IL-33 su bile praćene nižim vrednostima nalaza navedenih plućnih funkcija i obrnuto.

Studija sprovedena od strane Guo i saradnika na uzorku od 45 dece sa astmom je takođe pokazala negativan odnos između serumske vrednosti IL-33 i vrednosti FEV1.<sup>293</sup> Makedonska studija u kojoj su analizirani odrasli pacijenti sa teškom nekontrolisanom astmom je takođe pokazala negativnu korelaciju između FEV1 i serumskog nivoa IL-33.<sup>294</sup> Rezultati azijske studije su pokazali da je prisustvo određenih genotipova za IL-33 kod kineske dece sa nelečenom astmom bilo udruženo sa značajnijim odstupanjima u vrednostima FEV1, FEV1/FVC, PEF i MEF 25/75.<sup>295</sup> Studija u kojoj je između ostalog, ispitivan odnos citokina i FVC i FEV1 parametara plućne funkcije nije pokazala značajnost u korelaciji između serumske vrednosti IL-33 i FVC i FEV1.<sup>251</sup> U nama dostupnim rezultatima istraživanja nisu pronađene studije u kojima je ispitivan odnos između vrednosti IL-33 i ostalih parametara plućne funkcije koji su praćeni u našoj studiji (FEV1/FVC, PEF i MEF 25/75).

Kod ispitanika koji su bili obuhvaćeni našom studijom na prvom pregledu odnosno pre započinjanja preventivne ICS terapije svi ispitanici su imali perzistentni oblik alergijske astme, kod 27 (44,3%) ispitanika AA je klasifikovana kao srednje teška, dok je 34 (55,7%) ispitanika imalo blagi oblik alergijske astme.

Klasifikacija dečije astme na prvom pregledu ima značaj u odabiru inicijalne terapije i ona nije definitivna.<sup>162</sup>

Odrediti težinu astme nije moguće pri uvođenju početne terapije, već posle uvida u odgovor na terapiju, što se procenjuje nekoliko meseci od uvođenja adekvatne terapije, retrospektivno na osnovu intenziteta lečenja u cilju postizanja dobre kontrole astme.<sup>168</sup>

Sve vreme, tokom perioda praćenja najveći broj ispitanika u našoj studiji je imalo karakteristike lake astme (pre započetog lečenja sa ICS 55,7 %, posle 3 meseca primene ICS terapije 75,4 % i posle 6 meseci tretmana sa ICS 63,9 %). Nešto manje ispitanika je tokom praćenja imalo karakteristike srednje teške astme (pre započinjanja ICS profilakse 44,3%, posle 3 meseca ICS lečenja 24,6% i posle 6 meseci primene ICS 29,5 %). Na

kontrolnom pregledu posle 6 meseci primene ICS terapije kod 4 pacijenta (6,6%) je AA imala karakteristike teške bolesti.

Navedena zastupljenost ispitanika u odnosu na težinu astme je direktno posledica kriterijuma za uključenje i isključenje u našu studiju. Pacijenti koji su imali karakteristike teške alergijske astme tokom inicijalnog dijagnostičkog postupka, ali i na kontrolnom pregledu posle 3 meseca primene ICS, isključeni su iz naše studije, osim pacijenata koji su na poslednjem kontrolnom pregledu, posle 6 meseci primene profilakse ICS imali osobine teške bolesti, a predhodno su tokom perioda praćenja imali karakteristike lake i/ili srednje teške alergijske astme.

U odnosu na stepen kontrole alergijske astme, većina ispitanika u našoj studiji je imala kontrolisanu astmu posle 3 meseca (97,7%) i posle 6 meseci (73,8%) primene profilaktičke terapije sa ICS. Posle tri meseca terapije sa ICS dva pacijenta su imala delimično kontrolisanu alergijsku astmu. Posle šest meseci ICS tretmana, 15 ispitanika je imalo delimično kontrolisanu bolesti, a kod jednog ispitanika AA je bila nekontrolisana.

Zastupljenost dece u odnosu na stepen kontrole alergijske astme u ovoj studiji je takođe uslovljena kriterijumima za uključenje i isključenja u studiju. Pacijenti koji su imali lošu kontrolu alergijske astme i zahtevali u cilju postizanja bolje kontrole primenu drugog leka (LABA), kao i pacijenti koji su primali sistemska kortikosteroidna terapija bili su isključeni iz ove studije.

Tokom prvih tri meseca praćenja od uključivanja u studiju najveći broj - 62,3% ispitanika primao je srednju dozu ICS leka. Posle tri meseca tretmana sa ICS doza leka je redukovana kod 24 pacijenta, pa je od trećeg do šestog meseca terapije najveći broj ispitanika (ukupno 77,0%) dobijao nisku dozu profilaktične terapije sa ICS.

Pacijenti koji su u cilju postizanja bolje kontrole zahtevali uvođenje LABA kao i visoke doze ICS terapije, odnosno koji su imali teški oblik alergijske astme bili su isključeni iz naše studije, osim ako navedeni terapijski režim nije bio indikovano na poslednjoj kontroli posle 6 meseci primene ICS monoterapije.

Nivo IL-33 u serumu kod dece sa alergijskom astmom koja su obuhvaćena našom studijom pre započinjanja ICS terapije značajno pozitivno korelira sa: težinom astme (koju su deca imala pre započinjanja ICS terapije ali i posle 3 odnosno 6 meseci

sprovedenja ICS profilakse), dozom leka koja je primenjena tokom drugog tromesečja ICS terapije i stepenom kontrole astme koju su ispitanici imali u 3 i 6 mesecu lečenja sa ICS. Naime, pacijenti koji su pre primene ICS profilakse imali više vrednosti IL-33 u serumu imali su teži oblik alergijske astme sve vreme praćenja, lošiju kontrolu astme tokom perioda lečenja i zahtevali su primenu veće doze ICS leka u drugom tromesečju lečenja.

Posle šest meseci lečenja, nivo IL-33 u serumu je takođe pokazao značajnu pozitivnu korelaciju sa težinom i stepenom kontrole alergijske astme koju su deca imala posle šestomesečnog perioda lečenja sa ICS. Pacijenti koji su posle šest meseci profilaktične terapije sa ICS imali teži oblik i lošiju kontrolu alergijske astme imali su i više vrednosti IL-33 u serumu.

Povezanost IL-33 i težine alergijske astme je dokumentovana i u drugim studijama. Ispitivanje sprovedeno od strane Bahrami-a i saradnika kod dece sa astmom je pokazalo takođe pozitivnu korelaciju između vrednosti IL-33 u serumu i težine astme. Najniže vrednosti IL-33 u serumu su imala deca sa blagom, nešto više vrednosti su identifikovane kod dece sa srednje teškom a najviše vrednosti su zabeležene kod dece sa teškom astmom.<sup>267</sup>

I studija sprovedena na adultnoj populaciji ispitanika je pokazala značajnu razliku u vrednostima IL-33 između pacijenata sa intermitentnom, lakom, srednje teškom i teškom perzistentnom astmom.<sup>269</sup>

Guo i saradnici su u studiji sprovedenoj na 45 odraslih ispitanika sa astmom dokazali pozitivnu korelaciju između nivoa IL-33 u serumu i zadebljanja bazalne membrane u uzorcima bronhijalne biopsije i težinom astme.<sup>293</sup>

In vitro ispitivanje na kulturama ćelija pokazuju da kortikosteroidi relativno efikasno ispoljavaju svoj antiinflamatorni uticaj na IL-33 posredovanu inflamaciju.<sup>296</sup>

Takođe, u in vitro sprovedenim istraživanjima je dokazano da loše kontrolisana i steroid rezistentna astma imaju povećanu ekspresiju IL-33.<sup>297</sup>

Primena kortikosteroida kod steroid rezistentne astme može umanjiti produkciju T<sub>H</sub>2 citokina od strane fibroblasta disajnih puteva, ali ne utiče značajno na ekspresiju IL-33

koji indukuje sintezu kolagena i fibronektina od strane fibroblasta i podstiče proces remodelovanja disajnih puteva.<sup>117</sup>

Pregledom dostupne literature nisu zabeležene studije u kojima je rađeno ispitivanje odnosa IL-33 u serumu i primene ICS terapije u dečijem uzrastu.

Niže vrednosti IL-33 posle šestomesečne primene ICS monoterapije potvrđuje dobro dokumentovani stav o antiinflamatornom efektu ICS i njegovom supresornom potencijalu u odnosu na proinflamatorne citokine.

Niži stepen kontrole i teži oblik alergijske astme kod ispitanika koji su imali više vrednosti IL-33 kako pre ali posle 6 meseci terapije sa ICS, ukazuje da IL-33 može biti koristan marker prilikom odabira vrste i doze terapije, odnosno doprineti optimalnom lečenju alergijske astme.

Rezultati našeg ispitivanja kao i navedeni rezultati drugih studija sugerišu da IL-33 u serumu može biti potentan biomarker težine alergijske astme. Veliki značaj određivanja vrednosti IL-33 u serumu prilikom dijagnostičke evaluacije alergijske astme a pre započinjanja lečenja, predstavlja njegov potencijal u boljem definisanju fenotipa astme a time i raniju optimalizaciju terapije.

Udruženost alergijske astme i alergijskog rinitisa je uobičajena pojava.<sup>298</sup>

U našoj studiji 39 (63,9%) ispitanika je sem alergijske astme imalo i dijagnozu alergijskog rinitisa. Dijagnoza alergijskog rinitisa je u ranijem periodu bila postavljena kod 7 ispitanika, i to kod jednog u uzrastu do 2 godine, kod dvoje u uzrastu od 2 do 6 godine i kod četvero ispitanika u uzrastu od 6 do 12 godina. Novodijagnostikovani AR je imalo 32 ispitanika.

Ređa učestalost pojave alergijskog rinitisa u mlađim uzrasnim kategorijama je jasno utemeljena činjenica u savremenoj literaturi. Naime, u odojčadskom periodu i uzrastu malog deteta AR se veoma retko javlja, najčešće kao posledica preosetljivosti na nutritivne alergene. Posle treće godine u etiopatogenezi alergijskog rinitisa dominantni postaju inhalatorni alergeni i to su najčešće grinje, dlake životinja, polen trava, drveća, korova i plesni.<sup>248</sup>

Kod ovih pacijenata, koji su imali obe alergijske bolesti najčešće je AR prethodio pojavi alergijske astme (23 ispitanika; 59%), kod 10 (25,6%) ispitanika AA je prethodila pojavi



alergijskog rinitisa, dok su se kod 6 (15,4%) ispitanika u isto vreme javile tegobe i alergijskog rinitisa i astme.

Slični rezultati su dobijeni i u drugim studijama u kojima je ispitivan odnos ove dve alergijske bolesti i uočeno je da u 30% do 80 % slučajeva pacijenti koji imaju AA imaju i AR, kao i da u većini slučajeva (od 43% do 64%) AR predhodi nastanku AA.<sup>299, 300</sup>

Vrednost IL-33 u serumu pre započetog lečenja kod dece sa alergijskom astmom i alergijskim rinitisom u našoj studiji su bile iznad srednje vrednosti IL-33 za ceo uzorak ispitanika (deca sa alergijskom astmom sa i bez alergijskog rinitisa). Takođe, vrednosti IL-33 u serumu kod dece bez alergijskog rinitisa su bile niže u odnosu na vrednost celog uzorka i u odnosu na decu koja su imala alergijsku astmu praćenu rinitisom. Analizom odnosa vrednosti IL-33 je dokazano da deca uzrasta od 6 do 18 godina koja su pre započinjanja lečenja imala istovremeno AA i AR imaju značajno više vrednosti IL-33 u serumu u odnosu na decu koja su imala alergijsku astmu bez alergijskog rinitisa.

Značaj IL-33 u patogenezi alergijskog rinitisa je dokumentovan ispitivanjem na animalnom eksperimentalnom modelu alergijskog rinitisa koji je izazvan polenom ambrozije. Dokazano je da miševi kojima je uklonjen gen za IL-33 imaju manju produkcija T<sub>H</sub>2 citokina i nakupljanje eozinofila, bazofila i T<sub>H</sub>2 limfocita u nosnoj sluznici, kao i smanjenu učestalost kijanja.<sup>119</sup>

Druga studija koja je sprovedena na odraslim ispitanicima pokazala je da se značajno više vrednosti IL-33 identifikuju u nazalnom sekretu kod pacijenata sa alergijskim rinitisom senzibilisanim na polen japanskog kedra u sezoni polinacije, kada su najviše vrednosti koncentracije polena u vazduhu, što sugerise da IL-33 ima značajnu ulogu u pogoršanju alergijskog rinitisa.<sup>131</sup>

Bonanno i saradnici su zaključili u svojoj studiji da su vrednosti IL-33 u serumu značajno veće kod ispitanika koji su imali alergijsku astmu sa alergijskim rinitisom, u odnosu na ispitanike koji su imali isključivo AR i da su vrednosti serumskog nivoa IL-33 kod ispitanika obe ove grupe bile značajno veće u odnosu na vrednosti IL-33 kod zdravih ispitanika.<sup>301</sup>

Više vrednosti IL-33 kod ispitanika koji imaju istovremeno AA i AR u odnosu na ispitanike koji imaju samo alergijsku astmu ukazuje da IL-33 može biti potentni biomarker u dijagnozi alergijskih bolesti disajnih puteva, ali ističe i potencijalni značaj u proceni ekstenzivnosti inflamatornog procesa disajnih puteva.<sup>298</sup> U našoj seriji dece

uzrasta od 6 do 18 godina sa dijagnozom alergijske astme i alergijskog rinitisa i dece koja su mala alergijsku astmu bez alergijskog rinitisa posle šestomesečnog lečenja nije utvrđena značajna razlika u vrednostima IL-33 u serumu.

Ispitivanje kod pacijenata sa alergijskim rinitisom je pokazalo da pacijenti kod kojih je pre sezone polinacije sproveden profilaktički tretman sa antihistaminicima imaju značajno niži nivo ekspresije mRNK (*engl.* messenger RNK, informaciona RNK) za IL-5 ali ne i mRNK za IL-33 u nazalnoj mukozi, u odnosu na pacijente koji nisu dobijali profilaksu sa antihistaminikom.<sup>302</sup>

Izjednačavanje vrednosti IL-33 u serumu kod dece sa alergijskom astmom i alergijskim rinitisom sa vrednostima izmerenim kod dece koja su imala samo alergijsku astmu posle šest meseci praćenja, može se objasniti primenjenom terapijom. Svi ispitanici su dobijali ICS prema stepenu kontrole alergijske astme uz sprovođenje ekspozicione profilakse prema identifikovanom alergenu. Pacijenti koji su imali i alergijski rinitis su bili tretirani oralnim antihistaminicima i intranazalnim kortikosteroidima. Sa druge strane, u našoj studiji nije bilo pacijenata sa steroid rezistentnim oblikom alergijskog rinitisa što je verovatno uticalo da vrednosti IL-33 u serumu budu izjednačene između ove dve grupe ispitanika.

Analizom polne strukture ispitanika u našem istraživanju, utvrđena je predominacija muškog pola a razlika u zastupljenosti između muškog i ženskog pola nije pokazala statističku značajnost.

Podaci studija sprovedenih na velikom broju dece sa alergijskom astmom pokazuju da u dečijem uzrastu do puberteta dečaci češće obolevaju od astme. Veća učestalost astme kod dečaka se objašnjava užim disajnim putevima, povećanim tonusom disajnih puteva i višim nivoima IgE u serumu u odnosu na devojčice. Posle puberteta ove razlike se gube, te je učestalost astme kod muškog i ženskog pola jednaka sve do 40. godine. Posle 40. godine života, žene su u većem riziku da obole od astme.<sup>303</sup> U dostupnoj literaturi nema podataka o povezanosti vrednosti IL-33 sa određenim polom bolesnika u dečijem uzrastu.

U našoj studiji, od ukupnog broja dece sa alergijskom astmom, većina njih (85,25 %) je bilo normalno uhranjeno. 6,56% dece je bilo predgojazno, 4,92% je imalo gojaznost a 3,27 % je bilo pothranjeno. Studija u kojoj je ispitivan uticaj IL-33 i ST2 receptora u zapaljenju koje je udruženo sa gojaznošću je pokazala da aktivacija IL-33/ST2 osovine

ima antizapaljensku ulogu.<sup>140</sup> S obzirom da je mali broj ispitanika u našoj studiji imao poremećaj u pogledu stanja uhranjenosti, nije ispitivana povezanost između serumskog nivoa IL-33 i poremećaja stanja uhranjenosti.

Epidemiološke studije sprovedene kod dece jasno ističu pozitivnu korelaciju između gojaznosti i težine astme, kao i povezanost između gojaznosti i poremećaja plućnih funkcija. Mehaničke, imunološke, hormonske i zapaljenske karakteristike gojaznosti, kao i tip gojaznosti utiču na osobine i perzistiranje astme. Nije dokazano da redukcija telesne mase dovodi do bolje kontrole astme.<sup>304</sup>

Analiza porodične anamneze ispitanika koji su obuhvaćeni ovom studijom pokazuje da više od polovine njih ima obolelog člana u užoj porodici od astme (54,1 %) ili druge atopijske bolesti (54,1%). U porodičnoj anamnezi ispitanika u našoj studiji, najčešće majka boluje od astme (24,6%) ali i drugih atopijske bolesti (24,6%). Kod 18% ispitanika neko od majčine rodbine (majčin brat, sestra, otac, majka) boluje od astme a 9,8% od drugih atopijskih bolesti. Brat i/ili sestra su imali astmu kod 18 % ispitanika, dok su kod braće i/ili sestara druge atopijske bolesti bile prisutne kod 9,9% ispitanika. Otac boluje od astme kod 6,6% ispitanika, a od drugih atopijskih bolesti kod 13,1% ispitanika. Očeva rodbina (očev brat, sestra, otac, majka) imala je dijagnozu astme kod svega 3,3% ispitanika i isto toliko su bile prisutne druge atopijske bolesti.

Najveća učestalost astme i drugih atopijskih bolesti kod majke i njene rodbine u porodičnoj anamnezi kod naših ispitanika jasno ističe njihov hereditarni značaj u nastanku alergijske astme, u odnosu na druge članove familije, što je dokumentovano i u drugim ispitivanjima. Naime, poznato je da deca čije majke imaju alergijske bolesti, češće obolevaju od alergijske astme i imaju teži oblik bolesti, ali se ni jedna pojedinačna mutacija ili polimorfizam gena od svih do danas opisanih nisu pokazali dominantnim.<sup>152</sup> Takođe, u literaturi se navodi da ako majka ima astmu i alergiju na neki od inhalatornih alergena verovatnoća je 50 % da i dete ima astmu.<sup>305</sup>

U našem istraživanju je kod skoro trećine ispitanika (29,5%) majka pušila tokom trudnoće, dok je čak njih 41% bilo izloženo duvanskom dimu u detinjstvu.

U studiji sprovedenoj na 21.000 dece zaključeno je da je pušenje majke tokom trudnoće, posebno u prvom trimestru, povezano sa povećanim rizikom od nastanka astme kod dece.<sup>306</sup>

Iako literaturni podaci pokazuju kontradiktornost u pogledu uloge u patogenezi astme, uticaj duvanskog dima na egzacerbaciju i težinu astme je jasno dokumentovan.<sup>307, 308</sup>

Istraživanja sprovedena na adultnoj populaciji pokazuju da je kod pušača povećana ekspresija IL-33 u bronhijalnom epitelu dok kod pacijenata sa hroničnom opstruktivnom bolesti pluća izlaganje duvanskom dimu dovodi do IL-33 zavisne inflamacije i kliničkog pogoršanja.<sup>309, 310</sup>

Većina dece u našoj studiji je rođena prirodnim putem (82%) dok je 18% njih porođeno carskim rezom.

Epidemiološke analize ukazuju da je trostruki porast astme i alergija u poslednjih 50 godina praćen i porastom porođaja koji su završeni carskim rezom. Povećana učestalost astme kod dece koja su rođena carskim rezom u odnosu na decu rođenu prirodnim putem je dokumentovana u većem broju metacentričnih studija.<sup>311, 312</sup>

Kopenhagenska studija posebno naglašava povećan rizik od nastanka alergijske astme kod dece koja su rođena carskim rezom pre spontanog prsnuća plodovih ovojaka odnosno kod dece kod kojih je urađena intraoperativna amniotomija u odnosu na decu rođenu carskim rezom posle spontanog prsnuća plodovih ovojaka.<sup>313</sup>

Od ukupnog broja dece sa alergijskom astmom u ovoj studiji 9,8% njih je prevremeno rođeno, od toga 6,6% između 28 i 32 gestacijske nedelje, a 3,3 % između 33 i 36 gestacijske nedelje. Ostali ispitanici (90,2%) su bili rođeni u terminu.

Rezultati velike, metaanalitičke studije su pokazali da deca koja su prevremeno rođena imaju povećan rizik za nastanak astme u uzrastu od 1. do 24. godine.<sup>314</sup>

Evropska studija sprovedena na velikom uzorku dece (147000) je ukazala na povezanost između gestacijske starosti na rođenju i rizika za nastanak astme. Povezanost niske porođajne mase sa povećanim rizikom od nastanka astme kod dece je takođe objašnjena gestacijskom starošću na rođenju.<sup>315</sup>

Najveći broj ispitanika u našoj studiji (49,2%) je tokom prvih 6 meseci života dobijalo kombinovanu ishranu (prirodna+veštačka), njih 29,5 % je isključivo dojeno, a 21,3% je dobijalo isključivo veštačku ishranu (adaptirana mlečna formula, kravlje mleko).

Rezultati većeg broja istraživanja ukazuju na pozitivnu korelaciju dojenja i smanjenu učestalost astme u dečijem uzrastu. Mehanizmi protektivnog uticaja dojenja na nastanak astme nisu razjašnjeni.<sup>316</sup>

Kod ispitanika obuhvaćenih našom studijom polovina njih živi u urbanoj, gradskoj, sredini, a druga polovina na selu.

Epidemiološke studije ukazuju da je prevalencija dečije astme niža u ruralnim sredinama, u odnosu na urbana područja.<sup>317, 318</sup>

Takođe, ispitivanja faktora rizika za nastanak dečije astme su pokazala da je život u gradovima povezan sa povećanim rizikom od nastanka astme.<sup>319</sup>

Od ukupnog broja ispitanika 14 (23%) je imalo ekcem u odojčadskom uzrastu, a njih 11 je u prvoj godini života imalo bronhiolitis (18%).

Analiza sprovedena na velikom broju pacijenata pokazuje da je ekcem u odojčadskom periodu bio prisutan kod 9,1% obolelih od alergijske astme.<sup>320</sup>

Literaturni podaci naglašavaju da ekcem odojčadskog uzrasta predstavlja faktor rizika za nastanak alergijske astme u kasnijem periodu, odnosno deca koja imaju odojčadski ekcem imaju veću verovatnoću nastanka astme u kasnijem detinjstvu, što je i u skladu sa hipotezom atopijskog marša.<sup>321</sup>

Studija u kojoj su analizirani faktori rizika alergijske astme u dečijem uzrastu ističe da je 13% od ukupnog broja ispitanika imalo bronhilitis tokom sezone RSV infekcije u odojčadskom periodu.<sup>322</sup>

Finska studija pokazuje da bronhiolitis u uzrastu odojčeta povećava rizik od nastanka astme u uzrastu od 11 do 13 godina dva puta više nego što on iznosi u opštoj populaciji istog uzrasta.<sup>323</sup>

Najčešći inhalatorni alergen koji je bio pozitivan kod ispitanika u našoj studiji su bile grinje (51 ispitanik, odnosno 83,6%). Na drugom mestu po učestalosti kod naših ispitanika je bila preosetljivost na polen od čega je 37 (60,7%) ispitanika imalo dokazanu preosetljivost na polen trave, 32 (52,5%) na polen korova i 27 (44,3%) na polen stabala. Ukupno 22 (36,1%) ispitanika je bilo pozitivno na kućnu prašinu. Kod 7 (11,5%) ispitanika je dokazana preosetljivost na perje i plesni, a 5 (8,2%) ispitanika je pokazalo preosetljivost na duvan i dlake životinja.

Svi ispitanici obuhvaćeni studijom su imali minimum po jedan pozitivan alergen primenom inhalatornog SPT. Ukupno 14 ispitanika bilo je monosenzibilisano (preosetljivost na 1 alergen), dok je najveći broj ispitanika (35/57,4%) pozitivno reagovao na 2 do 4 ispitivana alergena. Samo jedan ispitanik je pozitivno reagovao na svih 9 ispitivanih alergena.

I druge studije u kojima je analizirana vrsta inhalatornih alergena kod dece sa astmom pokazuju da su grinje bile najčeći alergen na koji su ovi pacijenti ispoljili preosetljivost. Kao drugi po učestalosti se navode alergeni otvorenog prostora, odnosno preosetljivost na polen, što je bilo prisutno i kod naših ispitanika. Preosetljivost na druge inhalatorne alergene je bila slična našim rezultatima ispitivanja, a određena odstupanja u pogledu zastupljenosti se mogu najvećim delom objasniti razlikama u pogledu klimatskih zona u kojima su ispitivanja vršena.<sup>324, 325, 326</sup>

Izlaganje preosetljivih osoba alergenu može dovesti do oštećenja tkiva i oslobađanja IL-33 iz epitelnih ćelija. Oslobođen IL-33 zahvaljujući svojim alarminskim osobinama odnosno sposobnosti da aktivira dendrične ćelije, regrutuje, polarizuje i aktivira T<sub>H</sub>2 ćelije i posledično dovodi do T<sub>H</sub>2 posredovanog zapaljenja u astmi.<sup>103</sup>

Studija sprovedena na mišjem modelu inflamacije disajnih puteva indukovanoj senzibilizacijom na kućnu prašinu i grinje pokazuje da primena vakcine protiv IL-33 koja dovodi do formiranja visokog titra specifičnih anti-IL-33 antitela značajno redukuje razvoj inflamacije disajnih puteva, posebno u njenim distalnim segmentima.<sup>327</sup>

Naša studija predstavlja mali doprinos određivanju značaja IL-33 u alergijskoj astmi. U do sada objavljenoj i nama dostupnoj literaturi nije ispitan uticaj šestomesečne ICS terapije na vrednosti IL-33 u serumu kod dece sa alergijskom astmom. Preciziranje uloge IL-33 u alergijskoj astmi imalo bi višestruki značaj. Doprinelo bi razumevanju imunopatogenetskih mehanizama koji nisu u potpunosti razjašnjeni, definisanju fenotipa bolesti a u krajnjoj meri i povoljnijem ishodu lečenja, s obzirom na njegovu potencijalnu ulogu biomarkera u ranoj dijagnozi, ali i u monitoringu efikasnosti lečenja odnosno kontrole alergijske astme. Sa druge strane, omogućilo bi razmatranje IL-33 kao potencijalne terapijske mete, s obzirom da se kod pojedinih bolesnika i pored primene svih do sada dostupnih terapijskih opcija, ne postiže zadovoljavajući nivo kontrole bolesti. Nekontrolisana AA dovodi do teške plućne disfunkcije i invalidnosti, što ima veliki, ne samo medicinski, nego i socio-ekonomski značaj. Zbog toga razmatranje i pronalaženje novih, potentnijih terapijskih mogućnosti, koristi ne samo bolesniku i njegovoj porodici već i celokupnoj zajednici.

## ZAKLJUČCI

1. Kod pacijenata sa nelečenom AA, serumske vrednosti IL-33 su signifikantno veće u odnosu na pacijente kod kojih je sprovedena šestomesečna ICS terapija i u odnosu na zdravu decu.
2. Šestomesečna primena ICS terapije i postizanje dobre kontrole AA praćeni su signifikantnim padom vrednosti IL-33 u serumu.
3. Pacijenti sa AA koji su tokom 6 meseci lećeni sa ICS i zdrava deca imaju slične vrednosti IL-33 u serumu.
4. Kod pacijenata sa AA pre zapoćinjanja i 6 meseci posle primene ICS terapije nije dokazana signifikantna korelacija vrednosti IL-33 i vrednosti eozinofilnih granulocita periferne krvi, eozinofilnih granulocita u nazalnom sekretu i ukupnog IgE u serumu.
5. Kod pacijenata sa nelećenom AA postoji signifikantna negativna korelacija vrednosti IL-33 u serumu i vrednosti parametara plućne funkcije (FEV1, FEV1/FVC, PEF i MEF 25/75), odnosno više vrednosti serumskog IL-33 praćene su nižim vrednostima nalaza navedenih plućnih funkcija i obrnuto.
6. Pacijenti koji su pre zapoćinjanja ICS terapije imali više vrednosti IL-33 u serumu imali su teži oblik AA sve vreme praćenja, lošiju kontrolu AA tokom perioda lećenja i zahtevali su primenu veće doze ICS u drugom tromesećju lećenja. Pacijenti koji su posle šest meseci terapije sa ICS imali teži oblik i lošiju kontrolu AA imali su i više vrednosti IL-33 u serumu.
7. Pre zapoćinjanja lećenja vrednosti IL-33 u serumu kod pacijenata koji su imali AA udruženu sa AR su bile signifikantno veće u odnosu na vrednosti IL-33 koje su imali pacijenti sa AA bez AR. Posle šestomesećnog lećenja vrednosti IL-33 u serumu su bile slične kod svih pacijenata sa AA nezavisno od prisustva AR.

## LITERATURA

- 
- <sup>1</sup> Dinarello CA. Historical insights into cytokines. *Eur J Immunol.* 2007; 37(1): 34-45.
- <sup>2</sup> Abbas AK, Lichtman AH, Pober S. *Cellular and Molecular Immunology.* 9th ed. Philadelphia: Saunders, 2017; 414-21.
- <sup>3</sup> Meyers RA. *Encyclopedia of Molecular Cell Biology and Molecular Medicine.* Weinheim: Wiley-VCH Verlag; 2006.
- <sup>4</sup> Dinarello CA, Arend W, Sims J, Smith D, Blumberg H, O'Neill L, et al. IL-1 family nomenclature. *Nat Immunol.* 2010; 11 (11): 973.
- <sup>5</sup> Garlanda C, Dinarello CA, Mantovani A. The interleukin -1 family: back to the future. *Immunity.* 2013;39(6):1003-18.
- <sup>6</sup> Dinarello CA. Interleukin-1 in the pathogenesis and treatment of inflammatory diseases. *Blod.* 2011. 117 (14): 3720–32.
- <sup>7</sup> Carta S, Lavieri R, Rubartelli A. Different Members of the IL-1 Family Come Out in Different Ways: DAMPs vs. Cytokines? *Front Immunol.* 2013. 4:123)
- <sup>8</sup> Baekkevold ES, Roussigne M, Yamanaka T, Johansen F, Jahnsen FL, Amalric F, et al. Molecular characterization of NF-HEV, a nuclear factor preferentially expressed in human high endothelial venules. *Am J Pathol.* 2003; 163: 69–79.
- <sup>9</sup> Schmitz J, Owyang A, Oldham E, Song Y, Murphy E, McClanahan TK, et al. IL-33, an interleukin- 1-like cytokine that signals via the IL-1 receptor-related protein ST2 and induces T helper type 2-associated cytokines. *Immunity.* 2005; 23:479–90.



- 
- <sup>10</sup> Onda H, Kasuya H, Takakura K, Hori T, Imaizumi T, Takeuchi T, et al. Identification of genes differentially expressed in canine vasospastic cerebral arteries after subarachnoid hemorrhage. *J Cereb Blood Flow Metab.* 1999;19:1279–88.
- <sup>11</sup> Lefrançois E, Roga S, Gautier V, Gonzalez-de-Peredo A, Monsarrat B, Girard JP, et al. IL-33 is processed into mature bioactive forms by neutrophil elastase and cathepsin G. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2012; 109(5):1673-8.
- <sup>12</sup> Lüthi AU, Cullen SP, McNeela EA, Duriez PJ, Afonina IS, Sheridan C et al. Suppression of interleukin-33 bioactivity through proteolysis by apoptotic caspases. *Immunity.* 2009; 31:84–98.
- <sup>13</sup> Moussion C, Ortega N, Girard JP. The IL-1-like cytokine IL-33 is constitutively expressed in the nucleus of endothelial cells and epithelial cells in vivo: a novel ‘alarmin’? *PLoS ONE.* 2008; 3:e3331.
- <sup>14</sup> Sattler S, Smits HH, Xu D, Huang FP. The evolutionary role of the IL-33/ST2 system in host immune defence. *Arch Immunol Ther Exp.* 2013;61:107–117.
- <sup>15</sup> Pastorelli L, De Salvo C, Vecchi M, Pizarro TT. The role of IL-33 in gut mucosal inflammation. *Mediators Inflamm.* 2013; 608187:11.
- <sup>16</sup> Molofsky AB, Savage AK, Locksley RM. Interleukin-33 in Tissue Homeostasis, Injury, and Inflammation. *Immunity.* 2015; 42 (6):1005–19.
- <sup>17</sup> Pichery M, Mirey E, Mercier P, Lefrancais E, Dujardin A, Ortega N, et al. Endogenous IL-33 is highly expressed in mouse epithelial barrier tissues, lymphoid organs, brain, embryos, and inflamed tissues: in situ analysis using a novel IL-33-LacZ gene trap reporter strain. *J Immunol.* 2012; 188: 3488-3495.
- <sup>18</sup> Kouzaki H, Iijima K, Kobayashi T, O’Grady SM, Kita H. The danger signal, extracellular ATP, is a sensor for an airborne allergen and triggers IL-33 release and innate T<sub>H</sub>2-type responses. *J Immunol.* 2011;186(7):4375–87.
- <sup>19</sup> Kakkar R, Hei H, Dobner S, Lee RT. Interleukin 33 as a mechanically responsive cytokine secreted by living cells. *J Biol Chem.* 2012; 287:6941-8.
- <sup>20</sup> Luzina IG, Pickering EM, Kopach P, Kang PH, Lockett V, Todd NW, et al. Full-length IL-33 promotes inflammation but not T<sub>H</sub>2 response in vivo in an ST2-independent fashion. *J. Immunol.* 2012; 189: 403–10.
- <sup>21</sup> Lamkanfi M, Dixit VM. IL-33 raises alarm. *Immunity.* 2009; 31(1): 5–7.

- 
- <sup>22</sup> Bowie A, O'Neill LAJ. The interleukin-1 receptor/Toll-like receptor superfamily: signal generators for pro-inflammatory interleukins and microbial products. *J. Leukoc. Biol.* 2000; 67: 508–14
- <sup>23</sup> Kakkar R, Lee RT. The IL-33/ST2 pathway: therapeutic target and novel biomarker. *Nat Rev Drug Discov* 2008;7:827–840.
- <sup>24</sup> Xu Y, Tao X, Shen B, Medzhitov R, Manley JL, Tong L. Structural basis for signal transduction by the Toll/interleukin-1 receptor domains. *Nature.* 2000; 408:111–5.
- <sup>25</sup> Tominaga S. A putative protein of a growth specific cDNA from BALB/c-3T3 cells is highly similar to the extracellular portion of mouse interleukin 1 receptor. *FEBS Lett.* 1989; 258:301-4.
- <sup>26</sup> Tominaga S, Kuroiwa K, Tago K, Iwahana H, Yanagisawa K, Komatsu N. Presence and expression of a novel variant form of ST2 gene product in human leukemic cell line UT-7/GM. *Biochem Biophys Res Commun.* 1999; 264:14.
- <sup>27</sup> Tago K, Noda T, Hayakawa M, Iwahana H, Yanagisawa K, Yashiro T, et al. Tissue distribution and subcellular localization of a variant form of the human ST2 gene product, ST2V. *Biochem Biophys Res Commun.* 2001; 285(5):1377–83.
- <sup>28</sup> Yanagisawa K, Takagi T, Tsukamoto T, Tetsuka T, Tominaga S. Presence of a novel primary response gene ST2L, encoding a product highly similar to the interleukin 1 receptor type 1. *FEBS Lett.* 1993; 318:83–7.
- <sup>29</sup> Barlow JL, Peel S, Fox J, Panova V, Hardman CS, Camelo A, et al. IL-33 is more potent than IL-25 in provoking IL-13-producing nuocytes (type 2 innate lymphoid cells) and airway contraction. *J Allergy Clin Immunol.* 2013; 132:9.
- <sup>30</sup> Trajkovic V, Sweet MJ, Xu D. T1/ST2 – an IL-1 receptor-like modulator of immune responses. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2004; 15:87–95.
- <sup>31</sup> Meephansan JH, Tsuda M, Komine S, Tominaga S, Ohtsuki M. Regulation of IL-33 expression by IFN- $\gamma$  and tumor necrosis factor- $\alpha$  in normal human epidermal keratinocytes. *J Invest Dermatol.* 2012; 132:2593–600.
- <sup>32</sup> Pecaric-Petkovic T, Didichenko SA, Kaempfer S, Spiegl N, Dahinden CA. Human basophils and eosinophils are the direct target leukocytes of the novel IL-1 family member IL-33. *Blood* 2009;113:1526-34.

- 
- <sup>33</sup> Smithgall MD, Comeau MR, Yoon BR, Kaufman D, Armitage R, Smith DE. IL-33 amplifies both T<sub>H</sub>1- and T<sub>H</sub>2-type responses through its activity on human basophils, allergen-reactive T<sub>H</sub>2 cells, iNKT and NK cells. *Int Immunol*. 2008;20:1019-30.
- <sup>34</sup> Lécart S, Lecointe N, Subramaniam A, Alkan S, Ni D, Chen R, et al. Activated, but not resting human T<sub>H</sub>2 cells, in contrast to T<sub>H</sub>1 and T regulatory cells, produce soluble ST2 and express low levels of ST2L at the cell surface. *Eur J Immunol*. 2002; 32(10): 2979-87.
- <sup>35</sup> Hayakawa H, Hayakawa M, Kume A, Tominaga S. Soluble ST2 blocks interleukin-33 signaling in allergic airway inflammation. *J Biol Chem*. 2007; 282:26369–80.
- <sup>36</sup> Salas A. The IL-33/ST2 axis: yet another therapeutic target in inflammatory bowel disease? *Gut*. 2013; 62(10):1392–3; Palmer G, Gabay C. Interleukin-33 biology with potential insights into human diseases. *Nat Rev Rheumatol*. 2011;7(6):321–9
- <sup>37</sup> Oshikawa K, Kuroiwa K, Tago K, Iwahana H, Yanagisawa K, Ohno S, Tominaga SI, Sugiyama Y. Elevated soluble ST2 protein levels in sera of patients with asthma with an acute exacerbation. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001; 164(2): 277-81
- <sup>38</sup> Garlanda C, Riva F, Bonavita E, Mantovani A. Negative regulatory receptors of the IL-1 family. *Semin Immunol*. 2013; 25(6): 408-15.
- <sup>39</sup> Chackerian AA, Oldham ER, Murphy EE, Schmitz J, Pflanz S, Kastelein RA. IL-1 receptor accessory protein and ST2 comprise the IL-33 receptor complex. *J Immunol*. 2007;179(4):2551–5.
- <sup>40</sup> Dinarello CA. An IL-1 family member requires caspase-1 processing and signals through the ST2 receptor. *Immunity*. 2005;23:461–2.
- <sup>41</sup> Martin MU. Special aspects of interleukin-33 and the IL-33 receptor complex. *Semin Immunol*. 2013; 25(6):449–57.
- <sup>42</sup> Ali S, Mohs A, Thomas M, Klare J, Ross R, Schmitz ML, et al. The dual function cytokine IL-33 interacts with the transcription factor NF-kappaB to dampen NF-kappaB-stimulated gene transcription. *J Immunol*. 2011; 187:1609–16.
- <sup>43</sup> Sanada S, Hakuno D, Higgins LJ, Schreiter ER, McKenzie ER, Lee RT. IL-33 and ST2 comprise a critical biomechanically induced and cardioprotective signaling system. *J Clin Invest*. 2007; 117:1538–49.

- 
- <sup>44</sup> Salmond RJ, Mirchandani AG, Besnard CC, Bain NC, Thomson NC, Liew FY. IL-33 induces innate lymphoid cell-mediated airway inflammation by activating mammalian target of rapamycin. *J Allergy Clin Immunol.* 2012; 130:1159–66.
- <sup>45</sup> Gadani SP, Walsh JT, Smirnov I, Zheng J, Kipnis J. The glia-derived alarmin IL-33 orchestrates the immune response and promotes recovery following CNS injury. *Neuron.* 2015;703–9.
- <sup>46</sup> Cayrol C, Girard JP. IL-33: an alarmin cytokine with crucial roles in innate immunity, inflammation and allergy. *Curr Opin Immunol.* 2012; 31–7.
- <sup>47</sup> Cayrol C, Girard JP. The IL-1-like cytokine IL-33 is inactivated after maturation by caspase-1. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2009; 106:9021–26.
- <sup>48</sup> Lefrançois E, Duval A, Mirey E, Roga S, Espinosa E, Cayrol, C, et al. Central domain of IL-33 is cleaved by mast cell proteases for potent activation of group-2 innate lymphoid cells. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2014; 111:15502–7;
- <sup>49</sup> Martin NT, Martin MU. Interleukin 33 is a guardian of barriers and a local alarmin. *Nat Immunol.* 2016; 17(2): 122-31.
- <sup>50</sup> Cohen ES, Scott IC, Majithiya JB, Rapley L, Kemp BP, England E, et al. Oxidation of the alarmin IL-33 regulates ST2-dependent inflammation. *Nat Commun.* 2015; 6:8327.
- <sup>51</sup> Ni Y, Tao L, Chen C. The deubiquitinase USP17 regulates the stability and nuclear function of IL-33. *Int J Mol Sci.* 2015; 16: 27956–66.
- <sup>52</sup> Gautier V, Cayrol C, Farache D, Roga S, Monsarrat B, Burlet-Schiltz O, et al. Extracellular IL-33 cytokine, but not endogenous nuclear IL-33, regulates protein expression in endothelial cells *Sci Rep.* 2016; 6:34255.
- <sup>53</sup> Griesenauer B, Paczesny S. The ST2/IL-33 axis in immune cells during inflammatory diseases. *Fron In Immun.* 2017;8:475.
- <sup>54</sup> Komai-Koma M, Xu D, Li Y, McKenzie AN, McInnes IB, Liew FY. IL-33 is a chemoattractant for human T<sub>H</sub>2 cells. *Eur J Immunol.* 2007; 37: 2779-86.
- <sup>55</sup> Hoshino K, Kashiwamura S, Kuribayashi K, Kodama T, Tsujimura T, Nakanishi K, et al. The absence of interleukin 1 receptor-related T1/ST2 does not affect T helper cell type 2 development and its effector function. *J Exp Med.* 1999; 190(10):1541–8.
- <sup>56</sup> Zhang J, Ramadan AM, Griesenauer B, Li W, Turner MJ, Liu C, et al. ST2 blockade reduces sST2-producing T cells while maintaining protective mST2-expressing T cells during graft-versus-host disease. *Sci Transl Med.* 2015; 7(308):160.

- 
- <sup>57</sup> Veldhoen M, Uyttenhove C, van Snick J, Helmby H, Westendorf A, Buer J, et al. Transforming growth factor-beta 'reprograms' the differentiation of T helper 2 cells and promotes an interleukin 9-producing subset. *Nat Immunol.* 2008; 9(12):1341–6.
- <sup>58</sup> Dardalhon V, Awasthi A, Kwon H, Galileos G, Gao W, Sobel RA, et al. IL-4 inhibits TGF-beta-induced Foxp3+ T cells and, together with TGF-beta, generates IL-9+ IL-10+ Foxp3(-) effector T cells. *Nat Immunol.* 2008; 9(12):1347–55.
- <sup>59</sup> Schmitt E, Klein M, Bopp T. Th9 cells, new players in adaptive immunity. *Trends Immunol.* 2014; 35(2):61–8.
- <sup>60</sup> Wu B, Huang C, Kato-Maeda M, Hopewell PC, Daley CL, Krensky AM, et al. IL-9 is associated with an impaired TH1 immune response in patients with tuberculosis. *Clin Immunol.* 2008; 126(2):202–10.
- <sup>61</sup> Blom L, Poulsen BC, Jensen BM, Hansen A, Poulsen LK. IL-33 induces IL-9 production in human CD4+ T cells and basophils. *PLoS One.* 2011; 6(7):21695;
- <sup>62</sup> Schiering C, Krausgruber T, Chomka A, Frohlich A, Adelmann K, Wohlfert EA, et al. The alarmin IL-33 promotes regulatory T-cell function in the intestine. *Nature.* 2014; 513(7519):564–8.
- <sup>63</sup> Li M, Li Y, Liu X, Gao X, Wang Y. IL-33 blockade suppresses the development of experimental autoimmune encephalomyelitis in C57BL/6 mice. *J Neuroimmunol.* 2012;247(1–2):25–31.
- <sup>64</sup> Jiang HR, Milovanovic M, Allan D, Niedbala W, Besnard AG, Fukada SY, et al. IL-33 attenuates EAE by suppressing IL-17 and IFN-gamma production and inducing alternatively activated macrophages. *Eur J Immunol.* 2012; 42(7):1804–14.
- <sup>65</sup> Matta BM, Reichenbach DK, Zhang X, Mathews L, Koehn BH, Dwyer GK, et al. Peri-alloHCT IL-33 administration expands recipient T-regulatory cells that protect mice against acute GVHD. *Blood.* 2016; 128(3):427–39.
- <sup>66</sup> Brunner SM, Schiechl G, Falk W, Schlitt HJ, Geissler EK, Fichtner-Feigl S. Interleukin-33 prolongs allograft survival during chronic cardiac rejection. *Transpl Int.* 2011; 24(10):1027–39.
- <sup>67</sup> Gajardo T, Morales RA, Campos-Mora M, Campos-Acuna J, Pino-Lagos K. Exogenous interleukin-33 targets myeloid-derived suppressor cells and generates periphery-induced Foxp3(+) regulatory T cells in skin-transplanted mice. *Immunology.* 2015; 146(1):81–8.

- 
- <sup>68</sup> Fragale A, Gabriele L, Stellacci E, Borghi P, Perrotti E, Ilari R, et al. IFN regulatory factor-1 negatively regulates CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> regulatory T cell differentiation by repressing Foxp3 expression. *J Immunol*. 2008; 181(3):1673–82;
- <sup>69</sup> Lal G, Yin N, Xu J, Lin M, Schroppe S, Ding Y, et al. Distinct inflammatory signals have physiologically divergent effects on epigenetic regulation of Foxp3 expression and Treg function. *Am J Transplant*. 2011; 11(2):203–14.
- <sup>70</sup> Neill DR, Wong SH, Bellosi A, Flynn RJ, Daly M, Langford TK, et al. Nuocytes represent a new innate effector leukocyte that mediates type-2 immunity. *Nature*. 2010; 464(7293):1367–70;
- <sup>71</sup> Moro K, Yamada T, Tanabe M, Takeuchi T, Ikawa T, Kawamoto H, et al. Innate production of TH2 cytokines by adipose tissue-associated c-Kit(+) Sca-1(+) lymphoid cells. *Nature*; 2010; 463(7280):540–4;
- <sup>72</sup> Stehle C, Saikali P, Romagnani C. Putting the brakes on ILC2 cells. *Nat Immunol*. 2016; 7(1):43–4.
- <sup>73</sup> Price AE, Liang HE, Sullivan BM, Reinhardt RL, Eisley CJ, Erle DJ, et al. Systemically dispersed innate IL-13-expressing cells in type 2 immunity. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010; 107(25):11489–94.
- <sup>74</sup> Wilhelm C, Hirota K, Stieglitz B, Van Snick J, Tolaini M, Lahl K, et al. An IL-9 fate reporter demonstrates the induction of an innate IL-9 response in lung inflammation. *Nat Immunol*. 2011; 12(11):1071–7.
- <sup>75</sup> Matsuki A, Takatori H, Makita S, Yokota M, Tamachi T, Suto A, et al. T-bet inhibits innate lymphoid cell-mediated eosinophilic airway inflammation by suppressing IL-9 production. *J Allergy Clin Immunol*. 2017; 139(4):1355–67.
- <sup>76</sup> McHedlidze T, Waldner M, Zopf S, Walker J, Rankin AL, Schuchmann M, et al. Interleukin-33-dependent innate lymphoid cells mediate hepatic fibrosis. *Immunity*. 2013; 39(2):357–71.
- <sup>77</sup> Yang Q, Li G, Zhu Y, Liu L, Chen E, Turnquist H, et al. IL-33 synergizes with TCR and IL-12 signaling to promote the effector function of CD8<sup>+</sup> T cells. *Eur J Immunol*. 2011; 41(11):3351–60.
- <sup>78</sup> Bonilla WV, Frohlich A, Senn K, Kallert S, Fernandez M, Johnson S, et al. The alarmin interleukin-33 drives protective antiviral CD8(+) T cell responses. *Science*. 2012; 335(6071):984–9.

- 
- <sup>79</sup> Gao X, Wang X, Yang Q, Zhao X, Wen W, Li G, et al. Tumoral expression of IL-33 inhibits tumor growth and modifies the tumor microenvironment through CD8+ T and NK cells. *J Immunol.* 2015; 194(1):438–45.
- <sup>80</sup> Komai-Koma M, Gilchrist DS, McKenzie AN, Goodyear CS, Xu D, Liew FY. IL-33 activates B1 cells and exacerbates contact sensitivity. *J Immunol.* 2011; 186(4):2584–91.
- <sup>81</sup> Sattler S, Ling GS, Xu D, Husaarts L, Romaine A, Zhao H, et al. IL-10-producing regulatory B cells induced by IL-33 (Breg(IL-33)) effectively attenuate mucosal inflammatory responses in the gut. *J Autoimmun.* 2014; 50:107–22.
- <sup>82</sup> Palmer G, Talabot-Ayer D, Lamacchia C, Toy D, Seemayer CA, Viatte S, et al. Inhibition of interleukin-33 signaling attenuates the severity of experimental arthritis. *Arthritis Rheum.* 2009; 60(3):738–49.
- <sup>83</sup> Komai-Koma M, Brombacher F, Pushparaj PN, Arendse B, McSharry C, Alexander J, et al. Interleukin-33 amplifies IgE synthesis and triggers mast cell degranulation via interleukin-4 in naïve mice. *Allergy.* 2012; 67: 1118-26.
- <sup>84</sup> Ishikawa K, Yagi-Nakanishi S, Nakanishi Y, Kondo S, Tsuji A, Endo K, et al. Expression of interleukin-33 is correlated with poor prognosis of patients with squamous cell carcinoma of the tongue. *Auris Nasus Larynx.* 2014; 41:552-7.
- <sup>85</sup> Joshi AD, Oak SR, Hartigan AJ, Finn WG, Kunkel SL, Duffy KE, et al. Interleukin-33 contributes to both M1 and M2 chemokine marker expression in human macrophages. *BMC Immunol.* 2010; 24-26.
- <sup>86</sup> Hazlett LD, McClellan SA, Barrett RP, Huang X, Zhang Y, Wu M, et al. IL-33 shifts macrophage polarization, promoting resistance against *Pseudomonas aeruginosa* keratitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2010; 51:1524-32.
- <sup>87</sup> Espinassous Q, Garcia-de-Paco E, Garcia-Verdugo I, Synguelakis M, von Aulock S, Sallenave JM, et al. IL-33 enhances lipopolysaccharide-induced inflammatory cytokine production from mouse macrophages by regulating lipopolysaccharide receptor complex. *J Immunol.* 2009; 183:1446-55.
- <sup>88</sup> Stolarski B, Kurowska-Stolarska M, Kewin P, Xu D, Liew FY. IL-33 exacerbates eosinophil-mediated airway inflammation. *J Immunol.* 2010; 185(6):3472–80.
- <sup>89</sup> Suzukawa M, Koketsu R, Iikura M, Nakae S, Matsumoto K, Nagase H, et al. Interleukin-33 enhances adhesion, CD11b expression and survival in human eosinophils. *Lab Invest.* 2008; 88(11):1245–53.

- 
- <sup>90</sup> Alves-Filho JC, Sonogo F, Souto FO, Freitas A, Verri WA, Auxiliadora-Martins M, et al. Interleukin-33 attenuates sepsis by enhancing neutrophil influx to the site of infection. *Nat Med.* 2010; 16(6):708–12.
- <sup>91</sup> Hueber AJ, Alves-Filho JC, Asquith DL, Michels C, Millar NL, Reilly JH, et al. IL-33 induces skin inflammation with mast cell and neutrophil activation. *Eur J Immunol.* 2011; 41(8):2229–37.
- <sup>92</sup> Le HT, Tran VG, Kim W, Kim J, Cho HR, Kwon B. IL-33 priming regulates multiple steps of the neutrophil-mediated anti-*Candida albicans* response by modulating TLR and dectin-1 signals. *J. Immunol.* 2012; 189: 287–95.
- <sup>93</sup> Turnquist HR, Sumpter TL, Tsung A, Zahorchak AF, Nakao A, Nau GJ, et al. IL-1beta-driven ST2L expression promotes maturation resistance in rapamycin-conditioned dendritic cells. *J Immunol.* 2008; 181(1):62–72.
- <sup>94</sup> Su Z, Lin J, Lu F, Zhang X, Zhang L, Gandhi NB, et al. Potential autocrine regulation of interleukin-33/ST2 signaling of dendritic cells in allergic inflammation. *Mucosal Immunol.* 2013; 6(5):921–30.
- <sup>95</sup> Matta BM, Lott JM, Mathews LR, Liu Q, Rosborough BR, Blazar BR, et al. IL-33 is an unconventional Alarmin that stimulates IL-2 secretion by dendritic cells to selectively expand IL-33R/ST2+ regulatory T cells. *J Immunol.* 2014; 193(8):4010–20.
- <sup>96</sup> Le H, Kim W, Kim J, Cho HR, Kwon B. Interleukin-33: a mediator of inflammation targeting hematopoietic stem and progenitor cells and their progenies. *Front Immunol.* 2013; 4:104.
- <sup>97</sup> Sakai N, Van Sweringen HL, Quillin RC, Schuster R, Blanchard J, Burns JM, et al. Interleukin-33 is hepatoprotective during liver ischemia/reperfusion in mice. *Hepatology.* 2012; 56:1468-78.
- <sup>98</sup> Monticelli LA, Sonnenberg GF, Abt MC, Alenghat T, Ziegler CG, Doering TA, et al. Innate lymphoid cells promote lung-tissue homeostasis after infection with influenza virus. *Nat Immunol.* 2011; 12(11):1045–54.
- <sup>99</sup> Nabekura T, Girard JP, Lanier LL. IL-33 receptor ST2 amplifies the expansion of NK cells and enhances host defense during mouse cytomegalovirus infection. *J Immunol.* 2015; 194(12):5948–52.



- 
- <sup>100</sup> Faber TE, Schuurhof A, Vonk A, Koppelman GH, Hennis MP, Kimpen JLL, et al. IL1RL1 gene variants and nasopharyngeal IL1RL1 levels are associated with severe RSV bronchiolitis: a multicenter cohort study. *PLoS One*. 2012; 7(5):34364
- <sup>101</sup> Bianchi ME, DAMPs, PAMPs and alarmins: all we need to know about danger. *J Leukoc Biol*. 2007;81:1-5.
- <sup>102</sup> Talabot-Ayer D, Lamacchia C, Gabay C, Palmer G. Interleukin-33 is biologically active independently of caspase-1 cleavage. *J Biol Chem*. 2009;284:19420-6.
- <sup>103</sup> Liew FY, Pitman NI, McInnes IB. Disease-associated functions of IL-33: the new kid in the IL-1 family *Nat Rev Immunol*. 2010; 10:103-10.
- <sup>104</sup> Bossley CJ, Fleming L, Gupta A, Regamey N, Frith J, Oates J, et al. Pediatric severe asthma is characterized by eosinophilia and remodeling without T<sub>H</sub>2 cytokines. *J Allergy Clin Immunol* 2012; 129(4): 974–82.
- <sup>105</sup> Corren J, Lemanske RF, Hanania NA, Korenblat PE, Parsey MV, Arron JR, et al. Lebrikizumab treatment in adults with asthma. *N Engl J Med*. 2011;365:1088–98.
- <sup>106</sup> Sjöberg LC, Gregory JA, Dahlén SE, Nilsson GP, Adner M. Interleukin-33 exacerbates allergic bronchoconstriction in the mice via activation of mast cells. *Allergy*. 2015; 70:514-21.
- <sup>107</sup> Bartemes KR, Kita H. Dynamic role of epithelium-derived cytokines in asthma. *Clin Immunol*. 2012;143:222-35.
- <sup>108</sup> Li X, Hawkins GA, Ampleford EJ, Moore WC, Li H, Hastie AT, et al. Genome-wide association study identifies T1 pathway genes associated with lung function in asthmatic patients. *J Allergy Clin Immunol*. 2013;132:313–20.
- <sup>109</sup> Reijmerink NE, Postma DS, Bruinenberg M, Nolte IM, Mayers DA, Bleecker ER et al. Association of IL1RL1, IL18R1, and IL18RAP gene cluster polymorphisms with asthma and atopy. *J Allergy Clin Immunol*. 2008;122: 651–54.
- <sup>110</sup> Kurokawa M, Matsukura S, Kawaguchi M, Ieki K, Suzuki S, Odaka M et al. Expression and effects of IL-33 and ST2 in allergic bronchial asthma: IL-33 induces eotaxin production in lung fibroblasts. *Int Arch Allergy Immunol*. 2011;155(1):12–20.
- <sup>111</sup> Prefontaine D, Lajoie-Kadoch S, Foley S, Audusseau S, Olivenstein R, Halayko AJ, et al. Increased expression of IL-33 in severe asthma: evidence of expression by airway smooth muscle cells. *J Immunol*. 2009;183:5094–103.

- 
- <sup>112</sup> Prefontaine D, Nadigel J, Chouiali F, Audusseau S, Semlali A, Chakir J, et al. Increased IL-33 expression by epithelial cells in bronchial asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2010; 125:752–54.
- <sup>113</sup> Bianchetti L, Marini MA, Isgro M, Bellini A, Schmidt M, Mattoli S. IL-33 promotes the migration and proliferation of circulating fibrocytes from patients with allergen-exacerbated asthma. *Biochem Biophys Res Commun.* 2012;426:116–21.
- <sup>114</sup> Ali M, Zhang G, Thomas WR, McLean CJ, Bizzintino JA, Laing IA, et al. Investigations into the role of ST2 in acute asthma in children. *Tissue Antigens.* 2009;73:206–212.
- <sup>115</sup> Belpinati F, Malerba G, Trabetti E, Galavotti R, Xumerle L, Pescollderung L, et al. Association of childhood allergic asthma with markers flanking the IL33 gene in Italian families. *J Allergy Clin Immunol.* 2011; 128: 667–68.
- <sup>116</sup> Savenije OEM, Kerkhof M, Reijmerink NE, Brunekreef B, de Jongste JC, Smit HA, et al. Interleukin-1 receptor-like 1 polymorphisms are associated with serum IL1RL1-a, eosinophils, and asthma in childhood. *J Allergy Clin Immunol.* 2011;127:750–56.
- <sup>117</sup> Saglani S, Lui S, Ullmann N, Campbell GA, Sherburn RT, Mathie SA et al. IL-33 promotes airway remodeling in pediatric patients with severe steroid-resistant asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2013;132: 676–85.
- <sup>118</sup> Hamzaoui A, Berraies A, Kaabachi W, Haifa M, Ammar J, Kamel H. Induced sputum levels of IL-33 and soluble ST2 in young asthmatic children. *J Asthma.* 2013;50: 803–09.
- <sup>119</sup> Haenuki Y, Matsushita K, Futatsugi-Yumikura S, Ishii KJ, Kawagoe T, Imoto Y, et al. A critical role of IL-33 in experimental allergic rhinitis. *J Allergy Clin Immunol.* 2012; 130:184-94.
- <sup>120</sup> Asaka D, Yoshikawa M, Nakayama T, Yoshimura T, Moriyama H, Otori N. Elevated levels of interleukin-33 in the nasal secretions of patients with allergic rhinitis. *Int Arch Allergy Immunol.* 2012;158: 47–50.
- <sup>121</sup> Buyschaert ID, Grulois V, Eloy P, Jorissen M, Rombaux P, Bertrand B, et al. Genetic evidence for a role of IL33 in nasal polyposis. *Allergy.* 2010;65:616–22
- <sup>122</sup> Salimi M, Barlow JL, Saunders SP, Xue L, Gutowska-Owsiak D, Wang X, et al. A role for IL-25 and IL-33-driven type-2 innate lymphoid cells in atopic dermatitis. *J Exp Med.* 2013; 210(13):2939–50.

- 
- <sup>123</sup> Imai Y, Yasuda K, Sakaguchi Y, Haneda T, Mizutani H, Yoshimoto T, et al. Skin-specific expression of IL-33 activates group 2 innate lymphoid cells and elicits atopic dermatitis-like inflammation in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013;110(34):13921–6.
- <sup>124</sup> Savinko T, Matikainen S, Saarialho-Kere U, Lehto M, Wang G, Lehtimäki S, et al. IL-33 and ST2 in atopic dermatitis: expression profiles and modulation by triggering factors. *J Invest Dermatol*. 2012; 132(5):1392–400.
- <sup>125</sup> Matsuda A, Okayama Y, Terai N, Yokoi N, Ebihara N, Tanioka H, et al. The role of interleukin-33 in chronic allergic conjunctivitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2009;50:4646-52.
- <sup>126</sup> Verri WA, Souto FO, Vieira SM, Almeida SC, Fukada SY, Xu D, et al. IL-33 induces neutrophil migration in rheumatoid arthritis and is a target of anti-TNF therapy. *Ann Rheum Dis*. 2010; 69:1697-703.
- <sup>127</sup> Xu D, Jiang HR, Kewin P, Li Y, Mu R, Fraser AR, et al. IL-33 exacerbates antigen-induced arthritis by activating mast cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105:10913-18.
- <sup>128</sup> Leung BP, Xu D, Culshaw S, McInnes IB, Liew FY. A novel therapy of murine collagen-induced arthritis with soluble T1/ST2. *J Immunol*. 2004; 173(1):145-50.
- <sup>129</sup> Xu D, Jiang HR, Li Y, Pushparaj PN, Kurowska-Stolarska M, Leung BP, et al. IL-33 exacerbates autoantibody-induced arthritis. *J Immunol*. 2010; 184(5):2620-6.
- <sup>130</sup> Hong YS, Moon SJ, Joo YB, Jeon CH, Cho ML, Ju JH, et al. Measurement of interleukin-33 (IL-33) and IL-33 receptors (sST2 and ST2L) in patients with rheumatoid arthritis. *J Korean Med Sci*. 2011; 26(9):1132-9.
- <sup>131</sup> Yang Z, Liang Y, Xi W, Li C, Zhong R. Association of increased serum IL-33 levels with clinical and laboratory characteristics of systemic lupus erythematosus in Chinese population. *Clin Exp Med*. 2011; 11(2):75-80.
- <sup>132</sup> Han GW, Zeng LW, Liang CX, Cheng BL, Yu BS, Li HM, et al. Serum levels of IL-33 is increased in patients with ankylosing spondylitis. *Clin Rheumatol*. 2011; 30(12):1583-8. Hamzaoui K, Kaabachi W, Fazaa B, Zakraoui L, Mili-Boussen I, Haj-Sassi F. Serum IL-33 levels and skin mRNA expression in Behçet's disease. *Clin Exp Rheumatol*. 2013; 31(77):6-14.
- <sup>133</sup> Barbour M, Allan D, Xu H, Pei C, Chen M, Niedbala W, et al. IL-33 attenuates the development of experimental autoimmune uveitis. *Eur. J. Immunol*. 2014; 44:3320-29.

- 
- <sup>134</sup> Beltran CJ, Nunez LE, Diaz-Jimenez D, Farfan N, Candia E, Heine C, et al. Characterization of the novel ST2/IL-33 system in patients with inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2010;16(7):1097–107.
- <sup>135</sup> Diaz-Jimenez D, Nunez LE, Beltran CJ, Candia E, Suazo C, Alvarez-Lobos M, et al. Soluble ST2: a new and promising activity marker in ulcerative colitis. *World J Gastroenterol*. 2011; 17(17):2181–90.
- <sup>136</sup> Sedhom MA, Pichery M, Murdoch JR, Foligne B, Ortega N, Normand S, et al. Neutralisation of the interleukin-33/ST2 pathway ameliorates experimental colitis through enhancement of mucosal healing in mice. *Gut*. 2013; 62(12):1714–23.
- <sup>137</sup> Seki K, Sanada S, Kudinova AY, Steinhauser ML, Handa V, Gannon J, et al. Interleukin-33 prevents apoptosis and improves survival after experimental myocardial infarction through ST2 signaling. *Circ Heart Fail*. 2009; 2(6):684-91
- <sup>138</sup> Weinberg EO, Shimpo M, Hurwitz S, Tominaga S, Rouleau JL, Lee RT. Identification of serum soluble ST2 receptor as a novel heart failure biomarker. *Circulation*. 2003;107(5):721–6.
- <sup>139</sup> McLaren JE, Michael DR, Salter RC, Ashlin TG, Calder CJ, Miller AM, et al. IL-33 reduces macrophage foam cell formation. *J Immunol*. 2010; 185:1222-9.
- <sup>140</sup> Miller AM, Asquith DL, Hueber AJ, Anderson LA, Holmes WM, McKenzie AN, et al. Interleukin33 induces protective effects in adipose tissue inflammation during obesity in mice. *Circ Res*.2010; 107:650-8.
- <sup>141</sup> Han JM, Wu D, Denroche HC, Yao Y, Verchere CB, Levings MK. IL-33 reverses an obesity-induced deficit in visceral adipose tissue ST2+ T regulatory cells and ameliorates adipose tissue inflammation and insulin resistance. *J Immunol*. 2015; 194(10):4777–83.
- <sup>142</sup> Milovanovic M, Volarevic V, Radosavljevic G, Jovanovic I, Pejnovic N, Arsenijevic N, et al. IL-33/ST2 axis in inflammation and immunopathology. *Immunol Res*. 2012; 52(1-2):89-99.
- <sup>143</sup> Reichenbach DK, Schwarze V, Matta BM, Tkachev V, Lieberknecht E, Liu Q, et al. The IL-33/ST2 axis augments effector T-cell responses during acute GVHD. *Blood*. 2015;125(20):3183–92.
- <sup>144</sup> Li P, Ma H, Han D, Mou K. Interleukin-33 affects cytokine production by keratinocytes in vitiligo. *Clin Exp Dermatol*. 2015; 40(2):163–70.

- 
- <sup>145</sup> Jovanovic IP, Pejnovic NN, Radosavljevic GD, Pantic JM, Milovanovic MZ, Arsenijevic NN, et al. Interleukin-33/ST2 axis promotes breast cancer growth and metastases by facilitating intratumoral accumulation of immunosuppressive and innate lymphoid cells. *Int J Cancer*. 2014; 134(7):1669–82.
- <sup>146</sup> Ouziel R, Gustot T, Moreno C, Arvanitakis M, Degré D, Trépo E, et al. The ST2 pathway is involved in acute pancreatitis: a translational study in humans and mice. 2012; *Am J Pathol*. 2012; 180: 2330-9.
- <sup>147</sup> Global Initiative for Asthma (GINA). 2018 GINA Report, global strategy for asthma management and prevention 2018. Revised 2018, March 5. Available from: <http://www.ginasthma.org/>
- <sup>148</sup> Pawankar R, Holgate TS, Canonica GW, Lockey FR, Blaiss SM. WAO White Book on Allergy 2013. Milwaukee: World Allergy Organization. Available from: <http://www.worldallergy.org/definingthespecialty/white-book.php>.
- <sup>149</sup> Bisgaard H, Szeffler S. Prevalence of asthma-like symptoms in young children. *Pediatr Pulmonol*. 2007;42:723-8.
- <sup>150</sup> Genuneit J, Jarvis D, Flohr C. The Asthma Epidemic – Global and Time Trends of Asthma in Adults. In: Akdis C, Agache, editors. *Global Atlas of Asthma*. Zurich: EAACI; 2013;10-3.
- <sup>151</sup> Ait-Khaled N, Pearce N, Anderson HR, Ellwood P, Montefort S, Shah J. Global map of the prevalence of symptoms of rhinoconjunctivitis in children: the international study of asthma and allergies in childhood (ISAAC) phase three. *Allergy*. 2009; 64:123-48.
- <sup>152</sup> Centers for Disease Control and Prevention. Current Asthma Prevalence 2015; Cited June 15, 2015. Available from: [https://www.cdc.gov/asthma/most\\_recent\\_data.htm](https://www.cdc.gov/asthma/most_recent_data.htm).
- <sup>153</sup> Accordini S, Corsico AG, Braggion M, Gerbase MW, Gislason D, Gulsvik A, et al. The cost of persistent asthma in Europe: an international population-based study in adults. *Int Arch Allergy Immunol*. 2013;160:93–101.
- <sup>154</sup> Burney P. Death and Disability due to Asthma. In: Akdis C, Agache, editors. *Global atlas of asthma*. Zurich: EAACI 2013; 14-7.
- <sup>155</sup> Živković Z, Vukašinović Z, Cerović S, Radulović S, Živanović S, Panić E, et al. Prevalence of childhood asthma and allergies in Serbia and Montenegro. *World J Pediatr*. 2010;6(4):331-6.

- 
- <sup>156</sup> O’Byrne P, Persson CG, Church MK. Cellular and mediator mechanisms of the early phase response. *Allergy*. 2001;325-36.
- <sup>157</sup> Pijnenburg MW, De Jongste JC. Exhaled nitric oxide in childhood asthma: a review. *Clin Exp Allergy*. 2008;38:246-59.
- <sup>158</sup> Jeffery P, Haahtela T. Allergic rhinitis and asthma: inflammation in a one-airway condition. *BMC Pulm Med*. 2006;6(1):5.
- <sup>159</sup> Boulet LP, Gauvreau G, Boulay ME, O’Byrne P, Cockcroft DW. The allergen bronchoprovocation model: an important tool for the investigation of new asthma antiinflammatory therapies. *Allergy*. 2007;62:1101-10.
- <sup>160</sup> Holgate ST. Epithelium dysfunction in asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2007;120:1233-44.
- <sup>161</sup> Bousquet J, Jefery PK, Busse WW, Johnson M, Vignola AM. From bronchoconstriction to airways inflammation and remodeling. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000;161:1720–45.
- <sup>162</sup> Van Hove C, Maes T, Joos GF, Tournoy KG. Chronic inflammation in asthma. A contest of persistence vs resolution. *Allergy*. 2008; 63:1095-09.
- <sup>163</sup> Brown RH, Pearse DB, Pyrgos G, Liu MC, Togias A, Permutt S. The structural basis of airways hyperresponsiveness in asthma. *J Appl Physiol*. 2006;101:30.
- <sup>164</sup> Ricciardolo FLM, Gaston B, Hunt J. Acid stress in the pathology of asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2004;113:610–9.
- <sup>165</sup> Montuschi P, Corradi M, Ciabattoni G, Nightingale J, Kharitonov SA, Barnes PJ. Increased 8-Isoprostane, a marker of oxidative stress, in exhaled condensates of asthmatic patients. *Am J Respir Crit Care Med*. 1999;160:216-20.
- <sup>166</sup> Paredi P, Kharitonov SA, Barnes PJ. Elevation of exhaled ethane concentration in asthma. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000;162:1450–4.
- <sup>167</sup> Fahy JV. Type 2 inflammation in asthma — present in most, absent in many. *Nat Rev Immunol*. 2015;15(1):57-65.
- <sup>168</sup> American Thoracic Society. Proceedings of the ATS workshop on refractory asthma: current understanding, recommendations, and unanswered questions. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000;162:2341-51
- <sup>169</sup> National Asthma Expert Panel Report 3 (EPR-3): Guidelines for the diagnosis and management of asthma-summary report 2007. *J All Clin Immunol*. 2007;120 (5):94-138.

- 
- <sup>170</sup> Bacharier LB, Boner A, Carlsen KH, Eigenmann PA, Frischer T, Götz M et al. Diagnosis and treatment of asthma in childhood: a PRACTALL consensus report. *Allergy*. 2008;63:5–34.
- <sup>171</sup> Ponsonby AL, Couper D, Dwyer T, Carmichael A. Cross sectional study of the relation between sibling number and asthma, hayfever and eczema. *Arc Di Child*. 1998;79:328-33.
- <sup>172</sup> Ponsonby AL, Couper D, Dwyer T, Carmichael A, Kemp A. Relationship between early life respiratory illness, family size over time, and the development of asthma and hay fever: a seven year follow up study. *Thorax*. 1999;54:664-9.
- <sup>173</sup> Miller MR, Hankinson J, Brusasco V, Burgos F, Casaburi R, Coates A, et al. Standardisation of spirometry. *Eur Respir J*. 2005;26(2):319-38
- <sup>174</sup> Enright PL, Lebowitz MD, Cockcroft DW. Physiologic measures: pulmonary function tests. *Am J Respir Crit Care Med*. 1994;149:9-18.
- <sup>175</sup> Jat KR. Spirometry in children. *Prim Care Respir J*. 2013;22(2):221-9.
- <sup>176</sup> Pavlov N. Testovi plućne funkcije u djece. *Paediatr Croat*. 2001; 45(1): 21-30.
- <sup>177</sup> Tiffeneau R, Pinelli A. Air circulant et captif dans l'exploration de la fonction ventilatrice pulmonaire. *Pris Med*. 1947;133:624-8
- <sup>178</sup> Huhnerbein J, Thal W, Schuster R, Sollich V. The significance of the flow-volume curve in pediatric lung diseases. *Kinderztl Prax*. 1991; 59 (5): 146-52.
- <sup>179</sup> Knudson RJ, Slatin RC, Lebowitz MD, Burrows B. The maximal expiratory flow-volume curve. Normal standards, variability and effects of age. *Am Rev Respir Dis*. 1976; 113: 587-600.
- <sup>180</sup> Zapletal A, Paul T, Samanek M. Die bedeutung methoden der lungenfunktionsdiagnostik zur feststellung einer obstruktion der atemwege bei kindern und jugendlichen. *Z Ekrank Atm-Org*. 1977; 149: 343-71.
- <sup>181</sup> Cockcroft DW. Bronchoprovocation methods: direct challenges. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2003;24:19-26.
- <sup>182</sup> Dekker FW, Schrier AC, Sterk PJ, Dijkman JH. Validity of peak expiratory flow measurement in assessing reversibility of airflow obstruction. *Thorax*. 1992;47:162-6.
- <sup>183</sup> Szeffler SJ, Wenzel S, Brown R, Erzurum SC, Fahy JV, Hamilton RG, et al. Asthma outcomes: biomarkers. *J Allergy Clin Immunol*. 2012; 129(3): 9–23.

- 
- <sup>184</sup> Bayes HK, Cowan DC. Biomarkers and asthma management: an update. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2016;16(3):210-7.
- <sup>185</sup> Arron JR, Izuhara K. Asthma biomarkers: what constitutes a ‘gold standard’? *Thorax.* 2015;70(2):105-7.
- <sup>186</sup> Wan XC, Woodruff PG. Biomarkers in Severe Asthma. *Biomarkers in Severe Asthma. Immunol Allergy Clin North Am.* 2016;36(3):547-57.
- <sup>187</sup> Moore EH. Radiologic evaluation of mediastinal masses. *Chest Surg Clin North Am.* 1992;2(1):9.
- <sup>188</sup> Sersar SI, Rizk WH, Bilal M. Inhaled foreign bodies: presentation, management and value of history and plain chest radiography in delayed presentation. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2006;134(1):92–9.
- <sup>189</sup> Gupta S, Siddiqui S, Haldar P, Raj JV, Entwisle JJ, Wardlaw AJ, et al. Qualitative analysis of high-resolution CT scans in severe asthma. *Chest.* 2009;136(6):1521–8.
- <sup>190</sup> Walker C, Gupta S, Raj V, Siddiqui S, Brightling CE. Imaging advances in asthma. *Expert Opin Med Diagn.* 2011;5:453–65.
- <sup>191</sup> Richards JC, Lynch D, Koelsch T, Dyer D. Imaging of Asthma. *Immunol Allergy Clin North Am.* 2016;36:529–45.
- <sup>192</sup> British Thoracic Society/Scottish Intercollegiate Guideline Network, British Guideline on the Management of Asthma (2016). Available online at: <https://www.brit-thoracic.org.uk/document-library/clinical-information/asthma/btssign-asthma-guideline-2016/>
- <sup>193</sup> Weinberger M, Abu-Hasan M. Pseudo-asthma: when cough, wheezing, and dyspnea are not asthma. *Pediat.* 2007;120(4):855-64.
- <sup>194</sup> Townshend J, Hails S, McKean M. Diagnosis of asthma in children. *Brit Med J.* 2007; 28335(7612):198-202.
- <sup>195</sup> Saglani S, Nicholson AG, Scallan M, Balfour-Lynn I, Rosenthal M, Payne DN et al. Investigation of young children with severe recurrent wheeze: any clinical benefit? *Eur Respir J.* 2006;27:29–35.



- 
- <sup>196</sup> Martinez FD, Wright AL, Taussig LM, Holberg CJ, Halonen M, Morgan WJ. Asthma and wheezing in the first six years of life. *N Engl J Med*.1995;332:133–8.
- <sup>197</sup> Oswald H, Phelan PD, Lanigan A, Hibbert M, Carlin JB, Bowes G, et al. Childhood asthma and lung function in mid-adult life. *Pediatr Pulmonol*.1997;23:14-20
- <sup>198</sup> Ernst P, Ghezzi H, Becklake MR. Risk factors for bronchial hyperresponsiveness in late childhood and early adolescence. *Eur Respir J*.2002;20(3):635-9.
- <sup>199</sup> De Marco R, Locatelli F, Cerveri I, Bugiani M, Marinoni A, Giammanco G. Incidence and remission of asthma: a retrospective study on the natural history of asthma in Italy. *J Allergy Clin Immunol*.2002;110(2):228-35.
- <sup>200</sup> De Sario M, Di Domenicantonio R, Corbo G, Forastiere F, Pistelli R, Rusconi F, et al. Characteristics of early transient, persistent, and late onset wheezers at 9 to 11 years of age. *J Asthma*.2006;43:633–8.
- <sup>201</sup> Midodzi WK, Rowe BH, Majaesic CM, Saunders LD, Senthilselvan A. Predictors for wheezing phenotypes in the first decade of life. *Respirology*.13(4):537-45.
- <sup>202</sup> Kurukulaaratchy RJ, Matthews S, Arshad SH. Does environment mediate earlier onset of the persistent childhood asthma phenotype? *Pediatrics*.2004;113:345-50.
- <sup>203</sup> Bisgaard H, Bønnelykke K. Long-term studies of the natural history of asthma in childhood. *J Allergy Clin Immunol*.2010;126(2):187-97.
- <sup>204</sup> Szeffler SJ, Chmiel JF, Fitzpatrick AM, Giacoia G, Green TP, Jackson DJ et al. Asthma across the ages: Knowledge gaps in childhood asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2014;133(1):3-13.
- <sup>205</sup> Rodriguez-Martinez CE, Sossa-Briceño MP, Castro-Rodriguez JA. Discriminative properties of two predictive indices for asthma diagnosis in a sample of preschoolers with recurrent wheezing. *Pediatr Pulmonol*. 2011;46(12):1175–81.
- <sup>206</sup> Veler H, Clayton GR. Asthma. In:Panitch BH. *Pediatric Pulmonology. The requisites in pediatrics*. Philadelphia:Mosby,inc. 2005.106-12.
- <sup>207</sup> Agertoft L, Pedersen S. Effect of long —term treatment with inhaled corticosteroids on growth and pulmonary function in asthmatic children.*Respir Med*.1994;88:373–81.
- <sup>208</sup> Allen DB. Safety of inhaled corticosteroids in children. *Pediatr Pulmonol*.2002;33(3):208-20.

- 
- <sup>209</sup> Loke YK, Blanco P, Thavarajah M, Wilson AM. Impact of inhaled corticosteroids on growth in children with asthma: systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2015;10(7):e0133428.
- <sup>210</sup> Fuhlbrigge AL, Kelly HW. Inhaled corticosteroids in children: effects on bone mineral density and growth. *Lancet Respir Med*. 2014;2:487–96.
- <sup>211</sup> Hossny E, Rosario N, Lee BW, Singh M, El-Ghoneimy D, Soh JY, et al. The use of inhaled corticosteroids in pediatric asthma: update. *World Allergy Organ J*. 2016;12:9-26.
- <sup>212</sup> Kelly HW, Sternberg AL, Lescher R, Fuhlbrigge AL, Williams P, Zeiger RS, et al. Effect of inhaled glucocorticoids in childhood on adult height. *New England Journal of Medicine*. 2012;367 (10):904–12.
- <sup>213</sup> Đukanović R, Wilson JW, Britten KM, Wilson SJ, Walls AF, Roche WR, Howarth PH, Holgate ST. Effect of an inhaled corticosteroid on airway inflammation and symptoms in asthma. *Am Rev Respir Dis*. 1992;145:669–74.
- <sup>214</sup> de Benedictis FM, Canny GJ, Levison H. The role of corticosteroids in respiratory diseases of children. *Pediatr Pulmonol*. 1996;22(1):44-57.
- <sup>215</sup> Belvisi MG. Regulation of inflammatory cell function by corticosteroids. *Proc Am Thorac Soc*. 2004;1:207–214.
- <sup>216</sup> de Benedictis FM, Bush A. Corticosteroids in respiratory diseases in children. *Am J Respir Crit Care Med*. 2012;185(1):12-23.
- <sup>217</sup> Silverstein MD, Yunginger JW, Reed CE, Petterson T, Zimmerman D, Li JTC, et al. Attained adult height after childhood asthma: effect of glucocorticoid therapy. *J All Clin Immunol*. 1997;99 (4):466–74.
- <sup>218</sup> Dahl R. Systemic side effects of inhaled corticosteroids in patients with asthma. *Respir Med*. 2006;100(8):1307-17.
- <sup>219</sup> Stoloff SW, Kelly HW. Updates on the use of inhaled corticosteroids in asthma. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2011;11(4):337-44.
- <sup>220</sup> Barnes PJ. Inhaled glucocorticoids for asthma. *N Engl J Med*. 1995;332:868-75.
- <sup>221</sup> Masoli M, Weatherall M, Holt S, Beasley R. Systematic review of the dose-response relation of inhaled fluticasone propionate. *Arch Dis Child*. 2004;89:902-7.

- 
- <sup>222</sup> Strunk RC, Sternberg AL, Szeffler SJ, Zeiger RS, Bender B, Tonascia J et al. Long-term budesonide or nedocromil treatment, once discontinued, does not alter the course of mild to moderate asthma in children and adolescents. *J Pediatr*.2009;154:682-7.
- <sup>223</sup> Erceg D, Nenadić N, Plavec D, Nogalo B, Turkalj M. Inhaled corticosteroids used for the control of asthma in a “real-life” setting do not affect linear growth velocity in prepubertal children. *Med Sci Monit*.2012;18:564-8.
- <sup>224</sup> Szeffler SJ. Current concepts in asthma treatment in children. *Curr Opin Pediatr*.2004; 6:299-304.
- <sup>225</sup> Drazen JM, Israel E, O’Byrne PM. Treatment of asthma with drugs modifying the leukotriene pathway. *N Engl J Med*.1999;340:197–206.
- <sup>226</sup> Becker A. Leukotriene receptor antagonists: efficacy and safety in children with asthma. *Pediatr Pulmonol*.2000;30(2):183-6.
- <sup>227</sup> Lipworth BJ. Leukotriene-receptor antagonists. *Lancet*.1999;353:57–62.
- <sup>228</sup> Lazarus SC, Boushey HA, Fahy JV, Chinchilli VM, Lemanske RF Jr, Sorkness CA, et al. Long-acting beta2-agonist monotherapy vs continued therapy with inhaled corticosteroids in patients with persistent asthma: a randomized controlled trial. *JAMA*. 2001;285(20):2583-93.
- <sup>229</sup> Woolcock A, Lundback B, Ringdal N, Jacques LA. Comparison of addition of salmeterol to inhaled steroids with doubling of the dose of inhaled steroids. *Am J Respir Crit Care Med*.1996;153:1481–8.
- <sup>230</sup> Ducharme FM, Ni Chroinin M, Greenstone I, Lasserson TJ. Addition of long-acting beta2-agonists to inhaled steroids versus higher dose inhaled steroids in adults and children with persistent asthma. *Cochrane Database. Syst Rev*. 2010:CD005533.
- <sup>231</sup> Stoloff SW. The changing role of theophylline in pediatric asthma. *Am Fam Physician*. 1994;49(4):839-44.
- <sup>232</sup> Tilley SL. Methylxanthines in asthma. *Handb Exp Pharmacol*. 2011;200:439-56.
- <sup>233</sup> Marks MB. Therapeutic efficacy of cromolyn in childhood asthma. *Am J Dis Child*. 1974;128(3):301-4.
- <sup>234</sup> Sellars WA, Pflanzler J. Cromolyn sodium in the treatment of asthma: its effectiveness and use. *South Med J*. 1975;68(8):970-5.
- <sup>235</sup> Sinniah A, Yazid S, Flower RJ. The Anti-allergic cromones: past, present, and future. *Front Pharmacol*.2017;8:827.

- 
- <sup>236</sup> van Asperen PP, Mellis CM, Sly PD, Robertson C. The role of corticosteroids in the management of childhood asthma. The Thoracic Society of Australia and New Zealand, 2010. Available from: <http://www.thoracic.org.au/clinicaldocuments/area?command=record&id=14>
- <sup>237</sup> Trevor JL, Chipps BE. Severe Asthma in Primary Care: identification and management. *Am J Med.* 2018;131(5):484-91.
- <sup>238</sup> Pepper AN, Renz H, Casale TB, Garn H. Biologic therapy and novel molecular targets of severe asthma. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2017;5:909–16.
- <sup>239</sup> Papadopoulos NG, Arakawa H, Carlsen KH, Ćustović A, Gern J, Lemanske R, et al. International consensus on (ICON) pediatric asthma. *Allergy.* 2012;67:976–97.
- <sup>240</sup> Bousquet J, Van Cauwenberge P, Khaltaev N. Aria Workshop Group; World Health Organization. Allergic rhinitis and its impact on asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2001; 108 (5): 147-334.
- <sup>241</sup> Linna O, Kokkonen J, Lukin M. A 10-year prognosis for childhood allergic rhinitis. *Acta Paediatr.* 1992; 81(2): 100-2.
- <sup>242</sup> Bousquet J, Khaltaev N, Cruz AA, Denburg J, Fokkens WJ, Togias A, et al. Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) 2008. update (in collaboration with the World Health Organization, GA (2) LEN and AllerGen). *Allergy* 2008; 63 (86): 8-160
- <sup>243</sup> Brožek JL, Bousquet J, Baene-Cagnani CE, Bonini S, Canonica GW, Casale TB, et al. Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) guidelines 2010. Revision. *J Allergy Clin Immunol.* 2010; 126: 466-76.
- <sup>244</sup> Marogna M, Massolo A, Berra D, Zanon P, Chiodini E, Canonica GW, et al. The type of sensitizing allergen can affect the evolution of respiratory allergy. *Allergy.* 2006;61:1209–1215.
- <sup>245</sup> Muraro A, Lemanske RF, Hellings PW, Akdis CA, Bieber T, Casale TB, et al. Precision medicine in patients with allergic diseases: Airway diseases and atopic dermatitis PRACTALL document of the European Academy of Allergy and Clinical Immunology and the American Academy of Allergy, Asthma & Immunology. *J Allergy Clin Immunol.* 2016; 1347-58.
- <sup>246</sup> Ohno T, Morita H, Arae K, Matsumoto K, Nakae S. Interleukin-33 in allergy. *Allergy.* 2012; 67(10):1203-14.

- 
- <sup>247</sup> Eiwegger T, Akdis CA. IL-33 links tissue cells, dendritic cells and Th2 cell development in a mouse model of asthma. *Eur J Immunol*. 2011; 41(6):1535-8.
- <sup>248</sup> Richter D. Osobitosti alergijskog rinitisa u djece. *Acta Med Croat*. 2011; 65: 163-8.
- <sup>249</sup> Ricca V, Landi M, Ferrero P, Bairo A, Tazzer C, Canonica W, et al. Minimal persistent inflammation is also present in patients with seasonal allergic rhinitis. *J Allergy Clin Immunol*. 2000; 105 (1): 54-7.
- <sup>250</sup> Smurthwaite L, Durham SR. Local IgE synthesis in allergic rhinitis and asthma. *Curr Allergy Asthma Rep*. 2002; 2 (3): 231-8.
- <sup>251</sup> Leynaert B, Neukirch F, Demoly P, Bousquet J. Epidemiologic evidence for asthma and rhinitis comorbidity. *J Allergy Clin Immunol*. 2000; 106 (5): 201-5.
- <sup>252</sup> Giavina-Bianchi P, Aun MV, Takejima P, Kalil J, Agondi RC. United airway disease: current perspectives. *J Asthma Allergy*. 2016; 9:93.
- <sup>253</sup> Barr JG, Al-Reefy H, Fox AT, Hopkins C. Allergic rhinitis in children. *BMJ* 2014; 348: 4153.
- <sup>254</sup> Bousquet J, Van Cauwenberge P, Bachert C, Canonica GW, Demoly P, Durham SR, et al. Requirements for medications commonly used in the treatment of allergic rhinitis. European academy of allergy and clinical immunology (EAACI), allergic rhinitis and its impact on asthma (ARIA). *Allergy* 2003; 58: 192–7.
- <sup>255</sup> Bousquet J, Khaltaev N, Cruz AA, Denburg J, Fokkens WJ, Togias A, et al. Allergic rhinitis and its impact on asthma (ARIA) 2008 update (in collaboration with the World Health Organization, GA(2)LEN and Allergen). *Allergy* 2008; 63: 10–89.
- <sup>256</sup> Roberts G, Xatzipsalti M, Borrego LM, Custovic A, Halcken S, Hellings PW et al. Paediatric rhinitis: position paper of the European academy of allergy and clinical immunology. *Allergy*. 2013; 68: 1102-16.
- <sup>257</sup> Small P, Kim H. Allergic Rhinitis. *Allergy, Asthma & Clin Immunol*. 2011;7(1):3.
- <sup>258</sup> Jones NS, Fergie N. Allergic rhinitis in children: management guidelines. *Bull Immun Aller*. 2004; 3(3): 68-72.
- <sup>259</sup> Moinuddin R, deTineo M, Maleckar B, Naclerio RM, Baroody FM. Comparison of the combinations of fexofenadine-pseudoephedrine and loratadine-montelukast in the treatment of seasonal allergic rhinitis. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2004; 92:73-9.
- <sup>260</sup> Greiner A, Hellings P, Rotiroti G, Scadding G. Allergic rhinitis. *Lancet*. 2011; 378: 2112-22.

- 
- <sup>261</sup> Long AA. Monoclonal antibodies and other biologic agents in the treatment of asthma. *Epub*. 2009;1(3):237-46. Manka LA, Wechsler ME. New biologics for allergic diseases. *Expert Rev Clin Immunol*. 2018;14(4):285-96.
- <sup>262</sup> McCracken JL, Tripple JW, Calhoun WJ. Biologic therapy in the management of asthma. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2016 Aug;16(4):375-82.
- <sup>263</sup> Angkasekwinai P. Houston: The University of Texas Graduate School of Biomedical Sciences; The Role of IL-25 in Allergic Lung Disease. 2009.
- <sup>264</sup> Yssel H, Groux H. Characterization of T cell subpopulations involved in the pathogenesis of asthma and allergic diseases. *Int Arch Allergy Immunol*. 2000; 121:2-18.
- <sup>265</sup> Kurowska-Stolarska M, Kewin P, Murphy G, Russo RC, Stolarski B, Garcia CC, et al. IL-33 induces antigen-specific IL-5+T cells and promotes allergic-induced airway inflammation independent of IL-4. *J Immunol*. 2008;181:4780-90
- <sup>266</sup> Yagami A, Orihara K, Morita H, Futamura K, Hashimoto N, Matsumoto K, et al. IL-33 mediates inflammatory responses in human lung tissue cells. *J Immunol*. 2010;185:5743-50.
- <sup>267</sup> Kaur D, Gomez E, Doe C, Berair R, Woodman L, Saunders R, et al. IL-33 drives airway hyper-responsiveness through IL-13-mediated mast cell: airway smooth muscle crosstalk. *Allergy*. 2015;70:556-67.
- <sup>268</sup> Bahrami MS, Movahedi M, Aryan Z, Bahar MA, Rezaei A, Sadr M, et al. Serum IL-33 Is Elevated in Children with Asthma and Is Associated with Disease Severity. *Int Arch Allergy Immunol*. 2015;168:193-6.
- <sup>269</sup> Wang Y, Wang L, Hua S. Interleukin-33 in children with asthma: A systematic review and metaanalysis. *Allergol Immunopathol*. 2017;45:387-92.
- <sup>270</sup> Momen T, Ahanchian H, Reisi M, Shamsdin SA, Shahsanai A, Keivanfar M. Comparison of interleukin-33 serum levels in asthmatic patients with a control group and relation with the severity of the disease. *Int J Prev Med*. 2017; 8:65.
- <sup>271</sup> Raeiszadeh Jahromi S, Mahesh PA, Jayaraj BS, Madhunapantula SR, Holla AD, Vishweswaraiiah S, et al. Serum levels of IL-10, IL-17f and IL-33 in patients with asthma: a case-control study. *J Asthma*. 2014;51(10):1004-13.
- <sup>272</sup> Iikura M, Suto H, Kajiwara N, Oboki K, Ohno T, Okayama Y, et al. IL-33 can promote survival, adhesion and cytokine production in human mast cells. *Lab. Invest*. 2007; 87: 971-8.

- 
- <sup>273</sup> Hamilton RG, Williams PB. Specific IgE testing task force of the American academy of allergy, asthma & immunology; American college of allergy, asthma and immunology. *J Allergy Clin Immunol*. 2010; 126: 33-8.
- <sup>274</sup> Barnes PJ, Pedersen S, Busse WW. Efficacy and safety of inhaled corticosteroids. *New developments. Am J Respir Crit Care Med*. 1998; 157(3):1-53.
- <sup>275</sup> Van Rensen EL, Straathof KC, Veselic-Charvat MA, Zwinderman AH, Bel EH, Sterk PJ. Effect of inhaled steroids on airway hyperresponsiveness, sputum eosinophils, and exhaled nitric oxide levels in patients with asthma. *Thorax*. 1999; 54:403–8.
- <sup>276</sup> Chung KF. Airway smooth muscle cells: contributing to and regulating airway mucosal inflammation? *Eur Respir J*. 2000; 15:961–8.
- <sup>277</sup> Kabata H, Moro K, Fukunaga K, Suzuki Y, Miyata J, Masaki K, et al. Thymic stromal lymphopoietin induces corticosteroid resistance in natural helper cells during airway inflammation *Nat Commun*. 2013; 4: 2675.
- <sup>278</sup> Platts-Mills TA. The role of immunoglobulin E in allergy and asthma *Am J Respir Crit Care Med*. 2001; 164:1-5.
- <sup>279</sup> Busse WW, Sedgwick JB. Eosinophils in asthma. *Ann Allergy*. 1992;68:286–90.
- <sup>280</sup> Trivedi SG, Lloyd CM. Eosinophils in the pathogenesis of allergic airways disease. *Cell Mol Life Sci*. 2007; 64(10):1269–89.
- <sup>281</sup> Brightling CE. Eosinophils, bronchitis and asthma: pathogenesis of cough and airflow obstruction. *Pulm Pharmacol Ther*. 2001;24(10):324–7.
- <sup>282</sup> Sonar SS, Ehmke M, Marsh L, Dietze J, Dudda JC, Conrad ML, et al. Clara cells drive eosinophil accumulation in allergic asthma. *Eur Respir J*. 2012; 39: 429–38
- <sup>283</sup> Pope SM, Brandt EB, Mishra A, Hogan SP, Zimmermann N, Matthaei KI, et al. IL-13 induces eosinophil recruitment into the lung by an IL-5- and eotaxin-dependent mechanism. *J. Allergy Clin Immunol*. 2001; 108: 594–601.
- <sup>284</sup> Johnston LK, Bryce PJ. Understanding Interleukin 33 and its roles in eosinophil development. *Front Med*. 2017; 4:51.
- <sup>285</sup> Costa JJ, Weller PF, Galli SJ. The cells of the allergic response: mast cells, basophils, and eosinophils. *JAMA*. 1997; 278: 1815-22.
- <sup>286</sup> Oettgen HC, Geha RS. IgE in asthma and atopy: cellular and molecular connections. *J Clin Invest*. 1999; 104(7):829-35. Williams CM, Galli SJ. The diverse potential effector

---

and immunoregulatory roles of mast cells in allergic disease. *J Allergy Clin Immunol.* 2000;105(5):847-59.

<sup>287</sup> Patalano F. Injection of anti-IgE antibodies will suppress IgE and allergic symptoms. *Allergy.* 1999; 54(2):103-10.

<sup>288</sup> Platts-Mills TA, Vaughan JW, Carter MC, Woodfolk JA. The role of intervention in established allergy: avoidance of indoor allergens in the treatment of chronic allergic disease. *J Allergy Clin Immunol.* 2000; 106(5):787-804.

<sup>289</sup> Hastie AT, Rector B, Moore WC, Li H, Peters SP, Meyers DA, et al. Serum and sputum interleukin-33 (IL-33) levels show no association with serum total IgE, positive skin test number, exhaled nitric oxide, or increasing severity of atopic asthma. *Am J Respir Crit Care Med.* 2013;187:1008.

<sup>290</sup> Azazi EA, Berraies A, Kaabachi W, Haifa M, Ammar J, Kamel H. Serum levels of Interleukin-33 and its soluble receptor ST2 in asthmatic patients. *Egypt J Chest Dis Tuberc.* 2013; 63(2): 279-84.

<sup>291</sup> Stone KD, Prussin C, Metcalfe DD. IgE, mast cells, basophils, and eosinophils. *J Allergy Clin Immunol.* 2010; 125:73.

<sup>292</sup> Jat KR. Spirometry in children. *Prim Care Respir J.* 2013; 22(2): 221-9.

<sup>293</sup> Guo Z, Wu J, Zhao J, Liu F, Chen Y, Bi L, et al. IL-33 promotes airway remodeling and is a marker of asthma disease severity. *J Asthma.* 2014;51:863-9.

<sup>294</sup> Janeva-Jovanovska E, Dokic D, Jovkovska-Kaeva B, Breskovska G, Goseva Z, Minov J, et al. Relationship between vitamin D, inflammation and lung function in patients with severe uncontrolled asthma. *Op Acc Maced J Med Sci.* 2017;5(7):899-903.

<sup>295</sup> Leung TF, Sy HY, Tang MF, Tam WW, Chan WC, Li CY. IL33 may modulate longitudinal changes of spirometric indices in Chinese children with asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2016; 137 (2):105.

<sup>296</sup> Préfontaine D, Lajoie-Kadoch S, Foley S, Audusseau S, Olivenstein R, Halayko AJ, et al. Increased expression of IL-33 in severe asthma: evidence of expression by airway smooth muscle cells. *J Immunol.* 2009; 183(8):5094-103.

<sup>297</sup> Castanhinha S, Sherburn R, Walker S, Gupta A, Bossley CJ, Buckley J, et al. Pediatric severe asthma with fungal sensitization is mediated by steroid-resistant IL-33. *J Allergy Clin Immunol.* 2015; 136:312-22.



- 
- <sup>298</sup> de Groot EP, Duiverman EJ, Brand PL. Comorbidities of asthma during childhood: possibly important, yet poorly studied. *Eur Respir J*. 2010;36(3):671–8.
- <sup>299</sup> Compalati E, Ridolo E, Passalacqua G, Braido F, Villa E, Canonica GW. The link between allergic rhinitis and asthma: the united airways disease. *Expert Rev Clin Immunol*. 2010; 6(3):413-23.
- <sup>300</sup> Kapsali T, Horowitz E, Diemer F, Togias A. Rhinitis is ubiquitous in allergic asthmatics. *J Allergy Clin Immunol*. 1997; 99:138.
- <sup>301</sup> Bonanno A, Gangemi S, La Grutta S, Malizia V, Riccobono L, Colombo P, et al. 25-hydroxyvitamin D, IL-31, and IL-33 in children with allergic disease of the airways. *Mediators of Inflamm*. 2014; 2014:10.
- <sup>302</sup> Kitamura Y, Mizuguchi H, Ogishi H, Kuroda W, Hattori M, Fukui H, et al. Preseasonal prophylactic treatment with antihistamines suppresses IL-5 but not IL-33 mRNA expression in the nasal mucosa of patients with seasonal allergic rhinitis caused by Japanese cedar pollen. *Acta Otolaryngol*. 2012; 132(4):434-8.
- <sup>303</sup> Weiss ST, Gold DR. Gender differences in asthma. *Pediatr Pulmonol*. 1995;19:153-5
- <sup>304</sup> Ford ES. The epidemiology of obesity and asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2005; 115:897-909
- <sup>305</sup> Ponsonby AL, Couper D, Dwyer T, Carmichael A. Cross sectional study of the relation between sibling number and asthma, hay fever, and eczema. *Arch Dis Child*. 1998;79:328-33.
- <sup>306</sup> Neuman Å, Hohmann C, Orsini N, Pershagen G, Eller E, Kjaer HF et al. Maternal smoking in pregnancy and asthma in preschool children: a pooled analysis of eight birth cohorts. *Am J Respir Crit Care Med*. 2012; 186(10):1037-43.
- <sup>307</sup> Chilmonczyk BA, Salmun LM, Megathlin KN, Neveux LM, Palomaki GE, Knight GJ, et al. Association between exposure to environmental tobacco smoke and exacerbations of asthma in children. *N Engl J Med*. 1993;328:1665–9.
- <sup>308</sup> McCarville M, Sohn MW, Oh E, Weiss K, Gupta R. Environmental tobacco smoke and asthma exacerbations and severity: the difference between measured and reported exposure. *Arch Dis Child*. 2013;98:510–4.
- <sup>309</sup> Pace E, Di Sano C, Sciarrino S, Scafidi V, Ferraro M, Chiappara G, et al. Cigarette smoke alters IL-33 expression and release in airway epithelial cells. *Biochim Biophys Acta*. 2014; 1842(9):1630-7.

- 
- <sup>310</sup> Kearley J, Silver JS, Sanden C, Liu Z, Berlin AA, White N, et al. Cigarette smoke silences innate lymphoid cell function and facilitates an exacerbated type I interleukin-33-dependent response to infection. *Immunity*. 2015; 42(3):566-79.
- <sup>311</sup> Bager P, Wohlfahrt J, Westergaard T. Caesarean delivery and risk of atopy and allergic disease: meta-analyses. *Clin Exp Allergy*. 2008;38(4): 634-42.
- <sup>312</sup> Thavagnanam S, Fleming J, Bromley A, Shields MD, Cardwell CR. A meta-analysis of the association between Caesarean section and childhood asthma. *Clin Exp Allergy*. 2008; 38(4): 629-33.
- <sup>313</sup> Sevelsted A, Stokholm J, Bønnelykke K, Bisgaard H. Risk of asthma from cesarean delivery depends on membrane rupture. *Pediatrics*. 2016; 135 (1): 38–42.
- <sup>314</sup> Jaakkola JJ, Ahmed P, Ieromnimon A, Goepfert P, Laiou E, Quansah R, et al. Preterm delivery and asthma: a systematic review and meta-analysis. *J Allergy Clin Immunol*. 2006;118:823-30.
- <sup>315</sup> Sonnenschein-van der Voort AM, Arends LR, de Jongste JC, Annesi-Maesano I, Arshad SH, Barros H, et al. Preterm birth, infant weight gain, and childhood asthma risk: A meta-analysis of 147,000 European children. *J Allergy Clin Immunol*. 2014; 133(5):1317-29.
- <sup>316</sup> Dogaru CM, Nyffenegger D, Pescatore AM, Spycher BD, Kuehni CE. Breastfeeding and childhood asthma: systematic review and meta-analysis. *Comment in Am J Epidemiol*. 2014;179(10):1171-2.
- <sup>317</sup> Zhu WJ, Ma HX, Cui HY, Lu X, Shao MJ, Li S, et al. Prevalence and treatment of children's asthma in rural areas compared with urban areas in Beijing. *Chin Med J*. 2015; 128:2273-7.
- <sup>318</sup> Garcia-Marcos L, Mallol J, Solé D, Brand PL, Martinez-Torres A, Sanchez-Solis M. EISL Study Group. International study of wheezing in infants: risk factors in affluent and non-affluent countries during the first year of life. *Pediatr Allergy Immunol*. 2010;21:878-88
- <sup>319</sup> Branco PT, Nunes RA, Alvim-Ferraz MC, Martins FG, Ferraz C, Vaz LG, et al. Asthma prevalence and risk factors in early childhood at Northern Portugal. *Rev Port Pneumol*. 2016; 22(3): 146-50.
- <sup>320</sup> Cassell HR, Stern DA, Wright AL, Martinez FD. Early onset eczema and the association with early onset asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2018;141(2):130.

- 
- <sup>321</sup> Saunes M, Øien T, Dotterud CK, Romundstad PR, Storrø O, Holmen TL, et al. "Early eczema and the risk of childhood asthma: a prospective, population-based study. *BMC Pediatrics*. 2012; 10(24): 168.
- <sup>322</sup> James KM, Gebretsadik T, Escobar GJ, Wu P, Carroll KN, Li SX, et al. Risk of childhood asthma following infant bronchiolitis during RSV season. *J Allergy Clin Immunol*. 2013;132(1):227-9.
- <sup>323</sup> Törmänen S, Lauhkonen E, Riikonen R, Koponen P, Huhtala H, Helminen M, et al. Risk factors for asthma after infant bronchiolitis. *Allergy*. 2018;73(4):916-22.
- <sup>324</sup> Bibi H, Shoseyov D, Feigenbaum D, Nir P, Shiachi R, Scharff S, et al. Comparison of positive allergy skin tests among asthmatic children from rural and urban areas living within small geographic area. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2002;88(4):416–20.
- <sup>325</sup> Leung R, Ho P, Lam CW, Lai CK. Sensitization to inhaled allergens as a risk factor for asthma and allergic diseases in Chinese population. *J Allergy Clin Immunol*. 1997;99(5):594–9.
- <sup>326</sup> Commey JO, Haddock DR. Skin sensitivity to house dust mite extracts in Ghanaian asthmatics in Accra. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1973;67(1):109–11.
- <sup>327</sup> Lei Y, Boinapally V, Zoltowska A, Adner M, Hellman L, Nilsson G. Vaccination against IL-33 inhibits airway hyperresponsiveness and inflammation in a house dust mite model of asthma. *PLoS ONE*. 2015; 10(7): e0133774.

**PROTOKOL ISTRAŽIVANJA U ISPITIVANOJ GRUPI**

<b>ANAMNESTIČKI PODACI</b>	
<b>Osnovni podaci o pacijentu</b>	
<b>Ime i prezime:</b>	
<b>Datum rođenja:</b>	
<b>Pol:</b>	a) muški b) ženski
<b>Adresa i broj telefona :</b>	
<b>Dijagnoza</b> 1. Asthma allergica 2. Rhinitis allergica 3. Conjunctivitis allergica 4. _____	
<b>Ishrana</b> 1. Prirodna do 6 meseci ili duže природна до 6 месеци или дуже 2. veštačka 3. kombinovana (veštačka+prirodna)	
<b>Pozitivan prick test na nutritivne alergene (ranije rađen)</b> 1. da, naziv alergena _____ 2. ne 3. nije rađen	
<b>Pozitivan prick test na inhalatorne alergene (ranije rađen)</b> 1. da, naziv alergena _____ 2. ne	
<b>Pozitivna porodična anamneza u pravcu atopije</b> 1. kod roditelja: _____ 2. kod brata i/ili sestre _____ 3. kod daljih srodnika _____ 4. negativna	

**PROTOKOL ISTRAŽIVANJA U ISPITIVANOJ GRUPI**

<b>Kašalj i karakteristike kašlja</b>			
a) prisutan			
Noćni	1. Da		
	2. Ne		
Produktivan	1. Da		
	2. Ne		
Suv	1. Da		
	2. Ne		
U fizičkoj aktivnosti	1. Da		
	2. Ne		
U miru	1. Da		
	2. Ne		
b.) odsutan			
<b>Uzrast kada je postavljena dijagnoza alergijske astme</b>			
1. U prvoj godini: _____ meseci			
2. U predškolskom uzrastu (2-6 godine): _____ god.			
3. U školskom uzrastu (posle 7 godine): _____ god.			
<b>Vreme proteklo od ukidanja profilakse</b>			
1. 6 -12 месеци _____ meseci			
2. више од 12 месеци _____ god.			
<b>Lekovi koji su korišćeni u profilaksi:</b>			
<b>FIZIČKI NALAZ</b>			
Posmatrane vrednosti	UKLJUČIVANJE	3 MESEC	6 MESEC
TM	X	X	X
TT	X	X	X
BMI	X	X	X
SaO2	X	X	X
P	X	X	X
R	X	X	X
Auskultatorni nalaz:	X	X	X
1. uredan	X	X	X
2. vizing +	X	X	X
3. vizing –	X	X	X
4. ranoinspiratorni i ekspiratorni pukoti	X	X	X

---

**PRILOG BR. 1****PROTOKOL ISTRAŽIVANJA U ISPITIVANOJ GRUPI**

<b>LABORATORIJSKI NALAZI</b>			
Posmatrane vrednosti	UKLJUČIVANJE	3 MESEC	6 MESEC
Le (G/L)	X		X
1. neutr (G/L)	X		X
2. lymph (G/L)	X		X
3. eoz (G/L)	X		X
4. mon (G/L)	X		X
Eo u nazalnom sekretu	X		X
UkupniIgE u serumu	X		X
Prick test na inhalatorne alergene	X		
Nivo IL-33 u serumu:	X		X
Spiromterijski parametri: FVC FEV1/VC, FEV1, PEF, MEF 75/25 ( % act./pred.)	X	X	X
Bronhodilatatorni test + (+FEV >11%)	X		
<b>PODACI O LEKOVIMA</b>			
1. Korišćena terapija alergijske astme tokom perioda praćenja:			
Naziv leka:			
Doza leka:			
Režim uzimanja:			

**PROTOKOL ISTRAŽIVANJA U KONTROLNOJ GRUPI**

1. Ime i prezime:
2. Datum rođenja:
3. Adresa i kontakt telefon :
4. Pol: a) muški b) ženski
5. TM _____; TV _____; BMI: _____;
6. Ispitivanje preosetljivosti na lek:
7. Nivo IL-33 u serumu (pg/L):

---

**PRILOG BR. 3**

**PRISTANAK INFORMISANOG PACIJENTA  
INFORMACIJA ZA RODITELJE ISPITIVANE GRUPE**

Poštovani,

Na Institutu za zdravstvenu zaštitu dece i omladine Vojvodine u Novom Sadu, Hajduk Veljkova 10, sprovodi se ispitivanje čiji će rezultati činiti doktorsku tezu autora dr Borka Milanovića, sa naslovom «Uticaj šestomesečne inhalatorne kortikosteroidne terapije na vrednosti interleukina-33 u serumu kod dece sa alergijskom astmom». Molim Vas da dozvolite uključivanje Vašeg deteta u ovo ispitivanje.

Cilj ispitivanja je da se utvrdi da li interleukin-33, materija koja se stvara u organizmu i značajna je za nastanak mnogih zapaljenskih bolesti, ima ulogu u pojavi alergijske astme. Mehanizmi koji dovode do ispoljavanja bolesti od koje je Vaše dete obolelo nisu u potpunosti poznati. Dosadašnja istraživanja su pokazala da interleukin-33 može imati i ulogu u prilagođavanju lečenja.

Ispitivanje je planirano tako da se nakon pregleda deteta, istovremeno sa drugim uobičajenim laboratorijskim analizama koje se rade u cilju procene težine bolesti ili kontrole zdravstvenog stanja, uzme krv i za određivanje interleukina-33. Uobičajene laboratorijske analize rade se nezavisno od toga da li Vaše dete učestvuje ili ne u ovom ispitivanju, jer su deo standardnog praćenja dece sa alergijskom astmom. Neće biti posledica po Vaše dete zbog uzimanja krvi za određivanje interleukina-33.

Učestvovanje je dobrovoljno. Eventualno odbijanje neće imati uticaja na dalje lečenje Vašeg deteta. Od učešća u ispitivanju ne treba očekivati materijalnu korist, niti ćete snositi troškove određivanja interleukina-33. U bilo kom trenutku ispitivanja Vaše dete može da iz njega istupi, bez ikakvih posledica.

Svi podaci dobijeni ovim ispitivanjem biće čuvani u tajnosti od drugih lica, a koristiće se samo u naučnim publikacijama i bez otkrivanja identiteta Vašeg deteta.

O vrednosti interleukina-33 kod Vašeg deteta, ukoliko Vas interesuje, bićete obavešteni (usmeno ili pismeno) i o tome možemo prodiskutovati.

Unapred Vam se zahvaljujem na razumevanju i Vašoj saglasnosti za korišćenje medicinskih podataka o Vašem detetu.

S poštovanjem,

---

dr Borko Milanović



### **INFORMACIJA ZA DETE ISPITIVANE GRUPE**

Molim te da se uključiš u ispitivanje koje se sprovodi na Institutu za zdravstvenu zaštitu dece i omladine Vojvodine u Novom Sadu, Hajduk Veljkova 10.

Ispitivanje je planirano tako da Ti se nakon pregleda, istovremeno sa drugim uobičajenim laboratorijskim analizama, koje se rade nezavisno od toga da li učestvuješ ili ne u ovom ispitivanju, uzme krv, što neće imati posledice po Tvoje zdravlje.

Tvoje učestvovanje je dobrovoljno. Od učešća u ispitivanju ne treba očekivati materijalnu korist. Odbijanje neće imati uticaja na dalje lečenje. U bilo kom trenutku ispitivanja možeš da odustaneš, bez ikakvih posledica.

Svi Tvoji podaci i rezultati biće čuvani u tajnosti od drugih lica.

S poštovanjem,

---

dr Borko Milanović

### **INFORMACIJA ZA RODITELJE KONTROLNE GRUPE**

Poštovani,

Na Institutu za zdravstvenu zaštitu dece i omladine Vojvodine u Novom Sadu, Hajduk Veljkova 10, sprovodi se ispitivanje čiji će rezultati činiti doktorsku tezu autora dr Borka Milanovića, sa naslovom « Uticaj šestomesečne inhalatorne kortikosteroidne terapije na vrednosti interleukina-33 u serumu kod dece sa alergijskom astmom ». Molim Vas da dozvolite uključivanje Vašeg deteta u ovo ispitivanje.

Cilj ispitivanja je da se utvrdi da li interleukin-33, materija koja se stvara u organizmu i značajna je za nastanak mnogih zapaljenskih bolesti, ima ulogu u pojavi alergijske astme.

Mehanizmi koji dovode do ispoljavanja ove bolesti nisu u potpunosti poznati.

Ispitivanje je planirano tako da se istovremeno sa drugim laboratorijskim analizama koje je potrebno uraditi u sklopu ispitivanja alergije na lekove, uzme krv i za određivanje interleukina-33, što neće imati posledice po zdravlje Vašeg deteta.

Učestvovanje je dobrovoljno. Eventualno odbijanje neće imati uticaja na dalje lečenje Vašeg deteta. Od učešća u ispitivanju ne treba očekivati materijalnu korist, niti će te

---

**PRILOG BR. 3**

snositi troškove određivanja interleukina-33. U bilo kom trenutku ispitivanja Vaše dete može da iz njega istupi, bez ikakvih posledica.

Svi podaci dobijeni ovim ispitivanjem biće čuvani u tajnosti od drugih lica, a korišćiće se samo u naučnim publikacijama i bez otkrivanja identiteta Vašeg deteta.

O vrednosti interleukina-33 kod Vašeg deteta, ukoliko Vas interesuje, bićete obavešteni (usmeno ili pismeno) i o tome možemo prodiskutovati.

S poštovanjem,

---

dr Borko Milanović

**INFORMACIJA ZA DETE KONTROLNE GRUPE**

Molim te da učestvuješ u ispitivanju koje se sprovodi na Institutu za zdravstvenu zaštitu dece i omladine Vojvodine u Novom Sadu, Hajduk Veljkova 10.

Ispitivanje je planirano tako da Ti se istovremeno sa drugim laboratorijskim analizama koje je potrebno uraditi u sklopu ispitivanja alergije na lekove, uzme krv, što neće imati posledice po Tvoje zdravlje.

Tvoje učestvovanje je dobrovoljno. Od učešća u ispitivanju ne treba očekivati materijalnu korist. Odbijanje neće imati uticaja na dalje lečenje. U bilo kom trenutku ispitivanja možeš da odustaneš bez ikakvih posledica.

Svi Tvoji podaci i rezultati biće čuvani u tajnosti od drugih lica.

S poštovanjem,

---

dr Borko Milanović

---

**PRILOG BR. 3**

**PRISTANAK RODITELJA/ZAKONSKOG STARAOCA**

Pročitao/la sam tekst o svrsi i načinu istraživanja. Nakon konsultacija i razgovora sa lekarom koji vodi ovo istraživanje, pristajem da podaci iz medicinske dokumentacije budu korišćeni u izradi doktorske disertacije i u naučnim publikacijama.

Potpis roditelja/zakonskog staraoca:

\_\_\_\_\_

Mesto i datum:

\_\_\_\_\_

Potpis lekara koji vodi ispitivanje:

\_\_\_\_\_

**PRISTANAK DETETA**

Pročitao/la sam tekst i razgovarao/la sam sa lekarom koji vodi ispitivanje. Razumeo/la sam zašto i kako će se sprovesti ispitivanje. Sam/a sam odlučio/la da želim da učestvujem i da niko neće znati moje podatke i rezultate. Ne očekujem materijalnu korist i jasno mi je da svakog trenutka mogu da odustanem.

Dobrovoljno pristajem da se dobijeni podaci koriste u navedenom naučnom istraživanju.

Potpis deteta:

\_\_\_\_\_

Mesto i datum:

\_\_\_\_\_

Potpis lekara koji vodi ispitivanje:

\_\_\_\_\_