



УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА

Цвета Шпадијер - Мирковић

**Значај одређивања медијатора инфламације у носном секрету
за процену интензитета запаљења у алергијском ринитису**

Докторска дисертација

Крагујевац, 2016. година



УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА

Цвета Шпадијер -Мирковић

**Значај одређивања медијатора инфламације у носном секрету
за процену интензитета запаљења у алергијском ринитису**

Докторска дисертација

Ментор: Доц. др Александар Перић

Крагујевац, 2016. година

Захваљујем се свом ментору, доц. др сц мед. Александру Перићу, на несебичној подршци у свакодневном клиничком раду, труду и разумевању током дизајнирања студије и израде доктората.

Велику захвалност дугујем проф. др сц мед. Данилу Војводићу на помоћи у имунолошкој анализи узорка носног секрета.

На помоћи током одабира пацијената, сакупљања и обради узорака захваљујем се драгим колегиницама, колегама, као и особљу Клинике за оториноларингологију и Институту за медицинска истраживања Војномедицинске академије.

Мојим родитељима, породици и сину Луки велико хвала на вери, љубави и подршци.

Садржај

1. УВОД.....	1
1.0 Историјат	1
1.1 Алергени.....	4
Класификација алергена	5
1.2 Дефиниција ринитиса.....	7
1.2.1 Класификација ринитиса.....	7
1.2.2 Класификација алергијског ринитиса.....	8
1.2.3 Дефиниција и класификација хроничног полипозног риносинуситиса	9
1.3 Епидемиологија алергијског ринитиса.....	11
1.4 Патофизиологија алергијског ринитиса	13
1.5 Улога АР у патогенези <i>CRSwNP</i>	16
1.6 Медијатори инфламације.....	18
1.7 Дијагноза алергијског ринитиса.....	19
1.7.1 Алерголошко тестирање	21
1.8 Лечење АР	25
1.8.1 Избегавање алергена.....	25
1.8.2 Фармаколошко лечење АР	26
1.8.3 Алерген специфична имунотерапија	32
1.8.4 Хируршко лечење	33
2. ЦИЉЕВИ И ХИПОТЕЗЕ ИСТРАЖИВАЊА	35
2.1 ЦИЉЕВИ ИСТРАЖИВАЊА	35
2.2 РАДНЕ ХИПОТЕЗЕ ИСТРАЖИВАЊА.....	36
3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ.....	37
3.1 ВРСТА СТУДИЈЕ.....	37
3.2 ПОПУЛАЦИЈА КОЈА ЈЕ ИСТРАЖИВАНА	37
3.3 УЗОРКОВАЊЕ	37

3.4 ВАРИЈАБЛЕ КОЈЕ СУ МЕРЕНЕ У СТУДИЈИ.....	39
3.5 СНАГА СТУДИЈЕ И ВЕЛИЧИНА УЗОРКА.....	42
3.6 СТАТИСТИЧКА ОБРАДА ПОДАТАКА	43
4. Резултати.....	44
4.1 Основне карактеристике испитаника	44
4.2 Симптоми и ендоскопски налаз пре лечења	45
4.3 Вредности медијатора инфламације и броја еозинофила пре примене кортикостероида (сумиране групе).....	47
4.4 Корелације.....	56
4.5 Симптоми и ендоскопски скор након лечења	59
4.6 Вредности медијатора инфламације у носном секрету и процента еозинофила у носној слузници након лечења (Сумиране групе).....	60
Дискусија	67
Закључци	73
Литература	74

1.УВОД

1.0 Историјат

Први писани подаци о алергијском ринитису датирају из периода првих цивилизација.

Најстарији писани траг налазимо у древном запису о египатском краљу Менесу из периода између 3600. и 3300. године пре Нове ере (п.н.е.) (1). У запису се наводи да је краљ умро од гушења након убода осе. Из периода древног Египта наилазимо на записе о Сехетнаку, који је био лични лекар Сахура, фараона 5. династије, а који се бавио лечењем болести носа, између осталих и болести које су се јављале након узимања неких врста хране и након убода инсеката (1).

Даље податке о лечењу болести која би се могла препознати као алергијски ринитис налазимо у старој Грчкој, нарочито у периоду између 460. и 377. године п.н.е. Дело под именом Корпус Хипократикус (*Corpus Hypocraticus*), садржи преко шездесет текстова који су дело великог Хипократа (1). Мада се у тим текстовима помиње „поленска кијавица“, Хипократ није дао јасну дефиницију овог стања и веровао је да густе лепљиви секрет који у наступима кијавице излази из носа, а кога је назвао „флегм“, заправо потиче из мозга (1). У периоду Галена такође су нађени докази о томе да су лекари имали свест о појави преосетљивости организма (1).

Измењена реактивност организма је описана у писаним извештајима о животу римског цара Клаудија, у којима се наводи да је патио од „хроничног цурења носа и повремених црвенила очију“. У запису о цару Британикусу, сину Клаудија и Масалине, забележено је да је био алергичан на коњску длаку, те да га је јак осип око очију спречавао да види куда иде, што данашња медицина описује као један од симптома алергијског коњуктивитиса (1).

Даље пратећи историјске трагове, наилазимо на описе носне алергије у виду кијавице и цурења носа и Персији, у периоду Мухамеда Ибн Закарија Разеса (*Muhammed Ibn Zakariya Razes*), 865-932. године нове ере (1).

У Европској медицини из периода хуманизма и ренесансе налазимо записе са нешто детаљнијим описом алергијских болести. Многи аутори у својим радовима спомињу ову болест описујући је код својих славних савременика. У запису о кардиналу Карафију (*Carafi*) из 16. века, забележено је да је патио од поленске грознице, због чега је затворио палату да не би било могуће унети руже, које је, очигледно, сматрао узроком своје болести (2).

Основе поленске алергије и опис симптома у виду пецкања очију, кијања, свраба, стезања у грудима као последицама реакције на полен током летњих месеци, дао је Џон Восток (*John Vostock*) 1819. године у часопису *Medical siciated in London* (3). Чарлс Блекли (*Charles Blackley*) је 1870. године доказао присуство реакције на полен на основу испитивања на својој кожи (3). Већ у 19. веку је доказано да је индустријализацију земаља, уз западњачку културу и западњачки начин живота, пратила појава повећања преваленце разних форми ринитиса.

Термин еозинофил је први пут уведен од стране Паула Ерлиха (*Paul Ehrlich*) у медицинском раду објављеном 1879. године у Берлину (3). Рише (*Richet*) и Портије (*Portier*), током истраживања спроведених на псима вршеним понављаним коришћењем отрова медузе, наишли су на буран имунски одговор са животно угрожавајућим симптомима па су поводом тога 1902. године увели термин анафилакса (*ana*-против, *phylaxis*-заштита), супротно дотадашњој профилакси (4).

Човек који се сматра творцем савремене алергологије је бечки педијатар Клемент фон Пирке (*Clement von Pirquet*) (4). На основу клиничких истраживања, поставио је 1903. године начела за разумевање данашње алергологије. Измењеној реакцији организма 1906. године даје назив алергија (*alos*-други, *ergon*-активност) (4), први пут је помињући у часопису *Munchener Medizinische Wochenschrift*. Александер Бесендра (*Alexander Besendra*) се сматра творцем термина анафилактички шок (*ana* -против, *filaxis* -заштита), наводећи његове карактеристике 1907. године у Паризу (4).

Фриман (*Freeman*) је 1910. године први спровео терапију десинзибилизације поленске кијавице интракутанним инјекцијама. Термин атопија (*atopos*-изван места) 1929. године уводе Артур Фернандез Кока и Роберт Андерсон Кук (*Arthur Fernandez Coka and Robert Anderson Cooke*). Под атопијом су подразумевали спонтано појављивање болести, без предходне вакцинације, а која се јавља код генетски предиспонираних особа унутар породице (4).

Претеча кожног теста (*Skin Prick Test*) је туберкулински тест чију је модификацију у Бечу 1907. осмислио и први пут представио фон Пирке (*von Pirquet*). Овај тест је на пацијентима први пут применила Хелмтранд Ебрустер (*Hemltrand Ebruster*) 1959. године, а тест се у истом облику и данас користи (4). Вилијам Киркман (*William Kirkman*) је 1952. године осмислио и приказао носни провокациони тест . С обзиром да је боловао од алергијског ринитиса, испитивања је вршио на себи (4).

Имуноглобулин Е (*IgE*) су први пут изоловали Кимишига Ишизака (*Kimishige Ishizaka*) и Теруко Ишизака (*Teruko Ishizaka*) из серума болесника који су боловали од поленске кијавице узроковане поленом амброзије (4). Овим су објашњени алергијски механизам и улога *IgE* антитела у алергијски посредованој реакцији.

Кумбс и Џел (*Coombs and Gell*) (4) су 1975. године поделили алергијске реакције на четири типа преосетљивости на основу имунолошких механизма и према типу оштећења ткива:

1. анафилактичка реакција - цитотоксична реакција

То је рана преосетљивост која је посредована *IgE* антителима и мастоцитима. Реакција ране преосетљивости се састоји од стварања *IgE* антитела, као одговор на одговарајући антиген и ослобађања медијатора мастоцита, хистамина и разних цитокина. Клинички типови ране преосетљивости су алергијски ринитис (АР), бронхијална астма, анафилактичка реакција организма, алергија на храну.

2. реакција преосетљивости изазвана антителима

Најчешћа антитела која индукују болест, су антитела против сопствених антигена. У ткивима долази до таложења антитела која изазивају оштећење индуковањем локалног

имунског одговора. Клинички типови преосетљивости изазване антителима су миастенија гравис, тиреотоксикоза (Грејвсова болест).

3. реакција преосетљивости изазвана имунокомплексима

Антитела, везујући се за антигене у одређеним ткивима и органима, стварају имунокомплексе и индукују болест. Клинички типови реакције преосетљивости изазване антителима су: артритис, васкулитис.

4. реакција касне преосетљивости посредована Т лимфоцитима

Реакција преосетљивости изазвана Т лимфоцитима је реакција коју настаје током аутоимуног одговора. Ове болести су индуковане Т лимфоцитима и доводе до оштећења ткива и органа. Иста реакција настаје по типу реакције касне преосетљивости и посредована је CD4 позитивним (CD4+) Т лимфоцитима (4).

1.1 Алергени

Алерген је антиген који доводи до стања хиперсензибилизације организма, везивањем за антитела или за рецепторе на Т лимфоцитима. Светска здравствена организација (*World Health Organization-WHO*) је саставила и издала номенклатуру за све алергене (5). Да би неки алерген био сврстан у номенклатуру WHO мора бити од пресудног алергогеног значаја. Алергени су протеини велике молекулске масе. На површини антигена налазе се епитопи, мали фрагменти, који имају улогу у интеракцији и повезивању (лиганд-рецептор) Т-В лимфоцита и самим тим у настанку имунског одговора. Према класификацији антигена, протеини се сматрају најјачим имуногенима јер садрже мултипле епитопе.

Угљени хидрати и липиди су ретко антигени осим када су у комбинацији са протеинима, док нуклеинске киселине спадају у врло слабе антигене (5).

Класификација алергена

Постоји више класификација алергена, али најчешће коришћена је према начину на који наш организам долази у контакт са њима:

-инхалаторни алергени

-контактни алергени

-нутритивни алергени С обзиром на тему ове дисертације у даљем тексту биће приказани само инхалаторни алергени.

Инхалаторни алергени су микрочестице које се налазе у ваздуху, а инхалацијом истих може доћи до алергијске реакције организма. Могућност инхалације и аспирације алергогених честица директно зависи од њихових димензија. Честице пречника већег од 8 μm обично буду заустављене и прилепљене за носну слузницу, честице чији је пречник мањи од 5 μm обично буду заустављене на слузници трахеобронхијалног стабла, док честице димензије од 1 μm -3 μm доспевају до терминалних бронхиола и алвеола плућа. У најчешће инхалаторне алергене спадају: полен, споре буђи и гљива, длаке, епител коже и излучевине гриња.

Алергени полена. Полен спада међу најчешће алергене из ваздуха. Ранија испитивања су показала да мање од 100 врста полена (од укупно нађених 250.000 врста) изазива алергијске реакције горњег и доњег дисајног пута. Полен је цветни прах који у себи носи мушке приметне гене. Величина поленских зрнаца варира од неколико микрометара до чак више од 200 μm . Уз специфичне протеине, из поленских зрнаца се отпушта и велики број ензима. Поленска честица се састоји од омотача и цитоплазме са једром које садржи генетски материјал. У већини европских земаља, алергијске реакције најчешће настају на полен трава (5). Алергени полена трава показују унакрсну реактивност. Полени трава *Alopecurus pratensis* и *Dactylus glomerata* спадају међу најчешће инхалаторне алергене у европској популацији (5). Алергијске реакције на полен корова су последњих година све учесталије, посебно на полен амброзије (*Ambrosia elatior*) која спада у породицу Композита (*Compositae*) и обухвата двадесетак врста, док је париетарија (*Parietaria*)

главни алергоген који потиче из породице коприва (6). Недавно испитивање карактеристика алергена *Parietarie judaice major* и *Urtica dioice*, доказало је одсуство укрштене реакције између ова два полена корова, као и нижи алергогени потенцијал (6).

Учесталост сензибилизације на полен пелина (*Artemisia vulgaris*) у земљама Европе се креће од 3-10% (7).

Међу поленима дрвећа, најучесталији алергени у европској популацији су полен брезе (*Betula*) и чемпреса (*Cupressus*), а на медитерану полен маслине (*Olea europaea*).

Алергени гриња - “унутрашњи” алергени. Перенијални облик алергијског ринитиса (АР) је проузрокован такозваним унутрашњим алергенима као што су: гриње, кућна прашина, буђ, екскрети бубашвабе, животињска длака, перје. Гриње спадају у групу паразита - зглавкара са непотпуно развијеним респираторним трактом, а хране се људским и животињским одумрлим епителом.

Резултати седмогодишње студије коју су реализовали Тоуви и сар. (*Tovey et al.*) (8) су показали да су главни извори алергена гриња фецес и делови тела гриња које можемо наћи у ваздуху. У свету постоји укупно 17 родова и 47 врста гриња, а три најзаступљеније врсте су *Dermatophagoides pteronyssinus*, *Dermatophagoides farinae* и *Blomi tropicalis*, која у тропским земљама обично коегзистира са *D. pteronyssinus*. Код нас су најзаступљеније *Dermatophagoides pteronyssinus* (*Der p 1*) и *Dermatophagoides farineae* (*Der f 1*). Карактеристике врста *Dermatophagoides* су врло сличне, осим мањих разлика у физичким особинама. Резултати једне студије (9) су, супротно очекивањима, показали да концентрација гриња у креветима и мадрацима није била највиша. Највећа концентрација алергена гриња доказана је у одећи (9). Доминантни алерген кућне прашине *Der p 1* нађен је у концентрацијама 0,05 – 0,2 ng/m³ у затвореном простору станова. Већина алергија на кућну прашину се може објаснити имунским одговором на мали број протеина који имају изузетан имуногени потенцијал. Свака компонента алергена гриња има потенцијал за изазивање сензибилизације организма.

Алергени спора гљива и буђи. Гљиве и буђи су убиквитарни организми и самим тим су широко распрострањене. Размножавају се испуштањем спора. За раст и развој неопходан им је висок степен влажности ваздуха и тла. Њихова величина је мала, обично мања од 8 μm, па споре лако доспевају до доњих дисајних путева. Најзначајније у појави

алергијских реакција организма су споре *Cladosporium*-а, *Aspergillus*-а, *Alternaria*-е, *Fusarium*-а. Битно је нагласити да се у ваздуху налазе током целе године.

Алергени животиња. Алергени епитела коже паса, који најчешће изазивају алергијску реакцију код човека су *Canis lupus familliaris 1 (Can f 1)* и *Canis lupus familliaris 2 (Can f 2)*. Кад је у питању род мачака, најзначајнији алерген је *Felis domesticus 1* (гликопротеин *Fel d 1*) који се налази у саливи, длаци и кожи мачака.

1.2 Дефиниција ринитиса

Ринитис представља скуп симптома (носна опструкција, секреција из носа, свраб у носу, кијање, ослабљено чуло мириса) који настају као реакција носне слузнице на различите факторе спољне средине, а трају најмање један сат дневно за све време трајања болести.

1.2.1 Класификација ринитиса

Према етиолошким факторима, ринитис делимо на алергијски, инфективни и неалергијски-неинфективни (10).

Друга подела ринитиса заснована је на фенотиповима у зависности од доминантног симптома или окидача:

-Инфективни ринитис изазван вирусима, бактеријама или гљивицама

-Професионални ринитис: алергијски и неалергијски

-НАРЕС (неалергијски ринитис са еозинофилним синдромом), који је непознате етиологије

-Ринитис изазван лековима, као што су инхибитори ангиотензин-конвертујућег ензима, фентоламин, метилдопа, бета-адренергички блокатори, нестероидни антиинфламаторни лекови, орални контрацептиви

-Хормонални ринитис, који се испољава током трудноће, пубертета, поремећаја ендокриног система

-Емоционални ринитис

-Атрофијски ринитис

-Ринитис изазван иритансима из спољне средине

-Ринитис изазван узимањем неких врста хране („густаторни ринитис“)

-Ринитис изазван гастроезофагусним и фаринго-ларингеалним рефлуксом

-Идиопатски ринитис, другачије назван и „вазомоторни“.

Ипак, у чак 50% случајева ринитис има алерголошку етиологију (10).

Алергијски ринитис (АР) је дефинисан као имунским механизмима посредована хиперреактивност носне слузнице и која је окарактерисана симптомима у виду кијања, свраба у носу, повећане носне секреције, отежаног дисања на нос и ослабљеног чула мириса. Доказано је да имунолошки статус слузнице носа зависи од равнотеже између одговора посредованог Т помагачких (*T helper 1-Th1*) и Т помагачких 2 (*Th2*) лимфоцита. Код АР је равнотежа нарушена у корист Т помагачких 2 (*Th2*) имуног одговора и то је IgE антителима посредована запаљењска реакција носне слузнице (10).

У факторе ризика за настанак алергијског ринитиса спадају:

-генетика и породична историја

-сензибилизација у току раног периода живота

-етничка припадност

-изложеност алергену

-социјално - економске разлике.

1.2.2 Класификација алергијског ринитиса

Пре усвајања документа *ARIA (Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma)*, алергијски ринитис (АР) се делио на сезонски и перенијални облик, а подела се заснивала на трајању

изложености алергенима и врстама алергена. Сезонски АР је повезан са широком палетом алергена као што су полен трава, корова и дрвећа. Перенијална форма АР је проузрокована такозваним „унутрашњим алергенима“ као што су гриње, кућна прашина, буђ, бубашвабе, животињска длака. Професионални ринитис се карактерише симптомима у виду свраба, назалне опструкције, кијања и назалне секреције, а настаје услед изложености алергенима и различитим иритансима на радном месту. Међутим, строга подела на сезонски и перенијани облик АР није могућа у свим случајевима и није увек применљива. Симптоми перенијалног ринитиса не морају бити присутни током целе године, многи пацијенти су осетљиви на више алергена (неколико пута годишње или током целе године), а симптоми сезонског АР се не дешавају стриктно унутар дефинисане сезоне. Коначно, у неким деловима света, као на пример у медитеранским земљама, полени појединих биљака су присутни током већег дела године и изазивају симптоме који одговарају перенијалном алергијском ринитису (доминантно назална опструкција) (11).

С обзиром на горе наведено, радна група *ARIA (Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma)* је модификовала ранију класификацију и поделила АР у две форме: интермитентни и перзистентни, у зависности од трајања симптома. Код интермитентног АР симптоми трају мање од 4 дана у недељи и укупно краће од 4 недеље, док код перзистентног АР, симптоми трају више од 4 дана у недељи и укупно дуже од 4 недеље. Такође, постоји градација тежине болести: благи АР и умерени до тешки АР (11). Код благог АР изостају поремећаји сна, дневних активности и концентрације на послу, док су код умереног до тешког облика АР сан и дневне активности нарушене.

С обзиром да су у овој дисертацији карактеристике АР поређене са карактеристикама хроничног полипозног риносинуситиса, неопходно је навести и податке који се односе на дефиницију и класификацију овог хроничног запаљењског обољења.

1.2.3 Дефиниција и класификација хроничног полипозног риносинуситиса

Хронични риносинуситис (*chronic rhinosinusitis – CRS*) се дефинише као запаљење слузокоже носа и параназалних синуса, карактерисано са два или више симптома, међу којима су осећај запушености носа и секреција из носа ± осећај бола или притиска у

пределу лица, ± смањење или губитак осећаја мириса и/или ендоскопски налаз полипа у носу и/или слузаво-гнојавог секрета у средњем носном ходнику и/или отока слузокоже примарно у средњем носном ходнику, и/или промене на налазу компјутеризоване томографије (СТ), које показују оток слузокоже остиомеаталног комплекса и/или засенчења шупљина параназалних синуса, у периоду дужем од 12 недеља (12). Постоји значајан степен удружености АР и хроничног полипозног риносинуситиса. Хронични полипозни риносинуситис или хронични риносинуситис са носним полипима (*chronic rhinosinusitis with nasal polyps – CRSwNP*) представља хронично запаљењско обољење слузнице носа и параназалних синуса које се одликује пролапсом едематозне слузнице најчешће из области предњег етмоидалног лабиринта, одакле се та едематозна слузница у виду полипа пружа кроз средњи носни ходник у носну шупљину, доводећи до симптома као што су назална опструкција, ослабљено чуло мириса, слузаво-гнојава секреција из носа и осећај сливања секрета у ждрело. Промене настају у слузници, а карактеришу се хиперплазијом псеудослојевитог респираторног епитела (*lamina epithelialis*), док у субепителијалном слоју (*lamina propria*) доминира едем растреситог везивног ткива са пролиферацијом фибробласта и густим запаљењским инфилтратом, кога чине највећим делом еозинофили, али и лимфоцити, плазмоцити, као и неутрофили (12, 13). Према доминантном инфламаторном инфилтрату, *CRSwNP* се може поделити на еозинофилни и неоеозинофилни. Еозинофилна форма чини више од 90% оболелих у европској популацији.

CRSwNP може бити удружен са бројним запаљењским стањима, међу којима су најчешћи:

1. преосетљивост на нестероидне антиинфламаторне аналгетике;
2. бронхијална астма;
3. алергијски ринитис;
4. гљивични риносинуситис.

При дијагнози назалне полипозе следеће болести или патолошка стања морају бити искључени: цистична фиброза, примарна цилијарна дискинезија (Картагенеров синдром – *Kartagener's syndrome*), Јангов синдром (*Young's syndrome*), Чарг-Штраусов синдром (*Churg-Strouss's syndrome*), инвертни папилом (*inverted s. Scheiderian papilloma*), друге

системске грануломатозне болести, као и малигне болести слузнице носа и параназалних синуса (13, 14).

1.3 Епидемиологија алергијског ринитиса

Резултати претходних епидемиолошких студија су показали да се преваленца сезонског АР креће од 1% до 40%, а преваленца перенијалног АР од 1% до 18% (15). *ECRHS* студија (*The European Community of Respiratory Health Survey*) је у свом истраживању спроведеном на 130.000 одраслих особа, старости између 20 и 40 година, из 22 државе, показала да се преваленца назалних алергија креће од 9,5% до 40,9% (15). Утврђено је и да је преваленца већа у земљама у којима преовлађује тзв. западњачки стил живота. Највећа преваленца је утврђена у Западној Европи, Аусталији, Новом Зеланду и Сједињеним Америчким Државама (15). У студији спроведеној у земљама Европе (Белгија, Француска, Шпанија и Италија) израчуната је укупна преваленца АР од 23%, а рангирана од 17% у Италији до 29% у Белгији (16).

У досадашњим истраживањима је утврђено да 51% АР чини перенијални облик ринитиса, а 49% сезонски облик АР (16). Према смерницама *ARIA* групе 1/3 пацијената је класификована као перзистентни алергијски ринитис, а 2/3 као интермитентни АР (11).

Преваленца АР показује прогресивно повећање током неколико последњих деценија. Страхан и сар. (*Strachan et al.*) (17) су објавили резултате сукцесивне епидемиолошке студије алергијских стања и нашли двоструко до троструко повећање учесталости поленске кијавице међу адолесцентима у Шведској, Великој Британији и Финској, у периоду праћења од 10 година.

АР није изоловано стање, већ је удружен са већим бројем патолошких стања и болести.

Процењено је да око 42% болесника са АР има симптоме алергијског коњунктивитиса и да је 33%-56% случајева алергијског коњунктивитиса удружено са АР (18). Међутим, повезаност између АР и хроничног риносинуситиса још увек није довољно испитана. Више од 54% одраслих са дијагностикованим *CRS* има симптоме АР и обрнуто. Радиолошки налази који указују на *CRS* су уочени у чак 50% одраслих и деце са перенијалном формом АР (19, 20).

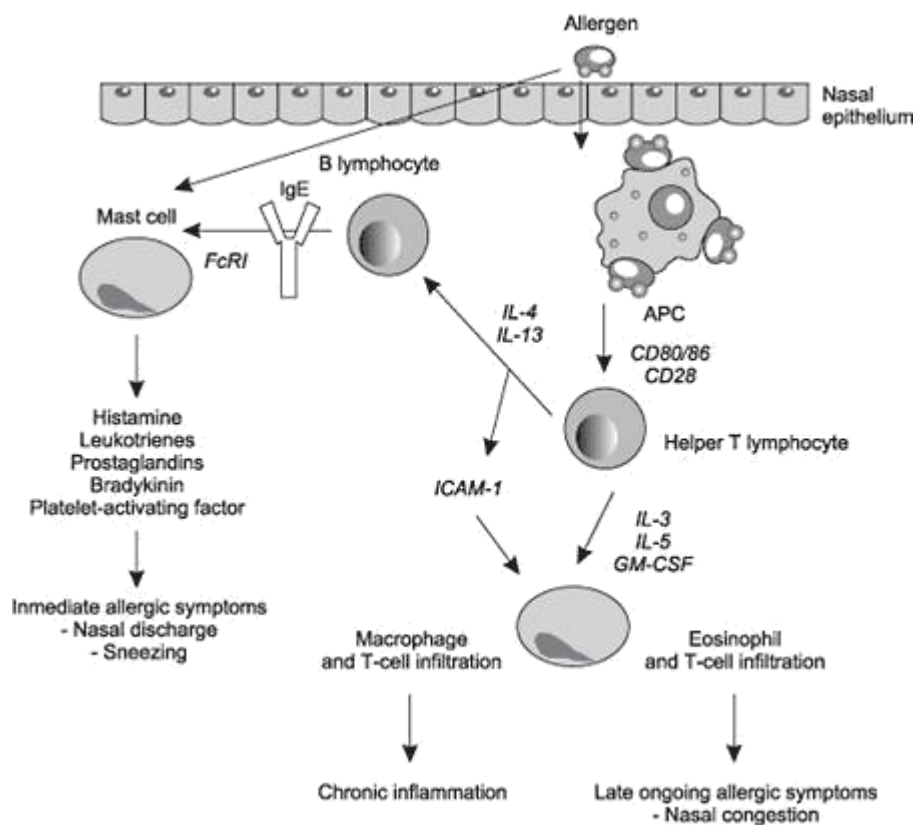
Дуго је сматрано да је алергија предиспонирајући фактор настанак хроничног полипозног риносинуситиса, због постојања сличних симптома у виду секреције из носа, назалне конгестије, великог броја еозинофила у ткиву код обе форме болести. Међутим резултати неких испитивања не дају доказ за овакву повезаност. Сетипан и Чафи (*Settipane and Chafee*) су у свом истраживању регистровали само 0,5% до 1,5% пацијената са носним полипима међу испитаницима са позитивним кожным (*Skin prick*) тестом на стандардне инхалационе алергене (21). Међутим, резултати других студија указују на знатно већу учесталост алергичних пацијената међу онима са носном полипозом и вредности се крећу од 10% до чак 64% (22, 23).

Хедман и сар. (*Hedman et al.*) (22) су у Финској спровели истраживање у форми упитника и утврдили присуство *CRSwNP* код 4,3% одрасле популације. У студији спроведеној у Шведској на популацији одраслих Јохансон и сар. (*Johanson et al.*) (23) нашли су да се преваленца назалних полипа креће око 2,7% у укупној популацији. У овом истраживању носна полипоза је дијагностикована назалном ендоскопијом и била је чешћа код мушкараца у односу на жене (2,2:1), код старијих особа и астматичара. *CRSwNP* је обољење је присутно код свих раса и постаје учесталије са годинама. Просечна старост оболелих од овог обољења је 42 године (22). Сматра се неуобичајеном за особе млађе од 20 година и чешће се јавља код мушкараца него код жена.

Неопходно је навести да 7% пацијената оболелих од астме има носну полипозу (24) и да се нивои преваленце крећу од 13% код пацијената са неатопијским обликом астме до 5% код пацијента оболелих од атопијског облика астме (25). Астма која се јави у ранијем животном добу повезана је са развитком носних полипа код 10% -15% пацијената. Такође неопходно је истаћи и тип болести код којег имамо удружену преосетљивост на аспирин и друге нестероидне антиинфламаторне аналгетике (*NSAIL*). Код овог фенотипа имамо у оквиру *CRSwNP* присуство тзв. Самтер – овог тријаса (*Samter's triade*): неалергијска астма, преосетљивост на *NSAIL* и присуство носних полипа. У општој популацији преваленца ове форме болести је око 4% (24).

1.4 Патофизиологија алергијског ринитиса

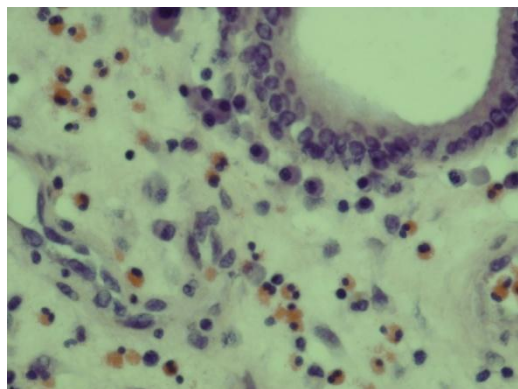
Механизам настанка АР је практично исти код сезонског и перенијалног облика, али је због различитог интензитета и трајања изложености узрочном алергену, као и због индивидуалног степена неспецифичне хиперреактивности носне слузнице, клиничка слика између сезонског и перенијалног АР различита. У настанку АР разликујемо три фазе: (1) фаза сензибилизације на алерген, (2) рана фаза алергијске реакције и (3) касна фаза алергијске реакције (26). У **фази сензибилизације на алерген**, антиген-презентујуће ћелије (дендритичне ћелије и макрофаги) фагоцитишу алерген, прерађују га и прерађени део његовог молекула “уграђују” у молекул главног хистокompatибилног комплекса класе 2 (*major histocompatibility complex – class 2 – MHC-class 2*). Овај комплекс прерађени алерген-МНС класе 2 се као лиганд везује за рецепторе на површини наивних *CD4+* Т лимфоцита и трансформише их у алерген специфичне *Th2* (*T helper 2*) Т лимфоците. Активирани *Th2* Т лимфоцити продукују *Th2* цитокине (интерлеукин (*IL*)-3, *IL*-5, *IL*-13 и друге), којима делују на *B* лимфоците, стимулишући их да секретују алерген-специфичне *IgE*. Алерген-специфични *IgE* се везују за специфичне рецепторе на површини мастоцита базофила. Ослобођени *Th2* цитокини стимулишу пролиферацију еозинофила, базофила и мастоцита (Слика 1).



Слика 1. Патофизиологија АР

У раној фази алергијске реакције, око 30 минута након поновне експозиције алергену, код претходно сензибилисане особе долази до активирања запаљењске реакције посредоване *Th2* цитокинима, уз ослобађање медијатора запаљења из мастоцита и базофила, пре свега хистамина, који се везује за $H1$ хистаминске рецепторе, али и за друге хистаминске рецепторе, доводећи до карактеристичне клиничке слике (26). Уз то се ослобађају и деривати метаболизма арахидонске киселине, леукотриени и простагландини. Долази до покретања рефлексних механизма, што се огледа у учесталом кијању. Због вазодилатације крвних судова у слузници и подслузници доњих носних шкољки долази до конгестије и отежаног дисања на нос, а због повећане пропустљивости капилара до трансудације крвне плазме и појаве воденасте бистре секреције из носа. Услед појачане активности парасимпатикуса, долази до појачане секреције из пехарастих ћелија и

субмукозних жлезда. Оток слузокоже и велика количина воденастог или слузавог секрета доводе до ослабљеног протока ваздуха до мирисне слузокоже у носној шупљини и до ослабљеног чула мириса. У **касној фази алергијске реакције**, која настаје око 6 сати након поновне експозиције алергену, доминантан симптом је назална опструкција. Под утицајем хемокина (протеина мале молекулске масе који привлаче ћелије имунског система на место запаљења), као и претходно ослобођених *Th2* цитокина, долази до накупљања и активације еозинофила у носној слузници (26). Из активираних еозинофила се ослобађају нове количине цитокина и хемокина који привлаче нове еозинофиле на место запаљења, чиме се хронични запаљењски процес одржава у свом трајању и појачава у свом интензитету. Са друге стране се из цитоплазме еозинофила ослобађају ензими (*eosinophil cationic protein-ECP*, *major basic protein-MBP*, *eosinophil peroxydase-EPO*), који даље оштећују епител и субепител носне слузнице, стварајући услове за ремоделовање ткива (Слика 2). Симптоми ране фазе (кијање, свраб у носу и секреција из носа) су израженији у сезонском, док је назална опструкција доминантан симптом у перенијалном ринитису. Погрешно је мишљење да је код болесника са сезонским ринитисом запаљење присутно само током изложености одговарајућем сезонском алергену. Код тих болесника минимално запаљење перзистира током целе године, па је симптоме појачане реактивности носне слузнице могуће изазвати и далеко после контакта са узрочним алергеном (26).



Слика 2. Хистолошке карактеристике слузокоже носа код оболелих од АР. Поред бројних дилатираних жлезда које производе мукозни секрет, у растреситом везивном ткиву ламине проприје доминира густ запаљенски инфилтрат, који се највећим делом састоји од еозинофила.

Паралелно са запаљењем које је посредовано имунским механизмима, у алергијском ринитису се одвија и **неурогено запаљење** (27). Услед оштећења респираторног епитела долази до огољавања завршетака сензитивних нерава. Стимулацијом нервних завршетака покрећу се аксон-аксонски рефлекси, у којима доминира секреција неуропептида (супстанце *P* и неурокинина *A*). С обзиром да се ослобођени неуропептиди понашају као медијатори запаљења, долази до релаксације глатких мишићних влакана, вазодилатације, екстравазације плазме и појачане секреција из жлезда. Као последица оштећења носне слузнице, код алергијског ринитиса се развија неспецифична хиперреактивност, преосетљивост која није посредована имунским механизмима: на дувански дим, хладан, сув, топао ваздух, као и на различите врсте аерозагађења (27).

1.5 Улога АР у патогенези *CRSwNP*

Улога АР у патогенези *CRSwNP* и данас представља предмет контроверзи. Оток носне слузнице који настаје током АР изазива назалну опструкцију која омета процес вентилације и дренаже параназалних синуса. То доводи до нагомилавања секрета у шупљинама синуса, трансудације крвне плазме услед стварања негативног притиска у синусима, смањења оксигенације слузнице синуса, нарушавања покретљивости цилија.

Све ово ствара услове за размножавање бактерија и бактеријску инфекцију. Резултати које су објавили Киртсресакул и Рутанафол (Kirtsreesakul and Ruttanaphol) (28) би могли сугерисати повезаност између АР и *CRS* путем *IgE* посредоване реакције преосетљивости.

Ово је знатно учесталија појава код пацијената са перенијалним, него код оних са сезонским АР. Савремене хипотезе које покушавају да објасне порекло *CRSwNP* се добрим делом заснивају на расправи о локалним реакцијама преосетљивости које покрећу један снажни хронични запаљењски процес, у коме се као крајњи исход јавља формирање носних полипа. „Хипотеза стафилококних суперантигена“ се заснива на гледишту да ентеротоксини које продукују културе *Staphylococcus aureus*-а могу да покрену снажан имунски одговор, активирајући за веома кратко време неколико типова имунокомпетентних ћелија (29, 30). Кључ је у „скретању“ ка *Th2* имуном одговору, снажној активацији *T* и *B* лимфоцита, еозинофила и мастоцита, што води ка оштећењу и ремоделовању ткива носне слузокоже. Међутим, остаје нејасно зашто је ефекат

суперантигена присутан у само половини од укупног броја пацијената са носним полипима. Тако је сада актуелно гледиште да су стафилококни ентеротоксини више модификатори патолошког процеса, него стварни етиолошки фактори (31). Ови егзотоксини су способни да индукују снажно еозинофилно запаљење, као и синтезу мултиклоналних *IgE*, што доводи до нагомилавања високих концентрација ових антитела у ткиву полипа. Мин и сар. (*Min et al.*) (32) су показали да стафилококни ентеротоксини имају снажан цилиостатички ефекат у слузокожи параназалних синуса. Осим тога, висока продукција ових токсина у крајњем исходу проузрокује изражен субепителијални едем, руптуру епитела и инфламаторну, доминантно еозинофилну инфилтрацију ткива полипа.

„Хипотеза нарушене имунске баријере“ се заснива на претпоставци да садејство поремећаја механичке баријере (респираторног епитела) и/или поремећаја урођеног имунитета, у коме учествује и респираторни епител слузокоже носа/параназалних синуса, покреће запаљенску реакцију, чији су крајњи исходи хронична инфламација и формирање носних полипа (33). Ови поремећаји воде повећаној колонизацији бактеријских микроорганизама, са ослобађањем штетних микробних агенаса, даљем оштећењу имунолошке баријере и покретању компензаторних имунских одговора (34). Агенси (антигени), које ослобађају бактерије су способни да активирају продукцију медијатора имунског одговора и запаљења у ћелијама респираторног епитела, што води даљој активацији *T* и *B* лимфоцита и њиховој пролиферацији. Умножени лимфоцити у субепителијалном слоју респираторне слузокоже стварају „псеудофоликуларне формације“, које представљају места даље продукције проинфламаторних цитокина и хемокина, као и специфичних имуноглобулина. Продуковани *IgE* посредују у процесу дегранулације накупљених еозинофила и базофила и ослобађању цитотоксичних и вазоактивних медијатора, који доводе до даљег оштећења и ремоделовања носне слузокоже (34). Најновије откриће присуства интрацелуларних јединки *Staphylococcus aureus*-а у епителним ћелијама у ткиву носних полипа, али не и у епителним ћелијама слузокоже у хроничном риносинуситису без носне полипозе и у епителу здраве слузокоже, потврђују степен поремећаја локалне имунске баријере код оболелих од носне полипозе (35, 36). Почетни стадијум у оштећењу респираторног епитела носне слузнице се огледа у повећању његове пропустљивости. Резултати студије које су презентовали Хенрикез и сар. (*Henriquez et al.*) (37) су показали повећану пропустљивост епителијалне мембране након

излагања носне слузнице антигенима гриња. Овим би се могла објаснити знатно учесталија повезаност перенијалне форме АР и *CRSwNP*, односно, перенијални АР би се условно могао схватити као увод у настанак *CRSwNP*.

У даљем тексту биће ближе описани медијатори инфламације који су предмет ове студије.

1.6 Медијатори инфламације

Осим код АР, јаку еозинофилну инфилтрацију носне слузнице налазимо и код неалергијског ринитиса са еозинофилним синдромом (НАРЕС), као и код више од 90% пацијената са *CRSwNP*. Међутим, патогенеза те хроничне хипереозинофилије у слузници носа још увек није позната. За сада се зна да се овај процес одвија под утицајем хемокина, протеина мале молекулске масе, који имају улогу хемотаксе, привлачења еозинофила ка месту запаљења (38). Делимо их, према врсти ћелија које привлаче, на селективне и неселективне. Док селективни хемокини (*CCL11*, *CCL24*, *CCL26* и други) привлаче углавном еозинофилне гранулоците, неселективни (*CCL3*, *CCL4*, *CCL5* и други) осим еозинофила привлаче и неутрофиле, лимфоците и моноците на место запаљења (38).

Према резултатима претходних студија, два хемокина играју олукујућу улогу у овом сложену процесу: *CCL24* (*Eotaxin-2*) и *CCL5* (*regulated on activation, normal T-cell expressed and secreted-RANTES*) (38, 39). *RANTES* није познат само као хемоатрактант за еозинофиле, већ и по томе што узрокује активацију еозинофила и базофила, што резултује у ослобађању инфламаторних медијатора (39). Активирани еозинофили продукују нове количине хемокина и цитокина, чиме се хронични процес шири и одржава. Осим тога, они луче и велике количине протеолитичких ензима који оштећује ткиво слузокоже и доводе до њеног ремоделовања. Један од тих ензима, који се сматра најпоузданијим индикатором активности еозинофила је *ECP* (40).

ECP један је од три главна катјонска протеина, које ослобађају активирани еозинофили и тренутно је најшире коришћени маркер за процену еозинофилне активности (40). Он је једноланчани високобазни протеин који у свом молекулу садржи цинк, а молекуларна тежина му може варирати од 16 до 22 *kDa*. Механизам дејства *ECP* је последица његове цитотоксичне способности, изражене у стварању трансмембранских пора и канала (41).

Доказано је да има цитотоксичне ефекте на бактерије, паразите, вирусе и респираторне епителне ћелије. *ECP* стимулише производњу мукуса у дисајним путевима и ослобађање хистамина из гранула мастоцита *in vitro* (40, 41). Он се синтетише у прекурсорима еозинофила у костној сржи и складишти у специфичним гранулама у зрелим еозинофилима периферне крви. Окидачи за ослобађање *ECP* из еозинофила обухватају комплекс *IgG* и *Th2* цитокина (*IL-3*, *IL-5*, *IL-6*, *IL-13* и других) и хемокина (41).

Клара ћелијски протеин 16 (*Clara cell protein 16 - CC16*), који има молекулску масу 16 *kDa*, је један од најзначајнијих биомаркера активности слузнице доњих и горњих дисајних путева. Луче га секреторне, нецилијарне Клара ћелије респираторног епитела у акутној и хроничној фази изложености иритансима. Његов ген се налази у региону *P12-q13* хромозома 11 који је укључен у регулацију запаљењских процеса. Проучаван је у вези са патологијом астме, где је нађено да је експресија *CC16* значајно смањена у случају запаљењских процеса слузнице дисајних путева, како код људи тако и код животиња (42-44). Нађено је да је полиморфизам гена *A 38G* повезан и са нижим нивоима *CC16* у серуму и са већим ризиком од развоја бронхијалне астме (45, 46). *CC16* има важна антиинфламаторна и имуносупресивна својства која обухватају инхибицију продукције инфламаторних медијатора, попут интерферона гама (*IFN-γ*), фактора некрозе тумора алфа (*TNF-α*), цитосолне фосфолипазе *A2*, као и хемотаксе индуковане фактором раста, добијених из тромбоцита феталних плућних фибробласта (47). Мерење концентрација *CC16* у бронхоалвеоларном лавату (БАЛ), као и у серуму, пружа корисне податке о функцији респираторне слузнице и бронхоалвеоларне мембране, те се стога показао корисним у процени интензитета акутног и хроничног оштећења дисајних путева.

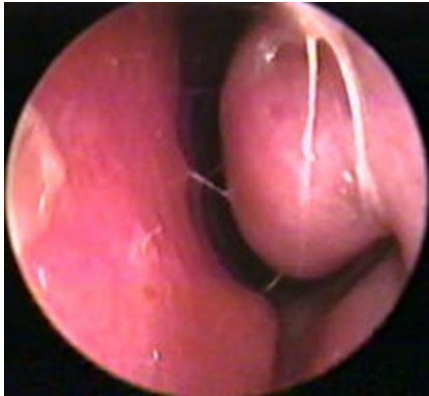
1.7 Дијагноза алергијског ринитиса

Симптоми АР обухватају отежано дисање на нос (носну опструкцију), секрецију из носа (ринореју), кијање, свраб у носу и осећај сливања секрета у ждрело (постназалну дренажу). Више од 40% болесника има и очне (окуларне) симптоме: свраб и црвенило коњунктиве, сузење. Симптоми сезонског АР су обично знатно интензивнији од симптома перенијалног ринитиса и обухватају појачану носну секрецију, кијање, свраб у носу и веома често

окуларне симптоме. Перенијални АР се углавном манифестује носном опструкцијом, праћеном честим главобољама и осећајем притиска у пределу лица. Ослабљено чуло мириса се готово искључиво јавља код перенијалног АР.

Позитивни анамнестички подаци су темељ дијагнозе АР, јер позитивни тестови на алергију уз одсуство симптома у периодима излагања алергенима не значе АР (48, 49). Код алергичних пацијената су повишене вредности укупног серумског имуноглобулина *E* (*IgE*), као и специфичних *IgE* на већи број различитих алергена. Знатно се ређе детектује повишена вредност специфичног *IgE* само на један алерген. Део испитаника са повишеним вредностима *IgE* је без симптома, чак и при излагању одговарајућем алергену. Такав лажно позитиван тест нам говори да ће се током неколико година код тих особа вероватно појавити симптоми АР. Међутим, све до појаве симптома, не можемо говорити да те особе имају АР (48, 49). Са друге стране, код неких особа и поред јасно испољених симптома АР, у серуму немамо нити повишене вредности укупног серумског нити специфичног *IgE*, док су кожни тестови са инхалационим алергенима негативни. Међутим, у узорцима носног секрета се могу измерити повишене вредности специфичног *IgE*. Тај феномен локализоване *IgE* посредоване алергијске реакције при контакту носне слузокоже са инхалираним алергеном се зове **ентопија**. Новија истраживања показују да је ентопија, која се према подацима из литературе појављује у око 20% болесника, заправо рана фаза системске алергијске реакције, те да ће се временом код тих испитаника развити такво стање преосетљивости да ће практично сви алерголошки тестови бити позитивни (48, 49). Дијагностички поступци код сумње на АР обухватају кожне алерголошке тестове (*prick test*) на инхалационе алергене, одређивање укупног серумског *IgE*, као и специфичног серумског *IgE*. Ниске концентрације укупног серумског *IgE* не искључују АР, док је стварни доказ атопијског механизма болести заправо повишена концентрација специфичног серумског *IgE*. Цитолошка анализа узорака са површине слузнице носа (анализа бриса) нам може показати који проценат међу запаљењским ћелијама чине еозинофили. Овим поступком се не може доказати алергијска реакција слузнице, али нам може показати да се запаљењски процес одвија по типу хроничног еозинофилног запаљења. Више од 15% еозинофила у ткиву нам управо указује на овај тип запаљења, а осим алергијског ринитиса, овај тип инфламаторног процеса се редовно налази и код неалергијског ринитиса са синдромом еозинофилије (НАРЕС), као и код више од 90%

пацијената са хроничним полипозним риносинуситисом. При прегледу носне шупљине, АР се карактерише отеченом и ливидном (плавичастом) слузницом, са бистрим воденастим или густим секретом који се развлачи попут конаца (Слика 3). Код пацијената са сумном на ентопију, дијагноза се може поставити на основу специфичног носног провокационог теста, директном апликацијом специфичног алергена на носну слузницу. Налаз се сматра позитивним уколико се испровоцирају симптоми (кијање, појачана секреција из носа и отежано дисање на нос). Постоји и могућност одређивања специфичних *IgE* антитела у узорцима носног секрета. Повишене концентрације триптазе као индикатора функције мастоцита и *ECP* као индикатора функције еозинофила у носном секрету, представљају карактеристике АР, али се налазе и код НАРЕС-а и хроничног полипозног риносинуситиса (48, 49).



Слика 3. Ендоскопски налаз код оболелих од АР. Уочава се отечена и ливидна (плаво пребојена) слузница носне шупљине, са великом количином густог секрета који се развлачи попут конаца.

1.7.1 Алерголошко тестирање

Алерголошко тестирање спада међу процедуре које је неопходно спровести да би се потврдило алергијско порекло болести. Досадашњи тестови *in vivo* и *in vitro* усмерени су ка откривању слободних *IgE* или оних везаних за рецепторе на мастоцитима. Могу се користити само стандардизовани екстракти алергена. Тестови хиперсензитивности коже су најбољи метод у откривању присуства алерген специфичних *IgE*.

Узроци лажно позитивних и лажно негативних кожних тестова приказани су у табели број 1.

Табела 1. Узроци лажно позитивних и лажно негативних кожних тестова

Узроци лажно позитивних кожних тестова	Узроци лажно негативних кожних тестова
Дерматографизам	Слаб иницијални потенцијал или губитак потенцијала екстракта
Иритантна реакција	Коришћење лекова које модулирају алергијске реакције
Неспецифично појачање околне реакције	Болести које слабе одговор коже
Неодговарајућа техника / материјал	Смањена активност коже (деца, старији пацијенти)
	Неодговарајућа техника-материјал

Кожни тест (*Skin prick*), тзв. убодни тест се сматра тестом избора због својих карактеристика, а то су добра специфичност и сензитивност. Реакција коже може бити промењена- смањена под дејством више фактора: квалитета екстракта алергена, животне доби пацијента, коришћења појединих лекова, на пример антихистаминика, кортикостероида и сезонске варијације.

Приказ инхалационих алергена и примена убодног кожног теста дати су на слици број 4.



Слика 4. Део палете инхалационих алергена и примена кожног теста

Кожни тест има велику сензитивност, дозвољава широку селекцију алергена, а резултати су доступни за мање од 30 минута. Осим тога, ова врста тестирања је веома јефтина.

Осим убодног теста можемо спровести код професионалних алергија и контактни тест коже – епикутани тест у случају алергија на контактне иритансе (метале, боје, лакове).

Контактни алергени и приказ епикутаног тестирања дати су на слици број 5.



Слика 5. а, б - професионални алергени, техника примене теста

Мерењу укупног *IgE* у серуму недостаје специфичност и он има малу прогностичку вредност у скринингу АР. Одређивање концентрација специфичних серумских *IgE*, за разлику од претходног теста, има сличну дијагностичку вредност као кожни тест.

Одређивање специфичних серумских *IgE* је индиковано код деце која су мала и немирна и као таква неподесна за кожни тест, као и код деце и одраслих који су на антихистаминској терапији јер иста може довести до лажно негативног резултата кожног теста. Овај тест је такође индикован код пацијената са дерматографизмом. Мерење серум специфичног *IgE* је најбезбеднија опција код пацијента са изузетно јаким алергијским одговором као и када постоји ризик од анафилактичне реакције на тестирање коже (50, 51).

Специфични назални провокациони тест се користи првенствено у истраживачке сврхе и важан је код постављање дијагнозе професионалног ринитиса (51). Поред провокације алергеном из ваздуха, ови тестови се могу изводити и са нестероидним антиинфламаторним медикаментима (аспирином), професионалним агенсима, а и

неспецифичним агенсима (метахолин, хистамин). Вредности различитих метода за дијагностику алергијског ринитиса приказани су у табели број 2.

Табела 2. Вредност различитих метода у дијагностици алергијског ринитиса

Врста теста	Сензитивност	Специфичност	Цена
Анамнестички подаци	+++	+++	++++
Укупни серумски <i>IgE</i>	+	-	++
Специфични серумски <i>IgE</i>	+++	+++	+
Кожни тест	++++	+++	+++
Интракутани тест	++++	+++	+++
Назална провокација	++++	+++	+
Назална еозинофилија	++	-	+++
Еозинофилија у крви	+	-	+++

Друге дијагностичке процедуре, као што су риноманометрија, акустичка ринометрија и *peak nasal inspiratory flow (PNIF)* могу послужити за процену проходности носа при дисању, као и да се процене ефекти примењене терапије, мада се ретко користе у дијагностици алергијског ринитиса.

Радиолошке методе у које спадају стандардни РТГ параназалних синуса, компјутеризована томографија (*computed tomography – CT*), као и магнетна резонанца (*MR*) нису процедуре избора у дијагностици алергијског нити других форми хроничног ринитиса, али су неопходне и незаменљиве код хроничног ринитиса удруженог са носном полипозом, посебно *CT. Multislice computed tomography (MSCT)* се сматра примарним кораком, али и средством који ће поткрепити анамнестичке податке, локални налаз и ендоскопска испитивања након неуспеха медикаментозног лечења болести. *CT* је суверена метода у процени интегритета коштане структура носно-синусне регије те се сматра златним

стандардом у дијагностици евентуалне туморске патологије. Магнетна резонанца (MR) се обично користи у комбинацији са компјутеризованом томографијом за испитивање озбиљних стања као што су неоплазме меких ткива, њихове проширености и диференцирања у односу на хроничну инфламацију нпр. инвазивни микотични синуситис, мукоцеле параназалних синуса и слично.

1.8 Лечење АР

Лечење АР као примарни корак подразумева поступке избегавања алергена, примену лекова (фармакотерапију), имунотерапију и едукацију, док је хируршко лечење индиковано код малог броја болесника. Код болесника оболелих од АР удруженог са *CRSwNP*, примена ендоскопске синусне хирургије долази у обзир тек након исцрпљених свих модалитета лекова. Радна група *ARIA* је објавила документ 2001. године са смерницама базираним на чињеницама из литературе и на новим доказима базираним на резултатима бројних истраживања.

1.8.1 Избегавање алергена

Постоје малобројни подаци о ефикасности избегавања алергена у лечењу алергијског ринитиса. Раније студије су показале да је ефикасност избегавања алергена, пре свега кућне прашине у лечењу перенијалног АР постигнута применом различитих физичких и хемијских средстава, уз значајно побољшање целокупног клиничког исхода, док је једини ефикасан начин избегавања алергена кућних љубимаца био уклањање истих из станова и пажљиво усисавање тепиха и намештаја (52). Неопходно је напоменути да иако су развијени методи смањивања изложености појединих алергена уз помоћ филтера и вентилације, избегавање полена и гљивичних спора је готово немогуће због њихове убиквитарности.

1.8.2 Фармаколошко лечење AP

Антихистаминици

Принцип деловања антихистаминика се заснива на заузимању (блокади) *H1* рецептора на молекулу *IgE* који је претходно везан за површину мастоцита или базофила код претходно сензибилисаних особа. На тај начин се блокира место за везивање алергена и изостаје покретање ране фазе алергијске реакције, која резултује дегранулацијом мастоцита и базофила и ослобађањем хистамина, леукотриена, простагландина, цитокина, хемокина и других медијатора инфламације (53). Орални антихистаминици су врло ефикасни у ослобађању од симптома као што су ринореја, свраб у носу и кијавица који су повезани са реакцијом на алерген и имунским одговором у раној фази, док је њихова ефикасност слабија у уклањању назалне конгестије, која је више карактеристика касне фазе алергијске реакције. Антихистаминици примењени орално имају знатно већу предност код смањивања неназалних симптома као што је коњунктивитис који је често удружен са алергијским ринитисом. Прва генерација антихистаминика је показала висок степен ефикасности у лечењу AP, али је њихова примена данас значајно ограничена због антихолинергичког дејства и седативног пропратног ефекта (53). Антихистаминици се могу примењивати повремено, мада се препоручује узимање најмање две до три недеље, или дуже, јер им се континуираним давањем повећава ефикасност. Препорука је да се са узимањем антихистаминика у лечењу сезонског алергијског ринитиса почне месец дана пре очекиваног цветања биљака на чији је полен утврђена преосетљивост код пацијента. Перорални неседирајући антихистаминици имају знатно већу ефикасност у уклањању свраба у носу, кијавице и појачане назалне секреције него у уклањању назалне опструкције, мада за све новије антихистаминике (деслоратадин, левоцетиризин, фексофенадин) постоје клинички показатељи засновани на резултатима студија да у извесној мери делују и на опструкцију (53). Топикални (интраназални) антихистаминици, као што су азеластин-хидрохлорид и олопатадин-хидрохлорид, имају брзо дејство, јаче од пероралних антихистаминика, добро делују на назалну опструкцију, па им се ефикасност приближава интраназалним кортикостероидима (54). Осим што делују као блокатори *H1* рецептора, интраназални антихистаминици се понашају и као стабилизатори мастоцита.

Они спречавају везивање неуротрансмитера супстанце *P* за рецепторе на површини мастоцита и тим ефектом блокирају ослобађање хистамина и других медијатора запаљења и пре него што је процес дегранулације мастоцита започет везивањем алергена за *IgE*. На тај начин топикални антихистаминици остварују двоструки ефекат и блокирају, поред запаљења посредованог *Th2* имунским одговором, и неурогену компоненту запаљења (54). Азеластин-хидрохлорид у облику назалног спреја у дози од 137 μg /спреју, два пута на дан, једини је антихистаминик друге генерације, за кога су клиничке студије показале готово подједнаку ефикасност у лечењу сезонског алергијског ринитиса и неалергијског вазомоторног ринитиса (54).

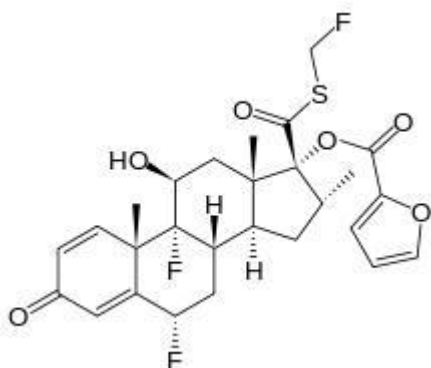
Деконгестиви

За разлику од антихистаминика топикални деконгестиви који показују симпатикомиметски ефекат, врло су ефикасни у лечењу назалне конгестије, али је њихова дуготрајнија употреба ограничена због могуће појаве и развоја медикаментозног ринитиса. Препорука је да се не узимају дуже од 5-7 дана у континуитету, 2-3 пута на дан. Орални деконгестиви су праћени смањеним дејством и ефектом на назалну опструкцију, али не узрокују “ребаунд ефекат” –повратни ефекат вазодилатације и могу имати симпатикомиметски споредни ефекат (53).

Кортикостероиди

Филип Хенк (*Philip Henck*) и Едвард Кендал (*Edvard Kendall*) су 1948. године први почели да примењују кортикостероиде у лечењу и увели их на велика врата у свет медицине, првенствено као неопходне лекове у терапији хроничне инфламације доњих дисајних путева. Кортикостероиди се сматрају терапијским средством са најширим антиинфламаторним дејством. Редовна профилактичка употреба интраназалних глукокортикостероида ефикасна је у смиривању и елиминацији свих пратећих симптома АР. Терапија кортикостероидним лековима смањује значајно инфлукс а самим тим и укупан број еозинофила у слузници носа код пацијената са АР. Сличан ефекат

кортикостероиди показују и у терапији *CRSwNP*, смањењем продукције хемокина у фибробластима и епителним ћелијама, услед чега је процес хемотаксе еозинофила далеко слабији (53). Експериментална студија рађена на мишевима је показала знатно више концентрације медијатора инфламације *CC16* у носном секрету оних мишева са лабораторијски проузрокованим АР који су били третирани дексаметазоном (55). То је указало на чињеницу да медијатор *CC16* може послужити као маркер за процену опоравка слузнице носа код пацијената који се лече од алергијског ринитиса или хроничног риносинуситиса, локалном (интраназалном) применом кортикостероида. Нова генерација интраназалних кортикостероида као што је флутиказон-фууроат (Слика 6) поседује изврсне фармакодинамске и фармакокинетичке особине.



Слика 6. Хемијска формула флутиказон фууроата

Флутиказон-фууроат је синтетски кортикостероид са веома високим афинитетом за глукокортикоидне рецепторе и израженим антиинфламаторним дејством. Почетак терапијског дејства настаје 8 часова након примене прве дозе. Системска биорасположивост флутиказон-фууроата примењеног интраназалним путем је 0.50%, тако да се у системској циркулацији могу наћи вредности мање од $1 \mu\text{g}$, након примене лека у дози од $110 \mu\text{g}$ дневно. Системска биорасположивост најчешће коришћених топикалних кортикостероида у спреју је приказана у табели 3. Локална примена кортикостероида једном на дан одржава ефекат лека током периода од 24 часа, уз минимум нежељених ефеката (64). Минимално крварење при коришћењу интраназалних кортикостероидних спрејева се према предходним испитивањима јавља са инциденцом између 17% и 23% у

поређењу са 10-15% при коришћењу спреја са плацебом и углавном је последица неправилне примене лека.

Табела 3. Системска биорасположивост најчешће коришћених интраназалних кортикостероида

Кортикостероид	Унета доза по једном спреју	Системска биорасположивост
Беклометазон-дипропионат	50 μ g	44%
Флутиказон-пропионат	50 μ g	<1%
Мометазон-фууроат	200 μ g	0,5%
Флутиказон-фууроат	55 μ g	0,5%

Упркос ниској системској биорасположивости, системска апсорпција се може догодити чак и са интраназалном применом лека. Њен ризик је разматран у многим студијама.

Појава супресије на осовини хипоталамус-хипофиза-кора надбубрежне жлезде код пацијената са индикуваном дневном дозом интраназалних кортикостероида је ипак веома ниска и само су резултати једне студије показали мали проценат деце код којих је регистровано заостајање у расту након интраназалне примене кортикостероида (56). Са друге стране студије које су пратиле резултате једногодишње примене флутиказон-пропионата (57) и мометазон-фууроата (58) нису показивале ретардацију раста код деце са дијагнозом АР.

Резултати досадашњих испитивања су доказали да локална интраназална примена кортикостероидних лекова има велики значај и да је незаменљива, како у лечењу АР тако и у лечењу *CRSwNP*. Већина клиничких студија је показала да је ефикасност интраназалних кортикостероида у лечењу АР и *CRSwNP* знатно већа него ефикасност осталих лекова.

Ефикасност кортикостероида на назалну опструкцију је вишеструко већа него код примене других лекова, а то је посебно важна терапијска карактеристика, нарочито када се лечи перенијални алергијски ринитис. Интраназални кортикостероиди у спреју делују најсвеобухватније на симптоме и хронично упаљење носне слузнице. Они делују инхибиторно и у раној и у касној фази алергијске реакције и релативно брзо након

интраназалне примене (59). Механизам дејства кортикостероида је мултифакторијалан и остварује се на различитим нивоима запаљењске реакције. Почине везивањем молекула кортикостероида за цитоплазматски глукостероидни рецептор. На ћелијском нивоу уочена је редукција броја антиген-презентујућих ћелија, *T* лимфоцита, мастоцита и активираних еозинофила (59). Продужена примена кортикостероида смањује инфлукс и укупан број еозинофила у слузници носне шупљине и параназалних синуса услед супресије продукције хемокина (59). Кортикостероиди смањују накупљање ћелија запаљењског инфилтрата у носној слузници (еозинофила, базофила, мастоцита и лимфоцита), као и ослобађање медијатора запаљењске реакције, смањују пропустљивост капилара слузнице носа и параназалних синуса, смањују секрецију из жлезда. Резултати претходних студија су показали да интраназална примена флутиказон-фууроата смањује концентрације *Th2* цитокина (*IL-4*, *IL-5* и *IL-13*) у узорцима носног секрета и ткива слузнице носа код пацијената са АР и *CRSwNP* (60, 61). Осим тога, могуће је комбиновати антихистаминике са кортикостероидима, што се препоручује код оних пацијената код којих се свраб у носу и кијавица задржавају и након примене топикалних кортикостероида. Због свега наведеног топикални кортикостероиди су лек избора у лечењу хроничне инфламације носне слузнице. Обично се код сезонског АР препоручује примена два јутарња спреја у обе стране носа током првих 15 дана, а након тога још 30 дана по један јутарњи спреј у обе стране носа. Међутим код тежих форми перенијалног АР, као и у случајевима удружености АР са *CRSwNP*, код којих је назална опструкција доминантан симптом, препоручује се продужена употреба интраназалних кортикостероида, обично до 3 месеца по два јутарња спреја у обе стране носа. Након 3 месеца примене, предлаже се пауза у коришћењу у трајању од месец до месец и по дана. Правилна дуготрајна употреба топикалних кортикостероида неће довести до атрофије носне слузнице и крварења из носа. Уколико се крварење из носа појави, обично није интензивно и последица је неправилне примене лека а не штетног дејства на слузницу носа. Правилна употреба подразумева да се млаз спреја у обе ноздрве усмери укосом, ка споља, нипошто ка носној прегради. На тај начин ће активна супстанца лека доспети на слузницу доњих носних шкољки и у средњи носни ходник, а не на слузницу носне преграде, која је, иначе, доста танка и вулнерабилна. Правилни поступци при коришћењу кортикостероидних спрејева су приказани у табели 4.

Табела 4. Правилна употреба интраназалних кортикостероидних спрејева

1. Држати главу у неутралном положају, са погледом унапред.
2. Очистити нос од накупљеног секрета лаганим издувавањем носа.
3. Ставити сужени део бочице спреја са отвором у носницу.
4. Усмерити спреј ка споља и укосо. Уколико је могуће, спреј у десној носници применити левом руком, а у левој носници десном руком.
5. Активирати систем за уношење лека онако како је то прописао произвођач и онолико пута колико је препоручио лекар.
6. Лагано удахнути током уношења лека у носну шупљину.
7. Лагано издахнути ваздух.

Велики напредак у лечењу АР је примена комбинованог препарата за интраназалну примену, састављеног од антихистаминика (азеластин-хидрохлорид, 137 μg /спреју) и кортикостероида (флутиказон-пропионат, 50 μg /спреју). Овај препарат је намењен за лечење средње тешких и тешких форми АР. Подједнако је ефикасан и у лечењу тешких форми сезонског и перенијалног АР. Према резултатима истраживања, његова ефикасност далеко превазилази ефекте појединачне примене азеластин-хидрохлорида односно флутиказон-пропионата (62). Примењује се два пута на дан по један спреј у обе стране носа током месец дана.

Примена топикалних кортикостероида има велики значај на побољшање симптома бронхијалне астме. На резултатима претходних истраживања је заснована клиничарима веома привлачна поставка о „алергијској болести свих дисајних путева“ („*united airway disease*“) на којој се заснива и поставка да примена интраназалних кортикостероида може превенирати или ублажити бронхијалну хиперреактивност и симптоме бронхијалне астме. Наиме, наводе се три потенцијална механизма овог заштитног ефекта: (1) смањивање интензитета запаљењске реакције у носној шупљини, што резултује смањивањем нивоа медијатора запаљењске реакције у носној слузници, као и смањивању ефеката ових медијатора на плућа; (2) лекови који се примењују у носу могу да блокирају назобронхијалне рефлексе, који иначе доводе по повећања бронхијалне хиперреактивности; (3) успешно лечење алергијског ринитиса олакшава проток ваздуха кроз нос, а због бољег

кондиционирања удахнутог ваздуха (пречишћавање, влажење, загревање/хлађење) може имати благотворно дејство на симптоме бронхијалне астме.

Примена интраназалних кортикостероидних спрејева се показала као ефикасна и у лечењу лакших и средње тешких форми *CRSwNP* (63). Мада због етичких препрека плацебо контролисане студије студије недостају, поједини резултати нам јасно указују на чињеницу да примена системских кортикостероида (перентерално или пер ос) има значајну ефикасност у лечењу *CRSwNP* (63). Типична схема са применом метил-преднизолона би могла да изгледа овако: 32 mg - 5 дана, 16 mg - 5 дана, 8 mg 10 дана или мање. Наравно, ово долази у обзир у случајевима да пацијенти немају придружене сметње типа дијабетеса, артеријске хипертензије и болести дигестивног система.

Антилеукотриени

Назални симптоми алергијског ринитиса у виду кијања и свраба су у најбољој корелацији са нивоом хистамина, а назална конгестија је у корелацији са нивоом леукотриена (*LTC 4*) (64). У складу с тим, резултати претходне студије су показале повољне ефекте примене монтелукаста код пацијената са сезонским АР (64). Нема података у литератури о резултатима примене антилеукотриена у лечењу перенијалног АР. Ипак, бројна испитивања су показала да је терапија леукотриенима мање ефикасна од коришћења интраназалних кортикостероида, како код изоловане форме сезонског АР, тако и код *CRSwNP* (65, 66).

1.8.3 Алерген специфична имунотерапија

Алерген специфична имунотерапија је предложена на основу смерница и препорука Светске здравствене организације (*WHO*). Ефикасност алерген специфичне субкутане имунотерапије (СКИТ) је показана у лечењу сезонског АР проузрокованог

преосетљивошћу на полен траве, полен брезе, полен амброзије, као и перенијалног АР који је настао на бази преосетљивости на кућну прашину (67). Доказано је и дугорочно дејство СКИТ и три године након престанка лечења сезонског и перенијалног облика АР. СКИТ, примењена у раној фази болести модификује дугорочни процес напредовања алергијског запаљења. Студија рађена у циљу превентивног третмана код деце је доказала да примена СКИТ-а код деце са сезонским АР одлаже настанак беонхијалне астме за минимално три године након престанка лечења (68). Такође је доказано и да су они болесници са моносензибилизацијом који су били лечени СКИТ, имали значајно мањи ризик за развој полисензибилизације.

Међутим, утврђено је да постоји озбиљан ризик код примене СКИТ због могуће системске реакције у виду анафилаксе и напада астме, па је треба користити само када предходно примењени фармаколошки третман није успео да смањи симптоме или када је примењена фармакотерапија изазвала озбиљна нежељена дејства.

Последњих година налазимо интезивирање примене алерген специфичне назалне и сублингвалне имунотерапије (СЛИТ) засноване на ефикасности документованој разним студијама које су јој предходиле. Интраназална имунотерапија има веома добар такозвани безбедоносни профил и минимум нежељених ефеката.

Ефикасност специфичне СЛИТ такође је добро документована разним студијама спроведеним код пацијената оболелих од АР, где је болест настала као последица сензибилизације на кућну прашину (69), полен трава (70, 71) и чемпреса (72). Резултати готово свих студија са специфичном СЛИТ су показали њену ефикасност у поређењу са плацебом, те је нађена значајна редукција симптома, као и потребе за даљом фармакотерапијом након примене ове имунотерапије.

1.8.4 Хируршко лечење

Мада хируршко лечење свакако није прва терапијска опција код АР, може бити потребно у случајевима тешке назалне опструкције проузроковане иреверзибилним хипертрофичним променама слузнице доњих носних шкољки, након неуспешних мера медикаментног

лечења. Примењује се редукција слузокоже различитим методама (електрокоагулација, примена радиоталаса и ласер-терапија). Обично се у случајевима удружености хипертрофије слузнице носних шкољки са деформитетима носног септума, уради и септопластика. У случајевима удруженосри АР са *CRSwNP*, након неуспешне медикаментне терапије, индикована је примена функционалне ендоскопске синусне хирургије (*functional endoscopic sinus surgery - FESS*). Неопходан услов за ефикасну и сигурну ендоскопску хирургију носа је добро познавање анатомских детаља ове врло специфичне регије, с обзиром на близину мозга и орбите. Медикаментни третман може бити настављен након хируршког лечења, поготово код пацијената са рецидивирајућом формом *CRSwNP*. Хируршки третман удружен са постоперативном применом лекова обезбеђује контролу болести код 80% болесника са *CRSwNP* (73). Доказано је да агресивна фармаколошка терапија *CRSwNP*, која се састоји од примене кортикостероида и макролидних антибиотика, даје сличан резултат као и хируршка унутар једногодишњег периода (73, 74).

2. ЦИЉЕВИ И ХИПОТЕЗЕ ИСТРАЖИВАЊА

2.1 ЦИЉЕВИ ИСТРАЖИВАЊА

1. Упоредна анализа нивоа *CC 16*, *CCL5 (RANTES)*, *CCL24*, *ECP*, као и броја еозинофила у узорцима носне слузокоже код пацијената са сезонским и перенијалним алергијским ринитисом, алергијске и неалергијске форме *CRSwNP* у односу на здраве испитанике.
2. Поређење концентрација горе наведених медијатора инфламације у носном секрету, посебно код пацијената са сезонским алергијским ринитисом у току сезоне изложености инхалационим алергенима, а посебно у групи пацијената са перенијалним (перзистентним) алергијским ринитисом, пре и након двонедељне примене флутиказон-фууроата.
3. Поређење концентрација истих медијатора запаљења у носном секрету код неалергичних и алергичних пацијената са *CRSwNP*, пре и након локалне примене истог кортикостероидног спреја.
4. Поређење утицаја примене локалне кортикостероидне терапије на клиничке карактеристике оболелих од горе наведених хроничних запаљенских болести.

2.2 РАДНЕ ХИПОТЕЗЕ ИСТРАЖИВАЊА

1. Концентрације *CC 16*, *CCL5 (RANTES)*, *CCL24* и *ECP*, измерене у носном секрету су више у пацијената са *CRSwNP* у односу на пацијенте са алергијским ринитисом.
2. Концентрације *CC 16*, *CCL5*, *CCL24* и *ECP* су више у пацијената са перенијалним алергијским ринитисом, у односу на пацијенте са сезонским алергијским ринитисом.
3. Постоји негативна корелација између концентрације *CC 16* у носном секрету и клиничких показатеља тежине болести (носни симптоми, локални налаз), како у групи оболелих од алергијског ринитиса, тако и у групи пацијената са *CRSwNP*.
4. Постоји позитивна корелација између концентрација *CCL5*, *CCL24* и *ECP* у носном секрету и клиничких карактеристика болести и код пацијената са алергијским ринитисом и код оних са *CRSwNP*.
5. Концентрације наведених медијатора у носном секрету су статистички значајно више у групи пацијената са дијагнозом алергијског ринитиса и *CRSwNP* у односу на здраве испитанике.
6. Постоји негативна корелација између концентрације *CC 16* са једне стране и *CCL5*, *CCL24* и *ECP* са друге стране.
7. Примена интраназалних кортикостероида доводи до повећања концентрације *CC 16* у носном секрету, како и до побољшања симптома и локалног налаза и у групи са алергијским ринитисом и у групи са *CRSwNP*.
8. Лечење кортикостероидима значајно редукује концентрације *CCL5*, *CCL24* и *ECP* у носном секрету у свим групама испитаника

3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

3.1 ВРСТА СТУДИЈЕ

Проспективна, кохортна, клиничка опсервациона студија.

3.2 ПОПУЛАЦИЈА КОЈА ЈЕ ИСТРАЖИВАНА

Испитивањем је било обухваћено осамдесеторо болесника са хроничним запаљењем слузнице носа и параназалних синуса, од тога 20 испитаника са сезонским, 20 са перенијалним АР, 20 неалергичних и 20 алергичних пацијената са *CRSwNP*. Контролну групу је чинило двадесеторо испитаника са клинички здравом носном слузницом. Студија је спроведена у периоду од 13.02.2014. године до 08.09.2015. године на Клиници за оториноларингологију и у Институту за медицинска истраживања Војномедицинске академије а на основу одобрења Етичког комитета ВМА.

3.3 УЗОРКОВАЊЕ

Основни критеријуми за укључење у студију су били дијагноза АР, односно дијагноза *CRSwNP*. Тестирање на алергије је спроведено код свих испитаника и то на 18 стандардних инхалационих алергена: *Alternaria alternata*, *Artemisia vulgaris*, *Aspergillus fumigatus*, бубашваба, *Candida albicans*, *Cladosporium herbarum*, *Cupressus arizonica*, *Dermatophagoides farinae*, *Dermatophagoides pteronyssinus*, епител мачке, епител пса, *Olea europaea*, *Parietaria judaica*, *Penicillium notatum*, *Plantago lanceolata*, *Platanus acerifolia*, полек корова, *Salsola kali*). Резултат теста је сматран позитивним уколико је најмање једна од индурација на површини коже била бар за 3 мм шира у односу на негативну контролу. Испољен позитиван кожни тест са инхалационим алергенима је приказан на слици 7.



Слика 7. Позитиван кожни убудни тест на алерген полена траве (обележен је бројем 11)

Дијагноза АР је постављана у складу са *ARIA (Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma)* смерницама (75). Разврставање пацијената са алергијским ринитисом је вршено на следећи начин:

(а) Сезонски АР – симптоми присутни мање од 4 дана у недељи, у укупном трајању краћем од 4 недеље, уз позитивне тестове на полен трава, корова и дрвећа.

(б) Перенијални АР – симптоми присутни више од 4 дана у недељи, у укупном трајању дужем од 4 недеље, уз позитивне тестове на алергене кућне средине (кућна прашина, гриње, буђ, бубашваба, брашно, перје, животињска длака и друго).

Дијагноза *CRSwNP*, је постављана на основу анамнезе, клиничке слике, физикалног прегледа (предње и задње риноскопије), ендоскопије носа и компјутеризоване томографије (*CT*) параназалних синуса урађене у короналним и аксијалним пресецима, а у складу са важећим Водичем који је објавило Европско ринолошко удружење (*European Rhinologic Society*) (76).

Критеријуми за искључивање из студије су били: млађи од 18 година, дијабетичари, особе са болестима дигестивног тракта и јетре, труднице, опструкција доњих дисајних путева, бронхијална астма, преосетљивост на нестероидне антиинфламаторне аналгетике, антрохоанални полипи, цистична фиброза, примарна цилијарна дискинезија, акутне

респираторне инфекције, лечење системским и интраназалним кортикостероидима, антибиотицима и антихистаминицима у периоду унутар три недеље пре започињања клиничке студије.

Сви пацијенти са хроничним запаљењем слузнице носа и параназалних синуса су добијали флузиказон-фууроат назални спреј (два јутарња спреја у дози од 55 микрограма (μg) у сваку носницу), у укупној дневној дози од 220 μg , током 14 дана. Правилна употреба интраназалних кортикостероида је приказана у табели 4.

3.4 ВАРИЈАБЛЕ КОЈЕ СУ МЕРЕНЕ У СТУДИЈИ

Независне варијабле: терапија флузиказон-фууроатом, присуство/одсуство алергијског ринитиса, присуство/одсуство CRSwNP.

Зависне варијабле:

Носни симптом скор

Од сваког од испитаника је тражено да процени тежину својих симптома удружених са АР, односно CRSwNP (носна опструкција, ослабљено чуло мириса, секреција из носа, свраб у носу, кијање) на дан укључења у студију и 14 дана након лечења интраназалним кортикостероидом и да их класификује, методом по Цикопулосу и сар. (*Tsicopouloset al.*) (77). Класификовање је вршено на следећи начин: 0 за одсуство симптома, 1 за лакше симптоме, 2 за средње тешке симптоме и 3 за тешке симптоме. Максимални носни симптом скор је 15. Осим тога, интензитет носних симптома код пацијената са дијагнозом CRSwNP је процењиван и применом упитника SNOT-22 (*Sino-nasal Outcome Test*) (78), који је попуњавао сваки од испитаника том дијагнозом, пре и након лечења.

Ендоскопски скор

Ендоскопски преглед носа је рађен код пацијената са *CRSwNP* у седећем положају, уз употребу ригидног ендоскопа 0° и 30° (*Storz, Tuttlingen, Germany*). Деконгестивне капи и анестетици нису били употребљавани. Ендоскопски налаз пре и 14 дана након лечења флутиказон-фууроатом је класификован методом по Лилдхолту и сар. (*Lildholdt et al.*) (79).

Проширеност носних полипа је класификована у односу на анатомске детаље у носној шупљини на четири степена: нулти степен (без полипа), 1. степен (мали полипи који не допиру до горње ивице доње носне шкољке), 2. степен (полипи средње величине који допиру до растојања између горње и доње ивице доње носне шкољке), 3. степен (велики полипи који допиру испод доње ивице доње носне шкољке). Због чињенице да носни полипи 3. степена представљају анатомску препреку при примени лека, у студију су били укључени само пацијенти са *CRSwNP* чија величина полипа одговара 1. и 2. степену.

Резултати лечења су класификовани у две категорије: *побољшање* и *без побољшања*. Под *побољшањем* смо подразумевали смањење величине носних полипа за више од једног степена након лечења кортикостероидним спрејем.

Концентрације медијатора запаљења у носном секрету

Узорци носног секрета су узимани од свих испитаника, једном од испитаника из контролне групе, а пре и након лечења флутиказон-фууроатом од испитаника са *АР* и *CRSwNP*. За узорковање носног секрета је била коришћена тзв. апсорпциона техника (80).

Дрвени штапићи са ватом на врху су урађани у носни секрет у непосредној близини средњег носног ходника током 5 минута, колико је потребно да се комадић вате у потпуности натопи секретом. Затим је сваки од узорака био урођен у *Eppendorf* епрувету која је садржала по 1 ml „трансфер медијума“ (фосфатно пуферисани физиолошки раствор са 50 $\mu\text{g/ml}$ гентамицина, 340 $\mu\text{g/ml}$ пеницилина *G* и 500 $\mu\text{g/ml}$ фунгизона), током најмање 30 минута, колико је потребно за дифузију медијатора инфламације у „трансфер медијум“. Затим су узорци центрифуговани на 1000 g током 10 минута, како би дошло до одвајања супернатанта од талога. Након тога су супернатанти били замрзнути на -70°C и чувани до детекције медијатора. Концентрације *CC16*, *CCL5 (RANTES)*, *CCL24* и *ECP* у носном

секрету су одређиване применом *Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)* методе. За одређивање концентрација ових медијатора су коришћени хумани комерцијални ELISA китови: за CC16 (Cloud-Clone Corporation, Houston, TX, USA), за ECP (Cusabio Biotech Co Ltd, China), за RANTES (BioLegend, San Diego, CA, USA), за CCL24 (Cloud-Clone Corporation, Wuhan, China).

Вредности концентрације *CC16* и *ECP* су изражаване у *ng/ml*, а распон детекције, сензитивност и коефицијент варијације су приказани у табели 5.

Табела 5. Карактеристике детекције медијатора *CC16* и *ECP* (*ng/ml*)

Медијатор	Распон детекције	Сензитивност	Коефицијент варијације
<i>CC16</i>	1,56ng/ml-100ng/ml	0,61ng/ml	10%
<i>ECP</i>	1,56ng/ml-100ng/ml	0,39ng/ml	8%

Вредности концентрација *CCL24 (Eotaxin 2)* и *CCL5 (RANTES)* су изражаване у *pg/ml*, а распон детекције, сензитивност и коефицијент варијације су приказани у табели 6.

Табела 6. Карактеристике детекције медијатора *CCL24* и *CCL5* (*pg/ml*)

Медијатор	Распон детекције	Сензитивност	Коефицијент варијације
<i>CCL24 (Eotaxin 2)</i>	62,5pg/ml- 4000 pg/ml	24,9 pg/ml	10%
<i>CCL5 (RANTES)</i>	3pg/ml – 2000 pg/ml	3pg/ml	6.8%

Број еозинофила у носној слузници

Цитолошко испитивање је спроведено од стране једног цитолога код свих испитаника, једанпут у контролној групи, као и два пута, пре и након примене интраназалног

кортикостероида код пацијената са AP и CRSwNP. За узорковање носне слузнице је коришћена ринопроба (штапић са четкастим проширењем за „загревање“ површине слузнице носне шупљине). Узорци су узимани билатерално са горње површине доње носне шкољке. Три „загревања“ епитела слузнице обезбедила су нам један узорак за анализу.

Препарат је након брзе фиксације 95%-тним етил-алкохолем 95% у трајању од једног минута био бојен Меј Гринвалд – Гимза (*May Grünwald - Giemsa*) методом. Узорци су прегледани једноструко слепом техником од стране искусног цитолога, који претходно није био упознат са клиничким статусом испитаника. Процент еозинофила израчунат је микроскопским цитолошким испитивањем. Слајдови су били испитивани уз помоћ имерзионог објектива и прегледани светлосним микроскопом при увећању од 400 пута.

Укупан број еозинофила приказан је као проценат ћелија гранулоцитног или мононуклеарног типа, без ћелија респираторног епитела на пољу великог увећања (*high power field - HPF*), у виду средње вредности од десет посматраних поља.

3.5 СНАГА СТУДИЈЕ И ВЕЛИЧИНА УЗОРКА

Резултати претходне студије коју су реализовали Де Корсо и сар. (*De Corso et al.*) (38) су указали да вредности (средња вредност \pm стандардна девијација) хемокина *CCL24* у носном секрету у пацијената са хроничним запаљењима слузнице носа показују највећу разлику од свих испитиваних медијатора у односу на његове концентрације у носном секрету клинички здравих ($128,9 \pm 51,7 \text{ pg/ml}$ у односу на $16,4 \pm 10,7 \text{ pg/ml}$). Уз критеријуме да је очекивана снага ефекта била 0,4 (више од 30% разлике између група), да је неопходна снага студије била најмање 80%, а вероватноћа грешке првог типа 0,05 ($\alpha = 0,05$), применом анализе варијансе је утврђено да је укупан број испитаника требао да буде 80. То значи да је у свакој од испитиваних група требало да буде минимално по 16 испитаника.

3.6 СТАТИСТИЧКА ОБРАДА ПОДАТАКА

С обзиром на чињеницу да смо имали више од две испитиване групе, дистрибуција испитаника према полу и старости рађена је применом *Analysis of Variance* - ANOVA теста (тест анализе варијансе). Утврђена је значајна статистичка разлика између група када су у питању године старости. Нађено је да постоји значајна разлика између група испитаника ($p < 0,000$), али не и између којих група па је накнадно коришћен Тукејевљев тест (*Post hoc Tukeyev*). Након провере нормалности података Колмогорнов-Смирнов (*Kolmogorov-Smirnov*) и Шапиров-Вилк (*Shapiro-Wilk*) тестом, примењена је непараметарска статистика. За поређење између група користили смо Крускал–Валисов тест (*Kruskal-Wallis*), којим је доказана статистичка значајност између испитиваних група, мада није било јасно између којих. Након тога је био примењен Ман –Витни тест (*Mann-Whitney test*) за парна поређења међу групама, а након тога и Данов накнадни тест (*Dunn's post hoc test*), којим је тачно показано међу којим од испитиваних група је била присутна статистичка значајност. Парна поређења унутар група (пре и након кортикостероидне терапије) вршена су коришћењем непараметарског Вилкоксеновог (*Wilcoxon*) теста.

Разлике су сматране статистички значајним уколико је p вредност била мања од 0,05. За процену статистичке повезаности међу различитим параметрима користили смо Спирманов (*Spearman*) тест корелације. Резултате смо представили као средњу вредност \pm стандардна девијација ($X \pm SD$). Сви статистички прорачуни су урађени коришћењем *SPSS softwarea* (*Statistical Package for the Social Sciences, version 17.0, SPSS Inc., Chicago, USA*).

4. Резултати

4.1 Основне карактеристике испитаника

Студија је обухватила 100 испитаника, од тога четрдесеторо болесника са дијагностикованим АР (20 испитаника са сезонским, а 20 са перенијалним ринитисом), 40 болесника са дијагнозом *CRSwNP* (20 алергичних и 20 неалергичних). Контролну групу чинило је 20 испитаника са клинички здравом слузницом носа.

Табела 7 приказује полну дистрибуцију испитаника који су укључени у истраживање.

Табела 7. Дистрибуција испитаника према полу

Испитаници		Мушкарци	Жене	Укупно
АР	N	20	20	40
	% тип	50%	50%	100%
	% пол	45,5%	35,7%	40%
<i>CRSwNPA</i>	N	20	20	40
	% тип	50%	50%	100%
	% пол	45%	37,5%	40%
К	N	4	16	20%
	% тип	20%	80%	100%
	% пол	9,1%	28,6%	20%
Укупно	N	44	56	100
	% тип	44,6%	56%	100%
	% пол	100%	100%	100%

АР -алергијски ринитис

CRSwNPA-хронични полипозни риносинуситис (алергијски и неалергијски облик) К -контролна група

У табели 8 је приказана старосна дистрибуција испитаника. Најмлађи пацијент са АР је био стар 18, а најстарији 73 године. Међу пацијентима са *CRSwNP*, најмлађи је имао 26, а најстарији 82 године. Здрави испитаници су били у опсегу старости од 21 до 59 година.

Табела 8. Старосна дистрибуција испитаника

Врста оболења	Број пацијената	Средња вредност+SD	Минимум	Максимум
АР	40	32,00±12,258	18	73
CRSwNPA(+,-)	40	48,00±14,124	26	82
К	20	41,15±11,358	21	59
Укупно	100	40,23±14,645	18	82

Старосна доб испитаника представљена као средња вредност ± стандардна девијација

SD- срења вредност±стандардна девијација

АР – болесници са алергијским ринитисом

CRSwNPA(+,-) – хронични полипозни риносинуситис, алергични и неалергични

К-контролна група

Неопходно је рећи да је у овој студији испитивано више од две групе испитаника па је коришћен *ANOVA* тест којим је доказана значајна разлика између испитиваних група пацијента ($P<0.000$) за степен слободe $Df=2$ и нађени однос варијансе међугрупног варијабилитета износио је $F=15.496$.

Post hoc Tukeyev-љевим тестом утврдили смо статистички значајну разлику када је у питању старосна доб између група испитиваних група пацијената са дијагностикованим алергијским ринитисом (АР) и хроничним полипозним риносинуситисом (CRSwNP) ($P<.000$) и између пацијената са АР и контролне групе ($P< 0.029$) при нивоу статистичке значајности од $p=0.05$.

4.2 Симптоми и ендоскопски налаз пре лечења

(Сумиране групе)

Средња вредност носног симптом скорa (НСС) утврђена је код пацијената обе сумиране испитиване групе: испитаника који болују од АР (n=40) и испитаници са CRSwNP (n=40).

Израчуната средња вредност НСС је значајно виша код испитаника са носном полипозом (9.05 ± 0.96) у поређењу са испитаницима који болују од АР-а (7.07 ± 0.86) ($P<0,01$) (Табела 9). Резултати који се односе на тест *SNOT-22*, такође су приказани у табели 9. Носни полипи су ендоскопским прегледом дијагностиковани код свих четрдесеторо пацијената са CRSwNP, а вредности за ендоскопски скор (ЕС) су такође приказане у табели 9.

Табела 9. Симптами и ендоскопски налаз код пацијената са АР и *CRSwNP*

Параметри	АР	<i>CRSwNP</i>
НСС*	7,07± 0,86	9,05± 0,96
<i>SNOT 22</i> *	0	49,35± 6,01
ЕС*	0	3,82± 0,38

*Резултати су дати као средња вредност ± стандардна девијација

АР-алергијски ринитис

CRSwNP-хронични полипозни риносинуситис

НСС – носни симптом скор ЕС-ендоскопски

скор

SNOT 22-sino-nasal outcome test

Након приказа резултата обједињених група пацијената, прелазимо на приказ код појединачних група испитаника.

-Симптоми и ендоскопски налаз (Појединачне групе)

Средња вредност НСС је добијена након разврставања пацијената према групама и то на оболеле од сезонског АР (n=20), перенијалног АР (n=20), неалергичне пацијенте са *CRSwNP* (n=20) и алергичне пацијенте са *CRSwNP* (n=20) приказана је у табели број 10.

Добијене су статистички значајно више вредности НСС код алергичних пацијената са *CRSwNP* у односу на неалергичне ($p < 0,05$) и у поређењу са пацијентима који болују од перенијалног АР ($p < 0,001$). Такође је уочено да неалергични пацијенти са *CRSwNP* имају виши НСС у односу на пацијенте са перенијалним АР ($p < 0,01$). Утврђено је да не постоји статистички значајна разлика у ендоскопском скору између неалергичних и алергичних пацијената са *CRSwNP* ($p > 0,05$).

4.3 Вредности медијатора инфламације и броја еозинофила пре примене кортикостероида (сумиране групе)

Вредности медијатора инфламације у носном секрету, као и средње вредности процената еозинофила у носној слузници су за сумиране групе (АР, *CRSwNP*) приказане у табели 10. Група испитаника са *CRSwNP* је имала највећи проценат еозинофила у носној слузници, статистички значајно виши у односу на пацијенте са АР ($p < 0,05$) и на контролне испитанике ($p < 0,000$). Највиши вредности *ECP* у носном секрету су измерене код пацијената са *CRSwNP* и оне су биле статистички значајно више у односу на здраве испитанике ($p < 0,000$). Пацијенти са АР су имали значајно више концентрације *ECP* у носном секрету у односу на контролну групу ($p < 0,046$). *ECP* је једини медијатор инфламације за кога је у овој студији нађена статистичка значајност када су поређене његове вредности у сумираним групама пацијената са АР и *CRSwNP* ($p < 0,000$). Највише средње вредности медијатора *CCL24* (*eotaxin 2*) су добијене код испитаника оболелих од АР, али није нађена статистички значајна разлика у односу на испитанике са дијагнозом *CRSwNP* ($p < 0,088$). Обе групе пацијената са хроничним запаљењем слузнице носа/параназалних синуса су имале високо статистички значајно више концентрације *CCL24* у односу на здраве испитанике ($p < 0,000$). Најниже средње вредности *CC16* нађене су у групи испитаника са *CRSwNP*, значајно ниже у односу на здраве испитанике ($p < 0,022$), док није нађена статистички значајна разлика у односу на пацијенте са АР ($p < 0,814$). Такође, није нађена значајност при поређењу пацијената са АР и групом здравих испитаника ($p < 0,076$). Највише средње вредности медијатора *RANTES* у носном секрету нађене су код оболелих од *CRSwNP*, са значајном статистичком разликом у поређењу са контролном групом ($p < 0,002$). Значајна разлика је утврђена и између групе пацијената са АР и контролне групе ($p < 0,046$), док није нађена значајна разлика између пацијената са АР и *CRSwNP* ($p < 0,083$).

Табела 10. Медијатори инфламације пре кортикостероидне терапије код три сумиране групе испитаника (са АР, са *CRSwNP* и контролне групе)

Параметри	АР	<i>CRSwNP</i>	Контролна група
Број пацијената	40	40	20
Еозинофили % *	29,85 ± 4,15	39,25 ± 6,76	4,25 ± 1,25
<i>ECP</i> * (ng/ml)	26,74 ± 17,95	44,75 ± 28,62	17,49 ± 11,15
<i>CCL24</i> * (pg/ml)	228,02 ± 164,05	217,44 ± 50,22	59,83 ± 60,75
<i>CC16</i> * (ng/ml)	16,72 ± 14,62	12,10 ± 8,67	30,77 ± 24,98
<i>RANTES</i> * (pg/ml)	39,41 ± 19,57	68,49 ± 108,18	29,40 ± 13,50

*средња вредност ± стандардна девијација (SD)

-Број еозинофила у носној слузници (Појединачне групе испитаника)

Средње вредности броја еозинофила нађених у носној слузници код свих испитиваних група пацијената, са сезонским АР (n=20), перенијалним АР (n=20), неалергичних (n=20) и алергичних пацијената са *CRSwNP* (n=20), као и групе здравих испитаника (n=20) су представљене у табели 11. Највиши проценат броја еозинофила у носној слузници нађен је код пацијената оболелих од алергијске форме *CRS wNP*, са значајном статистичком разликом ($p < 0,001$) у поређењу са неалергичним пацијентима са *CRSwNP* и групом здравих испитаника ($p < 0,001$). Код пацијената са сезонским АР, перенијалним АР и неалергичних пацијената са *CRSwNP* нађене су значајно више вредности у поређењу са контролном групом испитаника ($p < 0,001$). Није нађена статистички значајна разлика у броју еозинофила између пацијената са перенијалним АР и неалергичних пацијената са *CRSwNP* ($p > 0,05$).

-Концентрације медијатора инфламације у носном секрету (појединачне групе испитаника)

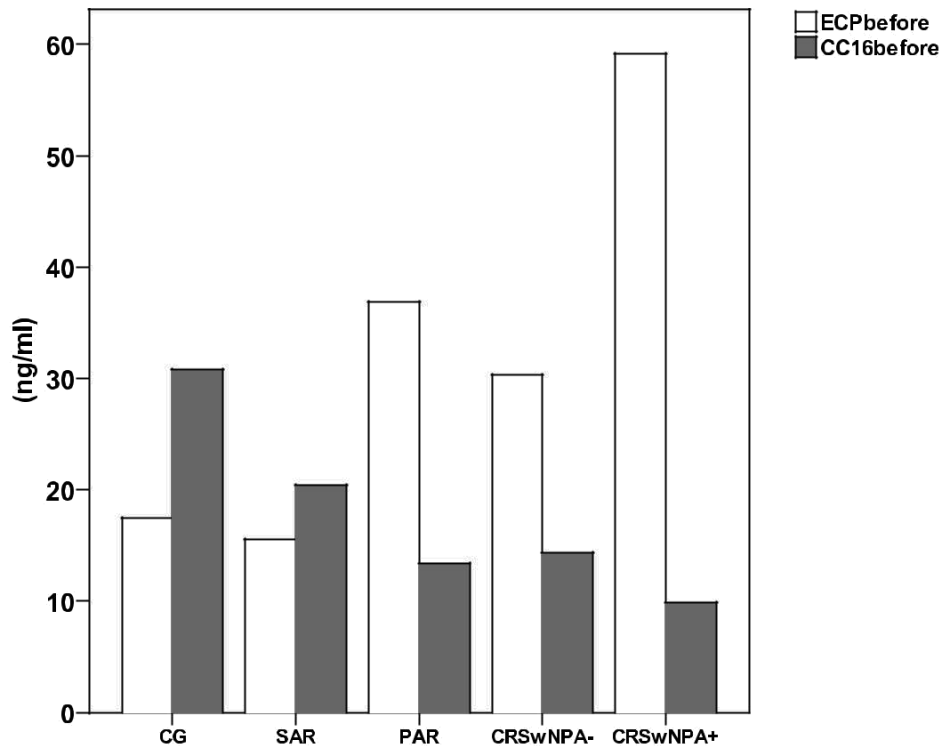
Средње вредности концентрације *CC16*, *ECP*, *CCL24* и *RANTES* у назалном секрету код пацијената са сезонским АР, перенијалним АР, неалергичних и алергичних пацијената са *CRSwNP*, као и у групи здравих испитаника су приказане у 11.

Табела 11. Вредности параметара за сваку од испитиваних група

Параметри	Сезонски АР	Перенијални АР	<i>CRSwNPA</i> -	<i>CRSwNPA</i> +	Контроле
Испитаници *	20	20	20	20	20
Пол (М/Ж)	11/9	11/9	12/8	10/10	10/10
Старост *	34,89±14,17	42,35±12,26	45,32±14,82	48,00±14,12	41,15±11,35
НСС *	7,00±9,42	7,14±0,79	8,70±0,64	9,40±0,94	0
<i>SNOT 22</i>	0	0	47,65±4,25	51,05±7,08	0
ЕС*	0	0	3,80±0,41	3,85±0,37	0
<i>CT score</i> *	0	0	14,85±2,56	15,38±2,88	0
Еозиноф (%) *	26,21±2,44	33,14±2,08	34,05±3,88	44,45±4,66	4,25±1,25
<i>CC16</i> (ng/ml) *	20,43±16,82	13,35±11,72	14,31±11,34	9,89±3,94	30,76±24,98
<i>ECP</i> (ng/ml) *	15,52±10,29	36,88±17,48	30,35±12,85	59,13±32,87	17,49±11,15
<i>CCL24</i> (pg/ml)	177,96±36,51	273,32±216,20	204,34±46,65	230,54±51,36	59,83±60,75
<i>RANTES</i> (pg/ml)	33,36±15,44	45,89±21,31	59,90±39,70	77,07±149,30	29,40±13,50

*средња вредност ±стандардна девијација

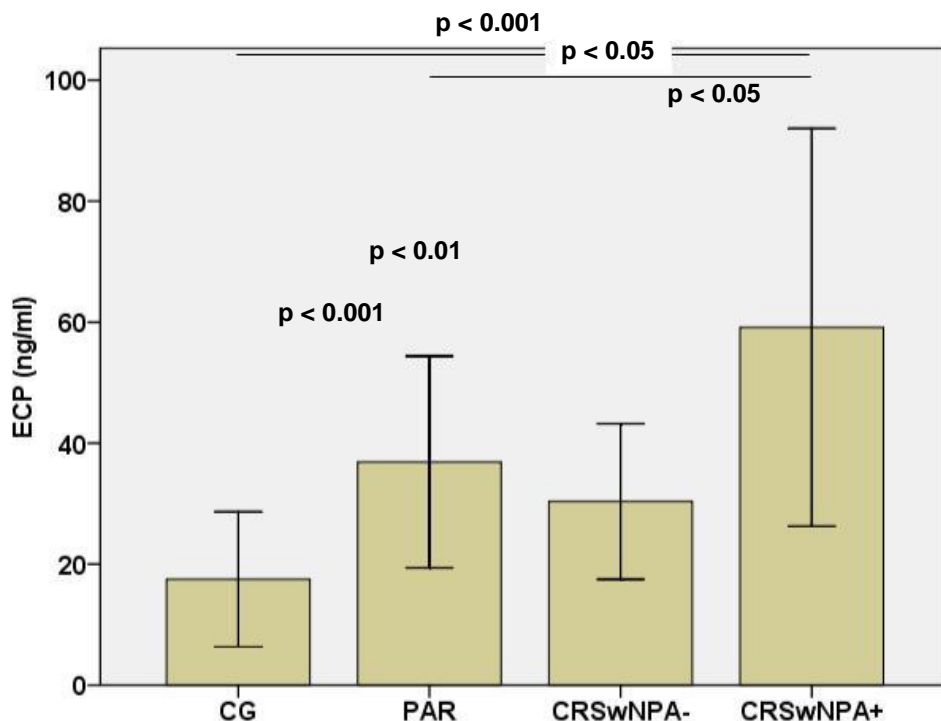
Поређење средњих вредности концентрација *ECP* и *CC16* (ng/ml) у назалном секрету код свих испитиваних група је приказано на слици 8. Видимо да су средње вредности *CC16* у носном секрету испитиваних пацијената значајно ниже у поређењу са контролном групом (30,76±24,98 ng/ml). Најнижи нивои овог медијатора инфламације, нађени су код пацијента оболелих од хроничног полипозног риносинуситиса удруженог са алергијским ринитисом (*CRSwNPA*+) (9,89±3,94 ng/ml), док су за *ECP* нађене средње вредности концентрације у назалном секрету значајно више у поређењу са контролном групом (17,49±11,15 ng/ml). Највише концентрације *ECP* нашли смо у у групи алергичних пацијената са *CRSwNP* (59,13±32,87 ng/ml).



ECP before- *ECP* пре терапије
CC16 before- *CC16* пре терапије
CG – контролна група
SAR – сезонски AP
PAR – перенијални AP
CRSwNPA- - неалергични са *CRSwNP*
CRSwNPA+ - алергични са *CRSwNP*

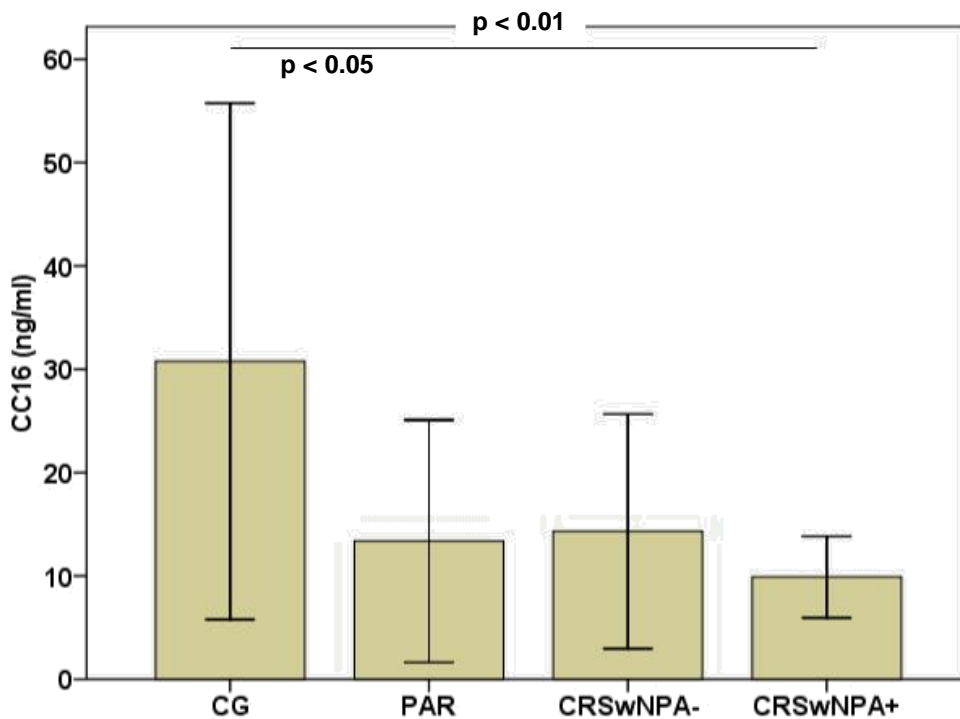
Слика 8. Концентрације *ECP* и *CC16* пре кортикостероидне терапије

Концентрације *ECP* у носном секрету код пацијената са перенијалним AP, неалергичних и алергичних пацијената са *CRSwNP* су биле значајно више у поређењу са контролном групом ($p < 0,001$, $p < 0,01$, $p < 0,001$, редоследом). Највећа концентрација *ECP* је измерена код алергичних пацијената са *CRSwNP*, а нешто нижа у групи пацијената са перенијалним AP ($p < 0,05$) и код неалергичних пацијената са *CRSwNP* ($p < 0,05$). Није нађена статистички значајна разлика између пацијената са перенијалним AP и неалергичних са *CRSwNP* ($p > 0,05$). Резултати су приказани на слици 9.



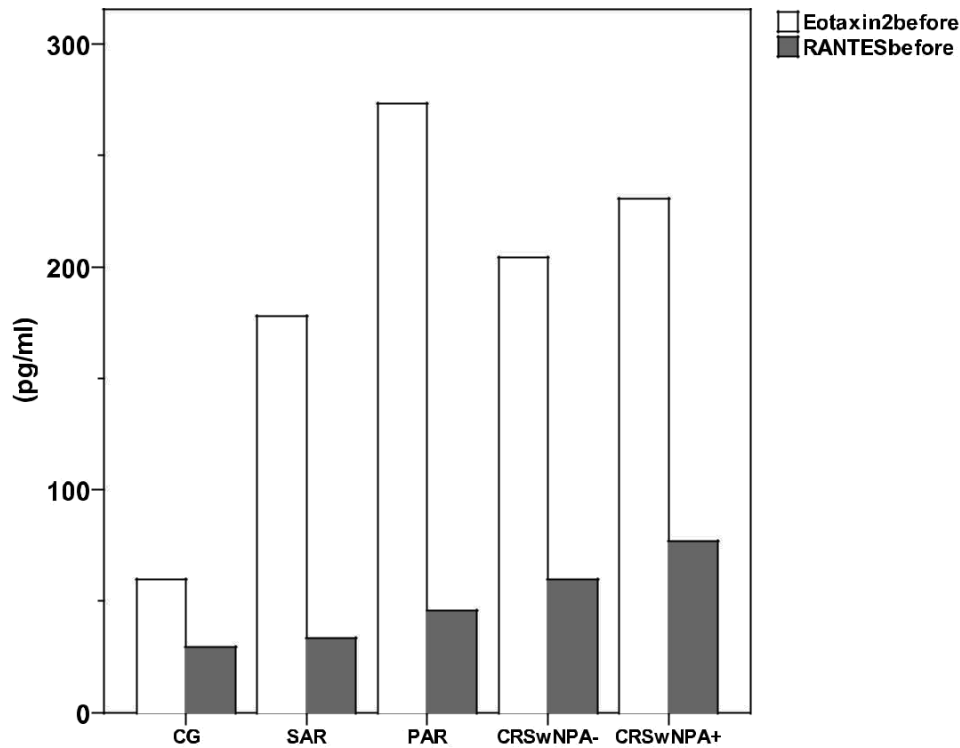
Слика 9. Концентрације *ECP* (ng/ml) у носном секрету код четири испитиване групе (*CG* - контролна група; *PAR* – са перенијалним АР; *CRSwNPA-* - неалергични са хроничним полипозним риносинузитисом; *CRSwNPA+* - алергични са хроничним полипозним риносинузитисом)

Концентрације *CC16* у носном секрету су биле статистички значајно ниже код пацијената са перенијалним АР ($p < 0,05$) и алергичних пацијената са *CRSwNP* ($p < 0,01$). Није нађена статистички значајна разлика између неалергичних пацијената са *CRSwNP* и здравих испитаника ($p > 0,05$). Између група оболелих нису нађане статистички значајне разлике по питању концентрација *CC16* ($p > 0,05$). Резултати су приказани на слици 10.



Слика 10. Концентрације *CC16* (ng/ml) у носном секрету код четири испитиване групе (*CG* - контролна група; *PAR* – са перенијалним АР; *CRSwNPA-* - неалергични са хроничним полипозним риносинуситисом; *CRSwNPA+* - алергични са хроничним полипозним риносинуситисом)

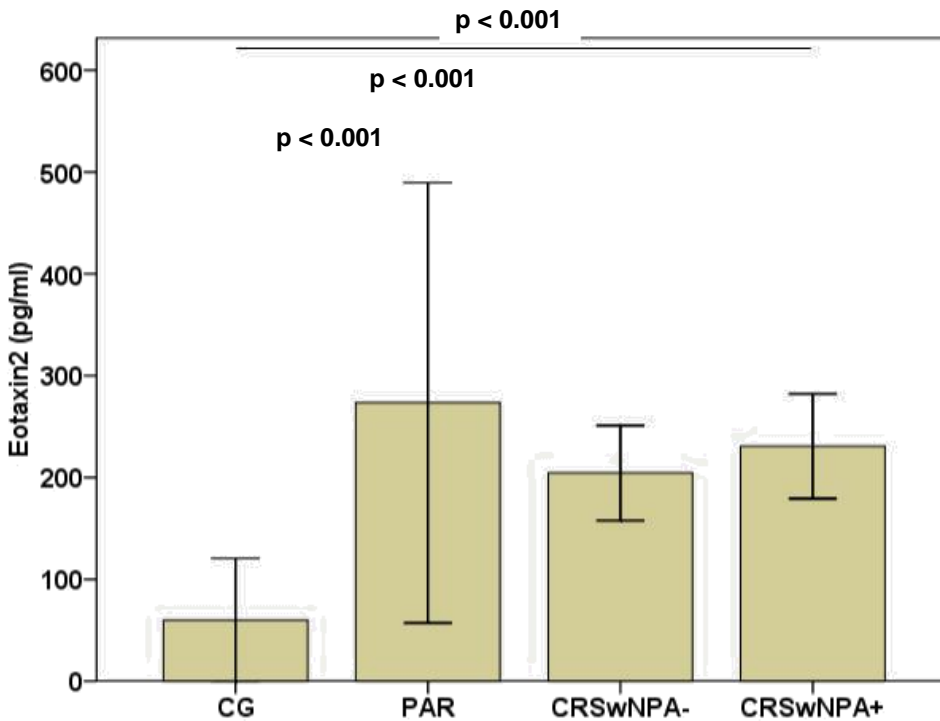
Поређење средњих вредности концентрације *CCL24* и *RANTES* (pg/ml) у носном секрету код свих испитиваних група је приказано на слици 11. Концентрације *CCL24* су у свим групама са запаљењем носне слузнице биле више у односу на групу испитаника са клинички здравом слузницом носа ($59,83 \pm 60,75$ pg/ml). Највише вредности *CCL24* су биле измерене у групи пацијената са перенијалним АР ($273,32 \pm 216,20$ pg/ml). Концентрације медијатора *RANTES* у носном секрету су биле статистички значајно више у свим групама пацијената у односу на испитанике са здравом носном слузницом ($29,40 \pm 13,50$ pg/ml), али су највеће концентрације измерене у групи алергичних пацијената са *CRSwNP* ($77,07 \pm 149,30$ pg/ml).



Eotaxin2 before- *CCL24* пре терапије
RANTES before- *RANTES* пре терапије
CG – контролна група
SAR – сезонски AP
PAR – перенијални AP
CRSwNPA- - неалергични са *CRSwNP*
CRSwNPA+ - алергични са *CRSwNP*

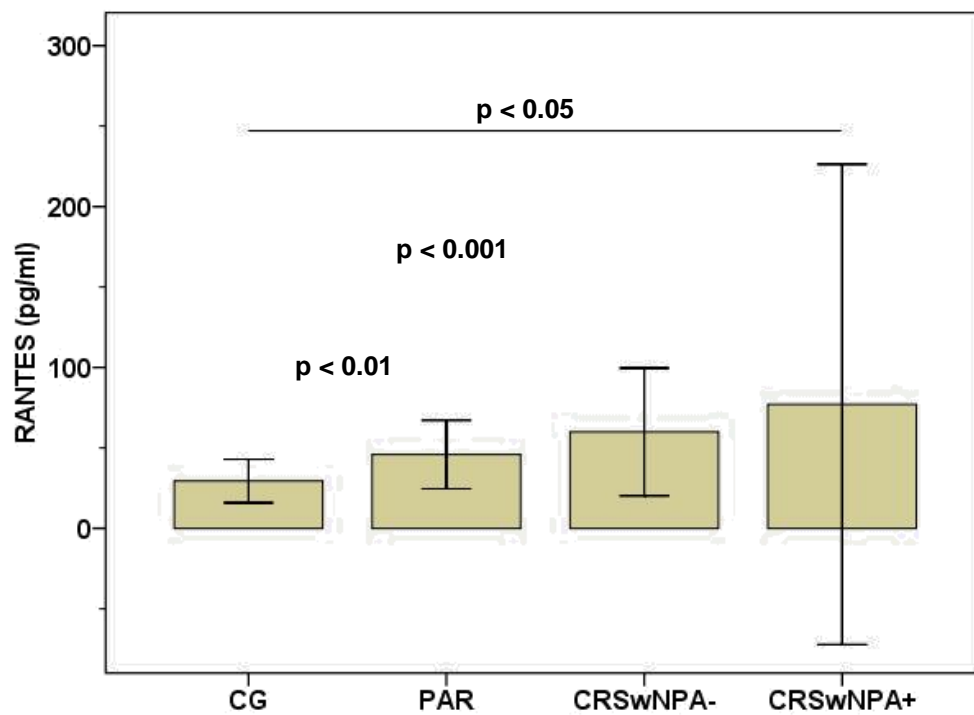
Слика 11. Концентрације медијатора *CCL24* и *RANTES* пре кортикостероидне терапије

Концентрације *CCL24* у носном секрету код пацијената са сезонским AP ($177,96 \pm 36,51$ pg/ml) су биле значајно више у односу на испитанике у контролној групи ($p < 0,05$). Такође, код осталих пацијената са хронично инфламираном слузницом носа, са перенијалним AP ($273,32 \pm 216,20$ pg/ml), са неалергијском ($204,34 \pm 46,65$ pg/ml) и алергијском формом *CRSwNP* ($230,54 \pm 51,36$ pg/ml), израчунате су значајно више вредности у поређењу са контролном групом ($p < 0,001$), што је приказано на слици 12. Нису нађене статистички значајне разлике између испитиваних група пацијената по питању концентрације *CCL24*.



Слика 12. Концентрације *CCL24* (pg/ml) у носном секрету код четири испитиване групе (*CG* - контролна група; *PAR* – са перенијалним АР; *CRSwNPA-* - неалергични са хроничним полипозним риносинуситисом; *CRSwNPA+* - алергични са хроничним полипозним риносинуситисом)

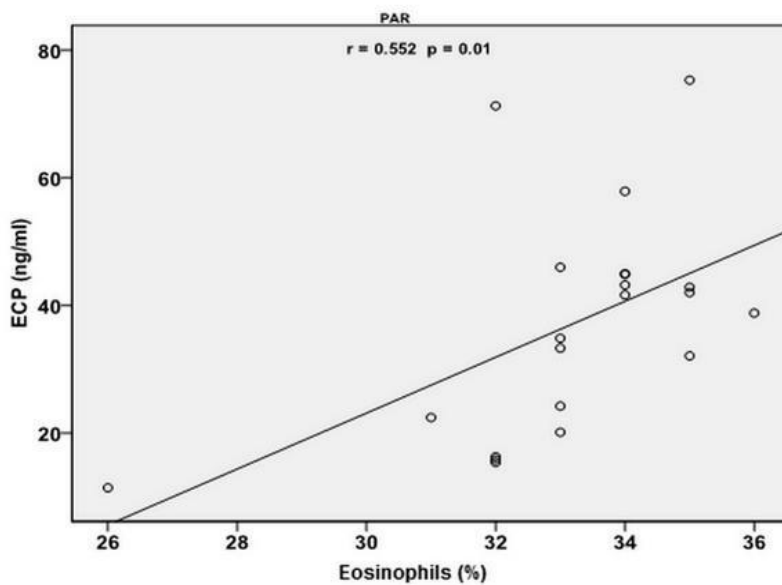
Концентрације медијатора *RANTES* у групама са хроничним запаљењем носне слузнице и код здравих испитаника су приказане на слици 13. Добијене су значајно више вредности *RANTES* у поређењу са контролном групом ($29,40 \pm 13,50$ pg/ml). Нађена је статистички значајна разлика у поређењу свих група са контролном групом ($p < 0,05$, $p < 0,01$ $p < 0,001$ редоследом), док није уочена значајност у разликама концентрација медијатора *RANTES* између група пацијената са хроничним запаљењем слузнице носне шупљине.



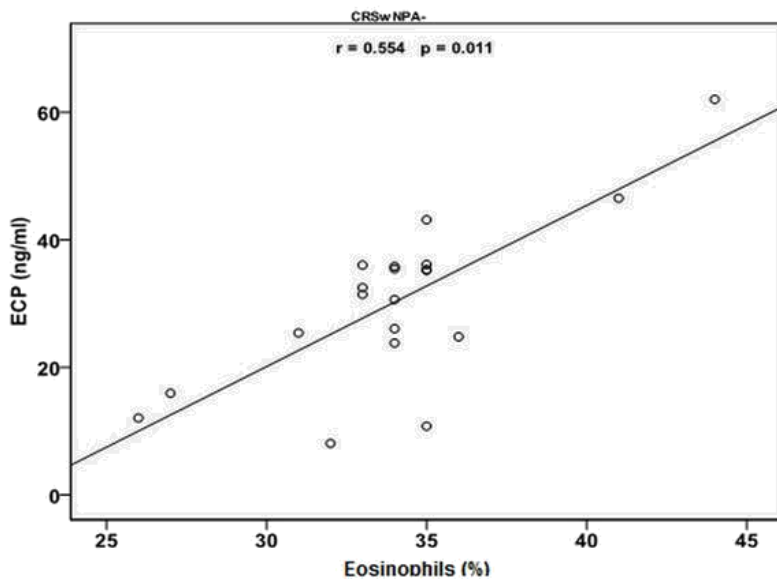
Слика 13. Концентрације *RANTES* (pg/ml) у носном секрету код четири испитиване групе (*CG* - контролна група; *PAR* – са перенијалним АР; *CRSwNPA-* - неалергични са хроничним полипозним риносинузитисом; *CRSwNPA+* - алергични са хроничним полипозним риносинузитисом)

4.4 Корелације

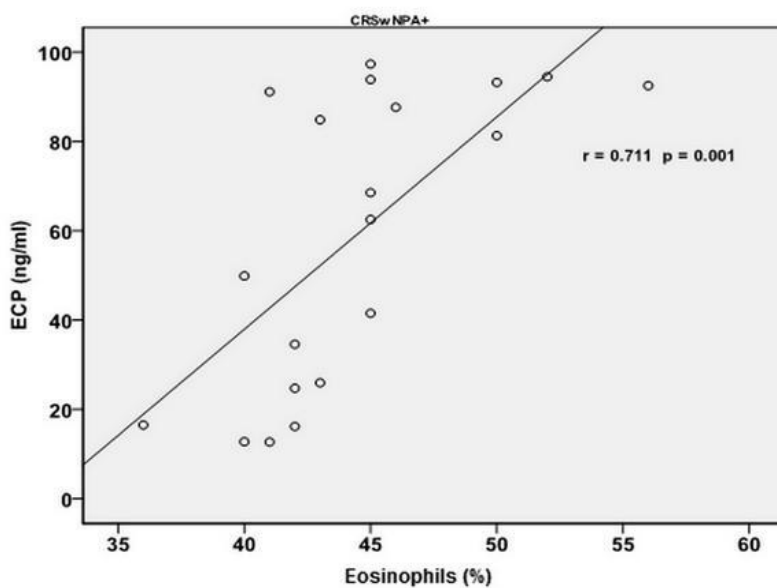
Резултати овог истраживања су показали позитивну корелацију између измерених концентрација *ECP* у носном секрету и процента еозинофила у носној слузници у групама пацијената са перенијалним АР ($r=0,552$; $p=0,01$), неалергичних ($r=0,554$; $p=0,01$) и алергичних пацијената ($r=0,711$; $p=0,001$) са *CRSwNP* (Слике 14-16).



Слика 14. Корелација између концентрације *ECP* у носном секрету и процената еозинофила у носној слузници код пацијената са перенијалним

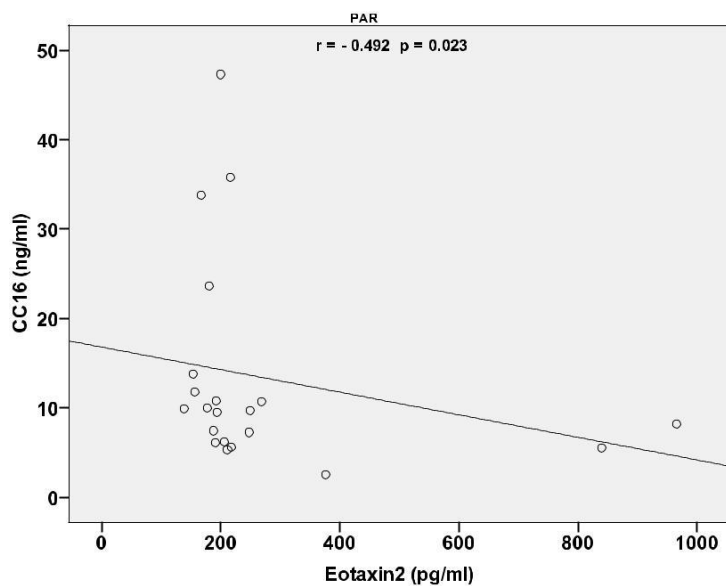


Слика 15. Корелација између концентрације *ECP* у носном секрету и процента еозинофила у носној слузници код неалергичних пацијената са *CRSwNP*



Слика 16. Корелација између концентрације *ECP* у носном секрету и процента еозинофила у носној слузници код алергичних пацијената са *CRSwNP*

На слици 17 је приказана негативна корелација ($r=-0,492$; $p=0,023$) између концентрације медијатора CC16 и CCL24 (Eotaxin 2), измерених у носном секрету код пацијената са перенијалним АР.



4.5 Симптоми и ендоскопски скор након лечења

(Сумиране групе пацијената)

У табели 12 су приказане вредности носног симптом скорa (НСС), вредности теста *SNOT* 22, као и вредности ендоскопског скорa (ЕС) у сумираним групама пацијената са АР (n=40) и *CRSwNP* (n=40) пре и након лечења флутиказон-фууроатом. Нађено је статистички значајно побољшање како симптома, тако и ендоскопског налаза ($p < 0,001$) у обе групе испитаника.

Табела 12. Поређење клиничких параметара болесника са АР и *CRSwNP*, пре и након кортикостероидне терапије

Параметри	АР		<i>CRSwNP</i>	
	Пре	После	Пре	После
НСС*	7,07±0,86	2,32±0,65	9,05±0,96	5,47±0,82
<i>SNOT</i> 22*	0	0	49,35±6,01	37,07±4,03
ЕС*	0	0	3,82±0,38	2,42±0,59

* средња вредност ± стандардна девијација (SD)

- Симптоми и ендоскопски скор након лечења

(Појединачне групе пацијената)

У групи пацијената са сезонским АР, средња вредност НСС је након терапије смањена са 7,00±0,94 на 2,74±0,70 ($p < 0,001$). Код пацијената са перенијалним АР, дошло је до смањења вредности НСС са 7,14±0,79 на 2,19±0,60 након кортикостероидног лечења ($p < 0,001$). Код неалергичних пацијената са *CRSwNP* вредност НСС је смањена са 8,70±0,64 на 5,40±0,75 ($p < 0,001$) након терапије, а код алергичних пацијената са *CRSwNP* та вредност је након примене флутиказон-фууроата смањена са 9,40±0,94 на 5,55±0,88 ($p < 0,001$).

Вредности симптома добијених уз помоћ упитника *SNOT* 22 су значајно смањене и у групи неалергичних (са 47,65±4,25 на 36,55±3,89) и у групи алергичних пацијената (са 51,05±7,08 на 37,60±4,21) са *CRSwNP* након примене интраназалног кортикостероида ($p < 0,001$) и те смањене вредности су приказане у табели 13. До редукције је након лечења дошло и у ЕС скору код неалергичних (са 3,80±0,41 на 2,20±0,4) ($p < 0,001$), као и код

алергичних пацијената (од $3,85 \pm 0,37$ до $2,65 \pm 0,67$) ($p < 0,001$) са дијагнозом *CRSwNP*.
Подаци након лечења су приказани у табели 13.

Табела 13. Приказ клиничких симптома и ендоскопског налаза код појединачних група пацијената

Параметри	Сезонски АР	Перенијални АР	<i>CRSwNPA+</i>	<i>CRSwNPA-</i>
НСС*	$2,47 \pm 0,70$ ↓	$2,19 \pm 0,60$ ↓	$5,55 \pm 0,88$ ↓	$5,40 \pm 0,75$ ↓
<i>SNOT 22</i>	0	0	$36,55 \pm 3,89$ ↓	$37,60 \pm 4,21$ ↓
ЕС*	0	0	$2,65 \pm 0,67$ ↓	$2,20 \pm 0,41$ ↓

*средња вредност ± стандардна девијација (SD)

↓ - пад вредности након кортикостеридног лечења, $p < 0,001$

4.6 Вредности медијатора инфламације у носном секрету и процента еозинофила у носној слузници након лечења (Сумиране групе)

У табели 14 су приказане вредности медијатора инфламације и процента еозинофила у слузници носа код сумираних група пацијената након лечења интраназалним кортикостероидом.

Табела 14. Вредности броја еозинофила и средње вредности медијатора инфламације код сумираних група (АР, *CRswNP*)

Параметри	АР	<i>CRswNP</i>	Укупно
Број пацијената	40	40	80
Еозинофили %*	$21,10 \pm 3,87$	$28,82 \pm 4,19$	$24,96 \pm 5,58$
<i>ECP</i> *	$11,24 \pm 7,80$	$9,68 \pm 3,61$	$10,46 \pm 6,09$
<i>CCL24</i> *	$158,32 \pm 57,96$	$135,84 \pm 44,36$	$147,08 \pm 52,51$
<i>CC16</i> *	$29,27 \pm 19,30$	$37,82 \pm 56,30$	$33,54 \pm 42,04$
<i>RANTES</i> *	$30,26 \pm 25,69$	$30,71 \pm 17,95$	$30,48 \pm 22,02$

*концентрације медијатора представљене као средња вредност ± стандардна девијација

Када ове вредности упоредимо са оним које су приказане у Табели 10, уочава се да су вредности процента еозинофила у носној слузници, као и концентрације *ECP*, *CCL24* и *RANTES* у носном секрету статистички високо значајно ниже ($p < 0,001$), а концентрације *CC16* у носном секрету статистички значано више ($p < 0,001$) код обе групе испитаника након примене интраназалног кортикостероидног спреја.

-Поређење свих испитиваних медијатора инфламације и клиничких параметара пре и након кортикостероидног лечења код појединачних група пацијената

Резултати поређења свих медијатора инфламације и клиничких параметара код свих група пацијената пре и после примене флутиказон-фууроата су приказани у табели 15. Јасно се може видети да се концентрације *ECP*, *CCL24* и *RANTES* значајно смањују након примене кортикостероида ($p < 0,001$), док се концентрације *CC16* у носном секрету повећавају након интраназалне примене лека ($p < 0,001$) у групама пацијената са перенијалним АР, алергичних и неалергичних са *CRSwNP*. Вредности свих клиничких параметара (НСС, ЕС, *SNOT 22* су такође статистички значајно редуковане након примене лека у овим испитиваним групама ($p < 0,001$). Изузетак представља група пацијената са сезонским АР, у којој након интраназалне примене флутиказон-фууроата не долази до статистички значајне промене у концентрацијама нити једног од испитиваних медијатора инфламације. У групи пацијената са сезонским АР након примене лека долази само до редукције НСС и до смањивања процента еозинофила у носној слузници.

Табела 14. Поређење свих параметара пре и након терапије појединачних испитиваних група пацијената

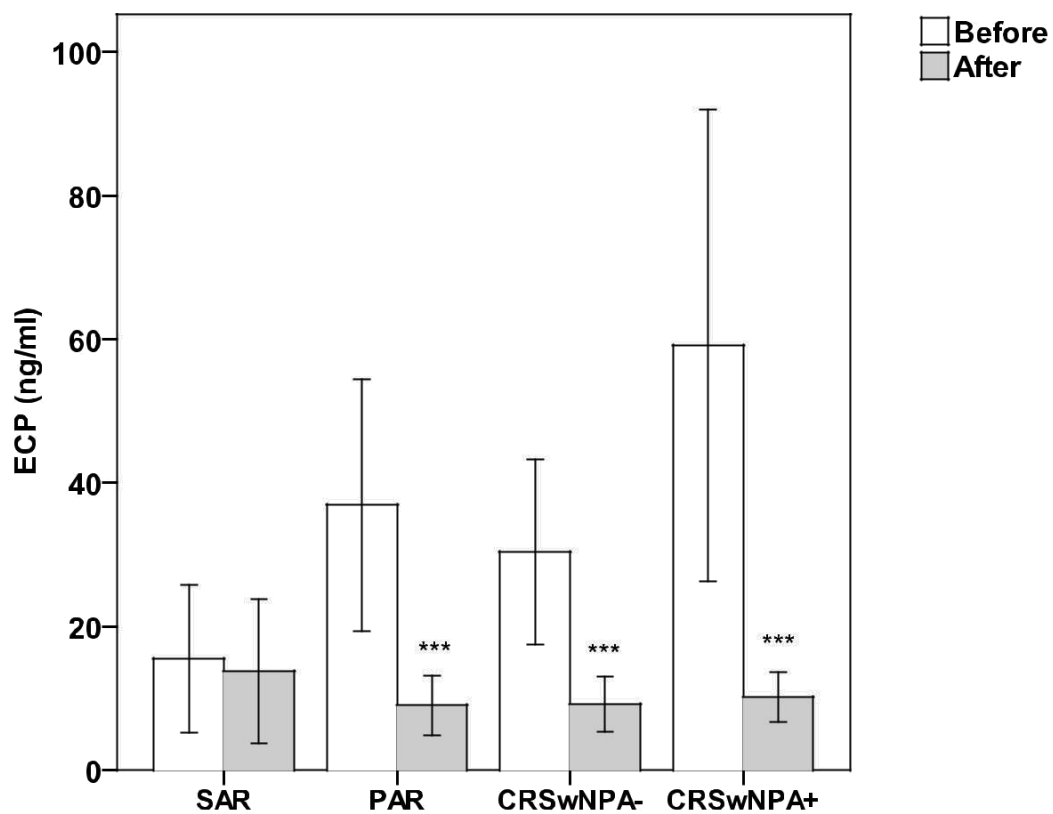
Параметри	Сезонски АР		Перенијални АР		CRSwNPA-		CRSwNPA+	
	Пре	Након	Пре	Након	Пре	Након	Пре	Након
HCC *	7,00±9,42	2,47 ±0,70↓	7,14±0,79	2,19±0,60 ↓	8,70±0,64	5,40±0,75 ↓	9,40±0,94	5,55±0,88 ↓
SNOT 22*	0	0	0	0	47,65±4,25	36,55±3,89		37,60±4,21
ЕС *	0	0	0	0	3,80±0,41	2,20±0,41 ↓	3,85±0,37	2,65±0,67 ↓
Еозиноф.(%) *	26,21±2,44	18,42±2,77↓	33,14±2,08	23,52±3,04 ↓	34,05±3,88	26,40±2,01 ↓	44,45±4,66	31,25±4,43 ↓
CC16 (ng/ml) *	20,43±16,82	23,88±21,74	13,35±11,72	34,15±15,76 ↑	14,31±11,34	51,47±71,76 ↑	9,89±3,94	24,16±8,18 ↑
ECP (ng/ml) *	15,52±10,29	13,72±10,01	36,88±17,48	9,00±4,15 ↓	30,35±12,85	9,17±3,79 ↓	59,13±32,87	10,18±3,44 ↓
CCL24(pg/ml) *	177,96±36,51	174,37±49,42	273,32±216,20	143,80±62,34↓	204,34±46,65	144,63±49,03↓	230,54±51,36	127,05±38,36↓
RANTES (pg/ml) *	33,36±15,44	35,04±34,40	45,89±21,31	25,93±13,45↓	59,90±39,70	33,04±18,13↓	77,07±149,30	28,37±17,92↓

*Средња вредност±стандардна девијација

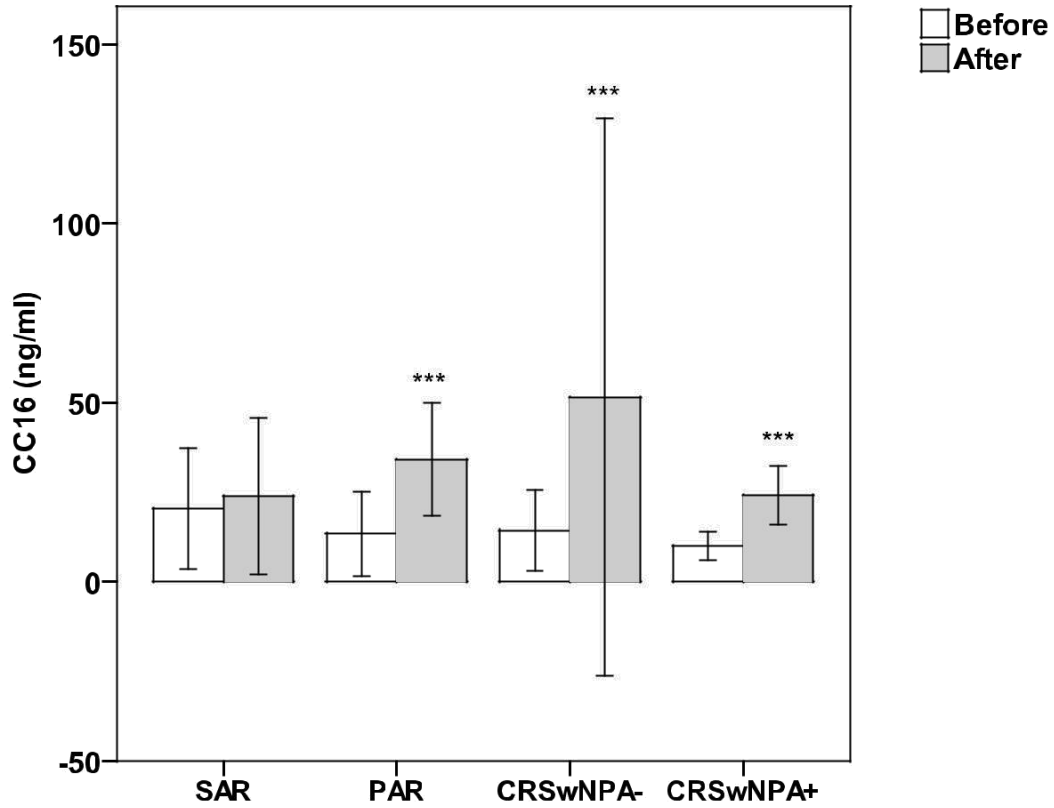
↓ - пад вредности након кортикостеридног третмана, $p < 0.001$

↑ - раст након кортикостеридног третмана, $p < 0.001$

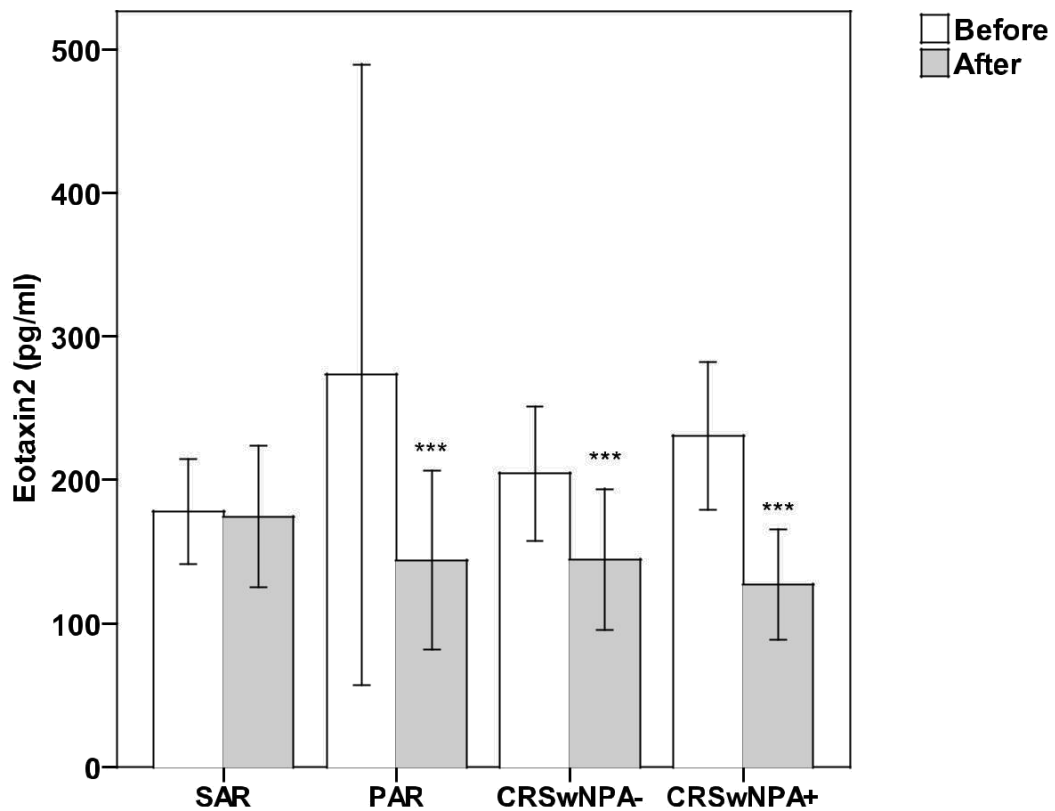
Концентрације *ECP*, *CC16*, *CCL24* и *RANTES* пре и након локалне примене флутиказон-фууроата су приказане на сликама 18-21.



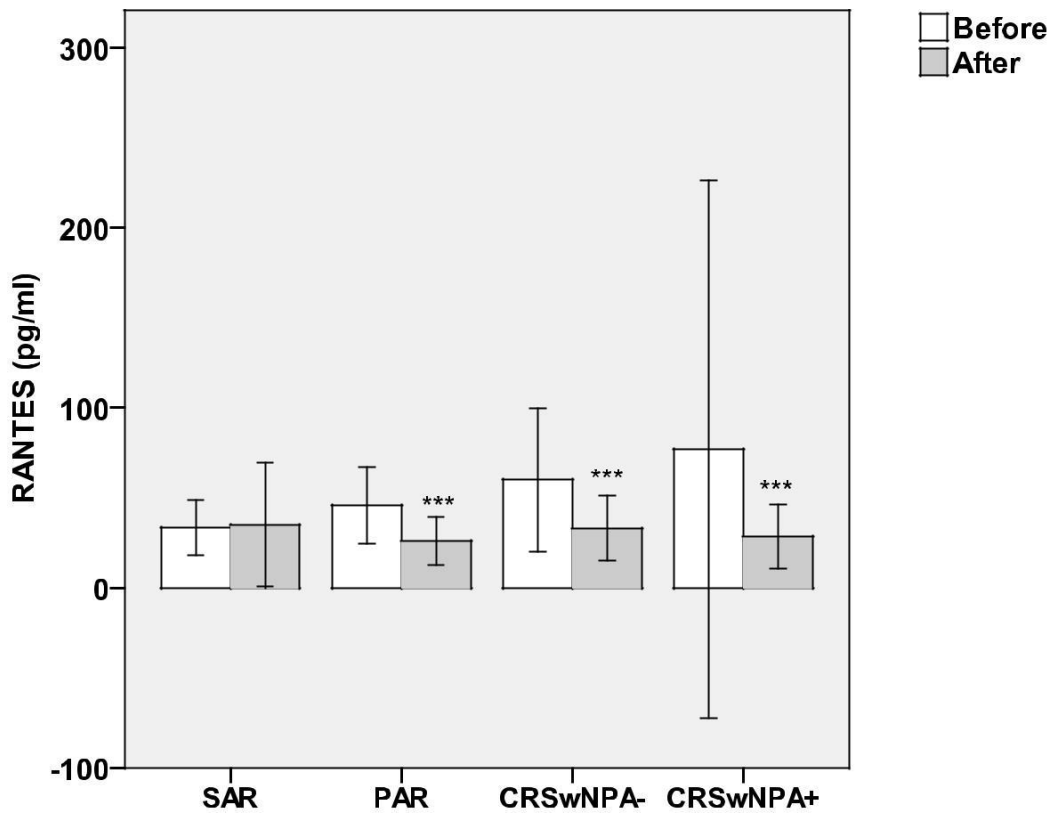
Слика 18. Концентрације *ECP* након кортикостероидне терапије су статистички значајно ниже ($p < 0,001$) у свим групама пацијената, осим у групи са сезонским АР.



Слика 19. Концентрације *CC16* након кортикостероидне терапије су статистички значајно више ($p < 0,001$) у свим групама пацијената, осим у групи са сезонским АР.



Слика 20. Концентрације *CCL24* након кортикостероидне терапије су статистички значајно ниже ($p < 0,001$) у свим групама пацијената, осим у групи са сезонским АР.



Слика 21. Концентрације *RANTES* након кортикостероидне терапије су статистички значајно ниже ($p < 0,001$) у свим групама пацијената, осим у групи са сезонским АР.

Дискусија

Касна фаза алергијске реакције се одликује инфлуксом ћелија инфламаторног инфилтрата у носну слузницу, при чему највећи део тих ћелија чине еозинофили. У процесу привлачења еозинофила кључну улогу имају хемокини, медијатори инфламације мале молекулске масе, сродни цитокинима, који се превасходно одликују хемотактичким дејством. У овом истраживању је процењиван интензитет хроничног запаљења слузнице носа и параназалних синуса праћењем концентрација четири медијатора инфламације (два хемокина *CCL24* и *RANTES*, регулаторног протеина *CC16* и ензима индикатора функције еозинофила, *ECP*), пре и након примене интраназалне кортикостероидне терапије.

CC16 је биомаркер од великог значаја за инфламаторне болести горњих и доњих дисајних путева. Овај ћелијски протеин је првобитно детектован у епителним ћелијама трахеобронхијалног стабла, као секреторни продукт нецилијарних *Clara* ћелија (81). Он има заштитну и антиинфламаторну улогу у горњем и доњем респираторном тракту.

Сматра се да се антиинфламаторни ефекат *CC16* заснива на инхибицији проинфламаторних ензима фосфолипазе А2 (*PLA2*) и трансглутаминазе. Оба наведена ензима играју кључну улогу у метаболизму арахидонске киселине током алергијског запаљења (82). Такође, истраживања су показала да *CC16* учествује у патогенези хроничног риносинуситиса (*CRS*) и да његове вредности позитивно корелирају са степеном запаљења, а негативно корелирају са резултатима хируршког лечења (83). *CC16* може послужити као користан маркер за процену степена оштећења респираторног епитела у запаљењима дисајних путева. Резултати једне студије су показали снижење концентрације овог медијатора у носном секрету и серуму код деце која болују од алергијског ринитиса

(АР) (84). Такође су измерене ниже концентрације *CC16* у носном секрету пацијената са сезонским алергијским ринитисом у односу на контролну групу током излагања полену амброзије (85). Нађена је негативна корелација између концентрација *CC16* у носном секрету и интензитета симптома АР након назалног провокационог теста (*nasal challenge test*) (82, 85).

Прегледом литературе је нађена само једна студија која се бавила нивоима *CC16* у носном секрету код оболелих од перенијалног АР и ту је нађена позитивна корелација између концентрације *CC16* у носном секрету и концентрације издахнутог азот-моноксида (*NO*),

као и негативна корелација између нивоа ових антиинфламаторних медијатора и броја мастоцита у носној слузници, што сугерише на заштитну улогу *CC16* и *NO* коју они остварују супресијом ћелијског инфламаторног одговора на нивоу слузнице горњих дисајних путева (81). Студија која је предмет ове дисертације је до сада прва која је обухватила четири групе испитаника са хроничним запаљењем слузнице носа и параназалних синуса: са сезонским АР, са перенијалним АР, као и неалергичне и алергичне пацијенте са *CRSwNP*. Резултати су показали статистички значајне разлике на нивоу симптома, ендоскопског налаза, процената еозинофила у узорцима носне слузнице, као и вредности медијатора инфламације (*ECP*, *CC16*, *CCL24*, *RANTES*) у носном секрету, пре и након примене флутиказон-фууроата, како у обједињеним групама пацијената (АР, *CRSwNP*), тако и у појединачним испитиваним групама. Статистички значајне разлике су добијене у свим групама пацијената, осим у групи са сезонским АР. Овај детаљ би се могао објаснити чињеницом да концентрације медијатора инфламације у носном секрету код пацијената са сезонским АР значајно варирају у зависности од изложености узрочном алергену. То значи да се у фази присуства узрочног алергена у ваздуху (полен трава, корова и дрвећа), с обзиром на појачање интензитета локалног запаљења у слузници, вредности *ECP*, *CCL24* и *RANTES* значајно повећавају у носном секрету, док се концентрације *CC16* значајно смањују у складу са оштећењем респираторног епитела током тог запаљења. Локалном применом кортикостероидних лекова код пацијената са сезонским АР је далеко теже регулисати ове релативно нагле скокове и падове у вредностима медијатора инфламације. Са друге стране, од раније је познато да у сезонском АР доминира рана фаза алергијске реакције, која се одликује дегранулацијом мастоцита и локалним ослобађањем хистамина, леукотриена и других медијатора ране фазе.

Истраживања су показала да на овај рани запаљењски процес далеко боље делују препарати из групе антихистаминика, блокирањем прекомерног ослобађања ових медијатора. Супротно томе, код пацијената са перенијалним АР, као и код неалергичних и алергичних са *CRSwNP*, присутан је стални хронични инфламаторни процес чији интензитет не варира значајније током времена, што се огледа у сталности продукције медијатора запаљења у носном секрету. У перенијалном АР, за разлику од сезонског АР, доминира касна фаза алергијске реакције, која се карактерише накупљањем великог броја еозинофила у слузници и ослобађањем њихових секреторних продуката, ензима (*ECP*,

MBP, *EPO*), као и цитокина и хемокина. Локално ослобађање ензима доводи до оштећења слузнице носне шупљине и накнадног ремоделовања њеног ткива, док ослобађање хемокина и цитокина доводи до локалног одржавања и/или ширења запаљењског процеса. Резултати овог истраживања су показали да су концентрације *CC16* у носном секрету знатно ниже у групи пацијената са перенијалним АР и алергичних са *CRSwNP* у односу на његове вредности у групи клинички здравих испитаника. Ова информација сугерише на чињеницу да еозинофилно хронично запаљење удружено са алергијом има супресивни ефекат на продукцију *CC16* у респираторном епителу носне слузнице. Еозинофилна инфилтрација ламине проприје и епитела носне слузнице са ослобађањем токсичних продуката из секреторних гранула еозинофила, као што су *ECP*, *MBP* и *EPO* оштећује епителне ћелије, а међу њима и Клара ћелије, нарушавајући њихову секреторну функцију. Резултати једне студије су показали да је број *CC16* позитивних ћелија био редукован у малим дисајним путевима код пацијената оболелих од бронхијалне астме (86). Овај резултат подржава хипотезу да редукција продукције *CC16* доприноси алергијском типу запаљења и у доњим и у горњим дисајним путевима, што је нашом студијом потврђено, нарочито у групи пацијената са хроничном инфламацијом носно-синусне слузнице.

Студија која је спроведена у оквиру ове дисертације је показала да локална примена кортикостероида повећава продукцију *CC16* од стране респираторног епитела код пацијената са перенијалним АР и *CRSwNP*. Механизам деловања кортикостероида може бити посматран на различитим нивоима запаљењске реакције, почев од везивања молекула лека за специфични цитоплазматски глукокортикоидни рецептор (87). Кортикостероиди доводе до редукције у броју антиген-презентујућих ћелија, као и до редукције броја и смањивања активације *T* лимфоцита, мастоцита, а поготово еозинофила. Пролонгирани третман кортикостероидима смањује инфлукс и укупан број еозинофила у носно-синусној слузници тако што изазива супресију продукције и ослобађања хемокина у фибробластима (87). Тиме изостаје ефекат привлачења еозинофила и продужавања њиховог живота, чиме се стварају услови за њихову апоптозу, програмирану ћелијску смрт (87).

Еозинофили играју значајну улогу у алергијском типу хроничног запаљења горњих дисајних путева и њихови токсични продукти се могу у високим концентрацијама детектовати у узорцима носног секрета. Ипак, *ECP* је далеко највише коришћени маркер

еозинофилне активности и претходна истраживања су показала повезаност његових концентрација у носном секрету и интензитета хроничног запаљења (88, 89). Резултати ове студије су потврдили постојање такве повезаности у групи пацијената са перенијалним АР, као и у групи алергичних и неалергичних са *CRSwNP*. Ипак, ниво корелације је био највиши у групи алергичних пацијената са *CRSwNP*. Двонедељна интраназална примена флутиказон-фууроата је довела до статистички високо значајног повећања концентрације *CC16* и редукције концентрације *ECP* у носном секрету у свим групама пацијената осим код оних са сезонским АР. Ови резултати сугеришу на чињеницу да би се *CC16* и *ECP* могли посматрати као поуздани маркери опоравка функције слузнице носа и параназалних синуса. Јохансон и сар. (*Johanson et al.*) (82) су показали значајну редукцију концентрације *ECP* у носном секрету деце оболеле од сезонског АР изазваног поленом брезе након интраназалног кортикостероидног третмана, што у нашој студији на одраслој популацији оболелој од сезонског АР није уочено. Објашњење за ово неслагање у резултатима би се могло наћи у чињеници да су наши пацијенти са сезонским АР праћени током читаве сезоне цветања биљака, тако да скокови у концентрацијама *ECP* нису могли настати само као реакција слузнице носа на присуство само једног специфичног алергена у ваздуху.

Предходна истраживања су показала значајну редукцију вредности *ECP* у носном секрету код пацијената са *CRSwNP* након дуготрајне нискодозиране примене кларитромицина (90, 91). Ти резултати нам могу сугерисати да концентрација *ECP* измерена у носном секрету може бити поуздан маркер за процену антиинфламаторних ефеката појединих лекова у лечењу хроничних запаљења горњих дисајних путева.

Касна фаза алергијске реакције, поред осталих медијатора, подразумева продукцију два веома значајна хемокина, који су испутивани у овој студији, *RANTES* и *CCL24*. *RANTES* је познат као снажан фактор привлачења и трансендотелијалне миграције еозинофила, што је неопходан предуслов за њихово накупљање у ткиву носне слузнице (92). Осим тога, он стимулише продукцију и ослобађање *ECP* из секреторних гранула еозинофила, па се може посматрати и као њихов снажан активатор (93). Даље, активирани еозинофили продукују и ослобађају нове, знатно веће количине *RANTES*, што доводи до новог привлачења и нагомилавања еозинофила у носној слузници, чиме се овај хронични инфламаторни процес

интензивира и продужава. Бартелс и сар. (*Bartels et al.*) (94) су показали да ткива полипа неалергичних и алергичних пацијената садрже знатно виши ниво експресије гласничке рибонуклеинске киселине (*messenger RNA*) за продукцију хемокина *RANTES* у односу на здраву носну слузницу, што је у складу са нашим резултатима. Резултати нашег истраживања су показали статистички значајно ниже концентрације *RANTES* у носном секрету код свих пацијената осим у групи оних са сезонским АР након интраназалне примене флутиказон-фууроата. Ови резултати су у складу са резултатима добијеним за остале медијаторе инфламације у нашој студији и јасно се може закључити да је *RANTES* добар показатељ ткивне инфилтрације еозинифилима код дуготрајне, перзистентне инфламације што имамо код ова три облика хроничног запаљења носне слузнице.

CCL 24 (eotaxin 2) је мали хемокин молекулске масе од свега 8 *kD* и показује подударност са *RANTES* у 34 % секвенци аминокиселина у полипептидном ланцу. Делује високо селективно на еозинофиле и његова продукције је регулисана цитокинима *IL-3*, *IL-4* и *TNF- α* , који су у мањој или већој мери удружени са алергијском еозинофилном инфламацијом (95, 96). Резултати студије коју су реализовали Шин и сар. (*Shin et al.*) (97) показали су да је експресија гласничке РНК за синтезу еотаксина 2 у ткиву алергијске форме носних полипа виша 11 пута, а у ткиву неалергијске форме носних полипа виша 6 пута у односу на ткиво здраве слузнице носне шупљине. Бартелс и сар. (*Bartels et al.*) (94) су ипак нашли виши ниво експресије гласничке РНК за продукцију еотаксина 2 у носним полипима у односу на *RANTES*, те су закључили да он игра важнију улогу у еозинофилној инфламацији него *RANTES*. Резултати нашег истраживања су показали ниже измерене концентрације еотаксина 2 у групи пацијената са сезонским АР у односу на остале три групе испитаника. Чавес и сар. (*Chaves et al.*) (98) су нашли повишене концентрације еотаксина 2 у носном секрету код пацијената са сезонским АР у односу на пацијенте са перенијалним АР, али је то истраживање обухватило период излагања одговарајућем алергену. Овим се потврђује да концентрације медијатора инфламације у носном секрету код пацијената са сезонским АР значајно варирају у зависности од дужине изложености специфичном алергену и од концентрације његових честица у ваздуху. Такође, након примене флутиказон-фууроата, концентрације *CCL24* у носном секрету су биле високо статистички значајно ниже у групи пацијената са перенијалним АР, као и код неалергичних и алергичних пацијената са *CRSwNP*, док у групи пацијената са сезонским

АР није дошло до статистичке значајности у нивоу овог медијатора након интраназалне апликације спреја. Снижавање концентрације овог, као и осталих испитиваних медијатора је било у складу са снижавањем процената еозинофила у носној слузници и са снижавањем интензитета симптома у све три испитиване групе осим у групи са сезонским АР, док је у обе групе са *CRSwNP* дошло и до редукције величине носних полипа. Тако већина наших резултата упућује на закључак да сезонски АР није поуздан модел за праћење ефеката примене антиинфламаторних лекова код оболелих од хроничних запаљења горњих дисајних путева.

Интересантан детаљ у нашим резултатима је негативна корелација између концентрација *CC16* и *CCL24* измерених у носном секрету у групи пацијената са перенијалним АР. Готово сви наши резултати упућују на чињеницу да је перенијални АР тип запаљења са веома израженом еозинофилном инфилтрацијом носне слузнице. Ти еозинофили су добрим делом привучени и стимулирани управо молекулима *CCL24*. То условљава продукцију и нагомилавање токсичних продуката (ензима) у њиховим секреторним гранулама. Убрзо, такође под дејством *CCL24* долази до ослобађања тих продуката који значајно оштећују респираторни епител и тиме долази до нарушавања продукције *CC16* у Клара ћелијама. Са друге стране, молекул *CC16* делује антиинфламаторно и заштитно на носну слузницу блокирањем продукције проинфламаторних медијатора у оквиру еозинофилног запаљења, међу којима је и *CCL24*. Заправо би се могло рећи да је продукција ова два медијатора, *CC16* и *CCL24*, у стању динамичке равнотеже која се постиже и одржава на нивоу здраве слузнице носне шупљине, а нарушава у случајевима хроничних еозинофилних запаљења, какво је присутно код перенијалног АР.

Закључци

1. Концентрације *CCL5* (*RANTES*) и *ECP*, измерене у носном секрету су више у пацијената са *CRSwNP* у односу на пацијенте са *AR*, док су вредности медијатора *CC 16* и *CCL24* биле нешто више код пацијената са *AR*.
2. Концентрације *CCL5*, *CCL24* и *ECP* су више у пацијената са перенијалним *AR* у односу на пацијенте са сезонским *AR*, док је *CC16* виши код пацијената са сезонским ринитисом.
3. Иако није нађена значајна инверзна корелација, редукција броја еозинофила се показала код све четири групе пацијената и била је удружена са опоравком у продукцији *CC16* након кортикостероидног третмана код перзистентних форми запаљења.
4. Иако није нађена статистички значајна позитивна корелација, уочена је повезаност између концентрација *CCL5*, *CCL24* и *ECP* у носном секрету и клиничких карактеристика болести код пацијената са перенијалним *AR* и *CRSwNP*.
5. Концентрације наведених медијатора у носном секрету су статистички значајно више у групи пацијената са дијагнозом *AR* и *CRSwNP* у односу на здраве испитанике.
6. Постоји негативна корелација између концентрације *CC 16* и *CCL24* измерених у носном секрету пацијената са перенијалним *AR*.
7. Примена интраназалних кортикостероида доводи до повећања концентрације *CC16* у носном секрету, као и до побољшања симптома и локалног налаза у групи пацијената са перенијалним *AR* и код алергичних и неалергичних пацијената са *CRSwNP*.
8. Лечење интраназалним кортикостероидом значајно је редуковало концентрације *CCL5*, *CCL24* и *ECP* у носном секрету пацијената са перенијалним *AR*, као и код неалергичних и алергичних са *CRSwNP*.
9. Док су *RANTES*, *CCL24* и *ECP* поуздани маркери за процену интензитета хроничног запаљења у носној слузници, *CC16* је поуздан маркер за процену њеног функционалног опоравка.

Литература

1. Ring J. History of allergy in antiquity. *Chem Immunol Allergy*. 2014;100:2-14.
2. Ring J. History of allergy in the middle ages and renaissance. *Chem Immunol Allergy*. 2014;100:15-20.
3. Kay AB. Landmarks in Allergy during the 19th Century. *Chem Immunol Allergy*. 2014;100:21-6.
4. Bergmann KC. Milestones in the 20th Century. *Chem Immunol Allergy*. 2014;100:27-45.
5. Laffer S, Vrtala S, Kraft D, Scheiner O, Duchene M. cDNA cloning of a major allergen of rye (*Secale cereale*) and timothy grass (*Phleum pratense*). *Allergy*. 1992;47 (Suppl):25.
6. Vega-Maray AM¹, Fernández-González D, Valencia-Barrera R, Suárez-Cervera M Allergenic proteins in *Urtica dioica*, a member of the Urticaceae allergenic family. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2006 ;97:343-9.
7. Ipsen H, Forgramen H, Løwenstein H, Ingemann L. Immunochemical and biological characterization of mugwort (*Artemisia vulgaris*) pollen extract. *Allergy*. 1985;40:289-94
8. Tovey ER , Willenborg CM, Crisafulli DA, Rimmer J, Marks GB. Most personal exposure to house dust mite aeroallergen occurs during the day. *PLoS One*. 2013; 8 p.e69900.
9. Stewart GA, Kollinger MR, King CM, Thompson PJ. A comparative study of three serine proteases from *Dermatophagoides pteronyssinus* and *D. farinae*. *Allergy* 1994;49:553-60
10. Van Cauwenberge P, Van Hoescke H. Management of allergic rhinitis. *B-ENT* 2005;1:45-62.

11. Johansson SG, Bieber T, Dahl R, Friedmann PS, Lanier BQ, Lockey RF, et al. A revised nomenclature for allergy for global use: Report of the Nomenclature Review Committee of the World Allergy Organization. *J Allergy Clin Immunol.* 2004;113:823-826.
12. Fokkens WJ, Lund VJ, Mullol J, Bachert C, Alobid I, Baroody F, et al. EPOS 2012: European position paper on rhinosinusitis and nasal polyps 2012. A summary for otorhinolaryngologists. *Rhinology.*2012; 50:1–12.
13. Meltzer EO, Hamilos DL, Hadley JA, Lanza DC, Marple BF, Nicklas RA, et al. Rhinosinusitis: Establishing definitions for clinical research and patient care. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2004;131:S1–62.
14. Bachert C, Robillard T. Management of nasal polyposis B-ENT, 2005; 1: 77-84
15. [No authors listed]. European Community Respiratory Health Survey. Variations in the prevalence of respiratory symptoms, self-reported asthma attacks, and use of asthma medication in the European Community Respiratory Health Survey(ECRHS). *Eur Respir J.* 1996;9:687-695.
16. Bauchau V, Durham SR. Prevalence and rate of diagnosis of allergic rhinitis in Europe. *Eur Respir J.* 2004; 24:758-764.
17. Strachan DP. Epidemiology of rhinitis. In: Busse WW, Holgate ST Eds. *Asthma and Rhinitis.* 2nd ed. Blackwell Science Ltd, London; 2000:33-42.
18. Van Cauwenberge P, De Belder T, Vermeiren J and Kaplan A. Global Resources in Allergy (GLORIA): Allergic rhinitis and allergic conjunctivitis. *Clin Exp Allergy Reviews* 2003; 3: 46–50.
19. Benninger M. Rhinitis, sinusitis and their relationships to allergies. *Am J Rhinol.* 1992; 6:37-43.
20. Baroody FM. Allergic rhinitis: broader disease effects and implications for management. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2003; 128:616-631.

21. SettIPane GA, Chafee FH. Nasal polyps in asthma and rhinitis. A review of 6,037 patients. *J Allergy Clin Immunol.* 1977; 59:17-21.
22. Hedman J, Kaprio J, Poussa T, Nieminen MM. Prevalence of asthma, aspirin intolerance, nasal polyposis and chronic obstructive pulmonary disease in a population-based study. *Int J Epidemiol.* 1999;28:717-722.
23. Johansson L, Akerlund A, Holmberg K, Melen I, Bende M. Prevalence of nasal polyps in adults: the Skovde population-based study. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 2003;112:625-629.
24. SettIPane G. Epidemiology of nasal polyps. In: SettIPane G, Lund VJ, Bernstein JM, Tos M, Ed. *Nasal polyps: epidemiology, pathogenesis and treatment.* Oceanside Publications, Rhode Island; 1997:17-24.
25. Howarth PW. Allergic and non allergic rhinitis. In: Adkinson F Jr, Yunginger JW, Busse WW, Bochner BS, Holgate ST, Simons ER, Eds. *Middleton's Allergy Principles and Practice.* Mosby, Pennsylvania; 2003: 1391-1414.
26. Min YG. The pathophysiology, diagnosis and treatment of allergic rhinitis. *Allergy Asthma Immunol Res* 2010;2:65-76.
27. Van Gerven L, Boeckxstaens G, Hellings PW. Up-date on neuro-immune mechanisms involved in allergic and non-allergic rhinitis. *Rhinology* 2012;50:227-35.
28. Kirtsreesakul V, Ruttanaphol S. The relationship between allergy and rhinosinusitis. *Rhinology* 2008;46:204-8.
29. Bachert C, Gevaert P, Holtappels G, Johansson SC, van Cauwenberge P. Total and specific IgE in nasal polyps is related to local eosinophilic inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 2001;107:607-14.
30. Bachert C, Zhang N, Patou J, van Zele T, Gevaert P. Role of staphylococcal superantigens in upper airway disease. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2008;8:34-8.

31. Hammad H, Lambrecht BN. Dendritic cells and airway epithelial cells at the interface between innate and adaptive immune responses. *Allergy* 2011;66:579-87.
32. Min YG, Oh SJ, Won TB, Kim YM, Shim WS, Rhee CS, et al. Effects of staphylococcal enterotoxin on ciliary activity and histology of the sinus mucosa. *Acta Otolaryngol* 2006;126:941-7.
33. Kern RC, Conley DB, Walsh W, Chandra R, Kato A, Tripathi-Peters A, et al. Perspectives on the etiology of chronic rhinosinusitis: an immune barrier hypothesis. *Am J Rhinol* 2008;22:549-59.
34. Tieu DD, Kern RC, Schleimer RP. Alterations in epithelial barrier function and host defense responses in chronic rhinosinusitis. *J Allergy Clin Immunol* 2009;124:37-42.
35. Corriveau MN, Zhang N, Holtappels G, van Roy N, Bachert C. Detection of *Staphylococcus aureus* in nasal tissue with peptide nucleic acid-fluorescence *in situ* hybridization. *Am J Rhinol Allergy* 2009;23:461-5.
36. Sachse F, Becker K, von Eiff C, Metze D, Rudack C. *Staphylococcus aureus* invades the epithelium in nasal polyposis and induces IL-6 in nasal epithelial cells *in vitro*. *Allergy* 2010;65:1430-7.
37. Henriquez OA, Beste KD, Hoddson EK, Parkos CA, Nusrat A, Wise SK. House dust mite Der p 1 effects on sinonasal epithelial tight junctions. *Int Forum Allergy Rhinol* 2013;3:630-635.
38. De Corso E, Baroni S, Romitelli F, Luca L, Di Nardo W, Passali GC, et al. Nasal lavage CCL24 levels correlate with eosinophil trafficking and symptoms in chronic sino-nasal eosinophilic inflammation. *Rhinology* 2011;49:174-9.
39. Chao PZ, Chou CM, Chen CH. Plasma RANTES and eotaxin levels are correlated with the severity of chronic rhinosinusitis. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2012;269:2343-8.
40. Perić A, Vojvodić D, Vukomanović-Đurđević B, Baletić N. Eosinophilic inflammation in allergic rhinitis and nasal polyposis. *Arh Hig Rada Toksikol* 2011;62:341-8.

41. Noguchi E, Iwama A, Takeda K, Takeda T, Kamioka M, Ichikawa K, et al. The promoter polymorphism in the eosinophil cationic protein gene and its influence on the serum eosinophil cationic protein level. *Am J Respir Crit Care Med* 2003;167:180–4.
42. Lensmar C, Nord M, Gudmundsson GH, Roquet A, Andersson O, Jörnvall H, et al. Decreased pulmonary levels of the anti-inflammatory Clara cell 16 kDa protein after induction of airway inflammation in asthmatics. *Cell Mol Life Sci* 2000;57:976-981.
43. Arsalane, K, Broeckert, F, Knoops, B, Wiedig M, Toubeau G, Bernard A. Clara cell specific protein (CC16) expression after acute lung inflammation induced by intratracheal lipopolysaccharide administration. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161:1624-1630.
44. Hayashida, S, Harrod, KS, Whitsett, JA Regulation and function of CCSP during pulmonary *Pseudomonas aeruginosa* infection in vivo. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2000; 279:452-459.
45. Laing IA, Hermans C, Bernard A, Burton PR, Goldblatt J, Le Souëf PN. Association between plasma CC16 levels, the A38G polymorphism, and asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161:124-127.
46. Candelaria PV, Backer V, Laing IA, Porsbjerg C, Nepper-Christensen S, de Klerk N et al. Association between asthma-related phenotypes and the CC16 A38G polymorphism in an unselected population of young adult Danes. *Immunogenetics* 2005;57:25-32.
47. Benson, M, Carlsson L, Adner M, Jernas M, Rudemo M, Sjögren A, et al. Gene profiling reveals increased expression of uteroglobin and other anti-inflammatory genes in glucocorticoid-treated nasal polyps. *J Allergy Clin Immunol* 2004;113:1137-1143.
48. Rondón C, Doña, López S, Campo P, Romero JJ, Torres MJ, et al. Seasonal idiopathic rhinitis with local inflammatory response and specific IgE in absence of systemic response. *Allergy* 2008;63:1352-8.

49. Rondón C, Romero JJ, López S, Antúnez C, Martín-Casañez E, Torres MJ, et al. Local IgE production and positive nasal provocation test in patients with persistent nonallergic rhinitis. *J Allergy Clin Immunol* 2007;119:899-905.
50. Demoly P, Michel F. In vivo methods for study of allergy. Skin tests, techniques and interpretation. In: Reed E, Ellis C, Adkinson E, Yunginger N, Busse W, Eds. *Middleton's Allergy, principles and practice*. 5th ed. Mosby, St Louis; 1998:530-539.
51. Koner DP. Allergic rhinitis: definition, epidemiology, pathophysiology, detection and diagnosis. *J Allergy Clin Immunol*. 2001;108:S2-8.
52. Heikh A, Hurwitz B. House dust mite avoidance measures for perennial allergic rhinitis: a systematic review of efficacy. *Br J Gen Pract*. 2003;53:318-22.
53. Bousquet J, Reid J, Van Weel C, Baena Cagnani C, Canonica GW, Demoly P, et al. Allergic rhinitis management pocket reference 2008. *Allergy* 2008;63:990-6.
54. Lieberman PL, Settiple RA. Azelastine nasal spray: a review of pharmacology and clinical efficacy in allergic and nonallergic rhinitis. *Allergy Asthma Proc* 2003;24:95-105.
55. Cui YH, Wang YY, Liu Z. Transdifferentiation of Clara cell 10-kDa protein secreting cells in experimental allergic rhinitis. *Am J Rhinol Allergy* 2011;25:145-51.
56. Sastre J, Mosges R. Local and systemic safety of intranasal corticosteroids. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2012;22:1-12.
57. Allen DB, Meltzer EO, Lemanske RF Jr, Philpot EE, Faris MA, Kral KM, et al. No growth suppression in children treated with the maximum recommended dose of fluticasone propionate aqueous nasal spray for one year. *Allergy Asthma Proc*. 2002;23: 407-413.

58. Schenkel EJ, Skoner DP, Bronsky EA, Miller SD, Pearlman DS, Rooklin A, et al. Absence of growth retardation in children with perennial allergic rhinitis after one year of treatment with mometasone aqueous nasal spray. *Pediatrics*. 2000;105:E22.
59. Mener DJ, Shargorodsky J, Varadhan R, Lin SY. Topical intranasal corticosteroids and growth velocity in children: a meta-analysis. *Int Forum Allergy Rhinol* 2015;5:95-103.
60. Erin EM, Zacharasiewicz AS, Nicholson GC, Tan AJ, Higgins LA, Williams TJ, et al. Topical corticosteroid inhibits interleukin-4, -5 and -13 in nasal secretions following allergen challenge. *Clin Exp Allergy* 2005;35:1608-1614.
61. Wang C, Lou H, Wang X, Wang Y, Fan E, Li Y, et al. Effect of budesonide transnasal nebulization in patients with eosinophilic chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *J Allergy Clin Immunol* 2015;135:922-929.
62. Carr W, Bernstein J, Lieberman P, Meltzer E, Bachert C, Price D, et al. A novel intranasal therapy of azelastine with fluticasone for the treatment of allergic rhinitis. *J Allergy Clin Immunol* 2012;129:1282-9.
63. Lildholdt T, Rundcrantz H, Bende M, Larsen K. Glucocorticoid treatment for nasal polyps. The use of topical budesonide powder, intramuscular betamethasone, and surgical treatment. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 1997;123:595-600.
64. Chervinsky P, Philip G, Malice MP, Bardelas J, Nayak A, Marchal JL, et al. Montelukast for treating fall allergic rhinitis: effect of pollen exposure in 3 studies. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2004;92:367-373.
65. Ratner PH, Howland WC 3rd, Arastu R, Philpot EE, Klein KC, Baidoo CA, et al. Fluticasone dipropionate aqueous nasal spray provided significantly greater improvement in daytime and nighttime symptoms of seasonal AR compared with montelukast. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2003;90: 536-542

66. Nathan RA. Do leukotriene receptor antagonists have a place in pharmacotherapy of allergic rhinitis? *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2003;90: 466-468.
67. Ross RN, Nelson HS, Finegold I. Effectiveness of specific immunotherapy in the treatment of allergic rhinitis: an analysis of randomized, prospective, single- or double-blind placebo-controlled studies. *Clin Ther* 2000;22:342-350.
68. Moller C, Dreborg S, Ferdousi HA, Halcken S, Høst A, Jacobsen L, et al. Pollen immunotherapy reduces the development of asthma in children with seasonal rhinoconjunctivitis (the PAT-study). Pollen immunotherapy reduces the development of asthma in children with seasonal rhinoconjunctivitis(the PAT-study). *J Allergy Clin Immunol.* 2002;109:251-256.
69. Tonnel AB, Scherpereel A, Douay B, Mellin B, Leprince D, Goldstein N, et al. Allergic rhinitis due to house dust mites: evaluation of the efficacy of specific sublingual immunotherapy. *Allergy.* 2004;59:491-497.
70. Wuthrich B, Bucher Ch, Jorg W, Bircher A, Eng P, Schneider Y, et al. Double-blind placebo-controlled study with sublingual immunotherapy in children with seasonal allergic rhinitis to grass pollen. *J Investig Allergol Immunol.* 2003;13:145-148.
71. Lima MT, Wilson D, Pitkin L, Roberts A, Nouri-Aria K, Jacobson M, et al. Grass pollen sublingual immunotherapy for seasonal rhinoconjunctivitis: a randomized controlled trial. *Clin Exp Allergy.* 2002;32:507-514.
72. Ariano R, Spadolini I, Panzani RC. Efficacy of sublingual specific immunotherapy in Cupressaceae allergy using extract of *Cupressus arizonica*. A double blind study. *Allergol Immunopathol.* 2001;29:238-244.
73. Ragab SM, Lund VJ, Scadding G. Evaluation of the medical and surgical treatment of chronic rhinosinusitis: a prospective, randomised, controlled trial. *Laryngoscope.* 2004;114:923-930.

74. Blomqvist EH, Lundblad L, Anggard A, Haraldsson PO, Stjarne P. A randomized controlled study evaluating medical treatment versus surgical treatment in addition to medical treatment of nasal polyposis. *J Allergy Clin Immunol.* 2001;107:224-228
75. Valero A, Muñoz-Cano R, Sastre J, Navarro AM, Marti-Guadaño E, Dávila I, et al. The impact of allergic rhinitis on symptoms, and quality of life using the new criterion of ARIA classification. *Rhinology* 2012;50:33-6.
76. Fokkens WJ, Lund VJ, Mullol J, Bachert C, Alobid I, Baroody F, et al. European Position Paper on Rhinosinusitis and Nasal Polyps 2012. *Rhinol Suppl* 2012;23:1-298.
77. Tsicopoulos A, Shimbara A, de Nadai P, Aldewachi O, Lamblin C, Lassalle P, et al. Involvement of IL-9 in the bronchial phenotype of patients with nasal polyposis. *J Allergy Clin Immunol* 2004;113:462-9.
78. Ragab SM, Lund VJ, Scadding G, Saleh HA, Khalifa MA. Impact of chronic rhinosinusitis therapy on quality of life: a prospective randomized controlled trial. *Rhinology* 2010;48:305-11.
79. Lildholdt T, Rundcrantz H, Bende M, Larsen K. Glucocorticoid treatment for nasal polyps: the use of topical budesonide powder, intramuscular betamethasone, and surgical treatment. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1997;123:595-600.
80. Lü FX, Esch RE. Novel nasal secretion collection method for the analysis of allergen specific antibodies and inflammatory biomarkers. *J Immunol Methods* 2010;356:6-17.
81. Irander K, Palm JP, Borres MP, Ghafouri B. Clara cell protein in nasal lavage fluid and nasal nitric oxide - biomarkers with anti-inflammatory properties in allergic rhinitis. *Clin Mol Allergy* 2012;10:4.
82. Johansson S, Keen C, Ståhl A, Wennergren G, Benson M . Low levels of CC16 in nasal fluid of children with birch pollen- induced rhinitis. *Allergy* 2005;60:638-642.

83. Liu Z, Lu X, Zhang XH, Bochner BS, Long XB, Zhang F, et al. Clara cell 10-kDa protein expression in chronic rhinosinusitis and its cytokine-driven regulation in sinonasal mucosa. *Allergy* 2009;64:149-157.
84. Deraz TE, Kamel TB, El-Mogy MI, Mostafa EH. Serum and nasal lavage fluid Clara cell protein decreases in children with allergic rhinitis. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2012;76:1241-1244.
85. Benson M, Fransson M, Martinsson T, Naluai AT, Uddman R, Cardell LO. Inverse relation between nasal fluid Clara cell protein 16 levels and symptoms and signs of rhinitis in allergen-challenged patients with intermittent allergic rhinitis. *Allergy* 2007;62:178-183.
86. Liu Y, Yu HJ, Wang N, Zhang YN, Huang SK, Cui YH, et al. Clara cell 10-kDa protein inhibits Th17 responses through modulating dendritic cells in the setting of allergic rhinitis. *J Allergy Clin Immunol* 2013;131:387-394
87. Mener DJ, Shargorodsky J, Varadhan R, Lin SY. Topical intranasal corticosteroids and growth velocity in children: a meta-analysis. *Int Forum Allergy Rhinol* 2015;5:95-103.
88. Gröger M, Bernt A, Wolf M, Mack B, Pfrogner E, Becker S, et al. Eosinophils and mast cells: a comparison of nasal mucosa histology and cytology to markers in nasal discharge in patients with chronic sino-nasal diseases. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2013;270:2667-2676.
89. Kramer MF, Burow G, Pfrogner E, Rasp G. In vitro diagnosis of chronic nasal inflammation. *Clin Exp Allergy* 2004;34:1084-1092.
90. Perić A, Vojvodić D, Matković-Jožin S. Effect of long-term, low-dose clarithromycin on T helper 2 cytokines, eosinophilic cationic protein and the 'regulated on activation, normal T cell expressed and secreted' chemokine in the nasal secretions of patients with nasal polyposis. *J Laryngol Otol* 2012; 126: 495-502.
91. Varvyanskaya A, Lopatin A. Efficacy of long-term low-dose macrolide therapy in preventing early recurrence of nasal polyps after endoscopic sinus surgery. *Int Forum Allergy Rhinol* 2014;4:533-541.

92. Davisson A, Danielsen A, Viale G, Olofsson J, Dell'Orto P, Pellegrini C, et al. Positive identification in situ of mRNA expression of IL-6, and IL-12, and the chemotactic cytokine RANTES in patients with chronic sinusitis and polyposis disease: clinical relevance and relation to allergy. *Acta Otolaryngol (Stockh)* 1996;116: 604–610.
93. Allen JS, Elsma R, LaFreniere D, Leonard G, Kreutzer D. Characterization of the eosinophil chemokine RANTES in nasal polyps. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1998;107: 416–420.
94. Bartels J, Maune S, Meyer JE, Kulke R, Schlüter C, Röwert J et al. Increased eotaxin-mRNA expression in non-atopic and atopic nasal polyps: comparison to RANTES and MCP-3 expression. *Rhinology*. 1997;35:171-4.
95. Rothenberg ME. Eotaxin: an essential mediator of eosinophil trafficking into mucosal tissues. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1999;21:291–295.
96. Jose PJ, Griffiths-Johnson DA, Collins PD, Walsh DT, Moqbel R, Totty NF, et al. Eotaxin: a potent eosinophil chemoattractant cytokine detected in a guinea-pig model of allergic airway inflammation. *J Exp Med* 1994;179:881–887.
97. Shin SH, Park JY, Jeon CH, Choi JK, Lee SH. Quantitative Analysis of Eotaxin and RANTES Messenger RNA in Nasal Polyps: Association of Tissue and Nasal Eosinophils. *Laryngoscope* 2000 ;110:1353-7.
98. Chawes BL, Edwards MJ, Shamji B, Walker C, Nicholson GC, Tan AJ, et al. A novel method for assessing unchallenged levels of mediators in nasal epithelial lining fluid. *J Allergy Clin Immunol*.2010;125:1387–1389.

