

**УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ  
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА**



**др Добривоје Новковић**

**ЗНАЧАЈ НЕСПЕЦИФИЧНЕ  
ХИПЕРРЕАКТИВНОСТИ ДИСАЈНИХ  
ПУТЕВА И АТОПИЈЕ У ИСПОЉАВАЊУ  
АСМАТИЧНОГ НАПАДА НА НАПОР  
КОД БОЛЕСНИКА СА БРОНХИЈАЛНОМ АСТМОМ**

**докторска дисертација**

**Крагујевац, 2016. године**

**УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ  
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА**



**др Добривоје Новковић**

**ЗНАЧАЈ НЕСПЕЦИФИЧНЕ  
ХИПЕРРЕАКТИВНОСТИ ДИСАЈНИХ  
ПУТЕВА И АТОПИЈЕ У ИСПОЉАВАЊУ  
АСМАТИЧНОГ НАПАДА НА НАПОР  
КОД БОЛЕСНИКА СА БРОНХИЈАЛНОМ АСТМОМ**

**докторска дисертација**

**ментор: проф. др Марина Петровић**

**Крагујевац, 2016. Године**

*Захваљујем проф. др Марини Петровић  
на стручној и техничкој подршци  
током израде рада.*

*Захваљујем медицинским сестрама из  
Одсека за функцијску дијагностику  
плућа ВМА на сарадњи.*

# САДРЖАЈ

<b>1.УВОД</b> .....	3
1.1 Историјат бронхијалне астме .....	4
1.2 Дефиниција бронхијалне астме .....	5
1.3 Епидемиологија бронхијалне астме .....	6
1.4 Патогенеза бронхијалне астме .....	9
1.4.1 Инфламација и астма .....	9
1.4.2 Фенотипови бронхијалне астме .....	13
1.4.2.1. Фенотипови астме одређени врстом инфламације .....	14
1.4.2.2. Фенотип астме изазване напором.....	19
1.4.3. Нервна регулација и бронхијална астма .....	20
1.4.4. Патофизиолошке промене у астми.....	23
1.4.4.1. Хиперреактивност дисајних путева.....	23
1.4.4.2. Бронхоопструкција у астми .....	27
1.5. Фактори ризика за бронхијалну астму .....	28
1.5.1. Предиспонирајући фактори ризика .....	29
1.5.2. Узрочни фактори ризика .....	32
1.5.3. Доприносећи фактори ризика за астму .....	36
1.5.4. Фактори ризика за погоршање бронхијалне астме .....	38
<b>2.ЦИЉЕВИ И ХИПОТЕЗЕ</b> .....	42
2.1. Главни циљеви испитивања .....	43
2.2. Радне хипотезе испитивања .....	43
<b>3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ</b> .....	44
3.1. Врста студије.....	45
3.2. Популација која се истражује.....	45

3.3. Критеријуми за укључивање у студију.....	46
3.4. Критеријуми за иницијално искључивање из студије .....	46
3.5. Узорковање.....	47
3.6. Варијабле које се мере у студији.....	47
3.7. Снага студије и величина узорка.....	53
3.8. Статистичка обрада података.....	53
<b>4. РЕЗУЛТАТИ.....</b>	<b>54</b>
4.1. Опште карактеристике испитаника .....	55
4.2. Позитивна лична анамнеза за алергије .....	58
4.3. Позитивна породична анамнеза за бронхијалну астму .....	60
4.4. Тест оптерећења на покретној траци.....	61
4.5. Коже пробе са инхалационим алергеним .....	62
4.6. Укупни IgE у серуму.....	64
4.7. Неспецифични бронхопровокацијски тест са хистамином.....	65
4.8. Сензитивност, специфичност и предиктивни значај мерених параметара.....	67
4.9. Корелација између више параметара са бронхоспазмом на напор. ....	72
4.10. Утицај више мерених фактора на појаву бронхоспазма на напор .....	77
<b>5. ДИСКУСИЈА .....</b>	<b>79</b>
<b>6. ЗАКЉУЧЦИ .....</b>	<b>90</b>
<b>7. ЛИТЕРАТУРА .....</b>	<b>92</b>

## **1.УВОД**

## 1.1 Историјат бронхијалне астме

Иако су први записи о астматичним тегобама пронађени у Хијероглифима још у време старог Египта, постоје докази да се за астму знало и пре тог периода. Открића, до којих се дошло, говоре углавном о лечењу астматичних тегоба које се састојало у инхалирању пара мешавина разних биљака са крајњим бронходилататорним ефектом. Термин „астма“ потиче из Грчке речи „аазеин“ која означава дахтање - издах са отвореним устима - оштар дах, и први пут се појавио у грчкој епској поеми - „Илијада“.(1)

У „Corpusu Hurocraticumu“, делу Хипократа (460 -360 п.н.е), оца медицине, астма се први пут помиње као медицински термин. Није довољно јасно да ли је Хипократ схватао астму као клинички ентитет или само као симптом. Међутим, јасно је да је бронхитични спазам повезивао са одређеним занимањем што указује да је препознавао факторе ризика за настанак бронхијалне астме. (2)

Аратеус, лекар из Кападокије у старој Грчкој (100 г.п.н.е), писао је о клиничким карактеристикама астме, а са његовим опажањима слагао се касније и Гален. Moses Maimonides (1135-1204 г.н.е), рабин и лекар на двору Султана Саладина владара Египта и Сирије у свом делу „Treatise of asthma“, закључује да симптоми астме код оболелих почињу током хладних и влажних месеци. Он је такође забележио да сув Египатски ваздух, умереност у храни и пићу погодују особама са симптомима астме. Bernardino Ramazzini (1633-1714), познат као отац спортске медицине, уочио је везу између астме и органске прашине. Он је такође први препознао астму на напор.(2)

Почетком 20-ог века, тачније 1902. године, Portier i Richeta указују да је бронхијална астма алергијска болест, док је алергијску природу бронхијалне астме први детаљније проучавао Salter. Као наставак ових истраживања, S.Meltzer је поставио хипотезу о значају хистамина у патогенези астме што је утицало на истраживања у наредном веку.(3)

Средином 20-ог века астма је схватана као психосоматска болест тако да је са реуматоидним артритисом, колитисом, есенцијалном хипертензијом, неуродерматитисом, тиретоксикозом и пептичким улкусом сврставана као једна од „седам светих психосоматских болести“.(3)

У другој половини прошлог века, нова сазнања су указала на инфламаторну природу астме, а откриће имуноглобулина Е (IgE) 1967. године, додатно појашњава алергијску природу ове болести. Крајем прошлог века, све више се упознају имунолошки механизми бронхијалне астме чему је значајно допринео Ramagnani 1998.године постављањем хипотезе о улози Th2 ћелија у бронхијалној астми.(4,5) Обимна вишевековна искуства у изучавању бронхијалне астме значајно су допринела данашњем ефикаснијем лечењу и контроли ове болести.

## **1.2. Дефиниција бронхијалне астме**

Бронхијална астма је хронична инфламаторна болест дисајних путева у којој учествују многе ћелије. Хронична инфламација је удружена са хиперреактивношћу дисајних путева која доводи до понављаних епизода звиждања у грудима, отежаног дисања и кашља. Наведени симптоми су у вези са распрострањеном и променљивом, спонтано или под дејством лекова реверзибилном опструкцијом дисајних путева.(6)

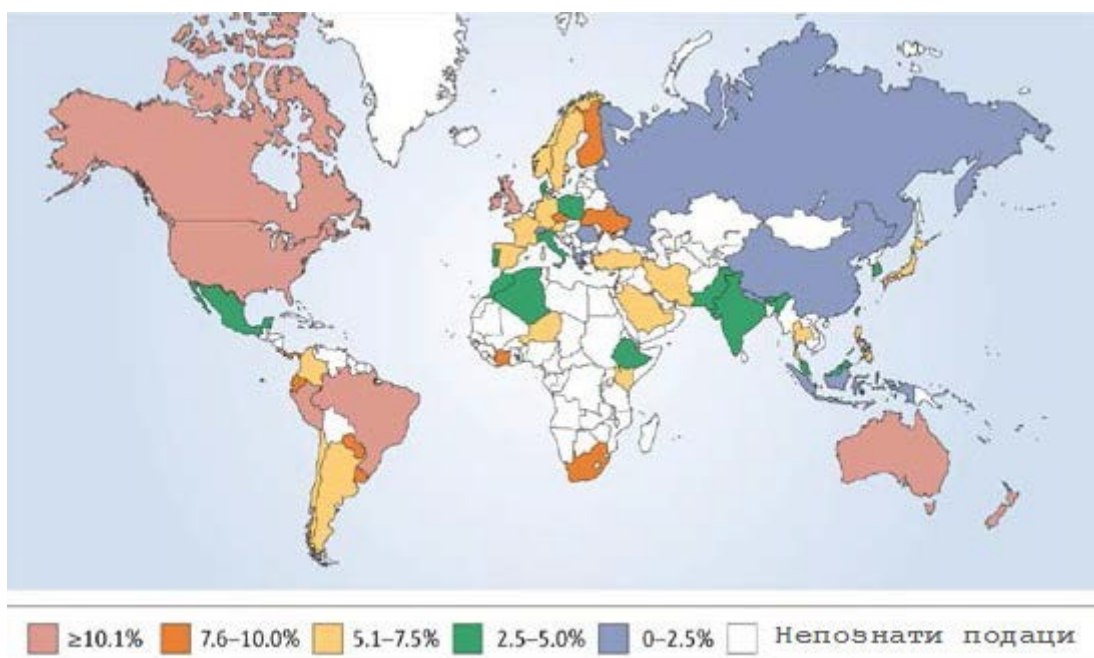


### 1.3. Епидемиологија бронхијалне астме

Бронхијална астма спада у најраспрострањеније хроничне болести. Данас у свету од ове болести болује између 250 и 350 милиона људи. У око 250 000 случајева годишње, астма има фаталан исход. Већина смртних случајева због ове болести дешава се у економски слабије развијеним земљама. (6,7) Преваленца бронхијалне астме варира у различитим земљама и деловима света.

У економски развијеним и земљама у развоју креће се од 1 до 18% док се у осталим земљама Азије, источне Европе и Африке бележи ниска преваленца. (слика 1.)

Слика 1. Преваленца бронхијалне астме у свету



Поред веће учесталости, астма у развијенијим земљама показује и друге карактеристике. У тим срединама, забележен је већи број оболелих међу богатијим слојевима друштва док је у земљама у развоју чешћа код сиромашнијих. Разлог за овакву дистрибуцију није довољно познат. (3)

Што се тиче узраста, астма је позната као болест млађих особа при чему је у детињству чешћа код дечака док се код одраслих дешава обротно, односно чешће оболевају жене.(2)

У погледу заступљености тежих облика није примећена разлика међу половима. Преваленца бронхијалне астме почела је да расте у многим земљама нарочито од средине прошлог века.(8,9) Тако је код деце у САД-у у 1980. години преваленца бронхијалне астме износила 3,6%, а 2001.год. 9,0%. Такође, у САД-у преваленца астме код одраслих је од 2001. до 2009. са 7,3% порасла на 8,2%.

Према подацима СЗО, сличан тренд је забележен и у неким европским земљама. Тако је у Швајцарској за период од двадесет пет година који је обухватио крај двадесетог и почетак двадесет првог века, преваленца астме порасла пет пута, односно са 2% на чак 10%.(10,11)

Новији подаци говоре да у САД-у више од 10 % укупног становништва, односно око 22 милиона болује од бронхијалне астме укључујући и око 6 милиона деце .Такође у САД-у забележи се близу 500 000 хоспитализација и више од 4000 смртних случајева због ове болести.(12-14)

О величини проблема која ова болест задаје здравственим системима појединих земаља говоре и подаци да је у САД-у током 2010. године, скоро једна четвртина свих јављања у одељењима за хитну помоћ код деце до девете године живота било због погоршања бронхијалне астме.(15) Такође, бронхијална астма је најчешћа дијагноза код особа узраста од 10-17 година и с правом се сматра епидемијском болешћу XXI века.(16)

Поред тога што наведени подаци несумњиво говоре о значајно вишој преваленци ове болести у економски најразвијенијим земљама света они такође указују и на велику варијабилност међу државама и различитим етничким популацијама.Ова епидемиолошка карактеристика би могла да говори у прилог значајног утицаја наследних фактора и фактора средине у испољавању астме. (17,18,) У том смислу, уочено је да се бронхијална астма чешће јавља код Порториканаца и афричких црнаца док се знатно ређе јавља код Мексиканаца и Корејанаца.(19-21)

И у погледу клиничког тока ове болести забележена је слична појава, односно и деца и одрасли афричког порекла су чешће имали тежи ток болести и чешће хоспитализације због астме од особа азијатске, европске или пацифичке популације. У прилог утицаја животне средине на настанак ове болести, истраживања су показала да је популација Мексиканаца рођених у Америци чешће оболевала од бронхијалне астме него Мексиканци рођени ван САД-а.(22,23)

На европском континенту ситуација је нешто другачија. У Великој Британији астмом је погођено око 10% популације (24). Астма је најчешћи узрок изостајања из школе код деце, а у развијеним земљама на лечење астме се троши више од 2% од укупног буџета за здравствену заштиту.(7) Највећа инциденца у европи бележи се у Велсу, а најмања у Грчкој и Албанији.(6) Процењује се да у Србији око 5% укупног становништва, или око 370.000 има бронхијалну астму.(25)

Податке о учесталости бронхијалне астме треба разматрати у светлу чињенице да не постоји јединствен метод за прецизну идентификацију бронхијалне астме. Дијагноза астме се поставља клиничким методама, од стране лекара на основу анамнестичких података добијених од пацијената, физикалног прегледа, процене реверзибилност опструкције дисајних путева, и искључењем других обољења и стања која личе на бронхијалну астму.

Подаци о преваленци и инциденци бронхијалне астме, као и других болести, добијају се епидемиолошким истраживањима која користе разне упитнике који имају за циљ да утврде да ли је испитаник имао симптоме астме или је икада добио дијагнозу од лекара. Поред наведених фактора на преваленцу астме у великој мери утиче и ниво знања и свести становништва о овој болести.(26)

Током последњих неколико деценија, број оболелих од бронхијалне астме се вишеструко повећао као и број оболелих од тежих облика ове болести што је нарочито изражено у срединама које бележе брзу урбанизацију. Обзиром да се проценат урбанизованог дела светске популације повећава претпоставља се да ће се тренд пораста броја оболелих наставити и у наредној деценији.(27)

Многа епидемиолошка истраживања говоре да се пораст преваленце одражава и на повећање броја тешких облика бронхијалне астме због чега се све више истражују прави узроци пораста броја оболелих. Фактори ризика за настанак и погоршање бронхијалне астме свакако представљају важан чинилац у овом процесу.(16)

Пошто се преваленца бронхијалне астме не може у потпуности објаснити садашњим сазнањима, задатак будућих истраживања мора бити усмерен ка прецизнијој и правовременој дијагнози и лечењу ове болести што ће значајно смањити свеукупно оптерећење које она изазива.

## **1.4. Патогенеза бронхијалне астме**

### **1.4.1. Инфламација и астма**

Главна патогенетска збивања у астми настају због ослобађања инфламаторних медијатора из ћелија које се налазе у дисајним путевима оболелих од астме. У слузокожи дисајних путева астматичара и ван напада астме повећан је број ћелија у чијим гранулама се налазе медијатори који су спремни да започну акутно запаљење. Код већине оболелих од астме углавном се ради о повећаном броју еозинофила, мастоцита и лимфоцита који су спремни да луче медијаторе запаљења: хистамин, простагландине, триптазу, леукотриене, алфа чиниоце туморске некрозе (TNF $\alpha$ ), фактор стимулације гранулоцита и макрофагних колонија (GM-CSF) као и друге медијаторе. У фазама егзацербације астме додатно се повећава број запаљењских ћелија као и ниво медијатора које оне луче. Покретачи ослобађања ових медијатора су разни алергијски и неалергијски чиниоци који представљају окидаче астматичног напада. Излучени медијатори, хистамин, простагландин D<sub>2</sub>, леукотриен C<sub>4</sub> доводе до бронхоконстрикције као и активирања других ћелија и процеса који усложњавају и отежавају опструкцију у дисајним путевима.

Ту се пре свега мисли на активацију и пролиферацију епителних ћелија дисајних путева, активацију разних адхезионих молекула (ICAM-1) подстакнутих од стране TNF  $\alpha$ , IL4 интерферон гама (IFN $\gamma$ ) и других медијатора. Због ових дешавања долази до нагомилавања леукоцита у лумену и зидовима дисајних путева, пре свега еозинофила и неутрофила што у ствари представља инфламацију. У даљем току и развоју астматичног напада односно одржавању инфламације Т лимфоцити имају веома важну улогу. Њихова улога се огледа превасходно у повећаној продукцији проинфламаторних цитокина као што су IL4, IL5, IL2 који одржавају инфламаторни процес.(28) Као крајњи резултат претходно присутних и ново активираних и накупљених ћелија у дисајним путевима, долази до повећања нивоа бројних медијатора: леукотриена, простагландина, триптазе, химазе, главног базног протеина (MBP), чиниоца активације тромбоцита (PAF), тромбоксана A2, еозинофилног катјонског протеина (ECP), еозинофилног неуротоксина (ET), еозинофилне пероксидазе (EPO) и бројних других медијатора.

Удруженим дејством наведених медијатора покрећу се и други процеси као што је појачана бронхосекреција, повећане микропропустљивости и протока крви и појачање пропустљивости ендотела. Поред тога, ови медијатори изазивају промене и у мишићном слоју дисајних путева доводећи до његове хипертрофије, утичу на секрецију мукозних жлезда подстичући стварање густе слузи а дејством на нервне завршетке подстичу бронхоконстрикторне импулсе. Крајњи ефекти овако активираних инфламација су бронхоконстрикција и клиничко испољавање астматичног напада. Током времена, а нарочито у неповољном току болести, долази и до стварања новог везивног ткива и промене архитектонике дисајних путева што представља хроничан процес који остаља трајне последице.

Историјски гледано, према врсти узрочника, улози инфламације и алергије у њеном настанку астма је разврставана у две велике групе:

**I алергијска астма** (екстринсик, IgE посредована) - алергени из спољашње средине представљају предиспозицију и покретаче астме.

**II неалергијска астма** (интринсик, IgE непосредовану) - погоршавају је инфекције горњих и доњих дисајних путева, токсичне и хемијске супстанце и гастроезофагеални рефлукс. Као окидачи неалергијског облика астме посебно су били идентификовани гојазност, физички напор, хладан ваздух, емоционални стрес, цигаретни дим, озон, нитрозни гасови, аналгетици и бета блокатори.(29,30)

Новија истраживања су показала да је подела на алергијску и неалергијску сувише упрошћена за тако комплексно обољење каква је астма. Иако је присуство алергије у астми веома важно ипак се у основи свих збивања налази инфламација. У прилог ове тврдње најбоље говори чињеница да је основ антиастматичне терапије примена антиинфламаторних лекова и да већина пацијената са бронхијалном астмом добро контролише ову болест применом кортикостероида уз повремено или стално додавање бронходилататора. Као што је претходна подела упрошћена и недовољна, тако је и терапија заснована на две поменуте групе лекова показала недовољну ефикасност у одређеним облицима бронхијалне астме. Наиме, према неким истраживањима број особа са астмом које слабо реагују на стандардну антиинфламаторну терапију креће се и до 30%, што ствара сталну потребу за напретком у области истраживања патофизиолошких механизма бронхијалне астме.(31,32) Инфламацију у астми изазивају сложени процеси о чијем су механизму настанка временом стицана нова сазнања која су то и потврдила.

Према тренутку у коме се јавља и патофизиолошким променама које том приликом настају, инфламаторни процес у астми се може поделити на **акутну** и **хроничну инфламацију**. **Акутна инфламација** има своју рану фазу која настаје одмах непосредно по деловању окидача. То су најчешће алергени који преко имуноглобулина Е активирају инфламаторне ћелије пре свега мастоците и макрофаге који луче инфламаторне медијаторе.(33,34) Касна фаза акутне инфламације развија се у даљем току, након 6-8 сати од деловања провокативних фактора - алергена и карактерише се миграцијом и активацијом еозинофила, Т ћелија, базофила, неутрофила, адхезионих молекула и инфламаторних цитокина. Клиничке последице овако настале акутне инфламације је акутна бронхоконстрикција праћена отежаним дисањем и типичним астматичним звиждуком.

Ове промене углавном не трају дуже од једног дана и обично се повлаче након примене брзоделујућих бронходилататора.(35,36)

Даљим погоршавањем инфламације акутна инфламација поприма карактеристике хроничног процеса.

**Хронична инфламација** различитог интензитета је карактеристика свих облика бронхијалне астме, што је опште прихваћена чињеница. Разлика постоји у ставу на ком нивоу дисајних путева се дешавају највеће промене. И док је према једном схватању главна локализација инфламације у већим дисајним путевима, други сматрају да инфламација у астми више захвата периферне дисајне путеве, алвеоле и перибронхијално ткиво. Овако различити ставови су делом последица различите методологије испитивања а њихово разумевање је важно јер утиче на терапијски приступ.(37,38) Хронична инфламација се базира на сложеној интеракцији различитих типова ћелија истичући нарочито Т лимфоците, маст ћелије, еозинофиле, антиген-презентијуге као и структуралне ћелије (макрофаге, дендритичне ћелије, ћелије бронхијалног епитела и миофибробласте). Иако се ради о дуготрајнијем процесу и у хроничној инфламацији је важан допринос алергије и имунолошких механизма.

Централно место у регулацији имунолошких механизма инфламације заузимају еозинофили и Т лимфоцити који у посебним условима имају способност диференцијације у Th1 и Th2 ћелије које проузрокују појачано стварање проинфламаторних цитокина пре свега IL4, IL5 и IL13. Поред тога, Т ћелије контролишу урођени имуни одговор преко гранулоцита и маст-ћелија као и хуморални имуни одговор регулишући продукцију имноглобулина од стране Б лимфоцита, посебно класу IgE.(39-41) Оваква ћелијска дешавања условљавају специфичан састав инфилтратата у зидовима дисајних путева астматичара као и ћелијског састава спутума. Инфилтрација са преминацијом еозинофила, маст ћелија и Th2 лимфоцита доказана је код алергијских упала, док се неалергијска инфламација карактерише порастом броја неутрофила и мастоцита.(42-45)

Налаз еозинофилије више од 2% у спутуму не указује само на алергијску инфламацију већ и на чињенице да се код таквих пацијената ради о лоше контролисаној болести али и да ће они вероватно имати неповољнији одговора на бронходилататоре. Уколико се такви пацијенти већ лече инхалационим стероидима, повишен број еозинофила у спутуму говори да они имају лошију плућну функцију а самим тим и нестабилну болест.(33) Имунолошки процеси, посредовани првенствено Th2 ћелијама, остварују овај ефекат уз интеракцију генетских фактора, фактора средине и у одређеном микробиолошком окружењу.(39)

Новија молекуларна истраживања у овој области указују да се према врсти упалног процеса и упалних ћелија које у њима доминирају, могу формирати специфични клинички фенотипови астме.

#### **1.4.2. Фенотипови бронхијалне астме**

За бронхијалну астму се може рећи да је она комплексно обољење или скуп синдрома који у себи садржи више варијанти ове болести проузрокованих различитим патофизиолошким механизмима. Као таква, астма се манифестује кроз више фенотипова који могу имати различиту етиологију, клинички ток и одговор на терапију.(46) Фенотипови астме се код одраслих могу идентификовати коришћењем различитих приступа. Један од њих је одређивање фенотипова бронхијалне астме сврставањем у одређене групе-кластере. Овај метод се базира на два великим епидемиолошким студијама: EGEA2 (Epidemiological Study on the Genetics and Environment of Asthma) и ECRHSII (European Community Respiratory Health Survey) Према овој класификацији, разликују се два велика фенотипа астме : алергијска и неалергијска. Остали фенотипови се одређују према: клиничким или физиолошким карактеристикама, (*тежина болести, рани настанак болести, хронично лимитиран проток ваздуха*) оксидачима астме (*физички напор, алергени...*) патофизиолошким променама у дисајним путевима (*присуство одређених врста инфламаторних ћелија*).(47)



Детаљније дефинисање фенотипова астме код одраслих дато је консензусом више релевантних интернационалних удружења. (NHLBI, ATS, ERS, NIAID, AAAAI) Према њиховом заједничком ставу, дефинисано је девет различитих фенотипова астме разврстаних у три велике групе: **1.** Окидачима индукована астма где спада: *алергијска, неалергијска, нестероидним антиреуматицима изазвана астма, астма изазвана инфекцијама дисајних путева и астма на напор.* **2.** Другу групу чини фенотип бронхијалне астме кога карактеришу одређене клиничке особине: *периодични визинг и визинг узрокован са више окидача истовремено, бронхијална астма склона честим погоршањима и астма удружена са сталним ограничењем протока ваздуха.* **3.** У трећу групу фенотипа астме сврстана је бронхијална астма са одређеним инфламаторним маркерима. (*еозинофилни, неутрофилни...*)(48)

#### **1.4.2.1. Фенотипови астме одређени врстом инфламације**

Захваљујући новијим сазнањима у области инфламације, последњих година се све чешће приступа класификацији астме на основу ћелијских и молекуларних механизма присутних у овом процесу.

И док термин „ *фенотипови* “ подразумева клинички и морфолошки уочљиве карактеристике астме, „*ендотипови* „ нас упознају са ћелијским и молекуларним нивоом што нас директно упућује на патофизиолошке процесе. Овакав приступ има за циљ да утврди праве механизме настанка астме, њене предикторе, окидаче као и проналазак што ефикаснијег и индивидуализованог терапијског приступа. (49) Са друге стране, та открића су указала на велику хетерогеност бронхијалне астме. Тако је уочавање повећаног присуства еозинофила у ткиву дисајних путева и спутуму оболелих од бронхијалне астме, довело до опште сагласности научних кругова да су то главне инфламаторне ћелије. Међутим, истраживања која су уследила окрићем разних цитокина, све више су давала значај имунолошким ћелијама и механизмима као и међусобном утицају имунолошких и неимунолошких процеса. Интеракција ових процеса остварила је значајан утицај и на клиничку манифестацију астме.

Широк је спектар неимунолошких ћелија које имају способност да остваре своју функцију у окружењу цитокина док многе од њих чак и секретују цитокине. Пример за оваку интеракцију је секреција IL 8 од стране епителијалних ћелија подстакнутих туморским фактором некрозе алфа  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) који приликом оштећења епитела доводе до активације неутрофила на месту озледе. Оваква продукција цитокина и улога неимунолошких ћелија у том процесу, указују како на механизме настанка болести тако и на могуће циљне тачке у терапијском смислу. Због тога, астма представља болест у којој се последњих година бележи суштински прогрес у разумевању улоге цитокина у њеном настајању. (50,51)

Сазнања која данас имамо о инфламацији у астми указују нам да у њему учествује велики број ћелија и да је то још компликованији и хетерогенији процес него што се раније сматрало. Бројна открића у овој области, омогућила су нам да можемо разликовати више фенотипова астме условљених доминацијом одређених врста инфламаторних ћелија.

### *Алергијски фенотип астме*

Алергијски фенотип представља најзаступљенији облик астме који се среће код више од половине свих астматичара, превасходно код деце и млађих особа. Карактерише га корелација алергијске сензибилизације са одређеним алергенима, сезонски карактер и посебна клиничка манифестација болести.

Инфламацију у алергијској астми и последичну бронхоопструкцију, покреће излагање особа са атопијском конституцијом одређеној врсти алергена. Иницијалне промене се дешавају у епителијалним ћелијама дисајних путева које ослобађају тимални стромални липопротеин (TSLP), IL33 и IL35 као одговор на дејство алергена. TSLP доводи до миграције дендритичних ћелија које презентују антиген и покрећу диференцијацију Т помоћничких лимфоцита. Помоћнички Т лимфоцити (T-helper) посредују у настанку IgE који се везују за базофиле и мастоците у дисајним путевима чиме се наглашава локални алергијски одговор.

У даљем току IL33 и IL25 произведени од епителијалних ћелија, промовишу диференцијацију Th2 ћелија а преко њих продукцију цитокина IL4, IL5 и IL13 у дисајним путевима. Као крајња последица овог процеса, меморијске Т и Б ћелије су створиле услове за олакшан и брз алергијски одговор приликом поновног сусрета са алергенима дајући болести хронични карактер. (52).

Последице излагања ефекту IL13 се огледају и на пехарастим ћелијама што се манифестује њиховом метаплазијом, појачаним стварањем слузи и појавом фиброзе у дисајним путевима. У даљем току, ови процеси делују и глатке мишиће у дисајним путевима изазивајућу хиперреактивност и као крајњи циљ ремоделовање дисајних путева. Узимајући у обзир претходно наведене чињенице, са аспекта инфламације, за алергијски тип астме можемо закључити следеће: Овај фенотип астме се карактерише израженом Th2 упалом што је допринело да се у литератури назива и „*астма са израженим обележјима Th2 упале*“. Упала је посредована пре свега цитокинима, IL4, IL5, IL13 што представља најважнији молекуларни супстрат. Патофизиолошка карактеристика ове варијанте астме је изражена бронхијална хиперреактивност, повишен ниво серумског IgE или позитивне кожне пробе на инхалационе алергене, еозинофилија периферне крви и дисајних путева, субепителијална фиброза и појачан експресија гена за муцин у дисајним путевима. (53-55) У погледу тока болести и тераписког приступа, овај фенотип се карактерише раним почетком (до шесте године живота) и добрим одговором на примену инхалационих кортикостероида. Код оболелих од овог фенотипа астме чешће је породично оптерећење за алергијске болести и удружена појава бронхоспазма на напор. (56)

#### ***Мешовити тип астме:***

Код астматичара са овим фенотипом болести такође постоји хиперреактивност дисајних путева на инхалационе алергене и повишен ниво IgE мада у знатно блажем облику.

У слузокожи дисајних путева Th2 упала је присутна али степен ове врсте упале није толико изражен и није довољан да покрене експресију гена и појача упални процес у мери као што је то случај код фенотипа са доминантном Th2 упалом.(56)

Главна особина овог фенотипа је испољавање астме у одраслом добу, значајна рефрактерност на стандардну терапију, изразитије снижени параметри плућне функције, велика дневна варијабилност симптома. Th2 ћелије имају значајан, али не и пресудан утицај који се такође остварује путем цитокина IL4, IL13.(39)

Поред повишеног броја еозинофила региструје се и више неутрофила. Експериментални модели указују да би овде и IL17 могао да има значајну улогу. Клинички, овај фенотип се често карактерише тежим степеном болести. Због присутне али слабије изражене Th2 упале овај фенотип се назива и мешовити фенотип а познат је и као „астма са слабије израженим обележјима Th2 упале“.(57,58)

### ***Неалергијски тип астме:***

Неинфламаторни тип астме представља значајно заступљен подфенотип од кога болује немали број астматичара. Инциденца овог фенотипа се креће и до 30% популације астматичара. Углавном се среће код одраслих жена код којих нема података о постојању алергија нити астме код блиских сродника. Његово главно имунолошко обележје је да не постоје знаци Th2 упале, док пацијенти задовољавају остале клиничке критеријуме за бронхијалну астму. Обзиром да код њих постоји врло слаба инфламација, бронхијална хиперреактивност и бронхоопструкција су знатно слабије изражене.(59)

Иако механизми овог фенотипа астме нису довољно познати, према новијим истраживањима, главни патофизиолошки механизми се највероватније одвијају преко IL25, IL33 и TSLP (timal stromal lipoprotein ). Бронхијална хиперреактивност која се среће код ових болесника и која некада може бити значајна није последица имунолошких механизма. Главни патофизиолошки механизми се вероватно одвијају преко мастоцита који су укључени у Th1 имуни одговор.(56,60)

Обично се ради о особама код којих се астма испољила у одраслом добу без података о алегијским манифестацијама у детињству. Код ових болесника ретко постоји знаци сензибилизације на алергене а кожни тестови на инхалационе алергене су обично негативни. Овај фенотип карактерише тежи клинички ток од алергијске асме и слабија реакција на примену кортикостероида. Неретко, код овог фенотипа се налази и на удружену осетљивост на нестероидне антиреуматике. (61,62)

### ***Неутрофилни тип астме:***

Овај фенотип астме карактерише изненадни почетак, тежи клинички ток, и слабији одговор на примену кортикостероида као златног стандарда у терапији астме. Тежи клинички ток се карактерише и знатним снижењем FEV1, присуством мањег броја маст ћелија и ређе присутним феноменом ремоделовања дисајних путева. Карактеристичан је за особе млађе животне доби, гојазне особе и пушаче, а као главни покретачи појављују се вирусне инфекције респираторног система. Најчашће се ради о инфекцијама респираторним синцицијалним вирусима, вирусом инфлуенце и параинфлуенце. Инфекција изазива појачану инфламацију у дисајним путевима што за последицу има повећање хиперреактивности и израженију бронхоопструкцију. (63)

Поред поменутог пораста реактивности дисајних путева, током вирусних инфекција дешава се и промена у неуронској активности као и поремећај геометрије малих дисајних путева која настаје због накупљања густе слузи у инфламираним дисјаним путевима. У погледу ћелијског састава у инфламацији изазваној риновирусима доказано је да се ради о неутрофилној инфламацији где је ниво неутрофила у инфламираној слузокожи био и до 5 пута већи него у стабилној астми. (62,64).

Међутим, нису само вирусне респираторне инфекције окидачи астматичног напада. Познато је да и бактеријске инфекције могу покренути астматични напад односно представљати фактор ризика. У овом контексту, посебно су значајне инфекције у детињству и улога ендотоксина грам негативних бактерија. Резултати епидемиолошких студија указују да је рана изложеност поменутом ендотоксину обрнуто повезана са појавом атопије, али је позитивно повезана са повећаним ризиком за настанак бронхијалне астме и тежим клиничким током у каснијем периоду. Свеукупно, изложеност инфекцијама у раном детињству може допринети развоју астме док у погледу алергена није утврђен тако јасан утицај.(42,65, 66)

#### **1.4.2.2. Фенотип астме изазване напором**

Код ове врсте астме, симптоми обично настају након 10-15 минута од излагања физичком напрезању или удисању хладног ваздуха а пролазе након 30 – 40 минута. Није овај фенотип није забележен значајан утицај других фактора као што су расни,социоекономски као ни пушење дувана. Инфламација код овог облика бронхијалне астме је посредована Th2 одговором и праћена порастом нивоа еозинофила у спутуму, мада су забележени случајеви и без еозинофилије у спутуму.(67) Пошто је доказано да је у бронхијалној астми инфламација главни патофизиолошки процес, а код алергијске астме доминантна Th2 инфламација, истраживања у овој области имала су за циљ проналажење поузданијег маркера ове врсте инфламације.

Најновији резултати указују да се периостин може сматрати поузданим биомаркером Th2 инфламације а самим тим и Th2 фенотипа бронхијалне астме . Периостин представља матриксни протеин кога стварају фибробласти у екстрацелуларној средини бронхијалног епитела а пошто се не излучује у лумен бронха, могуће је његово мерење у системској циркулацији. Интерлеукини IL4, IL13 и TGF  $\beta$  индукују стварање периостина.(68). Периостин остварује своју функцију као адхезиони молекула подстичући сигнале за ремоделовање дисајних путева.(69)

Истраживања су показала да се од свих претходно познатих биомаркера Th2 инфламације, као што су FeNO и IgE, периостин показао као поузданији. Поред тога, периостин показује и значајну предикторну вредност у примени биолошке терапије у лечењу бронхијалне астме, јер су особе са повишеним периостином у периферној циркулацији показале бољи одговор на ову врсту терапије.(70) Упознавање хетерогености бронхијалне астме, са дефинисањем клиничких фенотипова, разјашњењем инфламаторних процеса и проналажењем нових маркера инфламације, отвара ново поглавље у лечењу бронхијалне астме.(71)

Иако већина астматичара добро контролише своју болест применом антиинфламаторне терапије, постоји стална потреба за побољшањем лечења осталих пацијената. Ту се пре свега, мисли на примену биолошке терапије која је показала већу ефикасност код Th2 – еозинофилне инфламације, односно одређених фенотипова бронхијалне астме.(70)

Новија истраживања у области инфламације и алергије у бронхијалној астми указују на потребу за другачијим приступом у лечењу астме који ће се огледати у персонализацији, односно индивидуализацији терапијских поступака.(39)

### **1.4.3. Нервна регулација и бронхијална астма**

Аутономни нервни систем обезбеђује холинергичку и нехолинергичку инервацију дисајних путева регулишући тако многе функције које се у њима дешавају. Он одржава тонус глатких мишића дисајних путева, утиче на секрецију слузи, проток крви, микроваскуларну пропустљивост и миграцију и активацију запаљењских ћелија. Са изузетком глатких мишића дисајних путева, можда ниједна друга група ћелија нема тако јасну улогу у патогенези астме као неурони са аферентном и еферентном инервацијом дисајних путева. О томе најбоље говоре резултати бројних истраживања међу којима су најзначајнија она која показују ефикасност холинергичких агониста и њихову предност над другим препаратима.(14)

Дефинитивно, нема сумње да нервна регулација односно њена дисфункција има велику улогу у реактивности дисајних путева. Поставља се питање шта покреће ту дисфункцију нервне регулације у астми. Једно од најприхватљивијих објашњења је да упала дисајних путева мења функцију аутономног нервног система код астме. Инфламација, дакле, поспешује одговор дисајних путева на холинергичке агонисте и смањује утицај нехолинергичких бронходилататорних трансмитера.

Синтеза или деградација једних, односно других трансмитера, условљена деловањем пептидаза, слободних радикала и аргиназе ремети равнотежу у корист бронхоконстрикције.(9)

Још једно могуће објашњење је да инфламација дисајних путева индиректно проузрокује дисфункцију аутономног нервног система што се презентује појачаном сензибилизацијом и хиперреактивношћу дисајних путева. У прилог нервне регулације у настанку НИБ-а говори и чињеница да су антихолинергици показали већу ефикасност у смањењу одговора дисајних путева на алергене, смањењу опструкције дисајних путева и хиперреактивности код астматичара. Сви до сада познати механизми као и брзина настанка и повлачења НИБ-а указују на значајну улогу рефлексних механизма у његовом настанку.(19)

Неки од стимулуса из спољашње средине, посебно хладан ваздух, прашина или сумпор диоксид проузрокују бронхоконстрикцију надражајем сензорних рецептора у дисајним путевима. Ова реакција дисајних путева има донекле одбрамбену улогу јер се дешава и код здравих особа. Међутим, код астматичара, она је знатно наглашенија, јавља се при nižем степену стимулације, а интензитет опструкцијског одговора је тежи у поређењу са одговором код здравих особа. Из наведених разлога проистиче да је хиперреактивност универзални и главни патофизиолошки механизам у настанку астматичних тегоба.

Према неким ранијим сазнањима, сматрало се да је повећана активност парасимпатичког нервног система најодговорнија за хиперреактивност дисајних путева у бронхијалној астми. Мађутим, касније се испоставило да иако су ови механизми присутни, нису главни разлог за појаву бронхоспазма.



Као што је већ речено, иако механизми помоћу којих се дешава хиперреактивност дисајних путева нису још увек до краја разјашњени, дисфункција аутономног нервног система је свакако значајан узрок. Сви симптоми астме - шиштање, диспнеја, осећај стегнутости у грудима, кашаљ, реверзибилна опструкција дисајних путева, појачано лучење слузи, нераскидиво су повезани са нервном регулацијом. (72)

Ако прихватимо став да је улога глатких мишића кључна у хиперреактивности дисајних путева, као и другим патофизиолошким збивањима у астми као што је реверзибилност опструкције, онда се поставља питање шта све утиче на контракцију глатких мишића. Тонус глатких мишића дисајних путева зависи од дејства констрикторних агенаса и неуротрансмитера којих има много. Ипак, само неколико ендогених фактора - ацетил холин, хистамин и ацетил цистеин који се ослабајају из постганглијских парасимпатичких влакана поуздано имају значајан утицај на дисајне путеве код људи. Према томе, аутономни нервни систем има примарну улогу у одржавању тонуса глатких мишића дисајних путева чинећи то рефлексним или централним дејством преко респираторних центара. Познато је да стимулација аферентних рецептора и немијелинских С влакана на површини слузокоже дисајних путева доводи до рефлексне холинергичке бронхоконстрикције што је најизраженије у тешкој акутној астми. Овај механизам стимулације се вероватно покреће због дисфункције мускаринских М2 рецептора што између осталих могу изазвати вирусне инфекције и разни продукти запаљења као што је ЕСР. Медијатори запаљења могу, поред утицаја на повећање неуротрансмисије у парасимпатичким ганглијама, олакшати ослобађање ацетилхолина из постганглијских нервних завршетака или пак деловати на рецепторе у дисајним путевима. Доказано је да сензорни неурони директно одговарају на Cis LTD4 преко Cis LT1 доводећи до пораста ексцитабилности на друге електричне и хемијске надражаје. (73,74) Поред бронхоконстрикторног, аутономни нервни систем има и бронходилататорни ефекат, који се остварује путем нехолинергичких неуротрансмитера као што су NO, VIP и сродни пептиди, које луче постганглијска вагусна влакна.

Ефекти ове групе пептида могу бити и супротни, односно бронхоконстрикторни за шта су одговорни неурокинин А и супстанца Р. Код здравих особа ово се не дешава, јер неурална пептидаза (NEP) пореклом из епителних ћелија, разлаже ове бронхоконстрикторне пептиде. Међутим, оштећењем епитела, разним ноксама или вирусним инфекцијама, као и дејством разних цитокина, инхибира се активност NEP-а, а тиме и могућност да се разложе бронхоконстрикторни медијатори. Холинергичкој бронхоконстрикцији доприносе и слободни кисеонични радикали који разграђују NO.У нормалним околностима, код здравих особа, циркулишући медијатори адренергичког система супротстављају се претераној холинергичкој бронхоконстрикцији настојећи да се успостави неопходна равнотежа. Све ове чињенице указују да дисфукција аутономног нервног система заузима значајно место у патогенези астме.(72)

Ипак, улога аутономног нервног система у астми мора се посматрати удружено са инфламацијом коју проузрокују остали медијатори запаљења јер се само тако може потпуније сагледати комплексност патофизиолошких механизма у бронхијалној астми.

#### **1.4.4. Патофизиолошке промене у бронхијалној астми**

Сва дешавања у бронхијалној астми корелирају са две главне патофизиолошке карактеристике бронхијалне астме: хиперреактивност дисајних путева и варијабилна опструкција.(7)

##### **1.4.4.1 Хиперреактивност дисајних путева**

Најважнија патофизиолошка карактеристика бронхијалне астме је нестабилност дисајних путева која се огледа у повременим, појачаном бронхоконстрикторном одговору изазваном дејством различитих егзогених и ендогених чинилаца. На ову карактеристику бронхијалне астме утичу многи механизми, мада се сматра да је хронична инфламација кључна.

Као последица хроничне инфламације, јавља се појачана бронхоконстрикторна реакција дисајних путева на многе егзогене и ендogene чиниоце. Односно, дешава се бронхијална хиперреактивност (БХР) која представља појачан одговор дисајних путева на разне стимулусе.(75) БХР је углавном променљива и може се поделити на две компоненте: **сталну** и **варијабилну**, што указује да на њу утичу различити узрочни фактори. Према овој подели, **стална БХР** је последица структуралних променама у дисајним путевима које обухватају субендотелна задебљања, задебљања базалне мембране и хипертрофију глатких мишића, као и промене на крвним судовима. Ове промене се често виђају и на хистолошким препаратима дисајних путева астматичара приказујући измењену архитектуру дисајних путева. Настале промене олакшавају бронхоспазам који покрећу бронхоконстрикторни окидачи. Друга компонента, **варијабилна БХР** је променљивог карактера, зависна је од инфламаторних процеса, чији се интензитет мења током варијабилног тока астме и под утицајем је бројних фактора као што су алергени и респираторне инфекције.(76) Строга подела на поменуте компоненте ипак није могућа, јер је вероватније да су ови процеси међусобно зависни. Рецимо, ако је инфламација дуготрајна, она може довести до ћелијских промена који проузрокују трајну БХР. И сам интензитет БХР је последица заједничког деловања више процеса у дисајним путевима односно скуп њихових појединачних ефеката а не изолованог утицаја.

Поред наведеног, важно је указати да се БХР зависно од механизма дејства стимулуса, може поделити на **директну** и **индиректну**. Притом, неки од стимулуса више делују на трајну, а други на варијабилну компоненту. Тако рецимо, хистамин својим директним дејством подражава и појачава ефекат сталне БХР. Међутим хистамин остварује ефекат и на рефлексне механизме бронхоконстрикције и доприноси испољавању ефекта индиректних стимулуса на дисајне путеве. Овај ефекат хистамина није довољно јасан, нити детаљно испитан. Могуће је да он зависи и од већ постојеће инфламације или других бронхоконстрикторних стимулуса.(75,76)

Процес БХР у астми представља фазу у развоју комплексних патофизиолошких механизма који се одвијају кроз инфламацију, хиперреактивност, бронхоопструкцију и ремоделовање. Стално присутну хиперреактивност покрећу разни стимулуси делујући директно или индиректно на бронхоконстрикторне рецепторе. Хистамин или метахолин, директно делују на М3 рецепторе у глатким мишићима дисајних путева, доводећи до контракције и бронхоконстрикције. Индиректни стимулуси, где спадају физички напор, хипервентилације, хипертони раствор, узрокују ослобађање медијатора (простагландини, леукотриени и хистамин), који делују на рецепторе у глатким мишићима дисајних путева, доводећи до истог ефекта - бронхоспазма.(77) Инфламација је, дакле, одговорна за удружено присуство хиперреактивности, односно појачаног одговора дисајних путева на дејство стимулуса и хиперсензитивности која подразумева појачан одговор на мању концентрацију стимулуса.(9) Иако запаљење проузрокује хиперреактивност дисајних путева, повезаност упале дисајних путева и хиперреактивности је можда пренаглашена, што је заслуга имунолога и алерголога, односно њиховог утицаја на правце истраживања у бронхијалној астми.(73) Пренаглашеност значаја инфламације за хиперреактивност дисајних путева поткрепљују чињенице да није забележен повећан ризик за настанак астме код пацијената са хиперезинофилним синдромом. Такође, постоје неастматичари са атопијском конституцијом и еозинофилијом у дисајним путевима испољеном након излања алергенима који нису имали астматичне симптоме. Напротив, многи астматичари имали су истоветан ниво еозинофила у дисајним путевима као и неастматичари(78).

Више информација у циљу разјашњења евентуалних неслагања, пружају резултати новијих истраживања. У последње време, све више се сазнаје о улози интерлеукина у бронхијалној астми. Тако је доказано да интерлеукини IL5 индукују појачано стварање еозинофила у дисајним путевима астматичара. Осим IL5, IL4 и IL13 играју важну улогу у инфламацији која се дешава у бронхијалној астми.

Циљана терапија против IL5, IL4, IL13 и рекомбинантним IL12, који значајно утичу на циркулишуће еозинофиле и еозинофиле у дисајним путевима индуковане алергенима имала је мали или никакав утицај на реактивност дисајних путева. Њиховом применом нису добијени убедљивији резултати у смислу смањења реактивности и олакшања тегоба иако се у почетку то очекивало.(72).

Нажалост, ни други препарати као што су кортикостероиди нису показали много већи утицај на БХР, иако снажније утичу на инхибицију еозинофила у дисајним путевима(79).

Поред инфламације, на БХР значајно утиче и холинергичка активност. Антихолинергици значајније смањују хиперреактивност дисајних путева, јер смањују ефекат простагландина, хистамина и брадикинина. Поред тога, антихилонергици су показали ефикасност и у смањењу хиперреактивности дисајних путева која је изазвана ванплућним узроцима као што је случај код постојања ГЕРБ-а и алергијског ринитиса. Сличну ефикасност антихолинергици су показали и код пацијентата са инфекцијом дисајних путева. Све ове чињенице говоре да је поред инфекције и инфламације, холинергички ефекат аутономног нервног система веома важан и у настанку БХР.(80)

Брз бронхоконстрикторни ефекат и поновна бронходилатација изазвана бронходилататорима, указује да глатки мишићи дисајних путева овде играју важну улогу. Потврда ове претпоставке лежи у чињеници да је уочена повећана дебљина глатких мишића у дисајним путевима код деце са астмом што такође указује да се поред функцијских, дешавају и структурне промене. Промене у структури дисајних путева подстакнуте инфламацијом и хиперреактивношћу доводе и до оштећења епитела, његовог продуженог опоравка, прекомерне продукције фактора раста и пролиферације фибробласта што заједно представља феномен ремоделовања.(81)

Гледано са патофизиолошког становишта, хиперреактивност је сложен процес удружен са низом имунолошких, неуролошких и структурних промена које доводе до бронхоопструкције која се манифестује карактеристичним знацима и симптомима астматичног напада.

Постојање хиперраактивности дисајних путева може се утврдити и измерити лабораторијским тестовима који подразумевају контролисано излагање директним или индиректним стимулусима. Ти тестови доприносе прецизној дијагнози бронхијалне астме, односно смањују ризик од погрешног дијагностиковања ове болести базираном само на астматичним симптомима.(82,83)

Поред значаја за општу популацију, прецизна диференцијација и дијагноза астме је нарочито важна код одређених професија, као што су ватрогасци, полицајци, војници, спортисти као и друга занимања која захтевају посебну физичку спремност, односно рад у посебним условима.

#### **1.4.4.2. Бронхоопструкција у астми**

Отежан проток ваздуха кроз дисајне путеве који настаје у астматичном нападу је последица променљиве бронхоопструкције. Бронхоопструкција у астми је сложен процес кога чине акутна констрикција мишића, едем зида бронхија, стварања густих слузних чепова и структурне промене у зидовима дисајних путева. Брза и акутна бронхоконстрикција настаје због контракције мишића у дисајним путевима, која се дешава због ослобађања разних медијатора, или надражаја нервних завршетака. Ова компонента бронхоопструкције се углавном може брзо отклонити деловањем  $\beta_2$  агониста.

Едем зида дисајних путева настаје због појачане микроваскуларне пропустљивости што заједно са контракцијом глатких мишића погоршава бронхоопструкцију. Присуство едема компликује и терапијски приступ у отклањању тегоба, јер  $\beta_2$  агонисти тада нису довољни већ је неопходна додатна специфична антиинфламаторна терапија.

Даљем усложњавању бронхоопструкције доприноси, не само појачана секреција слузи, већ и њена повећана вискозност што отежава процес физиолошке дренаже дисајних путева. У тешким формама астматичног напада ова густа слуз ствара чепове који у потпуности затварају периферне дисајне путеве.

Уз претходно присуство контракције глатких мишића и едема зида бронхија, појава густе слузи доприноси већој тежини и упорности опструкције која захтева дужи и интензивнији терапијски третман.

Продуженим дејством бронхоконстрикторних чинилаца и одржавањем инфламације, бронхоопструкција у астми се компликује структурним променама дисајних путева које за последицу имају појаву ремоделовања дисајних путева. Ремоделовање настаје због оштећења епитела, његовог продуженог обнављања, прекомерне продукције фактора раста и пролиферације фибробласта у миофибробласте. Активирани миофибробласти продукују факторе раста, хемокине и цитокине који проузрокују пролиферацију глатких мишића, хиперплазију пехарстих ћелија и субмукозних жлезда. Поред тога, у процесу ремоделовања долази и до миграције, диференцијације и сазревања структурних ћелија што изазива промене у везином ткиву које се испољавају као појачана депозиција колагена и фибронектина.(84)

Ремоделовање дисајних путева је често последица неадекватног лечења или неповољног тока бронхијалне астме, које се у функцијском смилу презентује као иреверзибилна опструкција и трајно повећање отпора у дисајним путевима.(85)

## 1.5 .Фактори ризика за бронхијалну астму

Бронхијална астма је мултифакторијално условљена болест за чији настанак и погоршање је потребно присуство разних чинилаца који се сматрају факторима ризика. Већину фактора ризика чине егзогени агенси који у организам долазе најчешће путем удахнутог ваздуха, док ендогени фактори представљају урођену склоност за бронхијалну астму.

Најпознатији фактори ризика су атопија, инхалациони алергени, респираторне инфекције, физичко напрезање, одређени лекови и разна аерозагађења.(46) Зависно од тога да ли остварују свој утицај на настанак или погоршање астме, ови фактори се могу поделити на **факторе ризика за настанак астме** и **факторе ризика за погоршање постојеће болести**.

За настанак бронхијалне астме одговорни су бројни фактори ризика који делују појединачно, или још чешће удружено. Сви они, могу се разврстати на три велике групе: **предиспонирајуће, узрочне и доприносеће.**

Што се тиче њиховог порекла, најчешће се ради о комбинацији наследних и фактора околине који представљају **предиспозицију-склоност за астму**, делују као **узрок почетка астме** или доприносе да **ризик од развоја астме** у присуству узрочних фактора буде већи.(86)

### **1.5.1. Предиспонирајући фактори**

Предиспозицију или склоност за настанак бронхијалне астме чине конституционални или наследни фактори који уз садејство других фактора ризика стварају услове за настанак ове болести. Најзначајнији предиспонирајући фактори за настанак астме су: генетски, атопијска конституција и пол.

#### Генетски фактори

Комплексност бронхијалне астме се огледа не само у погледу патофизиолошких механизма настанка и испољавања ове болести, већ и у вези са утицајем генетских фактора. Иако наследни фактори значајно утичу на настанак бронхијалне астме, још увек није прецизно изолован ниједан ген одговоран за ову болест, нити је тачно разјашњен модел њеног наслеђивања. Оваква ситуација је у складу са чињеницама да астма не следи класичне моделе наслеђивања и да се ради о комплексној, генотипски и фенотипски хетерогеној болести. Генотипска хетерогеност се огледа у у постојању вишеструких, мултиплих локуса на хронозомима 5q, 6, 11q, 12q, 13, 14q који садрже гене „вероватно“ одговорне за склоност ка настанку астме.(87) Фенотипска хетерогеност се испољава кроз чињеницу да астма може настати у различитим животним добима, различитог је степена тежине и прогнозе, различито је зависна од атопије и на крају крајева има различит одговор на примењену терапију.(88)



Без обзира што за бронхијалну астму не постоје егзактне чињенице везане за наслеђивање, неке патофизиолошке промене присутне у овој болести имају јаснију генетску основу. До сада позната истраживања су показала да је генетска детерминација нарочито значајна за два догађаја у бронхијалној астми: бронхијалну хиперреактивност и склоност ка појачаном стварању IgE. Ове две значајне карактеристике бронхијалне астме су јасно повезане са кододоминантним типом наслеђивања.(89)

#### Атопијска конституција – атопија

Овај термин први пут су употребили 1923 .г. Соса и Сооке приликом описа ране реакције преосетљивости која је имала тенденцију наслеђивања.(90) То је уствари склоност организма да у контакту са алергенима одреагује повећаним стварањем имуглобулина Е (IgE). Атопија предстаља предиспонирајући фактор за бронхијалну астму јер је доказано да се преваленца бронхијалне астме повећава са порастом концентрације IgE у серуму. Међутим, ову чињеницу треба схватити само као фактор ризика, јер неке особе имају атопијску конституцију, а немају астму.(9)

Са друге стране, не мали број болесника са бронхијалном астмом нема атопијску конституцију. Поред тога, доказано је да се атопијска конституција чешће јавља у одређеним породицама, што указује на њену генетску основу. Тако је забележено да је ризик за наредно дете, од истих родитеља, да испољи алергијску астму у породици у којој претходно дете болује од ове болести износио око 25%. Деца са атопијском конституцијом знатно чешће обољевају од бронхијалне астме уколико и њихови родитељи имају ову конституцију и бронхијалну астму. Повећана учесталост појаве астме код те деце је била и до 20 пута већа од деце без атопије.(9,91) Атопијска конституција не утиче само на испољавање бронхијалне астме, већ и на нека њена патофизиолошка обележја. Доказано је да су атопијска конституција и бронхијална хиперреактивност јасно повезане карактеристике ове болести јер многа истраживања указују да су учесталост и степен БХР повезани са степеном атопије.

У једној Аустралијској студији, деца која су била алергична на дерматофаг и полене имала су висок ризик за постојање БХР. У том истраживању спроведеном над 527-оро испитаника старости 7 до 16 година, БХР на хистамин је показала јасну везу са атопијским индексом који је представљао величину промене на кожи на месту апликације алергена.(92)

И одрасле особа показују сличну повезаност између атопије и БХР, јер атопичари имају већу БХР од неатопичара са тенденцијом да БХР расте са порастом броја позитивних кожних проба. Резултати неких истраживања потврђују да је БХР условљена не само општим атопијским статусом већ и сензибилизацијом на одређене алергене. Забележено је да је преваленца БХР повећана код особа сензибилисаних на кућну прашину и животињску длаку (мачке).(93) Ти резултати су указали да повезаност између атопије и БХР може бити алерген специфична, али и да су специфични алергени често укрштени што у многоме зависи од географског подручја и климатских прилика у датој средини. Механизам на који атопија остварује утицај на БХР је такође инфламаторне природе, што се уклапа у главне патогенетске механизме бронхијалне астме. Атопија подстиче хиперреактивност дисајних путева на тај начин што индукује и поспешује инфламацију у дисајним путевима повећавајући тако степен БХР. Другим истраживањима је доказано да је БХР на метахолин повезана са нивоом IgE у серуму, како код особа са ринитисом и астмом тако и код особа без симптома.(94) Такође, познато је да се преваленца астме повећава са порастом концентрације IgE у серуму и позитивним кожним тестовима на инхалационе алергене.(95, 96)

Иако су јасно доказане и нису спорне, ове чињенице о утицају атопије свакако нису довољне за дијагнозу бронхијалне астме јер атопија само представља повећан ризик за њен настанак.

Наравно, постоји и значајан број болесника са астмом који немају атопијску конституцију. Поред атопијске конституције, претпоставка је да и пол представља извесну предиспозицију.

## Пол

Познато је да је астма у раном детињству чешћа код дечака. То се донекле објашњава хипотезом о ужим дисајним путевима дечака због чега они бивају склонији сужавању у контактау са окидачима. Међутим, нека друга истраживања указују да женски пол представља мањи ризик за појаву астме пре 15. године живота, али је зато већи ризик за настанак астме после 40. године. Разлози за овакаву појаву вероватно леже не само у анатомским разликама, већ и у утицају полних хормона. Улога пола као фактора ризика за астму још увек није потпуно истражена, нити јасно доказана.(97)

### **1.5.2. Узрочни фактори ризика**

Ови фактори делују на тај начин што изазивају почетак астме сензибилизацијом дисајних путева особа са атопијском конституцијом. Овако настала сензибилизација ће допринети да се астма развије и у случају да је у датом тренутку присутна врло ниска концентрација датог алергена. Када се говори о алергенима и бронхијалној астми, пре свега се мисли на инхалационе алергене, а знатно ређе на друге. Инхалациони алергени се могу поделити на алергене у затвореном простору, алергене на отвореном простору и алергене у радној средини.(98)

#### Алергени из затвореног простора

Представници ове групе алергена су састојци кућне прашине која садржи разне органске и неорганске супстанце. Ту се најчешће налазе, гриње, споре разних гљива и њихови производи, инсекти и њихови производи као и длаке домаћих животиња и кућних љубимаца.

Прве претпоставке о повезаност астме, односно њеног погоршања са инхалационим алергенима проистекле су из епидемиолошких истраживања која су показала да напади астме имају сезонски карактер да су повезани са боравком у одређеној средини и да су узроковани погоршањем временских услова.(99) Најраспорстрањенији алергени из затвореног простора су: кућна прашина, гриње, алергени домаћих животиња, разне споре гљива, буђи и квасца. Ипак, најчешћи узрочници алергијске сензибилизације из ове групе су гриње из рода *Ryoglyphidae-Dermatophagoides pteronyssinus*, *Trouessart* i *Dermatophagoides farinae* Hughes. Остале гриње имају мањи општи значај због њихове ограничене распрострањености везане за поједина географска подручја. Важно је истаћи да на бројност гриња велики утицај има влажност ваздуха. Повећана влажност доприноси лакшем разношењу и ширењу гриња у животном простору. Најбоље услове за развој гриња управо представљају микроклиматски услови у животном простору са температуром од 20 до 25 степени целзијуса и влажности ваздуха око 50%. Антигена својства гриња налазе се у различитим врстама протеина – њихових продуката који код преосетљивих особа подстичу алергијску реакцију посредовану антителима. У срединама које се карактеришу скромнијим животним условима чешће се среће сензибилизација на бубашвабе него на гриње.(100)

Алергени гљива су такође присутни у затвореним просторима. Најчешће се налазе споре разних гљива, буђи и квасница које такође представљају важан састојак кућне прашине. На нашим просторима, најприсутније су гљиве из рода *Aspergillus*, *Candida* и *Cladosporium*, док се у другим срединама срећу и друге врсте, што зависи од географског подручја. Заједничко за све гљиве је да њихов оптимални раст захтева, мрачне, влажне и слабо проветраване просторе.(100)

#### Алергени са отвореног простора:

Алергени са отвореног простора су такође из групе инхалационих алергена. Међу њима су свакако најзначајнији полени трава, корова и дрвећа. Утицај полена је веома зависан од климатских и географских карактеристика подручја.

Присуство полена у нашој средини има своје специфичности које су условљене сезонским карактером. Почетком пролећа, најпре се јављају полени дрвећа, током лета доминантни су полени трава, да би се сезона полена наставила у јесен појачаним присуством полена корова. Овакаво наизменично присуство полена представља додатно оптерећење за сензибилисане особе, јер се већим делом године од најмање 6 до 8 месеци налазе под утицајем поменутих алергена. Концентрацију инхалационих алергена значајно повећавају климатски услови као што је повећана влажност ваздуха и кишни периоди. Поред полена, међу инхалационим алергенима са отвореног простора се налазе и разне гљиве и квасци које у нашој средини, слично као и код полена, имају сезонски утицај. Уз полене, носиоци алергогених особина су и разне споре чија је концентрација у ваздуху значајно повећава од пролећа до јесени са максималном концентрацијом у касним летњим месецима и почетком јесени ( јул, август, септембар). У областима где су гриње слабије заступљене, доминирају алергени пореклом од домаћих љубимаца који су врло чести окидачи астматичног напада.(101)

Присуство, односно изложеност наведеним алергенима у животној средини поред тога што представља ризик за појаву и погоршање бронхијалне астме, може у одређеној мери и у датом тренутку имати и заштитни ефекат. Тако је забележено да су деца која су у раном детињству долазила у додир са инхалационим алергенима, касније, у одраслом добу, ређе оболевала од бронхијалне астме. Претпоставка је да је рано излагање алергенима довело до промена у имунолошком систему, што је резултирало смањеном осетљивошћу на дате алергене.(102)

Слично инхалационим алергенима, разна органска и неорганска хемијска једињења у радној средини такође представљају окидаче за бронхијалну астму. Ови алергени и иританси се удишу у облику пара, прашина, димова или гасова. Истраживања су показала да је излагање овим материјама јасно повезано са погоршањем бронхијалне астме.(103) Инхалациони алергени престављају посебно значајан узрочни фактор за бронхијалну астму, јер сензибилишу дисајне путеве код особа са атопијском конституцијом стварајући тако услове за астматични напад.

Они то чине стимулацијом специфичних Т лимфоцита и стварањем специфичних имуноглобулина класе IgE. На овај начин, особа бива сензибилисана на одређени алерген, што у поновном контакту са њим доводи до развоја алергијске инфламације и егзацербације астме, чак и када је алерген присутан у веома малим количинама. (104,105) Сензибилизација на инхалационе алергене се релативно лако утврђује алерголошким кожным тестирањем. Алерголошка кожна тестирања изводе се још од друге половине 19-ог века. Тачније, Blackley је 1873. године први објавио резултате кожног тестирања које је извео на себи. Он је на делу своје коже претходно начинио абразивно оштећење, а затим додао полен траве. Након краћег времена, уочио је појаву отока и еритема на месту апликације алергена. (106)

Кожни (prick) уводни тест је први пут уведен као стандардна метода 1920. године од стране Lewis-а и Grant-а да би се уз мање модификације задржао до данашњег дана као широко примењивана дијагностичка метода. (107) Овим тестом се изазива брза – рана хиперсензитивна реакција коже код особа са атопијском конституцијом, јер је убодом ланцете кроз stratum corneum омогућен брз контакт алергена са епидермисом коже. Као последица присуства раствора алергена долази до реакције антигена и антитела (IgE) и ослобађања медијатора из мастоцита што се на кожи презентује еритемом и отоком као видљивом и мерљивом реакцијом (108,109).

Прик -кожни тест се сматра основним за поврду алергијске реакције посредоване ИгЕ антителима. Тестирање је минимално инвазивно, омогућава испитивање са више алергена у истом тренутку, резултати се добијају релативно брзо, за 15-20 минута, а добијена реакција је резултат директног контакта са стварним алергенима. (110,111) Управо овакав директан контакт са алергенима је главна карактеристика која даје предност прик кожном тесту у односу на друге ин витро тестове, као што је одређивање специфичних IgE усеруму.

Информација о сензибилисаности коју добијамо *in vitro* тестовима често није у складу са клиничким манифестацијама због чега те резултате морамо тумачити у светлу осталих клиничких чињеница. (108).

Због наведених предности, овај метод кожног тестирања је данас широко прихваћен као безбедан, сигуран, поуздан и јефтин тест и представља најшире примењиван скрининг и дијагностички метод у модерној алерголошкој пракси. Због тога се овај тест данас сматра „златним стандардом” у дијагностиковању атопијске конституције.(112,113)

Поред интракутаних проба на алергене, одређивање укупних IgE у серуму је такође поуздана, брза и релативно једноставна метода за скрининг атопијског статуса.(9) Специфични IgE се такође могу користити као показатељи степена атопије, јер доприносе укупном нивоу IgE. Међутим, због географске варијације алергена они имају извесна ограничења у процени општег атопијског стања. Ипак, резултати неких новијих истраживања говоре у прилог значаја специфичних IgE не само за процену атопије већ и стања болести са атопијском основом. Тако је доказано да пораст нивоа специфичних IgE на грињу и полен трава код астматичара са атопијом може бити показатељ погоршања бронхијалне астме.(114)

### Лекови као фактори ризика

Осим инхалационих алергена, одрђени лекови такође могу представљати узрочне факторе за бронхијалну астму. Овде се, пре свега, мисли на лекове из групе салицилата као и друге нестероидне антиинфламаторне лекове који код неких одраслих особа, могу проузроковати настанак астме или изазвати астматични напад код већ постојеће болести.(115)

### **1.5.3. Доприносећи фактори ризика за астму**

Доприносећи фактори повећавају ризик од настанка астме код особа које имају предиспозицију за развој ове болести.

Својим изолованим дејством, они не би могли да изазову астму, јер се њихова улога огледа у стварању услова да се постојећа склоност испољи у болест.

Најзначајнији доприносећи фактори су: пушење-дим цигарета, разни респираторни иританси, као и други фактори чија улога није поуздано доказана. Дим цигарета спада у супстанцу која најчешће надражује дисајне путеве људи у затвореном простору. Дувански дим садржи мешавину гасова, пара и честица међу којима су најзначајнији полициклични угљоводоници, угљен моноксид, угљен диоксид, азотни оксиди и никотин. Ови састојци дуванског дима могу допринети како настанку бронхијалне астме, тако и егзацербацији болести, и то не само код пушача, већ и код особа које су пасивно изложене дуванском диму. У том смислу, забележена је већа учесталост астме код деце чији су родитељи пушачи и чије су мајке пушиле у трудноћи и током првих година живота детета.(116)

Респираторне иритансе или загађиваче ваздуха чине разне материје, које се заједничким именом зову аерозагађење. Број и разноврсност ових материја зависи од радне и животне средине и генерално се могу поделити на иритансе у затвореном, иритансе на отвореном простору и иритансе на радном месту. Они спадају у неспецифичне бронхконстрикторе, јер својим дејством надражују сензорне рецепторе у дисајним путевима свих особа. Међутим, код оболелих од астме, због њихове сензибилизације, потребна је знатно нижа концентрација у ваздуху да би се изазвао штетан ефекат.(117)

Поред наведених, постоје и други доприносећи фактори за астму, као што је мала тежина на рођењу са придруженом диспропорцијом фетуса (велика глава-мали труп), ране респираторне вирусне и бактеријске инфекције и начин исхране. Осим респираторних инфекција, улога и значај ових фактора у настанку и егзацербацији астме није довољно истражена.

Новија истраживања говоре о значајном утицају неких витамина, посебно витамина D и C на ток бронхијалне астме. Забележен је повољном утицају додавања витамина D у исхрани, јер се показало да доприноси бољој контроли астме. Овај ефекат витамин D остварује путем инхибиције проинфламаторних цитокина и стимулацијом антиинфламаторних процеса у плућима.(118)



Витамин С је такође показао делотворност код деце оболеле од астме. Доказано је да су деца којој је додаван витамин С у исхрани имала боље резултате у тестовима контроле астме и мањи пад FEV<sub>1</sub>.(119) Резултати ових истраживања указују на нове патофизиолошке аспекте и терапијске приступе у бронхијалној астми који ће вероватно допринети њеном бољем разумевању.

#### **1.5.4. Фактори ризика за погоршање астме**

Обзиром да без присуства окидача практично нема астматичног напада, разумљив је велики значај који се придаје њиховој улози у астми. Из ове чињенице је проистекло формирање фенотипова бронхијалне астме који су дефинисани окидачима. Према томе и са аспекта окидача, најраспрострањенија су два главна фенотипа: **алергијска** и **неалергијска** **астма** са подфенотиповима астме изазване лековима, астме на напор и инфекцијама изазване астме.(48)

Ови фактори су познати и као фактори егзацербације астме, провокативни фактори или окидачи астме. Они изазивају егзацербацију болести тако што подстичу инфламацију у дисајним путевима,проузрокују акутну бронхоконстрикцију или чак делују на оба ова начина.

Најчешћи фактори ризика за погоршање астме су: алергени, респираторне инфекције, физички напор - хипервентилација, емоциолани стресови и респираторни иританси. Већина њих на индиректан начин активира бронхоконстрикторне рецепторе у дисајним путевима доводећи тако до бронхоспазма.(120)

### ***Физички напор као окидач погоршања бронхијалне астме***

Краткотрајан физички напор или хипервентилација окида-покреће бронхоопструкцију која траје 30 до 90 минута и пролази спонтано или на примену бронходилататора.(120) Физички напор је најчешћи специфичан покретач краткотрајних епизода бронхоспазма код особа са бронхијалном астмом. Значајно ређе се дешава код оболелих од других болести дисајних органа као што су хронични бронхитис, бронхиектазије или цистична фиброза. Преваленца напором изазваног бронхоспазма (НИБ) код астматичара је велика и креће се од 40 - 90%.(39) Напор и пратећа хипервентилације изазивају интензивну ћелијску инфламацију у слузокожи дисајних путева што се манифестује повећаним присуством проинфламаторних медијатора превасходно леукотриена. У погледу ћелијског састава, истраживања су показала да је код НИБ-а најчешће повећан ниво еозинофила и мастоцита, а степен еозинофилије у спутуму је биоудружен са тежином НИБ-а. Што се тиче осталих медијатора, регистрован је пораст концентрације цистеинил леукотриена (Cys LT s C4, D4, E4) и еозинофилног катјонског протеина( ECP). (120) Неки специфични медијатори показују снижен ниво код астматичара са НИБ-ом, што лежи у основи патофизиолошких дешавања овог феномена. Тако је забележено да пацијенти са НИБ-ом везаног за астму у односу на астматичаре без НИБ-а показују снижен ниво протективног еикосаноид липоксина A4 и простагландина E2(PGE2). Са друге стране, код астматичара са НИБ-ом повишен је ниво 8-изопростана, неензимског продукта фосфолипидне оксидације, у издахнутом кондензату који корелира са тежином НИБ-а.(121) И ниво FeNO (азот-мооксида) у издахнутон ваздуху код астматичара показује одређене карактеристике. У порасту је код НИБ-а док је снижен код особа само са атопијском конституцијом без НИБ-а.(122) Наведени медијатори се вероватно ослобађају из мастоцита и еозинофила јер је поуздано доказано да су они повишени код астматичара са НИБ-ом.

Ове чињенице указују да је и код НИБ-а инфламација доминантна промена у дисајним путевима. Међутим, о патогенези НИБ-а још увек постоје подељена мишљења. Док једни сматрају да НИБ има неинфламаторну основу, друга истраживања говоре да је у појави НИБ-а инфламација главни патофизиолошки процес који је условљен ослобађањем медијатора. Ту се пре свега мисли на еикосаноиде ослобођене из епителијалних ћелија, мастоцита и еозинофила. У складу са подељеним ставовима, подељена је и улога међу инфламаторним ћелијама. Запажено је да је код здравих спортиста са НИБ-ом присутна доминантно неутрофилна инфламација док пацијенти са бронхијалном астмом имају доминацију еозинофила у спутуму. Ове чињенице су потврђене су и у истраживању Han Ki Park-а чиме је дат већи значај инфламацији у настанку НИБ.(114) Anderson S и сарадници сматрају да је НИБ један од најранијих и најупорнијих, знакова хроничне астме и симптом који последњи нестаје током антиинфламаторне терапије. Ово такође потврђује чињеницу о комплексној природи НИБ-а. Главно питање и истраживању НИБ-а је разјаснити природу доминантног - главног патофизиолошког механизма његовог настанка. Током физичког вежбања, топлота и вода се ослобађају из дисајних путева до постизања равнотеже између удахнутог ваздуха и ваздуха у доњим дисајним путевима. Ово доводи до промене у осмоларности и температури на површини дисајних путева што директно активира инфламаторне ћелије као што су мастоцити. У вези са овом чињеницом постоје две теорије, **топлотна** и **осмотска** које објашњавају главне патофизиолошке механизме у настанку бронхоспазма нанапор.(120)

Детаљнијом анализом издахнутог кондензата утврђено је да је ниво Цис-леукотриена висок код астматичара са НИБ-ом, да расте након вежбања и да је промена у њиховом нивоу повезана са тежином НИБ-одговора. Пошто су главни извори већине еикосаноида еозинофили и мастоцити, код појаве НИБ-а је повећана продукција и других медијатора које они стварају као што је еозинофилни катјонски протеин.(120)

Поред наведених ћелија, важну улогу у настанку НИБ-а имају и епителијалне ћелије које ослобађају еикосаноид-15 липооксигеназу која је такође повишена у НИБ-у. За разлику од претходног, неки продукти епителних ћелија имају и протективни ефекат у односу на НИБ. Оне су такође извор и простагландина - PGE2 који делује инхибиторно на НИБ смањујући промене које настају при физичком напрезању. Повећан однос леукотриена у односу на PGE2 код астматичара током вежбања је вероватно важан разлог појаве НИБ-а. Код здравих особа дешава се супротно јер је забележен повишен ниво PGE2. Зависно од тога који медијатори однесу превагу појављује се или изостаје НИБ. Епителијалне ћелије путем поменутих медијатора настоје да одрже равнотежу између бронхоконстрикторних и бронходилататорних чинилаца. (123)

Постојање бронхоспазма на напор се у лабораторијским условима може утврдити тестом физичког оптерећења који представља један од првих стандардизованих тестова за испитивање индиректне реактивности. Поред дијагностичког значаја, овако добијени резултати су значајан показатељ тежине и контроле астме, односно ефикасности лечења.(124,125)

## **2. ЦИЉЕВИ И ХИПОТЕЗЕ РАДА**

## **2.1. Главни циљеви рада**

1. Утврдити значај појављивања астме у раном детињству у испољавању бронхоспазма на напор.
2. Испитати значај наслеђа за појаву бронхоспазма на напор код астматичара.
3. Испитати да ли има значајне разлике у концентрацијама инхалираног хистамина код астматичара са позитивним хистаминским тестом и негативним тестом оптерећења у односу на пацијенте са позитивним и хистаминским тестом и тестом оптерећења.
4. Одредити корелацију између дозе хистамина која изазива реактивност дисајних путева и теста оптерећења.
5. Утврдити корелацију између атопијске конституције и бронхоспазма на напор код пацијената са бронхијалном астмом.

## **2.2. Радне хипотезе испитивања**

1. Појава астме у раном детињству представља предиспонирајући фактор за испољавање бронхоспазма на напор код астматичара.
2. Породично оптерећење за бронхијалну астму, односно наследни фактор, је значајан у испољавању бронхоспазма на напор код астматичара.
3. Постоји корелација између дозе хистамина која изазива хиперреактивност дисајних путева и броноспазма изазваног напором.
4. Интензитет атопијске конституције и неспецифичне хиперреактивности дисајних путева утиче на појаву бронхоспазма изазваног напором код пацијената са бронхијалном астмом.

### **3. МАТЕРИЈАЛ и МЕТОД**

### **3.1. Врста студије**

Истраживање је спроведено као клиничка, опсервациона, проспективна студија пресека.

### **3.2. Популација која се истражује:**

У истраживање је било укључено 162 мушкарца, астматичара у доби од 18 - 30 година живота, са дијагнозом лаке, контролисане болести (податак о дијагнози из историје болести) који су током једногодишњег периода испитивани у Кабинету за Функционалну дијагностику плућа - ВМА.

Дијагноза контролисаног облика астме је постављена на основу следећих критеријума:

1. да испитаници током седам дана, имају мање од два дневна напада бронхијалне астме
2. да су без ноћних симптома астме
3. да потреба за брзоделујућим бронходилататорима није већа од два пута седмично.
4. да имају нормалну плућну функцију, односно да параметри - максимални експиријумски проток (PEF) или форсирани експиријумски волумен у првој секунди (FEV1) буду у границама нормале односно најмање 80% од задатих норми.



### **3.3. Критеријуми за укључивање у студију:**

1. испитаници животне доби од 18 до 30 година који имају лаку - контролисану бронхијалну астму.
2. испитаници који имају позитиван бронхопровокацијски тест са хистамином и атопијску конституцију.
3. испитаници који су у терапији користили фиксне дозе инхалационог стероида и бронходилататора у максималној дневној дози до 1000мг мереној према дози стероида или само инхалационе стероиде у максималној дневној дози до 800мг
4. испитаници који користе брзоделујуће бронходилататоре, најмање 12 сати пре испитивања треба да обуставе узимање лека.
5. испитаници који користе фиксне дозе инхалационих стероида и бронходилататора или инхалационе стероиде као и остале антиинфламаторне, антиалергијске лекове морају обуставити њихово узимање најмање 72 сата пре почетка испитивања.

### **3.4. Критеријуми за иницијално искључивање из студије:**

1. испитаници са неуромишићним и остеоскелетним поремећајима и деформитетима који лимитирају вентилацију и функцију локомоторног система.
2. испитаници са раније дијагностикованим следећим обољењима: инсуфицијенција срца, инсуфицијенција бубрега, цироза јетре, дијабетес мелитус, неоплазме, обездитас.
3. испитаници који се налазе на дуготрајној антиалергијској (десензибилизацији) или имуносупресивној терапији.

### **3.5. Узорковање:**

Узорковање за испитивану групу је обављено по принципу „згодног“ узорка - уз задовољење критеријума за укључење у студију. Сви испитаници (162) су подељени у две експерименталне групе. Једну групу су чинили испитаници са позитивним хистаминским тестом, атопијском конституцијом и негативним тестом оптерећења, а другу групу испитаници са позитивним хистаминским тестом, атопијском конституцијом и позитивним тестом оптерећења.

### **3.6. Варијабле које се мере у студији:**

Пре почетка испитивања свим испитаницима је узиман узорак крви ради одређивања концентрације укупних, неспецифичних IgE у серуму. Укупни IgE је одређиван методом имунонефелометрије на апарату нефелометру тип BN II марке Siemens. За горњу границу нормалних вредности сматрали смо ниво IgE до 100 U/L. Такође, свим испитаницима је иницијално урађена спирометрија на бодиплетизмографу са спирометром марке JAEGGER. (слика 2)

**Слика 2.** Бодиплетизмограф са спирометром



По добијању нормалних спирометријских налаза, испитаницима је рађен бронхопровокацијски тест са хистамином, инхалацијом растућих концентрација хистамина преко компресорског инхалатора у трајању од пет удаха .

Тестирање је започињано са концентрацијом хистамина од 0.03mg/ml. Свака следећа концентрација је била дупло већа од претходне према следећој шеми:

I концентрација - 0,03mg/ml, II концентрација - 0,06mg/ml, III концентрација - 0,12 mg/ml, IV концентрација - 0,25mg/ml, V концентрација - 0,5 mg/ml,

VI концентрација - 1,0mg/ml, VII концентрација - 2,0 mg/ml, VIII концентрација - 4,0 mg/ml. Тест је завршаван са концентрацијом од 4,0mg/ml. (слика 3)

**Слика 3.** Материјал и апаратура за извођење бронхопровокацијског теста



Након сваке дозе - концентрације, рађена је контролна спирометрија ради мерења форсираног експиријумског волумена у првој секунди (FEV1) односно праћења одговора дисајних путева. Тест је сматран позитивним, уколико би након инхалације одређене дозе хистамина дошло до пада FEV1 за најмање 20% од почетних вредности. По добијању наведеног снижења FEV1 тест је прекидан а кумулативна концентрација хистамина при којој се снижење десило евидентирана.

Кожне пробе са инхалационим алергенима извођене су интракутанним тестирањем. На воларној страни подлактице, prick-методом, испитивана је кожна реакција на инхалационе алергене панелом алергена произвођача Торлак из Београда. Панел су чинили следећи алергени: буђ, бактерије, аспергилус, фумигатус, кућна прашина, дерматофагоидес, птеронисимус, животињска длака, полени трава, корова, дрвећа, дуван. (слика 4)

Слика 4. Инхалациони алергени и материјал потребан за кожне проне



Као контроле коришћени су: хистамин као позитивна и физиолошки раствор (NaCl-a) као негативна контрола. Позитивним кожним тестом смо сматрали појаву индурације на кожи чији је пречник био најмање за 50% већа од пречника индурације на месту апликације хистамина мерено у милиметрима.(слика 5.)

**Слика 5.** Позитивне кожне пробе на инхалационе алергене



Мерењем величине-пречника промене на кожи, одређивали смо интензитет кожне реакције за сваки од коришћених алергена појединачно. Атопијски скор смо израчунавали као средњу вредност збира свих пречника.

Наредног дана, након добијања нормалног спирометријског налаза, извођен је тест оптерећења на покретној траци у затвореној просторији са константним амбијенталним условима. Током извођења теста, испитаници су имали носник („штипаљку за нос“) како би дисали на уста у циљу појачања ефекта удахнутог ваздуха на дисајне путеве.(слика б)

**Слика 6.** Покретна трака за извођење теста оптерећења



Примењивали смо десетоминутни тест прогресивног оптерећења са константним успоном од 10% на следећи начин: тест је започињан са брзином траке од 3,5 км/х и успоном од 10%, а након сваког минута, повећавана је брзина кретања за 0,5 км/х до постизања субмаксималног оптерећења. Ниво субмаксималног оптерећења је одређиван према срчаној фреквенцији добијеној по формули: 220 - године живота. Под субмаксималним оптерећењем испитаници су проводили најмање 5 минута. Тест је сматран позитивним уколико би у трећем минуту након теста дошло до пада FEV1 за најмање 15% од почетних вредности.

### 3.7. Снага студије и величина узорка

- снага студије 0,8 (80%)
- добијена вредност : sample size group 1 – 81
- добијена вредност : sample size group 2 – 81
- добијена потребна укупна величина узорка: 162

### 3.8. Статистичка обрада података:

Комплетна статистичка анализа података извршена је помоћу комерцијалног статистичког софтвера SPSS Statistics 17. Одређени број варијабли био је регистрован у виду фреквенција појединих обележја (категирија), а статистичка значајност разлика између група проверавана је применом  $\chi^2$  теста.

У случају континуираних варијабли, подаци су приказани као средња вредност  $\pm$  стандардна девијација (SD). Нормалност расподеле података проверавана је уз помоћ Kolmogorov-Smirnov теста. У случају испуњености услова нормалности, статистичка значајност унутар и између група проверавана је применом  $t$  – testa за зависна и независна обележја. У супротном, за процену значајности између група коришћен је Mann-Whitney U test.

За утврђивање сензитивности и специфичности примењених тестова као мере њихове статистичке значајности и дијагностике ефикасности као и утврђивања предиктивне вредности тестова, коришћена је ROC крива и одређивање граничних вредности (cut-off скор) параметара. Корелација мерених параметара вршена је израчунавањем Pearson - овог коефицијента корелације. За процену утицаја више фактора на појаву бронхоспазма на напор спроведена је бинарна логистичка регресија. Статистички значајна разлика процењивана је на минималном нивоу  $p < 0,05$ .



## **4. РЕЗУЛТАТИ**

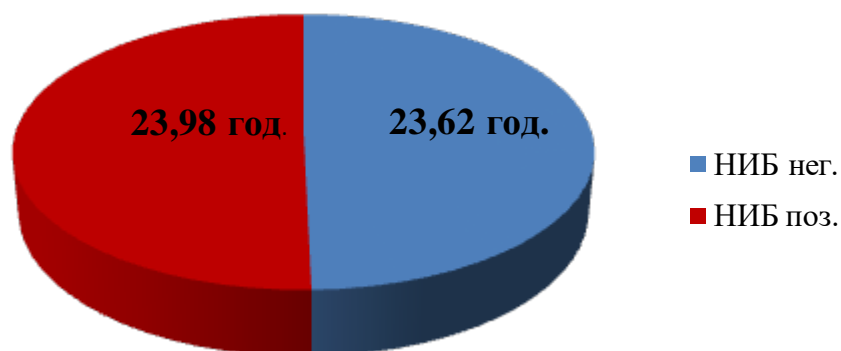
#### 4.1. Опште карактеристике испитаника

У испитивање је било укључено укупно 162 испитаника, мушког пола, са контролисаном бронхијалном астмом који су били подељени у две једнаке експерименталне групе.

##### *Просечна старост – узраст испитаника*

Групу - **НИБ позитивни**, (n=81) су чинили испитаници са позитивним хистаминским бронхопровокацијским тестом, атопијском конституцијом и позитивним тестом оптерећења, а групу – **НИБ негативни**, (n=81) испитаници са позитивним хистаминским тестом, атопијском конституцијом и негативним тестом оптерећења. Најмлађи испитаник је имао 18, а најстарији 30 година. У погледу просечне старости испитаника, није постојала значајна разлика међу испитиваним групама. (график 1).

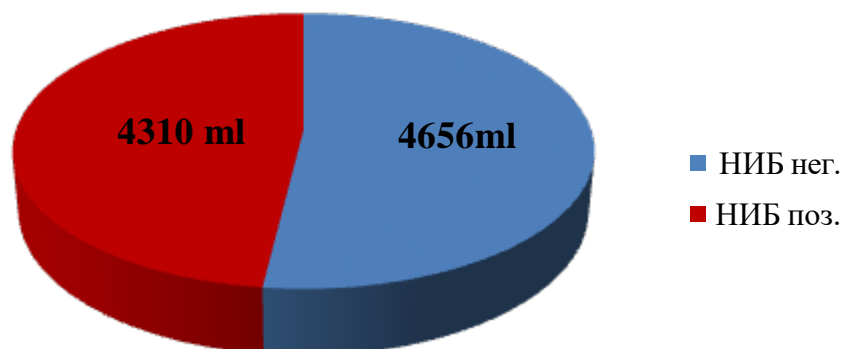
**График 1.** Дистрибуција испитаника према просечној старости



### ***Базалне вредности FEV1***

Међу испитаницима није постојала разлика ни у погледу почетних, односно базалних вредности FEV1 (график 2).

**График 2.** Дистрибуција испитаника према просечној вредности базалног FEV1



Супротно од претходно изнетих података где није постојала значајна разлика међу испитаницима, остали резултати су углавном показали одступања међу двема групама. Тако смо добили статистички значајну разлику у следећим параметрима: животна доб у којој је почела бронхијална астма, претходно постојање алергија, позитивна породична анамнеза за бронхијалну астму, концентрација хистамина која је у хистаминском тесту изазвала снижење FEV1 за најмање 20% од базалне вредности (PC20) као и пад FEV1 након теста оптерећења.

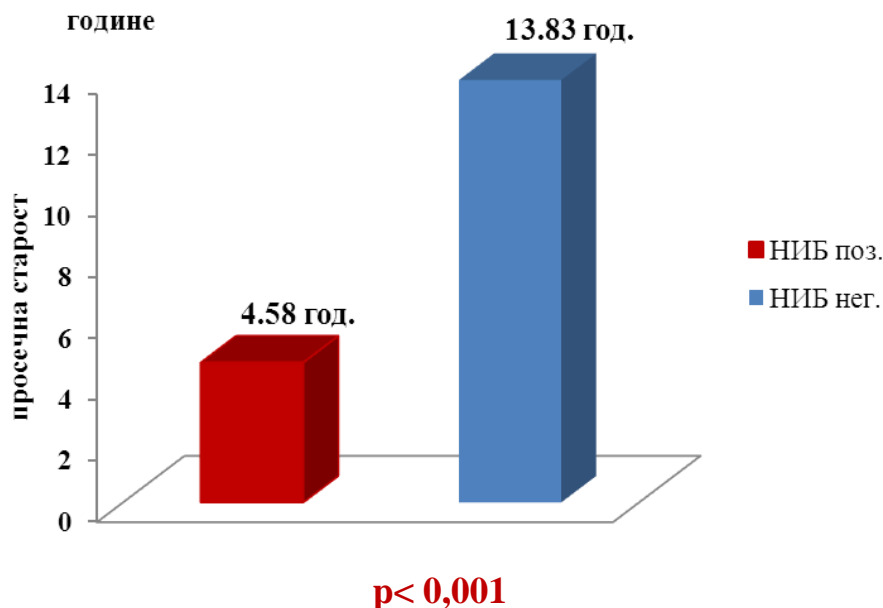
### ***Животна доб – старост у тренутку постављања дијагнозе астме***

Поређењем узраста односно животне доби испитаника у којој им је постављена дијагноза бронхијалне астме, резултати су показали да су испитаници из НИБ – позитивне групе, раније оболевали од бронхијалне астме односно дијагноза астме им је постављена у раном детињству.

Просечна старост испитаника ове групе (НИБ поз.)у тренутку постављања дијагнозе износила је 4,58 година док је код испитаника НИБ-негативне групе она износила 13,84 године.

Утврдили смо статистички високо значајну разлику ( $p < 0,001$ ) између група у односу на старосну доб у тренутку постављања дијагнозе бронхијалне астме. (график 3)

**График 3.** Дистрибуција испитаника према старосној доби у тренутку постављања дијагнозе астме

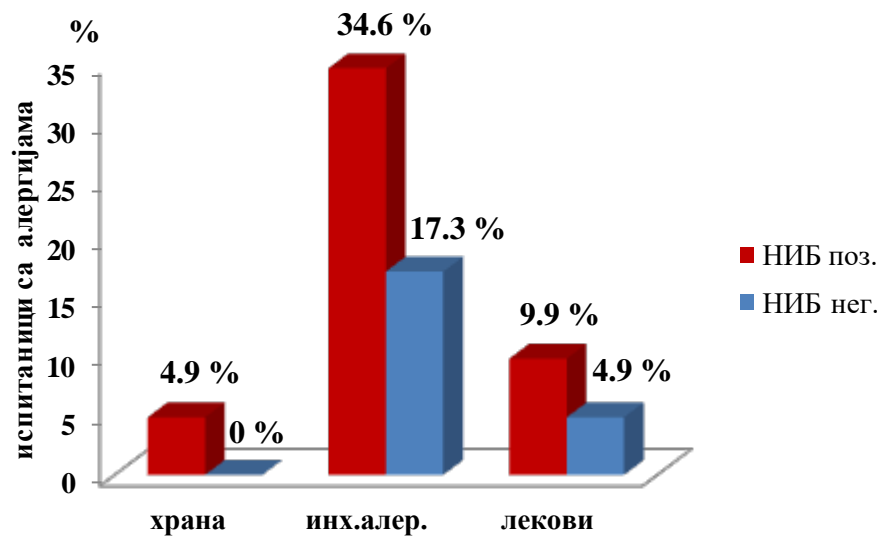


## 4.2. Позитивна лична анамнеза за алергије

Лични анамнестички подаци везани за алергијски статус, указали су нам на разлике међу испитиваним групама. Значајно већи број испитаника из НИБ позитивне групе имао је претходно доказану алергију на храну или лекове. Испитаници из ове групе су у скоро 5% случајева имали алергију на неку врсту хране, а 10% њих је имало алергију на лекове. Супротно њима, испитаници из НИБ негативне групе, знатно ређе су имали алергије на поменуте групе алергена. У овој групи је био занемарљив број оних који су имали алергију на храну док је број алергичних на неки од лекова био упола мањи од предходне групе односно износио је испод 5%.

У погледу анамнестичких података о осетљивости на инхалационе алергене добили смо убедљивије податке. Иако је значајан број испитаника у обе групе давао податке да сматрају да су алергични на инхалационе алергене ипак је међу њима постојала значајна разлика. У НИБ позитивној групи 34,6% испитаника је изјавило да имају алергију на инхалационе алергене, за разлику од НИБ негативне групе где је 17,3% испитаника сматрао да су осетљиви на ову врсту алергена. Добијена разлика је била статистички значајна. ( $p < 0,01$ ) (график 4).

**График 4.** Дистрибуција испитаника у односу на податке о претходном постојању алергија



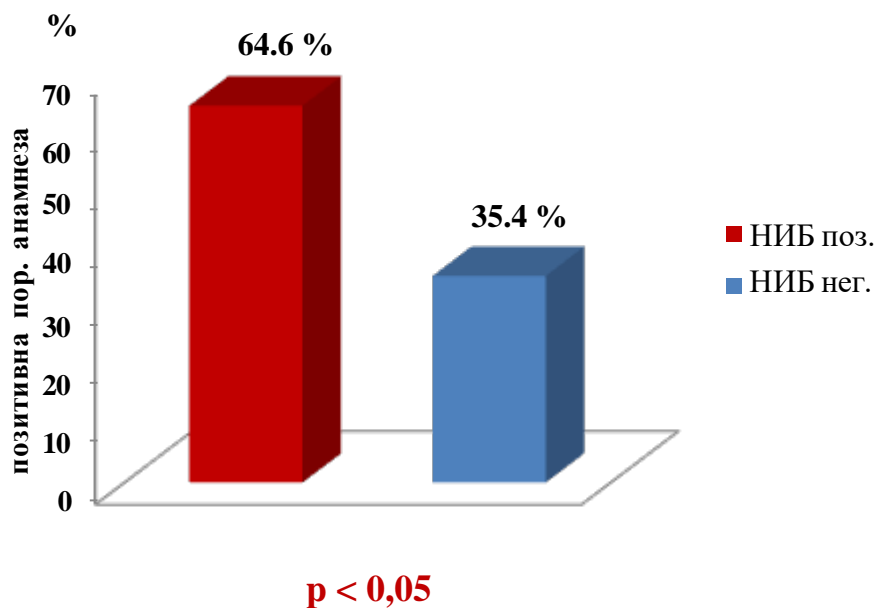
**$p < 0,01$**

#### 4.3. Позитивна породична анамнеза за бронхијалну астму

Подаци о астми везани за породичну анамнезу, слично као и код података из личне анамнезе, јасно су указали на разлике међу испитиваним групама. Позитиван одговор о астми код блиских сродника (отац, мајка, браћа, сестре) у НИБ - позитивној групи потврдило је 64,6% испитаника, док је у НИБ - негативној групи то био случај код 35,4%. Оваква дистрибуција анамнестичких података, говорила је у прилог статистички значајне разлике ( $p < 0,05$ ). Блиски сродници испитаника прве групе чешће су имали бронхијалну астму него сродници испитаника друге групе. Њихово породично оптерећење за бронхијалну астму је било израженије.

(график 5)

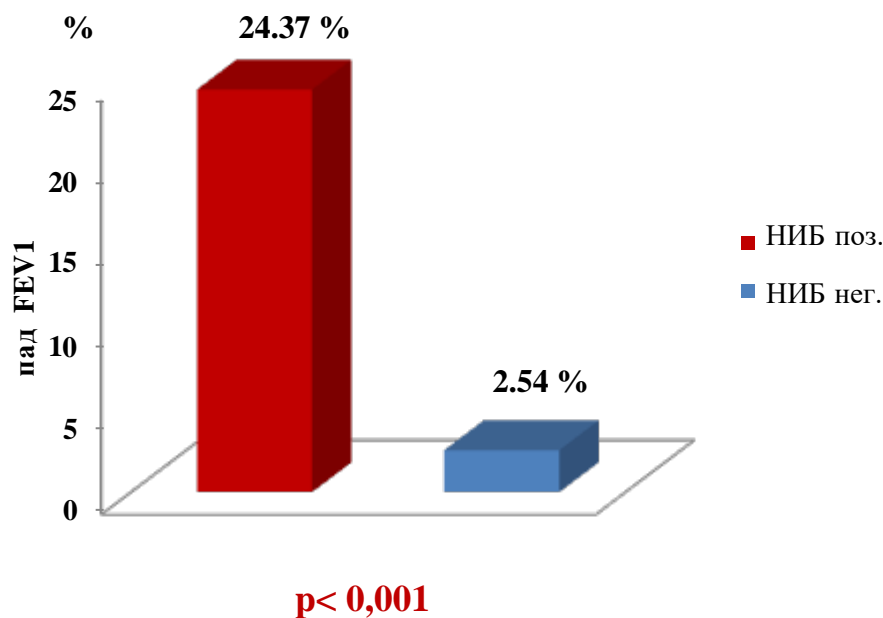
**График 5.** Дистрибуција испитаника према постојању астме код блиских сродника



#### 4.4. Тест оптерећења на покретној траци

Тест оптерећења на покретној траци је показао јасну диференцијацију међу групама. У НИБ позитивној групи дошло је до пада FEV1 који је у просеку износио 24,37% док је у НИБ негативној групи тај пад био 2,54%. Установили смо да је степен смањења FEV1 био статистички значајно већи у НИБ позитивној групи што је говорило у прилог да су испитаници из ове групе имали израженији бронхоконстрикторни одговор на напор ( $p < 0,001$ ). (график б)

График б. Снижење FEV1 после теста оптерећења

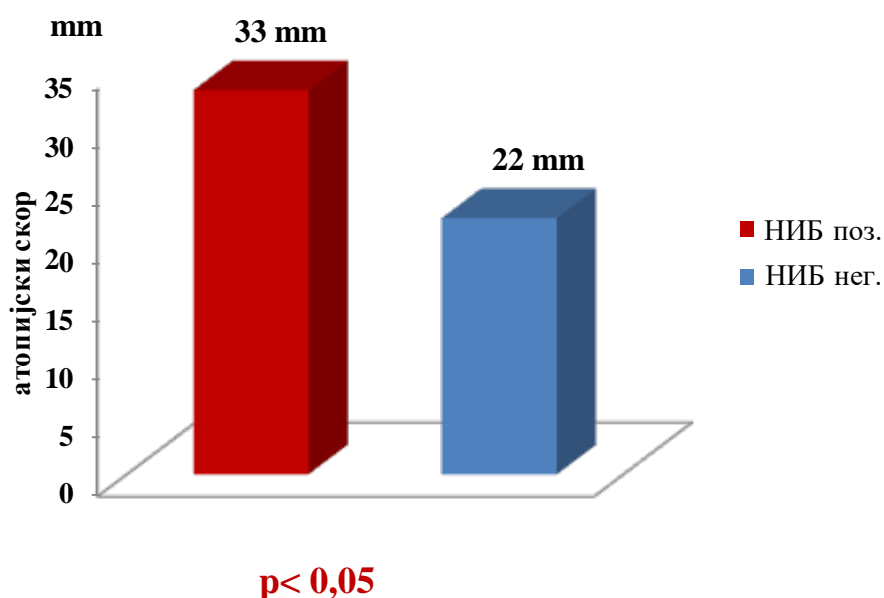




#### 4.5. Коже пробе са инхалационим алергенима

Да би смо објективизирали резултате осетљивост на инхалационе алергене, свим испитаницима смо урадили кожные пробе, без обзира да ли су дали податке да од раније знају за ту врсту алергије, или не. Добијене резултате смо приказали на два начина: збирно као атопијски статус и појединачно као реакцију коже на сваки од алергена. Реакција коже на месту апликације инхалационих алергена изражена кроз атопијски индекс, показала је бурнији одговор у НИБ позитивној групи. Њихов атопијски скор износио је 33 mm, док је код НИБ негативне групе био 22mm. Испитаници НИБ позитивне групе су имали статистички значајно већи атопијски индекс од испитаника из НИБ негативне групе. (график 7)

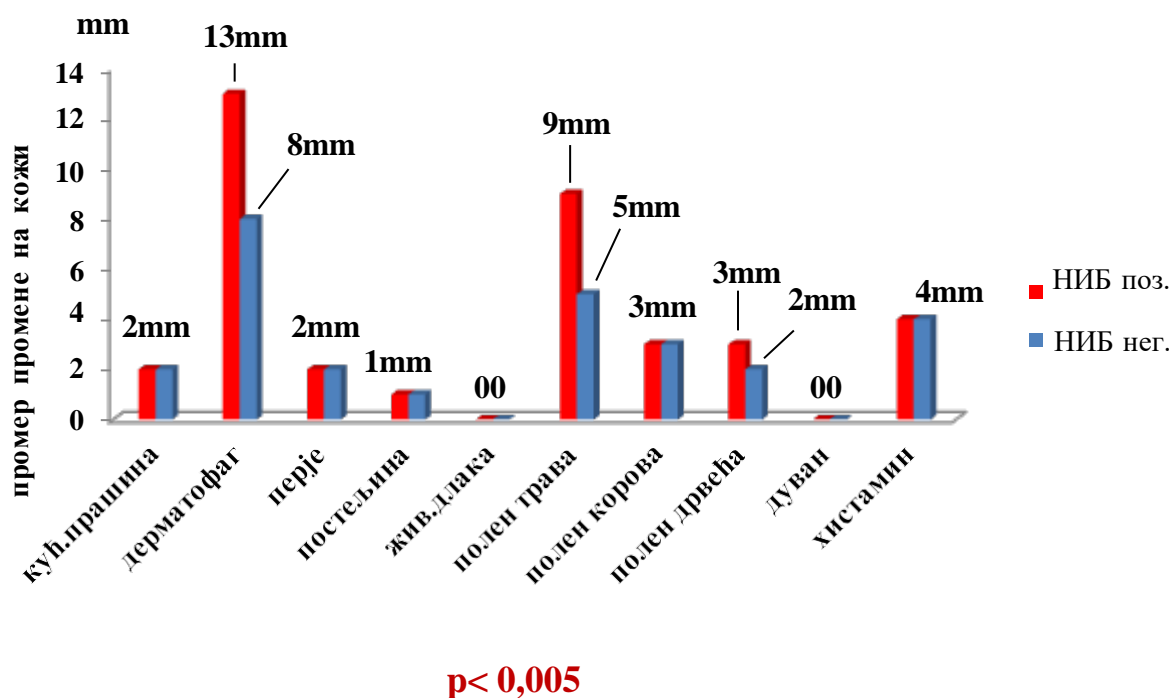
График 7. Атопијски скор испитаника



Појединачном анализом кожне реакције за неке од коришћених инхалационих алергена, конкретно, кућну прашину, перје, постељину, животињску длаку, полен корова, полен дрвећа и дуван, нисмо добили значајну разлику међу испитиваним групама. Међутим, у погледу реакције на дерматофаг и полен трава испољили су се другачији резултати. Иако су испитаници из обе групе имали значајну реакцију на дерматофаг, одговор на кожи испитаника из НИБ позитивне групе који је просечно износио 13 mm био је бурнији и статистчки значајније већи него код испитаника из НИБ негативне групе где је добијено 8 mm. ( $p < 0,005$ )

Резултате сличне претходним, добили смо и за полен трава. Промена на кожи на месту апликације овог алергена код испитаника НИБ позитивне групе била је просечно 9 mm док је код НИБ негативне групе износила 5 mm . Ови резултати су такође показали да је кожна реакција на полен трава била статистички значајно већа код испитаника из НИБ позитивне групе ( $p < 0,005$ ) (график 8).

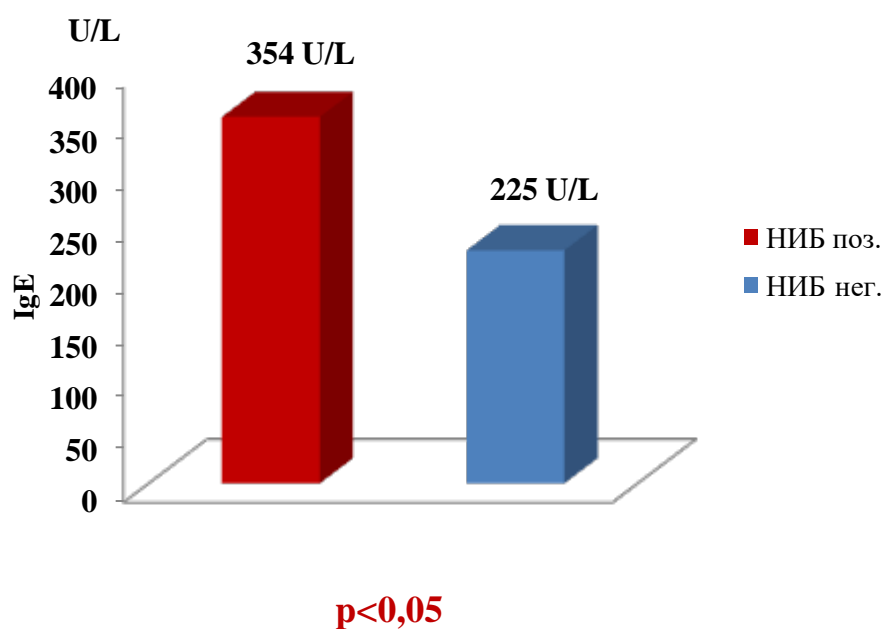
**График 8.** Кожна реакција на инхалационе алергене



#### 4.6. Укупни IgE у серуму

Одређивањем нивоа укупног IgE у серуму, добили смо резултате који су указивали да су сви испитаници у одређеној мери имали повишен ниво овог имуноглобулина који је превазилазио уобичајене границе нормалних вредности. Ово повећање је било нарочито изражено у НИБ позитивној групи. Испитаници ове групе имали су просечну вредност IgE која је премашивала 350 U/L, док су у НИБ негативној групи те вредности износиле просечно изнад 220 U/L. Оваква разлика је била не само очигледна, већ и статистички значајна ( $p < 0,05$ ) ( график 9).

График 9. Ниво укупног IgE у серуму

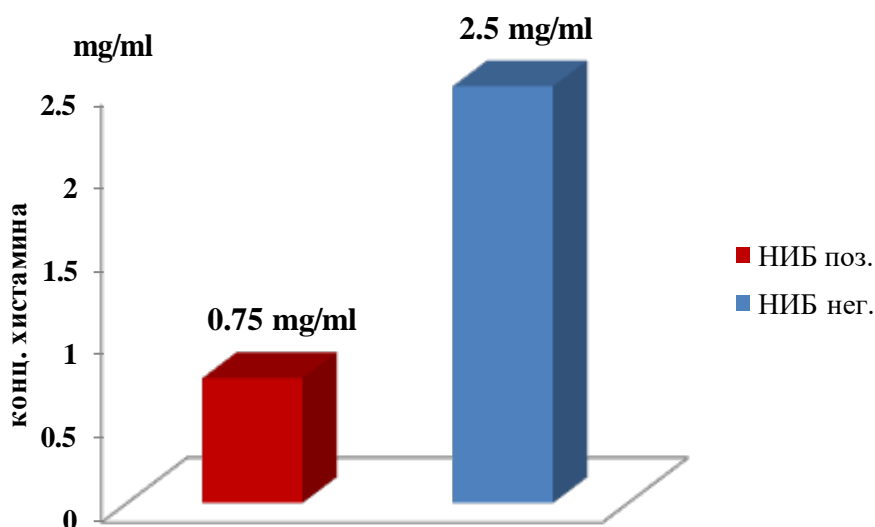


#### 4.7. Неспецифични бронхопровокацијски тест са хистамином

##### *Концентрација инхалираног хистамина*

Иако је неспецифични бронхопровокацијски тест био позитиван у обе групе, односно код свих испитаника, измерена хиперсензитивност, односно концентрација хистамина која је изазвала пад FEV1 за најмање 20% ( PC20 ) није била иста. Док су испитаници из НИБ позитивне групе имали позитиван тест при концентрацијама хистамина до 0,75 mg/ml дотле су испитаници из НИБ негативне групе имали позитивност овог теста при знатно вишим концентрацијама које су износиле до 2,5 mg/ml. Добијена разлика у концентрацијама хистамина између група је била и статистички значајна.( $p < 0,05$ ) (график 10.)

**График 10.** Просечна концентрација хистамина при којој су испитаници имали позитиван хистамински тест

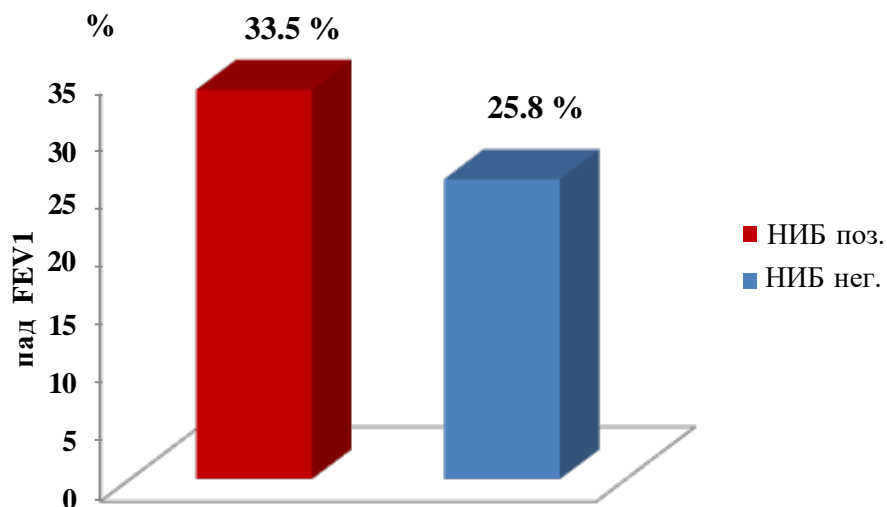


**$p < 0,05$**

### *Снижење FEV1 након хистаминског теста*

Поред концентрације хистамина која је проузроковала позитиван хистамински тест, одговор дисајних путева на овај неспецифични бронхоконстрикторни агенс представили смо и кроз снижење FEV1. Мерећи овај параметар, дошли смо до резултата који су показали да су испитаници из НИБ позитивне групе, имали у просеку пад FEV1 за 33,5% док су испитаници из НИБ негативне групе имали пад FEV1 за 25,8%. Иако су сви испитаници после хистаминског теста, имали значајно снижење FEV1 у односу на базалну вредност, степен снижења FEV1 је био већи односно статистички значајнији у НИБ позитивној групи ( $p < 0,05$ ) (график 11).

**График 11.** Процент снижења FEV1 након хистаминског теста по групама



**$p < 0,05$**

#### 4.8. Сензитивност, специфичност и предиктивни значај мерених параметара у појави НИБ -а

За одређивање сензитивности и специфичности мерених параметара користили смо ROC криве.

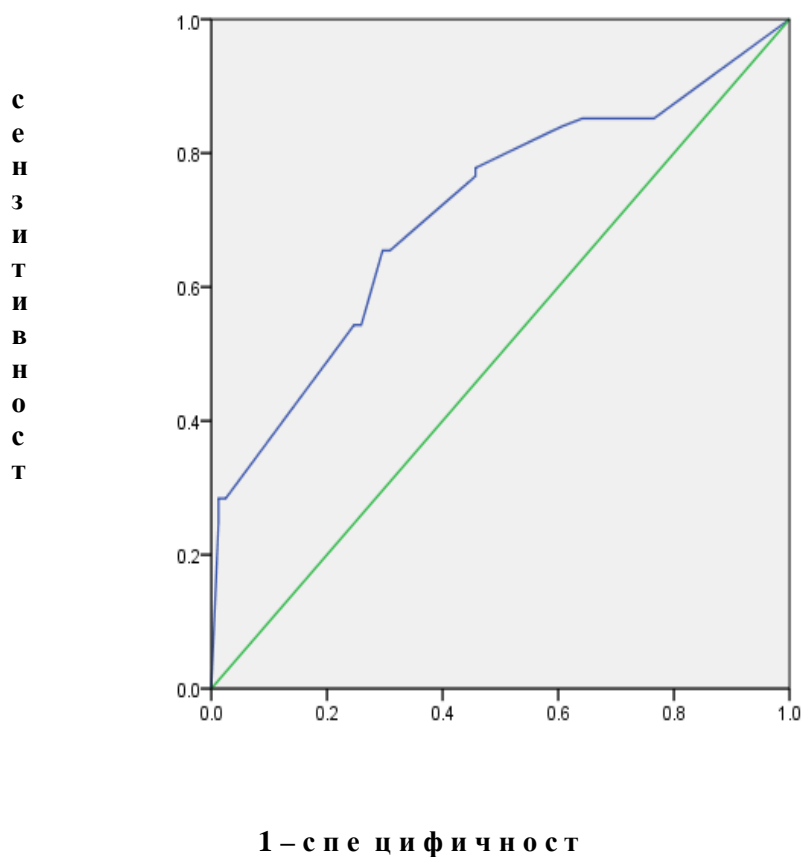
##### *Кожна реакција на дерматофаг*

Овим тестом смо потврдили да кожна реакција на дерматофаг за

**cut off - 11,5 mm** има сензитивност од **0,654** и специфичност од **0,704**.

(график 12.)

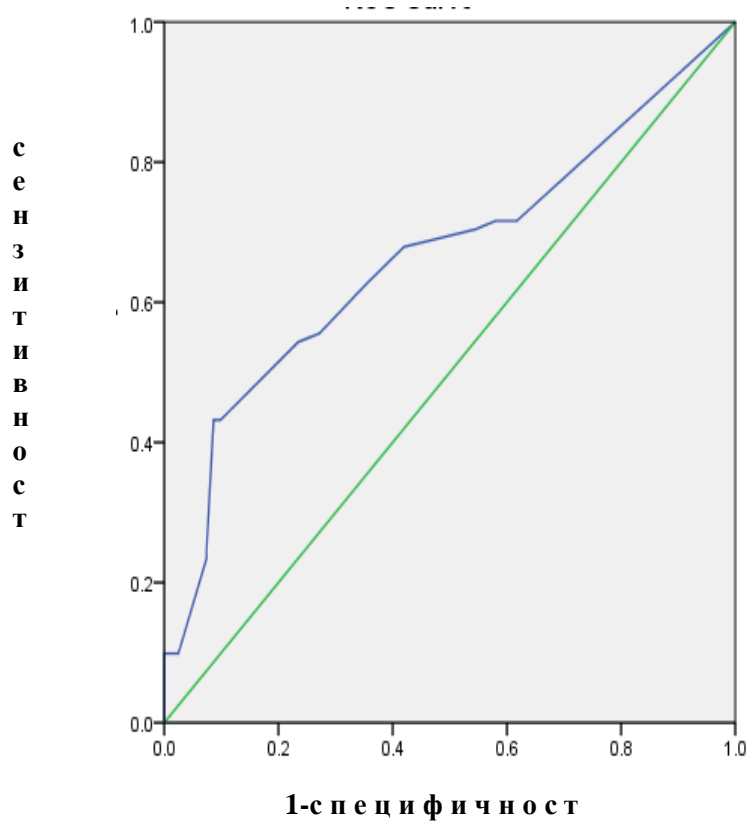
**График12.** Сензитивност и специфичност реакције на дерматофаг



*Кожна реакција на полен трава*

Кожна реакција на полен трава за **cut off - 8,5 mm**, показала је сензитивност од **0,556** и специфичност од **0,728** (график 13).

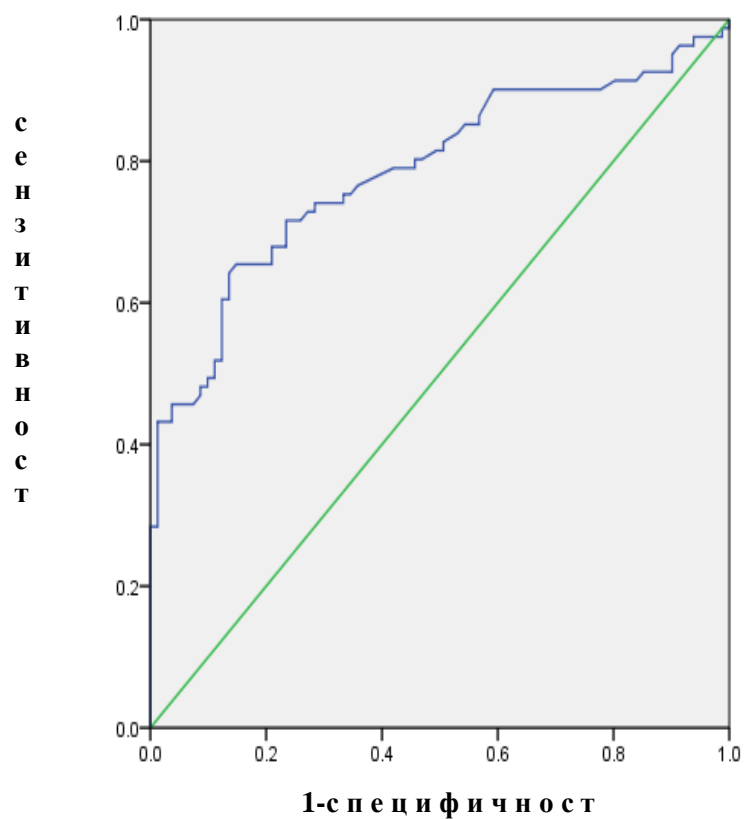
**График 13.** Сензитивност и специфичност реакције на полен трава



### *Ниво укупног IgE у серуму*

Што се тиче нивоа укупног IgE у серуму за **cut off - 230 U/L**, добили смо највећу сензитивност од **0,605** и специфичност од **0,877**. (график 14)

**График 14.** Сензитивност и специфичност нивоа укупних IgE у серуму

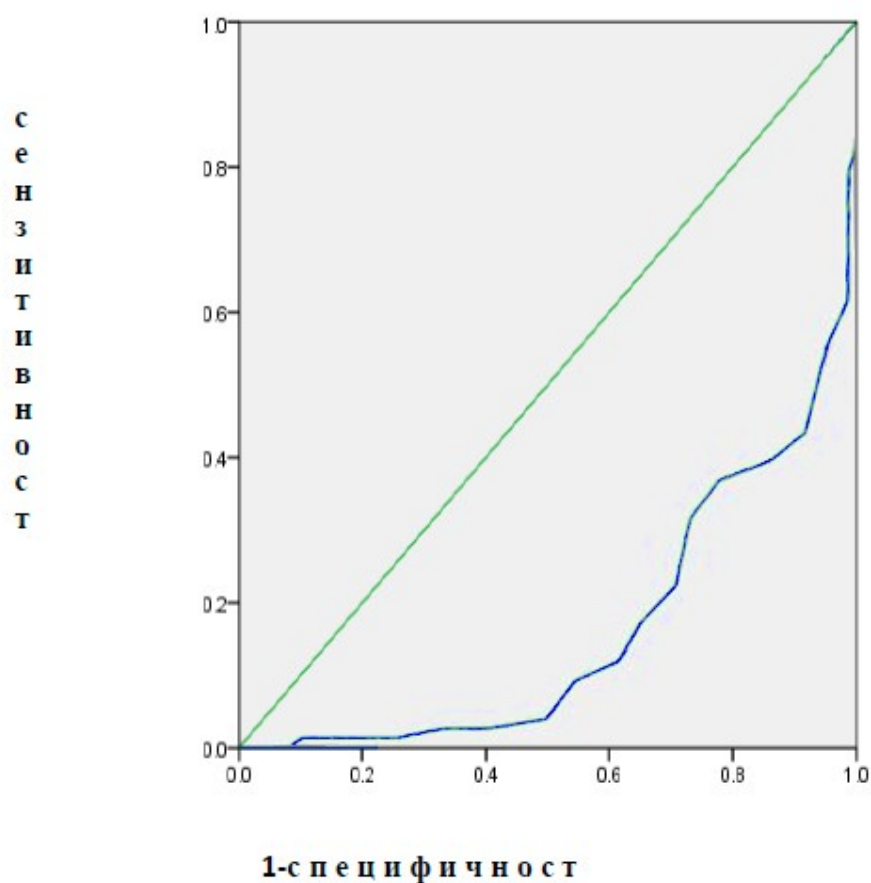




### Концентрација инхалираног хистамина

Концентрација инхалираног хистамина која је изазвала позитиван хистамински тест, односно пад FEV1 за најмање 20 % (PC 20) за **cut off 0,75 mg/ml** показала је сензитивност од **0,975** а специфичност од **0,963**. (график 15).

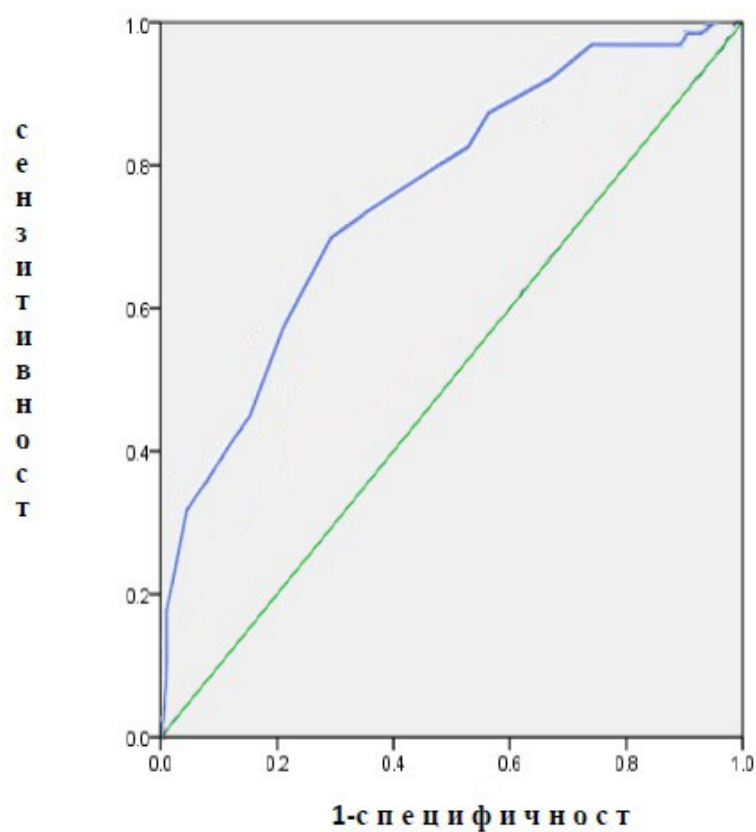
**График 15.** Сензитивност и специфичност концентрације хистамина(PC20)



*Снижење – пад FEV1 након хистаминског теста*

Код пада FEV1 након хистаминског теста за **cut off 25,5 %** добили смо сензитивност **0,889** и специфичност **0,999** (график 16.)

**График 16.** Сензитивност и специфичност пада FEV1 након хистаминског теста



Добијеним резултатима смо утврдили да параметри које смо мерили имају довољну дискриминативну моћ, односно дијагностичку прецизност у предвиђању истовременог постојања бронхоспазма на напор.

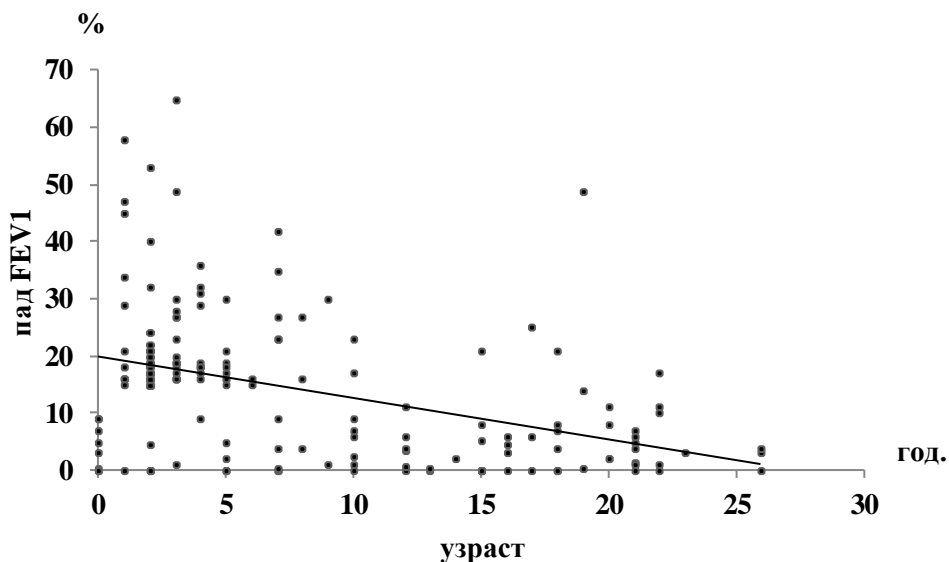
#### 4.9. Корелација између више параметара са бронхоспазмом на напор

У циљу детаљнијих испитивања међусобних односа тј. корелације мерених параметара са појавом бронхоспазма на напор, дошли смо до следећих резултата:

##### *Узраст и пад FEV1 након оптерећења*

Животна доб, односно узраст у коме су испитаници оболели од бронхијалне астме имала је значајан утицај на будућу појаву НИБ-а. Наши резултати су показали значајну негативну корелацију између узраста и НИБ-а код астматичара. То јест, што је раније настајала астма то је интензитет НИБ-а, мерен кроз проценат пада FEV1 био већи. (график 17)

**График 17.** Повезаност узраста када је настала астма – година живота и процента снижења FEV1 након оптерећења

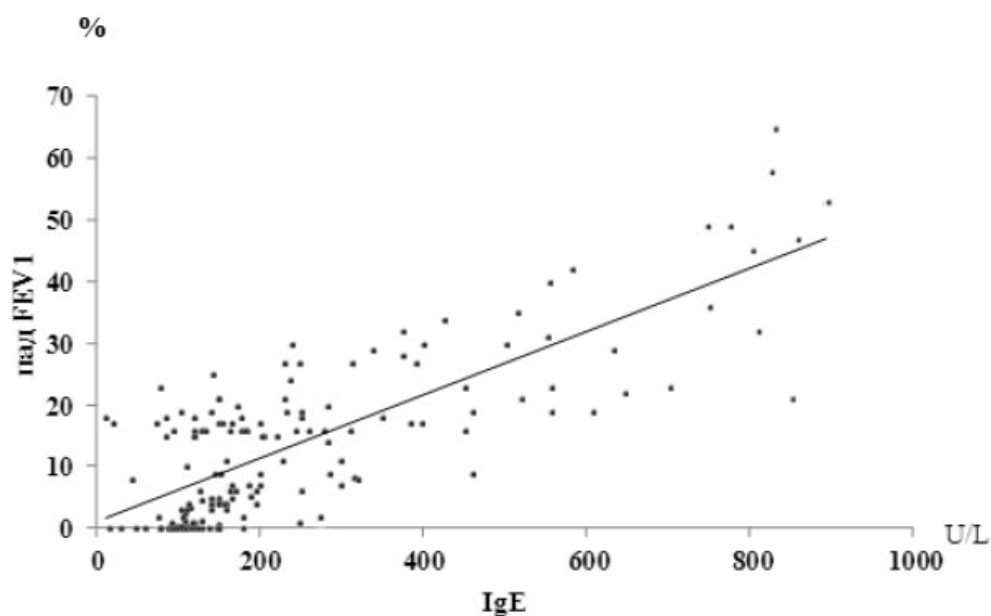


$$(r = -0.42, p < 0.001, n = 162)$$

### *Ниво укупног IgE у серуму и пад FEV1 након оптерећења*

Ниво укупних IgE у серуму, у целој популацији, значајно је корелирао са степеном пада FEV1 након теста оптерећења, односно пораст нивоа IgE у серуму је био већи код испитаника са већом реактивношћу на напор ( график 18).

**График 18.** Повезаност снижења FEV1 након оптерећења и концентрације IgE у серуму

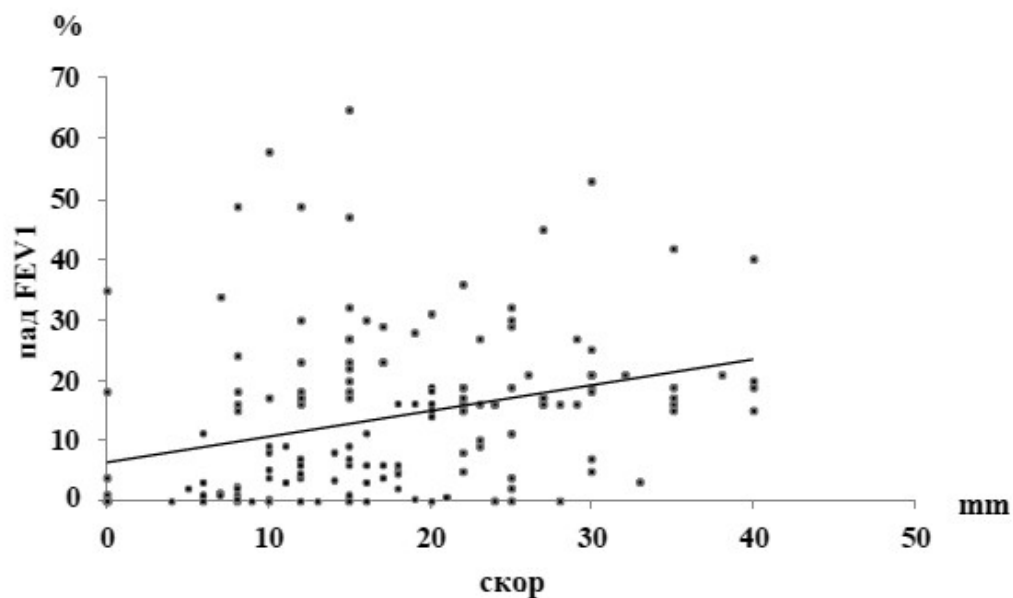


**( $r= 0.57, p < 0,001, n = 162$ )**

### *Атопијски скор и снижење FEV1 након оптерећења*

Други показатељ атопијске конституције, кожна реакција на иналационе алергене исказана као атопијски скор, показао је такође значајну позитивну корелацију са процентом снижења FEV1 након оптерећења (график 19).

**График 19.** Повезаност између снижења FEV1 након оптерећења и атопијског скор



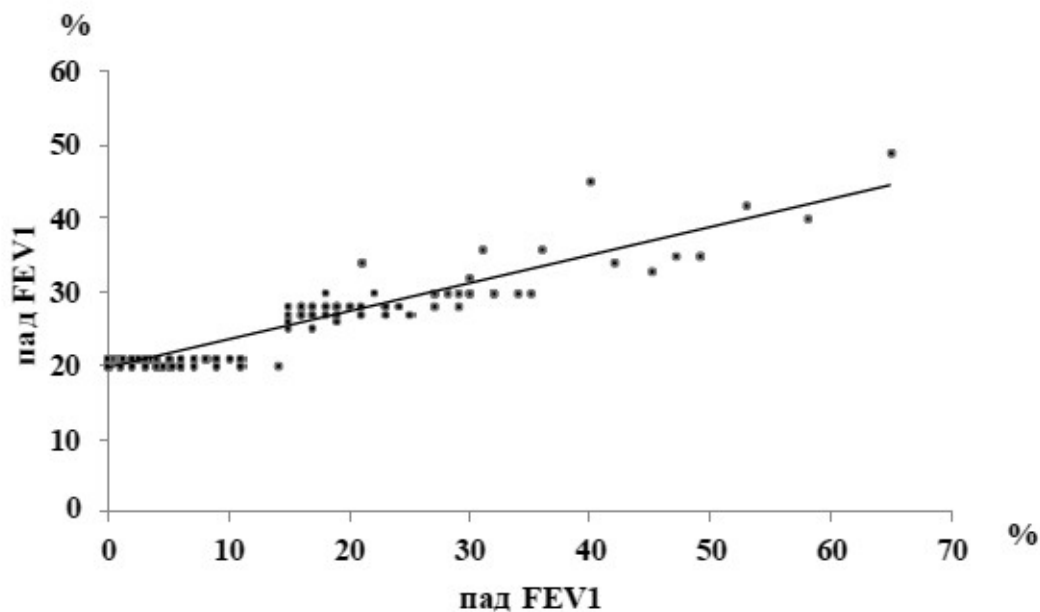
(  $r = 0.31, p < 0.001, n = 162$  )

*Снижење - пад FEV1 након хистаминског теста и након оптерећења*

Најубедљивији однос, најбољу позитивну корелацију добили смо између снижења FEV1 након хистаминског теста и снижења FEV1 након оптерећења (график 20).

Односно, што је био већи пад FEV1 након хистамина, то је вероватноћа појаве НИБ –а била већа.

**График 20.** Повезаност снижења FEV1 након хистамина и снижења FEV1 након оптерећења код свих астматичара

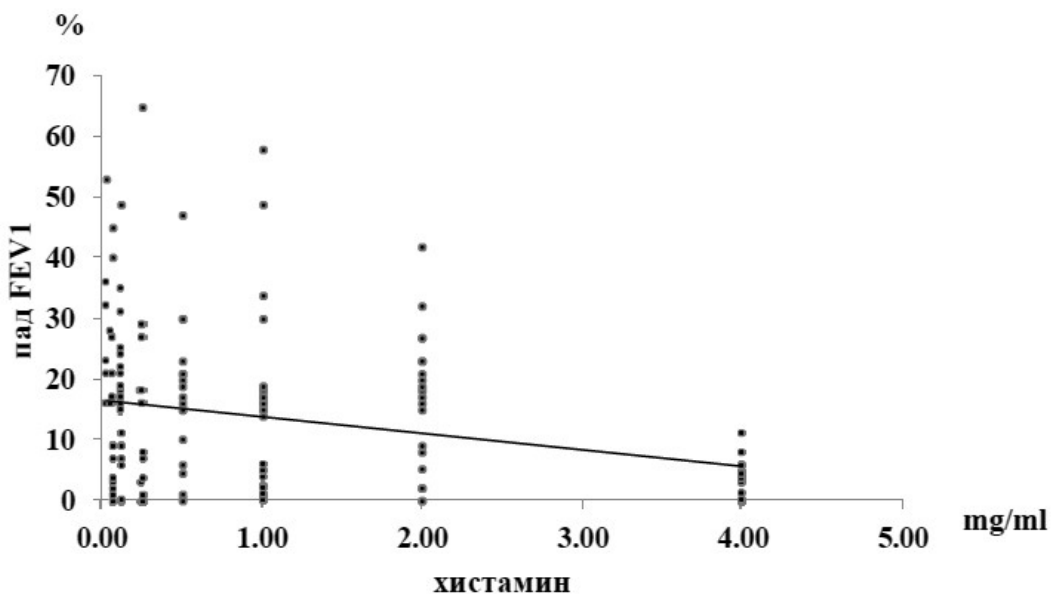


**( $r = 0,64, p < 0.001, n = 162$ )**

*Концентрација инхалираног хистамина и снижење FEV1 након оптерећења*

Што се тиче концентрације инхалираног хистамина и бронхоспазма на напор, добили смо значајну негативну корелацију, обзиром да је хиперреактивност била већа што је концентрација инхалираног хистамина била нижа. Односно, што су испитаници одреаговали на мању дозу хистамина, то је већа вероватноћа да ће имати бронхоспазам на напор.( график 21).

**График 21.** Повезаност снижења FEV1 након оптерећења и концентрације инхалираног хистамина



( $r = -0.34, p < 0,01, n = 162$ )

#### 4.10. Утицај више мерених фактора на појаву бронхоспазма на напор

Даљом статистичком обрадом резултата, применом t-теста и бинарне логистичке регресије, процењивали смо утицај више фактора – варијабли на појаву бронхоспазма на напор.

T – тестом за независне узроке упоређени су резултати независних варијабли као потенцијалних предиктора за појаву бронхоспазма на напор. Добијена је статистички значајна разлика мерених варијабли између двеју испитиваних група. ( табела 1.)

**Табела 1.** Варијабле које су имале утицај на постојање бронхоспазма на напор

Параметри-Варијабле	t	DF	P
к.прашина	-0,484	160	0,629
<b>дерматофаг</b>	<b>- 4,742</b>	<b>160</b>	<b>0,000</b>
перје	-0,180	160	0,857
постељина	-0,818	160	0,415
ж.длака	-0,449	160	0,654
<b>п.трава</b>	<b>-3,771</b>	<b>160</b>	<b>0,000</b>
п.корова	0,114	160	0,910
п.дрвећа	0,344	160	0,731
дуван	-0,147	160	0,884
<b>конц.хис</b>	<b>3,967</b>	<b>160</b>	<b>0,000</b>
<b>пад FEV1</b>	<b>-4,651</b>	<b>160</b>	<b>0,000</b>
<b>IgE</b>	<b>-7,249</b>	<b>160</b>	<b>0,000</b>



Бинарном логистичком регресијом процењивали смо предикторну вредност више варијабли – фактора у настанку бронхоспазма на напор (дерматофаг, полен трава, концентрацију хистамина, пад FEV1 после хистамина и Ig E у серуму).

Цео модел, састављен од испитиваних варијабли, био је статистички значајан ( $df = 5$ ,  $\chi^2 = 81,937$ ,  $p = 0,000$ ), што указује да се њиме могу разликовати испитаници који имају бронхоспазам на напор од других који га немају.

Модел, састављен од наведених варијабли, објашњава између 39,7% (Cox i Snell  $r^2$ ) и 52,9% (Nagelkerke  $r^2$ ) варијанси у статусу позитивности на бронхоспазам на напор и тачно класификује 80,9% случајева. Добијена сензитивност је била 80,2%, а специфичност 81,5%.

Као што је приказано у табели 2. четири независне варијабле (кожна реакција на дерматофаг и полен трава, ниво IgE у серуму и пад FEV1 након хистаминског теста) оствариле су јединствен и статистички значајан допринос моделу. Све варијабле су показале прихватљиву предикторну вредност за бронхоспазам на напор, јер им је количник вероватноће био већи од 1.

Концентрација хистамина испољила је негативан утицај, зато што се ради о негативној корелацији ове варијабле са бронхоспазмом на напор. Вероватноћа да ће испитаник имати бронхоспазам на напор је била већа уколико је имао позитиван хистамински тест при нижој концентрацији хистамина. (табела 2.)

**Табела 2.** Предиктивни значај параметара за појаву бронхоспазма на напор

Параметри	$\beta$	Стандардна грешка	Количник вероватноће	df	P
Dermatophagoides	0,123	0,036	11,905	1	0,001
Трава	0,098	0,038	6,765	1	0,009
Конц. хис.	-0,047	0,208	0,051	1	0,822
Пад FEV1	0,002	0,001	7,842	1	0,005
IgE	0,008	0,002	16,540	1	0,000
Константа	-6,079	1,517	16,053	1	0,000

## **5. ДИСКУСИЈА**

Познато је да бројни чиниоци представљају склоност за настанак и погоршање бронхијалне астме, односно да су то својеврсни фактори ризика који у датим околностима изазивају или погоршавају ову болест. Одговор дисајних путева астматичара на разне стимулусе може бити сличан, иако се бронхоконстрикторни надражај покреће различитим механизмима. Сви покретачи астматичног напада узрокују бронхоспазам на један од два начина: **индиректним путем** или **директним надражајем** бронхоконстрикторних рецептора.

Физички напор, индиректним путем, процесом дехидрације дисајних путева, изазива бронхоконстрикцију док хистамин, супротно, исти ефекат остварује директним дејством на М3 рецепторе.(86) Иако патогенеза настанка бронхоспазма на напор није у потпуности разјашњена, постоје докази да се ради о неинфламаторном узроку повезаном са температурним променама у дисајним путевима.

Насупрот овом ставу, постоје и схватања која подржавају претпоставку да се у основи бронхоспазма на напор налазе инфламаторни процеси који стварају неопходне предуслове за дејство окидача.(126-128). Чињеница да се напором изазван бронхоспазам јавља и код здравих особа које немају бронхијалну астму, донекле оправдава став о неинфламаторној природи НИБ-а.

Са друге стране, постојање хроничне инфламације у дисајним путевима и њен интензитет, доприносе да се астма испољи и да различити стимулуси, попут напора, изазову бурнију реакцију.(5)

Иако бронхијална астма због своје комплексности, генотипске и фенотипске хетерогености не следи у потпуности познате моделе наслеђивања, утицај генетских фактора на ову болест је одавно уочен. Најочигледнији доказ ове чињенице лежи у раном почетку ове болести и учесталој појави код блиских сродника.(129)

О значају генетског фактора говоре и резултати истраживања према којима се процењује да је у више од 70% случајева наслеђе одговорно за појаву алергијске астме код деце и да се у око 80% случајева бронхијална астма испољава до четврте године живота.(130.131)

Поред тога што рано оболевање од бронхијалне астме неоспорно указује на генетску предиспозицију, рана појава појединих специфичних симптома као што је напором изазван бронхоспазам (НИБ), може имати и прогностички значај.

Истраживања су показала да појава НИБ код деце указује на рано присуство бронхијалне хиперреактивности и време када свакако треба започети антиинфламаторну терапију како би болест била боље контролисана и како би се избегле трајне последице.(75)

Претходно истраживања су нас подстакла да и ми у нашем раду испитамо значај раног настанка бронхијалне астме и евентуалну повезаност ове чињенице са појавом НИБ-а код астматичара. Већина наших испитаника са позитивним бронхоспазмом на напор (НИБ позитивна група) од астме је оболело између треће и четврте године живота док се код испитаника без бронхоспазма на напор (НИБ негативна група) астма испољавала између 13. и 14. године живота. Рана појава астме, према нашим резултатима, утицала је не само на појаву бронхоспазма на напор, већ је у том случају и одговор дисајних путева на овај окидач био израженији. Односно, наши испитаници који су имали израженији бронхоспазам на напор у одраслом добу (после 18 - те године) раније су оболевали од ове болести.

Иако у литератури нису доступни прецизнији подаци, нашу претпоставку да рано испољавање ове болести може утицати на појаву бронхоспазма на напор подкрепљују резултати које су у својим радовима објавили Jean Busquet и Радмила Л.П. са сарадницима.(75,132). Додатну потврду валидности наших запажања добили смо потврђивањем значајне негативне корелације између животне доби када је испољена астма и степена снижења FEV1 након теста оптерећења.(  $r = - 0,42$ ,  $p < 0,001$ ,  $n = 162$ ) . То значи да је ранији почетак астме представљао већи ризик за појаву НИБ-а. Утицај на рани настанак бронхијалне астме свакако имају и наследни фактори чија је улога у овој болести одавно позната.

О значају наследних фактора за бронхијалну астму говори и податак да се они сматрају једним од најпризнатијих фактора ризика чији утицај расте са порастом броја блиских сродника који ову болест имају. Уколико се ради о оба родитеља склоност ка астми се вишеструко повећава.(133, 134) Ипак, праву слику генетског утицаја на рану манифестацију ове болести употпуњују чиниоци спољашње средине,у садејству са интраутериним и перинаталним факторима као што су: превремено рођење, мала телесна тежина и велика дужина на рођењу, односно диспропорција у феталном расту.( 135,132)

Механизми утицаја ових околности на настанак бронхијалне астме нису довољно јасни, мада се претпоставља да се ради о сложеним интеракцијама поремећених нивоа цитокина у постелици уз садејство генетске предиспозиције и екстраутериних инфламаторних механизма.(136)

Новија истраживања су још детаљније разјаснила генетску основу астме утврдивши да постоји 16 гена који су значајни за њен настанак, при чему се најважнији од њих налазе на хромозомима 5q,6,11q,12q,13,14q.(78) Појава бронхијалне астме у раном детињству не говори само о утицају генетских фактора на њен настанак, већ може указати на еволуцију, прогнозу и клиничке манифестације ове болести. Ову чињеницу потврђују и резултати истраживања који су доказали да су особе са раним почетком астме имале разноврснију симптоматологију и често компликованији ток ове болести.(100,122) До потврде претходно наведеног дошло се и након других, лонгитудиналних студија у којима се показало да је хиперреактивност дисајних путева на хладан ваздух испољена у раном детињству, била значајан предикторни фактор за перзистентну астму.(75) Обзиром на овакав значај наследних фактора у астми, један од циљева нашег истраживања је био да испитамо њихов утицај на појаву бронхоспазма на напор код оболелих.Према подацима до којих смо у истраживању дошли, закључили смо да постоји значајна разлика међу нашим групама испитаника у погледу породичног оптерећења за астму.

Разлика се огледала у томе што је већина испитаника из НИБ позитивне групе, њих 64,5%, дало податак да астма постоји код њихових блиских сродника. Код НИБ негативне групе, статистички значајно мање испитаника односно 35% дало је потврдан одговор о постојању астме код блиских рођака. ( $p < 0,05$ ). Наши резултати потврдили су претходно објављене закључке о могућој наследној предиспозицији НИБ-а које су у свом раду објавили Peter Conig и Simon Godfri. (137)

Пошто је доказан утицај наслеђа на настанак бронхијалне астме, сасвим је оправдана претпоставка да и појава бронхоспазма на напор може бити везана за генетску предиспозицију иако то још увек није егзактно доказано. Улога наследних чиниоца у настанку бронхијалне астме има много шири контекст који се одражава и индиректно, преко предиспонирајућих фактора као што је атопијска конституција за коју постоје егзактни докази да се чешће јавља у неким породицама. (133, 134)

Имајући те чињенице у виду, следећи аспект нашег истраживања односио се на разматрање утицаја алергија односно атопијске конституције на појаву и интензитет бронхоспазма на напор.

Познато је да се преваленца атопијске конституције код астматичарима креће и до 80%, а да у више од 30% представља директан предиспонирајући фактор за настанак и развој бронхијалне астме. (138, 139).

Обзиром да су укупни IgE у серуму и кожне пробе са алергенима, лако доступни и клинички поуздани маркери атопијске конституције, пратили смо њихов ниво, интензитет и утицај на појаву НИБ-а. На значај имуноглобулина Е у астми указао је А. Carosso у свом истраживању, потврдивши да је повећан нивоа IgE у серуму био у позитивној корелацији са преваленцијом бронхијалне астме. (140) Због уочене позитивне корелације између астме и нивоа IgE у серуму, овај параметар је постао предмет бројних истраживања. Посебно интересовање је исказано у проучавању међусобних односа IgE, инхалационих алергена и њиховог утицаја не само на преваленцу, већ и на тежину бронхијалне астме. (141)

Даља истраживања су показала да алергијска сензибилизација изазива рану алергијску инфламацију дисајних путева код осетљивих особа.

У овом контексту, посебно је значајан рани контакт, односно рана изложеност одређеним алергенима. Један од најубедљивијих доказа о значају раног излагања алергенима из околине може се наћи у истраживању које је спровела S.Anderson, где се показало да су близанци, зависно од фактора средине, то јест изложености одређеном алергену, имали различите нивое специфичних IgE у серуму. Особе са повишеним нивоом IgE имале су повишену продукцију проинфламаторних медијатора.(113)

Пораст проинфламаторних медијатора проузрокује повећану хиперреактивност дисајних путева, што је у ствари главни патофизиолошки механизам астме. Kerkhof је у свом истраживању дошао до закључка да атопија својим интензитетом може значајно појачати инфламацију у дисајним путевима.(142) О повезаности и међусобном утицају ова два феномена, конкретније закључке је објавио Han Ki Park у свом истраживању спроведеном на популацији астматичара. У његовом раду, група испитаника са НИБ-ом имала је израженију атопијску конституцију, а степен атопије је условљавао и бурнији одговор на физички напор. (106)

Анализом резултата које смо у нашем раду добили, могли смо као и претходни аутори, да изведемо сличне закључке. Иако су сви наши испитаници имали атопијску конституцију, заступљеност алергија није била иста по групама. Кандидати из НИБ позитивне групе у односу на НИБ негативну групу чешће су давали податке о ранијем постојању осетљивости на одређену групу алергена као што је храна, инхалациони алергени (34,6% : 17,3%) или лекови (9,9% : 4,9%). Попут претходно наведених анамнестичких података, интензитет кожних проба на инхалационе алергене и ниво IgE у серуму код наших испитаника такође нису били у истој мери изражени. Испитаници из НИБ позитивне групе имали су значајно бурнију реакцију на инхалационе алергене јер је њихов атопијски скор износио 33mm у односу на 22mm колико смо добили код НИБ негативне групе.

Осим тога, у погледу реактивности на одрђене инхалационе алергене уочили смо извесне специфичности. Најзначајнију, најбурнију реакцију добили смо на полен трава и дерматофаг, које су се код наших испитаника издвајале својим интензитетом. Овакав резултат је очекиван, обзиром да полени трава и дерматофаг представљају доминантне алергене у нашој средини. Поред испољене разлике међу групама, утврдили смо и значајну корелацију између атопијског скорa и реактивности дисајних путева на напор ( $r = 31, p < 0.001, n = 162$ ). Идентичне резултате смо добили и у погледу нивоa укупних IgE који је такође значајно корелирао са степеном смањења FEV1 након оптерећења. ( $r = 0,57, p < 0,001, n = 162$ ).

Поред значајне корелације са НИБ-ом, за ниво IgE у серуму и кожную реакцију на дерматофаг и полен трава смо доказали значајну предиктивну вредност у односу на појаву НИБ код наших астматичара. Граничне вредности односно cut off које смо добили су износиле за полен трава 8,5 mm, дерматофаг 11,5mm а за ниво укупних IgE у серуму та вредност је износила 230 U/L.

До сличних запажања дошао је у свом истраживању и Inseon са сарадницима. Он је доказао значајан утицај сензибилизације на кућну прашину на појаву НИБ-а, при чему је интензитет кожне реакције на овај инхалациони алерген био у позитивној корелацији са падом FEV1 током напрезања.(95)

Из претходно изложеног а везано за атопију, можемо закључити да су наши резултати као и резултати Kerkhofa и Inseona потврдили чињеницу да атопија својим присуством и интензитетом значајно појачава инфламацију у дисајним путевима.(95,133)

Наши закључци су се сложили и са резултатима које је добио Han Ki Park у свом истраживању спроведеном на популацији астматичара. У његовом раду, група испитаника са НИБ-ом имала је израженију атопијску конституцију, а степен атопије је условљавао бурнији одговор на физички напор.



Ridha са сарадницима је такође објавио сличне резултате које је спровео на популацији спортиста у Тунису. У његовој студији, 62% испитаника са атопијском конституцијом је имало НИБ, док је у групи без атопије НИБ био присутан код 23% испитаника.(115)

Атопија дакле, појачава инфламацију а појачана инфламација, повећава реактивност и сензитивност дисајних путева то јест њихову спремност да бурније одреагују на мањи интензитет окидача. Повећану реактивност дисајних путева односно хиперреактивност смо потврдили код свих наших испитаника што је било очекивано обзиром да се ради о особама оболелим од бронхијалне астме. Поред те опште познате чињенице, очекивали смо да интензитет сензитивности односно реактивности дисајних путева не буде исти код свих испитаника. Ту претпоставку смо и потврдили јер су наши кандидати из групе са НИБ-ом реаговали при знатно нижим концентрацијама хистамина. Односно, просечна концентрација при којој су они одреаговали износила је 0,75mg/ml док је за НИБ негативну групу просечна концентрација износила 2,5 mg/ml што је статистички било веома значајно.

( $p < 0,005$ ). Осим значајне статистичке разлике међу групама, концентрација инхалираног хистамина показала је и значајну негативну корелацију са процентом пада FEV1 након оптерећења што је такође говорило у прилог веће сензитивности дисајних путева испитаника из НИБ позитивне групе. ( $r = -0,34$ ,  $p < 0,01$ ,  $n = 162$ ). У том смислу, доказали смо да концентрација инхалираног хистамина може имати и предиктивну вредност за појаву НИБ-а са преломном тачком (cut off) на 0,75 mg/ml, са сензитивношћу и специфичношћу које су износиле преко 90%.

У истраживању S.Anderson сензитивност и специфичност неспецифичног бронхопровокацијског тестирања у предикцији НИБ-а у популацији неастматичара износиле су 51% односно 75%. Међутим, и она је забележила пораст сензитивности овог теста код особа са НИБ-ом са 51 % на преко 72% што је у складу са нашим резултатима.(143)

Наши резултати су били очигледнији с обзиром да смо за разлику од претходног аутора, испитивање вршили на популацији са доказаном бронхијалном астмом. Inseon са сарадницима, је такође испитивао предиктивни значај неспецифичног бронхопровокацијског тестирања за НИБ. Испитивање је спровео над популацијом младих астматичара користећи метахолин и хипертони раствор и упоређујући њихов предиктивни значај за НИБ. Он је у том истраживању за метахолин добио већу специфичност а мању сензитивност (71,4% : 42,9%), док је за хипертони раствор добио већу сензитивност а мању специфичност (89,7% : 58,6%) (145) И закључци Kersten-а и сарадника су слични нашим. Он је у свом раду закључио да је неспецифични бронхопровокацијски тест са хипертоним раствором имао негативну предикторну вредност за НИБ од 91% и позитивну од 69%. (145) Наше истраживање овог феномена смо даље продубили посматрајући га са аспекта промене FEV1 током хистаминског теста. Анализирајући промену односно пад FEV1 након хистамина као показатеља неспецифичне реактивности, добили смо такође значајну разлику међу групама. Испитаници из НИБ позитивне групе су при хистаминском тесту снизили FEV1 у просеку за 33,5 %, а испитаници из НИБ негативне за 25,8% ( $p < 0,05$ ). И овај параметар је показао и значајну корелацију са падом FEV1 након физичког напора ( $r = 0,64$ ,  $p < 0,001$ ,  $n = 162$ ), као и високу сензитивност и специфичност за cut off 25,5%.

У раду Нап К. Р. испитаници са НИБ-ом су такође испољили израженију неспецифичну реактивност од испитаника без НИБ - а (61,4% : 18,9%). (106)

У циљу потврде претходно добијених резултата, додатно смо анализирали наше податке испитујући значај више фактора – варијабли у разликовању двеју група. Цео испитивани модел састављен од поменутих фактора - пет варијабли ( *дерматофаг, полен трава, ниво IgE у серуму, концентрација инхалираног хистамина, проценат пада FEV1 након хистамина* ) показао је статистичку значајност у разликовању кандидата са НИБ-ом (  $p = 0,000$  ) са сензитивношћу од 80,2% и специфичношћу од 81,5%. Дефинитивно, упоређивањем наших са подацима претходних аутора можемо констатовати да смо добили сличне или чак убедљивије резултате.

Једно од објашњења за ту убедљивост смо већ поменули а то је што су сви наши испитаници били атопичари и астматичари због чега су били под истовременим утицајем атопијских фактора и хроничне инфламације у дисајним путевима.

У доступној литератури се могу срести и друга објашњења за овакав утицај атопије и неспецифичне реактивности на појаву НИБ - а. Према њима, механизам настанка атопијске инфламације у дисајним путевима је акутног карактера, повезан са непосредним контактом са алергенима, слично као што је и бронхоспазам на напор изазван непосредним дејством физичког напрезања, односно њиме изазване хипервентилације. Оваква подударност би могла да говори како о сличности патофизиолошких механизма, тако и о дејству на исти део дисајног стабла.

Са друге стране, неспецифична хиперреактивност дисајних путева је резултат хроничне инфламације односно хроничног процеса који у одређеној мери перзистира све време. Неспецифична хиперреактивност доприноси да алергени и физички напор лакше остваре окидачки ефекат код астматичара. Дакле и алергени и физички напор својим проинфламаторним ефектом појачавају степен хроничне инфламације у дисајним путевима астматичара што опет подстиче хиперреактивност.(127,145)

Поред атопије не треба заборавити ни проинфламаторни утицај инфекције дисајних путева, нарочито вирусне етиологије, која често имају субклинички ток. Иако о утицају ових инфекција на испољавање бронхијалне астме у раном детињству постоје опречна мишљења, њихов негативан утицај код одраслих није споран. Уколико поред свих наведених промена, дође до додатне појаве инфекције у дисајним путевима, патофизиолошки механизми астме бивају сложенији.(122,146)

Све претходно наведене чињенице указују да је хиперреактивност дисајних путева особена патофизиолошка промена у астми. На хиперреактивност утиче више фактора, а она омогућава многим чиниоцима да остваре своју покретачку, односно окидачку улогу.

Иzolовани утицај сваког од испитиваних чиниоца, било атопијске конституције било неспецифичне реактивности није довољан да у потпуности објасни истовремену појаву НИБ-а код оболелих одастме.

Удружено дејство свих поменутих фактора ствара услове да једни појачавају друге, а сви заједно још више доприносе појави НИБ-а. Истраживачи су се до сада углавном бавили парцијалним односом атопије и бронхијалне астме, или атопије и бронхоспазма на напор, притом не квантификујући неспецифичну реактивност дисајних путева код астматичара и не трагајући за истовременим постојањем бронхоспазма на напор.

У нашем истраживању смо настојали да утврдимо значај односно утицај атопијског статуса и неспецифичне реактивности на појаву и интензитет реактивности дисајних путева на напор код астматичара.

Резултати које смо добили, указали су нам на сложеност патофизиолошких механизма бронхијалне астме. Присуство појачане инфламације у дисајним путевима астматичара сигурно наглашава утицај других фактора који утичу на испољавање астматичног напада. Истовремено присуство хроничне инфламације и хиперреактивности код астматичара, доприноси снажнијем утицају и других механизма и фактора ризика на настанак и развој ове болести. Овде, пре свега, мислимо на атопијску конституцију и нервну регулацију које у присуству генетске предиспозиције додатно усложњавају ионако компликоване механизме настанка и испољавања бронхијалне астме.

Истраживање предиспонирајућих фактора, фактора погоршања бронхијалне астме и њихове међусобне повезаности, омогућило би боље разумевање патофизиолошких механизма и створило услове за боље лечење и контролу ове болести.

## **6. ЗАКЉУЧЦИ**

1. Испољавање бронхијалне астме у раном детињству, представља фактор ризика за појаву бронхоспазма на напор.
2. Рана појава бронхијалне астме може имати предикторни значај за постојање бронхоспазма на напор.
3. Бронхоспазам на напор је чешће присутан и његов интензитет је израженији код астматичара са позитивном породичном анамнезом за ову болест.
4. Астматичари са израженом атопијском конституцијом чешће имају бронхоспазам на напор.
5. Интензитет атопије и алергијске реакције на инхалационе алергене је директно сразмеран степену одговора дисајних путева астматичара на напор.
6. Неспецифична хиперреактивност и хиперсензитивност дисајних путева је израженија код астматичара који имају бронхоспазам на напор.
7. Степен неспецифичне реактивности дисајних путева астматичара је директно сразмеран са степеном реактивности на физички напор.
8. Неспецифична хиперреактивност дисајних путева и атопијска конституција имају предиктивни значај у појави бронхоспазма на напор код астматичара.

## **7. ЛИТЕРАТУРА**

1. Manniche L, Forman W. Sacred luxuries: fragrance, aromatherapy, and cosmetics in Ancient Egypt. New York, NY: Cornell University Press; 1999.
2. Murray and Nadel's textbook of respiratory medicine. (5th ed.). Philadelphia, PA: Saunders/Elsevier. 2010. pp. Chapter 38. 1-4160-4710-7
3. Opolski M, Wilson I . "Asthma and depression: a pragmatic review of the literature and recommendations for future research".Clin Pract Epidemiol Ment Health: 2005;1: 18.
4. Guilbert T, Krawiec M,Natural history of asthma.Pediatr.Clin, North Am. 2003; 50-523.
5. Louis R, Lau LC, Bron AO, Roldaan AC, Radermecker M, Djukanović R. The relationship between airways inflammation and asthma severity. Am J Respir Crit Care Med. 2000;161:9–16.
6. Global strategy for asthma management and prevention, UPDATED 2013. Global Initiativ for Asthma 2013; 2 - 8.
7. "World Health Organization Fact Sheet Fact sheet No 307: Asthma" 2013.
8. Grant EN, Wagner R, Weiss KB;. "Observations on emerging patterns of asthma in our society". J Allergy Clin Immunol 1999; 104: 1–9.
9. Anandan C, Nurmatov U, van Schayck OC, Sheikh A; "Is the prevalence of asthma declining? Systematic review of epidemiological studies". Allergy 2010;65 (2): 152–67.
10. World Health Organization Global surveillance, prevention and control of chronic respiratory diseases: a comprehensive approach 2007; 49: 15–20.
11. Centers for Disease Control and Prevention. "Vital signs: asthma prevalence, disease characteristics, and self-management education: United States, 2001–2009". MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep. 2011;60 (17): 547–52.



12. Fanta CH "Asthma". *New England Journal of Medicine*, March 2009; 360 (10): 1002– 14.
13. Lazarus SC "Clinical practice. Emergency treatment of asthma". *N. Engl. J. Med.* August 2010 ;363 (8): 755–64.
14. Getahun D, Demissie K, Rhoads GG; Demissie, "Recent trends in asthma hospitalization and mortality in the United States". *Journal of asthma* 2005; 42 (5): 373–8.
15. Wier LM, Hao Y, Owens P, Washington R. Overview of Children in the Emergency Department, 2010. HCUP , Agency for Healthcare Research and Quality 2013.
16. Viegi G, Annesi I, Mattelli G. Epidemiology of asthma. *Eur Respir Mon.* 2003;23, 1-25.
17. Gold DR, Wright R; "Population disparities in asthma". *Annu Rev Public Health* 2005; 26: 89–113.
18. Gold DR, Acevedo-Garcia D; "Immigration to the United States and acculturation as risk factors for asthma and allergy". *J Allergy Clin Immunol* 2005; 116 (1): 38–41.
19. Lara M, Akinbami L, Flores G, Morgenstern H; "Heterogeneity of childhood asthma among Hispanic children: Puerto Rican children bear a disproportionate burden". *Pediatrics* 2006; 117 (1): 43–53.
20. Davis AM, Kreutzer R, Lipsett M, King G, Shaikh N; ("Asthma prevalence in Hispanic and Asian American ethnic subgroups: results from the California Healthy Kids Survey". *Pediatrics* 2006; 118 (2): 363–70.
21. Johnson DB, Oyama N, LeMarchand L, Wilkens L; "Native Hawaiians mortality, morbidity, and lifestyle: comparing data from 1982, 1990, and 2000". *Pac Health Dialog* 2004; 11 (2): 120–30.
22. Barrett ML, Wier LM, and Washington R; "Trends in Pediatric and Adult Hospital Stays for Asthma, 2000-2010.". HCUP, Agency for Healthcare Research and Quality 2014.
23. Eldeirawi KM, Persky VW; "Associations of acculturation and country of birth with asthma and wheezing in Mexican American youths". *J Asthma*, 2006; 43 (4): 279–86.

24. Anderson HR; Gupta R; Strachan DP; "50 years of asthma: UK trends from 1955 to 2004". *Thorax* 2007; 62 (1): 85–90.
25. Bošnjak-Petrović V.; Bronhijalna astma, *Acta Clinica*. 2007; 7 (1):
26. The Asthma Epidemic. Waltraud Eder, M.D., Markus J. Ege, M.D., M.P.H., and Erika von Mutius, M.D. *N Engl J Med* 2006; 355:2226-2235.
27. Vincent SD, Toelle BG, Aroni RA, Jenkins CR, Reddel HK. Exasperations of asthma: a qualitative study of patient language about worsening Asthma. *Med J Aust* 2006; 184(9): 451-4.
28. Jenna R. Murdoch, Clare M. Lloyd, *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 2010; Volume 690, Issues 1–2, 24–39.
29. Jackson DJ, Gangnon RE, Evans MD, Roberg KA, Anderson EL, Pappas TE, et al. Wheezing rhinovirus illnesses in early life predict asthma development in high-risk children. *Am J Respir Crit Care Med*. 2008; 178(7):667–672.
30. Boulet LP, Asthma and obesity, *Clinical and Experimental Allergy*, 2013; 43(1):8-2.1
31. Martin RJ, Szefer SJ, King TS, Kraft M, Boushey HA, Chinchilli VM, et al. The Predicting Response to Inhaled Corticosteroid Efficacy (PRICE) trial. *J Allergy Clin Immunol*. 2007; 119(1):73–80.
32. Holgate ST, Polosa R. Treatment strategies for allergy and asthma. *Nat Rev Immunol*. 2008; 8(3):218–230.
33. Gounni A. S., B. Lamkhioued, K. Ochiai, Y. Tanaka, E. Delaporte, A. Capron, J. P. Kinet, and M. Capron. High-affinity IgE receptor on eosinophils is involved in defence against parasites. *Nature* 1994; 367:183–186.
34. Jarjour, N., W. Calhoun, E. Becky-Wells, G. Gleich, L. Schwartz, and W. Busse. The immediate and late-phase allergic response to segmental bronchopulmonary provocation in asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med* 1997; 155:1515–1521.

35. Haley, K. J., and J. M. Drazen. Inflammation and airway function in asthma: what you see is not necessarily what you get [Editorial;comment]. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*1998; 157:1–3.
36. Kraft, M., R. Djukanovic, S. Wilson, S. Holgate, and R. Martin. Alveolar tissue inflammation in asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*1996; 154:1505–1511.
37. Carroll, N., C. Cooke, and A. James.. The distribution of eosinophils and lymphocytes in the large and small airways of asthmatics. *Eur. Respir. J.* 1997;10:292–300.
38. Faul, J., V. Thorney, C. Leonard, C. Burke, J. Farmer, S. Horne, and L.Poulter.. The distribution of eosinophils and lymphocytes in the large and small airways of asthmatics. *Eur. Respir. J.*1997; 10:301–308.
39. Sebastian Lauer,Harald Renz, The advance of personalized and stratified therapies in bronchial asthma:Phenotypes-Endotiper – Biomarkers, *The Journal of the International Federation of Clinical Laboratory Medicine* 2013; 24: n 3-4
40. Kelly Wong McGrath, BA, AE-C and John V. Fahy, MD, MSc. Negative methacholine challenge tests in subjects who report physician-diagnosed asthma *Clin Exp.Allergy* januar 2011;41(1):46-51.
41. S.D. Anderson,V.Brusasco,T.Haahtela, and T.Popov. Criteria for diagnosis of asthma, EIB and AHR for athletes: Lessons from the Olympic Games. *Diagnosis,Prevention and Treatment of Exercise – Related Asthma, Respiratory and Allergic Disorde in Sports* 2010; 48- 66.
42. You-Me Kim, You-Sun Kim, Seong Gyu Jeon, and Yoon-Keun Kim  
Immunopathogenesis of Allergic Asthma: More Than the Th2 Hypothesis *Allergy Asthma Immunol Research* 2013; 5(4): 181 -188).
43. S.Siddiqui, F. Hollins, S. Saha, C.E. Brightling, Inflammatory cell microlocalisation and airway dysfunction: cause and effect? *Eur Respir J.* 2007; 30:1043–1056.
44. J. Kearley, K.F. Buckland, S.A. Mathie, C.M. Lloyd Resolution of allergic inflammation and AHR is dependent upon disruption of the T1/ST2-IL-33 pathway *Am. J. Respir. Crit. Care Med* 2009; 179 :772–781.

45. A. C. Drews, M. M. M. Pizzichini, E. Pizzichini, M. U. Pereira, and all. Neutrophilic airway inflammation is a main feature of induced sputum in nonatopic asthmatic children. *Allergy* 2009;64 (11): 1597–1601.
46. Alenka Gagro, Značenje fenotipova astme za terapijski odabir, *Medicus* 2011; 20 ( 2): 187 – 194.
47. Wenzel SE Asthma: defining of the persistent adult phenotypes., *Lancet* 2006; 368: 804–813.
48. V. Siroux, X. Basagaña, A. Boudier, I. Pin, Identifying adult asthma phenotypes using a clustering approach *ERJ* 2011; 38( 2): 310-317.
49. Asthma Phenotypes Task Force, World Allergy Congress, Buenos Aires 2009.
50. Agache, C. Akdis, M. Jutel and J. C. Virchow, Untangling asthma phenotypes and Endotypes, *Allergy* 2012; 67( 7):835–846.
51. Saenz SA, Taylor BC, Artis D. Welcome to the neighborhood: epithelial cell-derived cytokines license innate and adaptive immune responses at mucosal sites. *Immunol Rev.* 2008; 226:172–190.
52. Nirav R. Bhakta and Prescott G. Woodruff, Human asthma phenotypes: from the clinic, to cytokines, and back again *Immunol Rev.* 2011; 242(1): 220–232.
53. Shim JJ, Dabbagh K, Ueki IF, Dao-Pick T, Burgel PR, Takeyama K, Tam DC, Nadel JA. IL-13 induces mucin production by stimulating epidermal growth factor receptors and by activating neutrophils. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2001; 280:L134–140.
54. Zhu Z, Homer RJ, Wang Z, Chen Q, Geba GP, Wang J et al Pulmonary expression of interleukin-13 causes inflammation, mucus hypersecretion, subepithelial fibrosis, physiologic abnormalities, and eotaxin production. *J Clin Invest.* 1999; 103:779–788.
55. Akiho H, Blennerhassett P, Deng Y, Collins SM. Role of IL-4, IL-13, and STAT6 in inflammation-induced hypercontractility of murine smooth muscle cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2002; 282:G226–232.
56. Asja Stipić – Marković, Budućnost dijagnostike i liječenja astme, *Medicus* 2013;22(1):57-67.

57. Wenzel SE. Asthma phenotypes: the evolution from clinical to molecular approaches. *Nat.Med.* 2012; 18(5):716–725.
58. Pavord ID, Korn S, Howarth P, Bleecker ER, Buhl R, Keene ON, et al. Mepolizumab for severe eosinophilic asthma (DREAM): a multicentre, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet.* 2012; 380(9842):651–659.
59. A. C. Drews, M. M. M. Pizzichini, E. Pizzichini, M. U. Pereira, and all. Neutrophilic airway inflammation is a main feature of induced sputum in nonatopic asthmatic children. *Allergy.* 2009; 64, (11), 1597–1601.
60. Baineks KJ, Simpson JL, Wood LG i sur. Transcriptional phenotypes of asthma defined by gene expression profiling of induced sputum samples. *J Allergy Clin Immunol* 2011;127:153-60.
61. Gibson PG, McDonald VM, Marks GB. Asthma in older adults. *Lancet.* 2010; 376(9743):803–813.
62. Moffatt MF, Gut IG, Demenais F, Strachan DP, Bouzigon E, Heath S, et al. A large-scale, consortium-based genome wide association study of asthma. *N Engl J Med.* 2010; 363(13):1211–1221.
63. Goetghebuer T, Kwiatkowski D, Thomson A, Hull J. Familial susceptibility to severe respiratory infection in early life. *Pediatr Pulmonol.* 2004; 38(4):321–328.
64. Ana MC, Chiara V, Silvia C, et all. Probiotics and food allergy *Italian Journal of Pediatrics* 2013;39:47.
65. John D.B, and James AT. The Inflammatory Basis of exercise induced Bronchoconstriction *The Physician and Sportsmedicine* 2010;38(4):67-73.
66. Hallstrand TS, Moody MW, Aitken ML, Henderson WR Jr. Airway immunopathology of asthma with exercise-induced bronchoconstriction. *J Allergy Clin Immunol.* 2005; 116 (3):586–593.
67. Bosnjak B, Stelzmueller B, Erb KJ i sur. Treatment of allergic asthma: Modulation of Th2 cells and their responses. *Respiratory Research* 2011;12:114.

68. Wenzel S, Wilbraham D, Fuller R. Effect of an interleukin-4 variant on late phase asthmatic response to allergen challenge in asthmatic patients: results of two phase 2a studies. *Lancet* 2007;370:1422-31.
69. Uchida M, Shiraishi H, Ohta S, Arima K, Taniguchi K, Suzuki S, et al. Periostin, a matricellular protein, plays a role in the induction of chemokines in pulmonary fibrosis. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2012; 46(5):677–686.
70. Corren J, Lemanske RF, Hanania NA, Korenblat PE, Parsey MV, Arron JR et al. Lebrikizumab treatment in adults with asthma. *N Engl J Med.* 2011;365(12):1088–1098.
71. Brendan J. Canning, Ariel Woo, and Stuart B. Mazzone :Neuronal Modulation of Airway and Vascular Tone and Their Influence on Nonspecific Airways Responsiveness in Asthma, *Journal of Allergy* 2012; Volume (2012), Article ID 108149, 7.
72. S.D. Anderson, V. Brusasco, T. Haahtela, and T. Popov. Criteria for diagnosis of asthma, EIB and AHR for athletes: Lessons from the Olympic Games. *Diagnosis, Prevention and Treatment of Exercise – Related Asthma, Respiratory and Allergic Disorder in Sports*, 2010; 48- 66.
73. Teal S. Hallstrand, New Insights into Pathogenesis of exercise-induced Bronchoconstriction, *Curr. Opin Allergy Clin Immunol.* 2012;12(1)42-48.
74. Cockcroft D, Davis B. Direct and indirect challenges in the clinical assessment of asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2009;103(5):363-9.
75. William W. Busse, The Relationship of Airway Hyperresponsiveness and Airway Inflammation: Airway Hyperresponsiveness in Asthma: Its Measurement and Clinical Significance. *Chest.* 2010;138(2-suppl):4-10.
76. Anderson SD, Brannan JD. Bronchial Provocation Testing: The Future. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2011;11(1):46- 52.
77. Bateman ED, Hurd SS, Barnes PJ, Bousquet J, and all. Global strategy for asthma management and prevention: GINA executive summary. *Eur Respir J.* 2008;31:143–178.

78. Denlinger LC, Sorkness CA, Chinchilli VM, Lemanske RF., Jr Guideline-defining asthma clinical trials of the National Heart, Lung, and Blood Institute's Asthma Clinical Research Network and Childhood Asthma Research and Education Network. *J Allergy Clin Immunol.* 2007;119:3–11.
79. Moore WC, Meyers DA, Wenzel SE, Teague WG, et al. National Heart, Lung, and Blood Institute's Severe Asthma Research Program. Identification of asthma phenotypes using cluster analysis in the Severe Asthma Research Program. *Am J Respir Crit Care Med.* 2010;181:315–323.
80. Nicola S, Giuseppe M, Daniele Z, Laura C, Eva D, Simona R, et al. Effects of exercise training on airway responsiveness and airway cells in healthy subjects *Journal of Applied Physiology* 2010;109 (2):288-94.
81. Marc M, David S, Martin HB. Challenge of exercise-induced asthma and exercise-induced bronchoconstriction *Expert Review of Respiratory Medicine* 2009;3(1):13-19.
82. Kelly Wong McGrath, BA, AE-C and John V. Fahy, MD, MSc. Negative methacholine challenge tests in subjects who report physician-diagnosed asthma *Clin Exp. Allergy* januar 2011;41(1):46-51.
83. Jean Bousquet, Peter K. Jeffery, William W. Busse, Malcolm Johnson, and Antonio M. Vignola. Asthma From Bronchoconstriction to Airways Inflammation and Remodeling, *American Journal of respiratory and critical care medicine* 2000; 161,1728- 32.
84. Céline Bergeron, MD FRCPC MSc, Meri K Tulic, PhD, and Qutayba Hamid, MD PhD, Airway remodeling in asthma: From benchside to clinical practice, *Can Respir J.* 2010; 17(4): 85-93.
85. Busse WW, Lemanske RF, Jr. Asthma. *N England J Med* 2001; 344(5):350 -62.
86. Blumenthal MN, The role of genetics in the development of asthma and atopy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2005; 5 (2): 141-5.
87. Contopoulos – Ioannidis DG, Kouri IN, Ioannidis JP. Genetic predisposition to asthma and atopy. *Respiration* 2007; 74(1): 8- 12.
88. Park HS, Kim SH, Park CS. The role of novel genes in modifying airway response in asthma. *Curr Allergy Asthma Rrp.* 2006; 6(2): 112- 6.

89. Frick LO. Rana преосјетљивост. U: Osnovna i klinička imunologija. Stites DP, Stobo JD, Wells JV, eds; пријевод Dekaris D i sur. Savremena administracija, Beograd 1989; 65-80.
90. Bošnjak – Petrović V. Značajna pitanja o astmi 2003.
91. Backer V, Ulrik CS, Hansen KK, Laursen EM, Dirksen A, Bach-Mortensen N. Atopy and bronchial responsiveness in random population sample of 527 children and adolescents. *Ann Allergy*. 1992;69:116–122.
92. Plaschke P, Janson C, Norrman E, Björnsson E, Ellbjär S, Järholm B. Association between atopic sensitization and asthma and bronchial hyperresponsiveness in swedish adults: pets, and not mites, are the most important allergens. *J Allergy Clin Immunol*. 1999;104:58–65.
93. Kim BS, Jin HS, Kim HB, Lee SY, Kim JH, Kwon JW, et al. Airway hyperresponsiveness is associated with total serum immunoglobulin E and sensitization to aeroallergens in Korean adolescents. *Pediatr Pulmonol*. 2010;45:1220–1227.
94. Roberto Pelta Fernández et al. Risk Factors for Asthma Onset Between the Ages of 12 and 40: Results of the FENASMA Study *Arch Bronconeumol*. 2011;47:433-40.
95. Antonios Patelis, MD,<sup>a</sup> Maria Gunnbjörnsdóttir, MD,<sup>a</sup> Andrei Malinovschi, MD,<sup>a,b</sup> Per Matsson, PhD,<sup>c</sup> Annica Óneill, PhD,<sup>c</sup> Marieann Högman, PhD,<sup>a,d</sup> Kjell Alving, PhD,<sup>e</sup> and Christer Janson, MD<sup>a</sup> Population-based study of multiplexed IgE sensitization in relation to asthma, exhaled nitric oxide, and bronchial responsiveness. *J Allergy Clin Immunol* 2012;130:397-402.
96. Skobeloff B, Spivey WH, St Clair SS, Schoffstall JM, The influence of age and sex on asthma admissions. *JAMA* 1992; 268: 3437 – 3440.
97. Simpson A, Tan VY, Winn J, Svensén M, Bishop CM, Heckerman DE, Buchan I, Custovic A: Beyond atopy: multiple patterns of sensitization in relation to asthma in a birth cohort study. *Am J Respir Crit Care Med* 2010,181:1200-1206.
98. Pulimood TB, Corden JM, Bryden C, Sharples L, Nasser SM, Epidemic asthma and the role of the fungal mould *Alternaria alternate*. *J Allergy Clin Immunol* 2007; 120: 610-617.



99. B. Pevec, M. Radulović Pevec, A. Stipić Marković, I. Batišta Alergija na grinje kućne prašine - život s nevidljivim sustanarima *Acta Med Croatica* 2012; 66: 95-103.
100. Burney P. Asthma *Eur. Respir Mon* 2000; 15: 48 -66.
101. Gern JE, Reardon CL, Hoffman S, Nicole D, Li Z, Roberg KA. Et al. Effects of dog ownership and genotype on immune development and atopy in infancy. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 113 (2): 307 -14.
102. Goe SK, Hpnneberge PK, Reilly MJ, at al. A descriptive study of work aggravated asthma. *Occur Environmental Med.* 2004; 61:512 -17.
103. Inseon S. Choi, Won – Joon Ki. Seasonal factors Influencing exercise-induced Asthma, *Allergy Immunol Res.* 2012 ; 4 ( 4); 192 – 198.
104. Platts-Mills TA. Allergen avoidance. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 113: 388-91.
105. Antunes J, Borrego L, Romeira A, Pinto P: Skin prick tests and allergy diagnosis. *Allergol Immunopathol* 2009; 37(3):155-164.
106. Simons JP, Rubinstein EN, Kogut VJ, Melfi PJ, Ferguson BJ: Comparison of Multi-Test II skin immunopathologia 2009; 37(1):31–35.
107. Bernstein IL, Li JT, Bernstein DI, Hamilton R, Spector SL, Tan R, et al. Allergy diagnostic testing: an updated practice parameter.. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2008; 100(Suppl 3):1-148.
108. Ates A, Kinikli G, Turgay M, Aydoğan N, Duman M: The results of skin prick testing in patients with allergic rhinitis: a comparison between a multiple lancet device and a single lancet. *Asia Pac J Allergy Immuno* 2004; 22(2–3):109-114.
109. Portnoy JM, Amado M: Evidence-based allergy diagnostic tests. *Curr Allergy Asthma Rep* 2006; 6(6):455-461.
110. Heinzerling L, Mari A, Bergmann KC, Bresciani M, Burbach G, Darsow U et al. The skin prick test - European standards. *Clin Transl Allergy* 2013; 3(1):3.

111. Lewith GT, Kenyon JN, Broomfield J, Prescott P, Goddard J, Holgate ST: Is electrodermal testing as effective as skin prick tests for diagnosing allergies? A double blind, randomised block design study. *BMJ* 2001; 322(7279):131-134.
112. Chong Neto HJ, Rosario NA: Studying specific IgE: in vivo or in vitro. *Allergol Immunopathol (Madr)* 2009;37(1):31-35.
113. Han-Ki Park, Jae-Woo Jung, Sang-Heon Cho, Kyung-Up Min and Hye-Ryun Kang, What Makes a Difference in Exercise-Induced Bronchoconstriction: An 8 Year Retrospective Analysis, *PLoS One*. 2014; 9(1): e87155.
114. Taniguchi, M., N. Higashi, E. Ono, C. Oshikata H. Mita and K. Akiyama., Aspirin-induced asthma and the inflammatory mediator. *Allergy in Practice*, 2006;347: 533-538.
115. Goksör E, Amark M, Alm B, Gustafsson PM, Wennergren G. The impact of pre- and post-natal smoke exposure on future asthma and bronchial hyper-responsiveness. *Acta Paediatr.* 2007; 96(7):1030-5.
116. D'Amato G. Effects of climatic changes and urban air pollution on the rising trends of respiratory allergy and asthma. *Multidiscip Respir Med.* 2011 Feb 28; 6(1):28-37.
117. Sandhu MS<sup>1</sup>, Casale TB. The role of vitamin D in asthma *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2010;105(3):191-9.
118. Harri Hemilä, Mohammed Al-Biltagi and Ahmed A Baset Vitamin C and asthma in children: modification of the effect by age, exposure to dampness and the severity of asthma *Clinical and Translational Allergy* 2011, 1:9.
119. Teal S. Hallstrand, New Insights into Pathogenesis of exercise-induced Bronchoconstriction, *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2012;12(1):42-48.
120. Joshua L.K, Peter W.H, and Rhomas A.E, The role of allergy in severe asthma, *Clin Exp Allergy.* May 2012; 42 (5): 659 -669.
121. Sandra D. Anderson, PhD, DSc Indirect Challenge Tests: Airway Hyperresponsiveness in Asthma: Its Measurement and Clinical Significance *Chest.* 2010;138(2-suppl):25S-30.

122. Ilkka J Helenius, Heikki O Tikkanen, Tari Haahtela, Occurrence of exercise induced bronchospasm in elite runners: dependence on atopy and exposure to cold air an pollen, 1998; 32: 125 – 129.
123. Ridha Sallaoui, Karim Chamari, Abbas Mossa, Zouhair Tabka, Moktar Chtara, Youssef Feki and Mohamed Amri .Exercise-induced bronchoconstriction and atopy in Tunisian athletes BMC Pulmonary Medicine 2009, 9:8.
124. Jonathan P. Parsons, Teal S. Hallstrand, John G. Mastronarde and all An Official American Thoracic Society Clinical Practice Guideline: Exercise-induced Bronchoconstriction, American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine, 2013;187 ( 9):1016-1027.
125. Bhatra NR, Woodruff PG, Human asthma phenotypes: from the clinic, to cytokines, and back again. Immunol Rev 2011;242:220-32.
126. Krafzyk MA, Asplund CA , Exercise-induced bronchoconstriction: diagnosis and management. Am Fam Physician 2011;84:427-34.
127. Hallstrand TS, Moody MW, Wurfel MM, Schwartz LB, Henderson WR Jr, et al.) Inflammatory basis of exercise-induced bronchoconstriction. Am. J. Respir Crit Care Med 2005;172: 679–686.
128. Borish L, Culp JA, Asthma: a syndrome composed of heterogeneous diseases. Ann Allergy Asthma Immunol 2008;101:1-8.
129. Aberg N, Sundell J, Eriksson B, et al. Prevalence of allergic disease in school children in relation to family history, upper respiratory infections and residential characteristics. Allergy 1996;51: 232-237.
130. Janson C, Anto JM, Burney P, Chinn R, de Marco J, Heinrich D, Jarvis N, et al. The European Community Respiratory Health Survey: what are main results so far? Eur Respir J 2001;18: 598 – 611.
131. Radmila L.P, Slobodanka P i Jelena T. Astma u dečjem uzrastu i faktori rizika, Med Pregl 2010; LXIII (7-8): 516-521.
132. Holt P. Key factors in the development of asthma: Atopy. Am J Respir Crit Care Med 2000;161:172-175.

133. Arbes SJ Jr, Gergen PJ, Vaughn B, Zeldin DC. Asthma cases attributable to atopy: results from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *J Allergy Clin Immunol* 2007;120:1139-45.
134. Rusconi F, Galassi C, Forastiere F, Bellasio M, De Sario M, Ciccone G, et al. SIDRIA -2 Collaborative Group. Maternal complications and procedures in pregnancy and at birth and wheezing phenotypes in children. *Am J Respir Crit Care Med* 2007; 175: 16-21.
135. Andres RL, Day MC. Perinatal complications associated with maternal tobacco use. *Semin Neonatol*. 2000;5:231-41.
136. Peter Kronig and Simon Godfri. *Archives of Disease in Childhood*, 1973; 48: 513.
137. Barney P. Asthma. *Eur Respir Mon* 2000; 15:48-66.
138. Arruda LK, Sole D, Baena – Caonani CE, Naspietz CK. Risk factors for asthma and atopy. *Curr Opin Allergy Immunol* 2005;5(2):153 – 9.
139. Carosso A, Bugiani M, Migliore E, Anto JM, de Marco R. Values of total serum IgE and Their Significance in the Diagnosis of Allergy in Young European Adults. *Int Arch Allergy Immunol* 2007; 142: 230 – 238.
140. Pallasaho P, Ronmark E, Haahtela T, Sovijarvi AR, Lundback B. Degree and clinical relevance of sensitization to common allergens among adults: a population study in Helsinki, Finland. *Clin Exp Allergy* 2006;36:503-9.
141. Kerkhof M, Postma DS, Schouten JP, de Monchy JG. Allergic sensitization to indoor and outdoor allergens and relevance to bronchial hyperresponsiveness in younger and older subjects. *Allergy* 2003;58:1261-7.
142. Sandra D Anderson, Brett Charlton, John M Weiler, Sara Nichols, Sheldon L Spector, David S Pearlman. Comparison of Manitol and metaholin to predict exercise-induced bronchoconstriction and a clinical diagnosis of asthma.... *Respir Res*. 2009; 10(1): 4.
143. Inseon S C, Chng S.W, Koh Y.I and all. Airway hyperresponsiveness to hypertonic saline as a predictive index of exercise – induced bronchoconstriction, *Korean J Intern Med*. 2005 Dec; 20(4): 284–289.

144. Kersten E T, Driessen JM, van der Berg JD, Thio BJ, Mannitol and exercise challenge tests in asthmatic children, *Pediatr Pulmonol.* 2009 ;44(7):655-61.
145. Y.I Koh, I.S. Choi and H. lim Atopy may be related to exercise – induced bronchospasm in asthma *Clin Exp Allergy* 2002;32: 532 – 536.
146. Patellis A, Janson C, Borres MP, Nordvall L, Alving K, Malinovschi A. Aeroallergen and food IgE sensitization and local and systemic inflammation in asthma. *Allergy* 2014;69(3)380 -387