

Povezanost biljega teške astme s pušenjem duhana

Vukšić, Matea

Master's thesis / Diplomski rad

2020

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:862365>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-03**



Repository / Repozitorij:

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET**

Matea Vukšić

Povezanost biljega teške astme s pušenjem duhana

DIPLOMSKI RAD



Zagreb, 2020.

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET**

Matea Vukšić

Povezanost biljega teške astme s pušenjem duhana

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, 2020.

Ovaj diplomski rad izrađen je na Klinici za plućne bolesti Jordanovac, Kliničkog bolničkog centra Zagreb, pod vodstvom prof. dr. sc. Sanje Popović-Grle i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2019./2020.

POPIS KRATICA

ACQ – upitnik o kontroli astme (eng. *Asthma Control Questionnaire*)

ACT – test kontrole astme (eng. *Asthma Control Test*)

ADEPT – *Airways Disease Endotyping for Personalised Therapeutics*

AERD – aspirinom izazvana respiratorna bolest (eng. *aspirin-exacerbated respiratory disease*)

ATS – Američko torakalno društvo (eng. *American Thoracic Society*)

COX – ciklooksigenaza

CRP – C-reaktivni protein

DALY – nesposobnosti prilagođena godina života (eng. *Disability Adjusted Life Years*)

DPP4 – dipeptidil peptidaza 4

ECRHS – *European Community Respiratory Health Survey*

ERS – Europsko respiratorno društvo (eng. *European Respiratory Society*)

FeNO – udio izdahnutog dušika (eng. *Fraction of exhaled Nitric Oxide*)

FEV1 – volumen zraka izdahnut u prvoj sekundi (eng. *Forced Expiratory Volume in 1 second*)

FVC – forsirani vitalni kapacitet (eng. *Forced Vital Capacity*)

GINA – Globalna inicijativa za astmu (eng. *Global Initiative for Asthma*)

GM-CSF – čimbenik rasta granulocita i makrofaga (eng. *Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*)

ICS – inhalacijski kortikosteroidi (eng. *Inhaled corticosteroids*)

IFN – interferon

Ig – imunoglobulin

IL – interleukin

ILC2 – prirodene limfoidne stanice tipa 2 (eng. *Type 2 Innate lymphoid cells*)

ISAAC – *The International Study of Asthma and Allergies in Childhood*

KOPB – kronična opstruktivna plućna bolest

LABA – dugodjelujući beta₂ agonist (eng. *Long-Acting Beta₂-Agonist*)

LT – leukotrijen

LTRA – antagonisti receptora leukotrijena (eng. *Leukotriene receptor antagonist*)

MCP4 – protein kemotaksije monocita 4 (eng. *Monocyte chemotactic protein-4*)

MMP9 – metaloproteinaza 9

PEF – vršni protok zraka (eng. *Peak Expiratory Flow*)

PG – prostaglandin

pp – po potrebi

ppb – *parts per billion*

SABA – kratkodjelujući beta agonisti (eng. *Short acting beta-agonist*)

SARP – *Severe Asthma Research Program*

TENOR – *The Natural History of Asthma: Outcomes and Treatment Regimes*

Th2 – pomoćničke stanice tip 2 (eng. *T Helper Cell Type 2*)

TNF – čimbenik tumorske nekroze (eng. *Tumor necrosis factor*)

TSLP – timusni stromalni limfopoetin (eng. *thymic stromal lymphopoietin*)

U-BIOPRED – *Unbiased Biomarkers for the Prediction of Respiratory Disease Outcome*

YLD – godine života s nesposobnošću (eng. *Years Lived with Disability*)

SADRŽAJ

SAŽETAK / SUMMARY

| | |
|--|----|
| 1. Astma | 1 |
| 1.1. Epidemiologija | 2 |
| 1.1.1. Mortalitet | 2 |
| 1.1.2. Prevalencija astme u svijetu | 2 |
| 1.1.3. Prevalencija astme u Hrvatskoj | 3 |
| 1.2. Etiologija astme | 4 |
| 1.3. Dijagnostički kriteriji astme kod odraslih | 5 |
| 1.3.1. Procjena težine astme | 6 |
| 2. Teška astma | 7 |
| 2.1. Patofiziologija teške astme | 9 |
| 2.1.1. Imunopatogeneza | 9 |
| 2.1.2. Fenotipovi astme | 10 |
| 2.1.2.1. Eozinofilni (<i>T2-high</i>) endotip | 10 |
| 2.1.2.2. Ne-eozinofilni (<i>T2-low</i>) endotip | 12 |
| 2.2. Biomarkeri teške astme | 14 |
| 2.2.1. Biomarkeri eozinofilne astme | 14 |
| 2.2.2. Biomarkeri ne-eozinofilne astme | 15 |
| 3. Pušenje duhana | 17 |
| 3.1. Epidemiologija | 17 |
| 3.2. Pušenje i astma | 18 |
| 3.2.1. Utjecaj pušenja na biomarkere teške astme | 19 |
| 3.2.1.1. Utjecaj pušenja na eozinofile u sputumu | 20 |
| 3.2.1.2. Utjecaj pušenja na supstitucijske markere | 20 |
| 4. Biološka terapija u teškoj astmi | 21 |
| 5. Zaključak | 23 |
| 6. Zahvale | 24 |
| 7. Literatura | 25 |
| 8. Životopis | 37 |

SAŽETAK

POVEZANOST BILJEGA TEŠKE ASTME S PUŠENJEM DUHANA

Matea Vukšić

Pušenje duhana i astma zasebno predstavljaju javnozdravstvene probleme i iziskuju značajne zdravstvene troškove. Proučavanje patofizioloških mehanizama kojim pušenje i astma uzrokuju patološke promjene u dišnom sustavu vrlo je zahtjevan proces, pogotovo kada se pokušaju razumjeti u kombinaciji. Novije spoznaje o upalnom mehanizmu u astmi i podjela astme na endotipove i fenotipove predstavljaju novi korak u terapijskom pristupu bolesnicima s astmom, posebno onima koji boluju od teške astme. Pušenje kao okidač i modulator upalnog procesa utječe na endotip i fenotip astme te na biljege teške astme. Biljezi teške astme predstavljaju biološke markere koji se koriste u određivanju tipa astme te kao kriterij u primjeni trenutno dostupne biološka terapija za eozinofilni ili T2 tip astme. Utjecaj pušenja na biološke markere i mogući utjecaj na terapijski odgovor predmet je novijih istraživanja uzimajući u obzir da su pušači uglavnom bili isključivani iz ranijih istraživanja o astmi.

Ključne riječi: teška astma, pušenje, biološki markeri, fenotip, endotip

SUMMARY
ASSOCIATION OF SEVERE ASTHMA BIOMARKERS AND TOBACCO
SMOKING

Matea Vukšić

Smoking tobacco and asthma represent public health problems and carry a significant economic burden in healthcare. Studying the pathological mechanisms of smoking and asthma responsible for pathological changes in the respiratory system is challenging, especially when they are combined. Recent studies about the inflammatory mechanisms in asthma and classifying asthma into phenotypes and endotypes represent a new step in the therapeutic approach to asthma patients, especially those suffering from severe asthma. Smoking, as the inflammatory trigger and modulator, affects asthma endotype and phenotype, as well as the biomarkers of severe asthma. Biomarkers are used to assess the type of asthma and as a criteria for the use of currently available biologics in eosinophilic or T2 asthma type. The impact of smoking on biological markers and the potential impact on therapeutic response has been the subject of recent research taking into consideration that smokers have largely been excluded from the previous research.

Key words: severe asthma, smoking, biomarkers, phenotype, endotype

1. ASTMA

Astma, poznata kao bolest već tisućljećima, vuče korijene iz grčkog jezika od riječi koja znači teško, kratko disanje (1). Do sredine dvadesetog stoljeća bila je široki pojam i obuhvaćala je sve bolesti s teškim disanjem, pa i one koje su bile sekundarna posljedica drugih bolesti kao što su srčana i bubrežna insuficijencija. Sredinom dvadesetog stoljeća astma je definirana kao „stanje osobe s opsežnim suženjem dišnih puteva koje se mijenja u kratkom razdoblju spontano ili na primijenjenu terapiju“ i time dobila svoje konačno značenje isključivo plućne bolesti (2).

Astma je heterogena bolest za koju je karakteristična kronična upala dišnih puteva. Kronična upala povezana je s preosjetljivošću dišnih puteva koja dovodi do ponavljajućih epizoda „zviždanja“ u plućima, osjećaja nedostatka zraka, stezanja u prsima i kašlja koji se javljaju osobito noću i u rano jutro. Epizode ovih simptoma posljedica su opstrukcije dišnih puteva koja je često reverzibilna, spontano ili uz primjenu terapije (3).

1.1. Epidemiologija astme

Astma zahvaća različite dobne skupine u svim dijelovima svijeta te sa 339 milijuna oboljelih predstavlja zdravstveni problem globalnih razmjera. *The Global Asthma Report* iz 2018. godine rangirao je astmu kao 16. uzrok godina proživljenih s nesposobnošću (eng. YLD-*years lived with disability*) te kao 28. uzrok globalnog opterećenja bolesti mjenog u izgubljenim godinama zdravog života (eng. DALY-*disability-adjusted life years*). U 2016. godini astma je globalno pridonijela s 23.7 milijuna DALY-a (4,5).

1.1.1. Mortalitet

Smrtnost od astme postala je predmetom istraživanja nakon pojave epidemije smrti zbog ove bolesti na Novom Zelandu 60-ih i 70-ih godina prošlog stoljeća. Prevalencija mortaliteta porasla je za 10 puta u 5 godina. Smatra se da su smrti bile povezane s povećanom upotrebom izoproterenola i fenoterola jer je nakon prestanka upotrebe tih lijekova došlo do značajnog pada mortaliteta (6). Iako se nakon uvođenja kvalitetne protuupalne terapije smrtnost smanjila, ona i dalje postoji. Prema procjeni *The Global Asthma Report*-a iz 2018. godine, smrtnost od astme pridonosi s manje od 1% ukupnoj smrtnosti većine zemalja. Prema procjeni *The Global Burden of Disease Collaboration*, u 2016. godini u svijetu je od astme ukupno umrlo 420 000 ljudi – više od 1000 ljudi dnevno (4).

1.1.2. Prevalencija astme u svijetu

Prevalencija astme u svijetu kreće se između 1 i 18%, ovisno o geografskom području, a u zadnjih nekoliko desetljeća bilježi joj se značajan porast (7–9). Velike varijacije u prevalenciji astme dijelom su posljedica različitih definicija astme korištenih u istraživanjima. Rezultati prevalencije astme razlikuju se ako se epidemiološko praćenje definira prema upitniku o simptomima astme ili ako se broje osobe kojima je astmu dijagnosticirao liječnik ili ako osoba sama procjenjuje ima li astmu itd. Promatra li se jedan simptom astme bilo kada u životu pri praćenju djece školske dobi, dobivaju najviši postoci prevalencije, npr. prevalencija astme na Novom Zelandu od 27.2% ili 6,3% u Kini. Ako se kao kriterij rabi pozitivno inhalacijsko provokacijsko testiranje metakolinom, tada je prevalencija astme na Novom Zelandu 20%, a u Kini 4,1% (2).

Međunarodno istraživanje o astmi i alergijama u djetinjstvu (eng. ISAAC-*The International Study of Asthma and Allergies in Childhood*) provelo je istraživanje prevalencije astme u djece u velikom dijelu svijeta tijekom III faze. Na kraju I faze zaključeno je da se prevalencija astme u 155 zemalja svijeta razlikuje i do 20 puta. I faza uključivala je više od 100 zemalja i 2 milijuna djece i pokazala je visoku prevalenciju bolesti u zapadnim zemljama Europe i Latinskoj Americi, manju u istočnoj Europi, te nisku u Aziji i Africi (8,10–14). III faza obuhvaćala je 98 zemalja i registrirala je smanjenje prevalencije astme u zemljama Zapadne Europe te porast tamo gdje je ranije bila niska, posebno u zemljama s niskim i srednjim prihodima te velikim brojem stanovnika (11,13,14). Ovaj dvadesetogodišnji program pokazao je veličinu problema astme među dječjom populacijom kako razvijenih, tako i nerazvijenih država, što se protivilo dotadašnjem shvaćanju (8).

Prema rezultatima istraživanja ECRHS-a (*European Community Respiratory Health Survey*) prevalencija astme u Europi kreće se 2-3,3% u Italiji, Španjolskoj, Grčkoj, Njemačkoj i Austriji te 8-11,9% u Velikoj Britaniji, Australiji i Novom Zelandu.

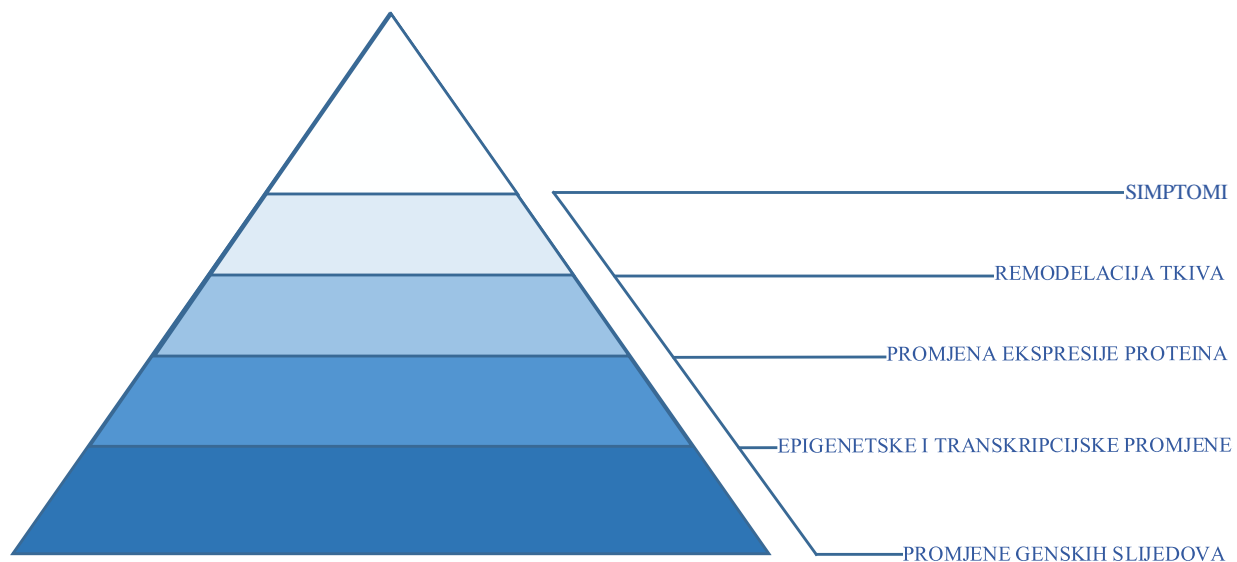
1.1.3. Prevalencija astme u Hrvatskoj

Prema ISAAC istraživanju provedenom u 5 centara u Hrvatskoj, prevalencija astme kod djece i u srednjoškolskoj populaciji srednje je visoka i iznosi 5-8%. Istraživanjem je pokazano da prevalencija atopijskih bolesti od 2000-ih u porastu u odnosu na zadnjih nekoliko desetljeća (15). U gradu Zagrebu prevalencija simptoma astme tijekom 12 mjeseci u djece u dobi od 14 godina bila je 2003. godine 6,02% (16), u Primorsko-goranskoj županiji u isto vrijeme, na uzorku djece iste dobi istom metodologijom simptomi astme bili su prisutni u 8,4% djece (17), dok je u Međimurskoj županiji taj postotak iznosio 5,1% (18). Prema ovim rezultatima prevalencija astme u dječjoj dobi niža je u kontinentalnoj Hrvatskoj nego u mediteranskom dijelu.

Trenutno ne postoji istraživanje prevalencije astme u općoj populaciji u Hrvatskoj, no uzevši u obzir prevalenciju astme u djece i srednjoškolaca od 5-8%, pretpostavlja se da prevalencija u općoj populaciji iznosi 3-4% (19).

1.2. Etiologija astme

Iako su poznati rizični faktori, kao i važnost međudjelovanja gena i okoliša, uzrok astme još uvijek je nepoznat i predmet je brojnih istraživanja. Procjenjuje se da se nasljednost astme kreće između 35% i 95% (20). Provedene su brojne studije koje su identificirale gene povezane s povećanim rizikom za razvoj astme (21) te je također dokazana važnost epigenetskih modifikacija (22). Spektar gena povezanih s razvojem astme je širok i raznolik, no uz transkripcijske faktore i epigenetsku modifikaciju uzrokovanu okolišem, svi dovode do sličnih histopatoloških promjena koje rezultiraju simptomima astme (23) (slika 1.). Respiratorne infekcije, posebice teške virusne infekcije u ranijoj dobi, povećavaju rizik za razvoj astme (24). Izlaganje čimbenicima iz okoliša kao što su cigaretni dim, onečišćenje zraka i ozon također povećavaju rizik za razvoj astme. Važno je spomenuti da se rizik za razvoj astme povezuje i s atopijskim bolestima i senzitivacijom na inhalacijske alergene (25). Predmet istraživanja su i brojni drugi čimbenici kao što su mikrobiom (26), vitamin D (27), stres (28) i prehrana (29).



Slika 1. Različiti okolišni čimbenici modificiraju način na koji će se eksprimirati genska varijabilnost koja leži u podlozi bolesti. Simptomi astme samo su „vrh sante leda“ ispod kojeg se krije kompleksan i heterogen patogenetski mehanizam.

1.3. Dijagnostički kriteriji astme kod odraslih

Prema GINA (*Global Initiative for Asthma*) smjernicama iz 2019. godine dijagnoza astme postavlja se na temelju pozitivne anamneze respiratornih simptoma kao što su sviranje u plućima, kratkoća daha, stezanje u prsima i kašalj te na temelju varijabilne opstrukcije protoka zraka (30).

1. Povijest varijabilnih respiratornih simptoma (sviranje u prsima, kratkoća daha, stezanje u prsima i kašalj)

- najčešće više od jednog simptoma (izolirani kašalj kod odraslih je rijetko astma)
- simptomi su promjenjivi i različitog intenziteta
- simptomi se pogoršavaju noću i u rano jutro
- simptomi su često isprovocirani vježbom, smijehom, alergenima, hladnim zrakom
- simptome pogoršava respiratorna virusna infekcija

2. Potvrda varijabilne opstrukcije protoka zraka

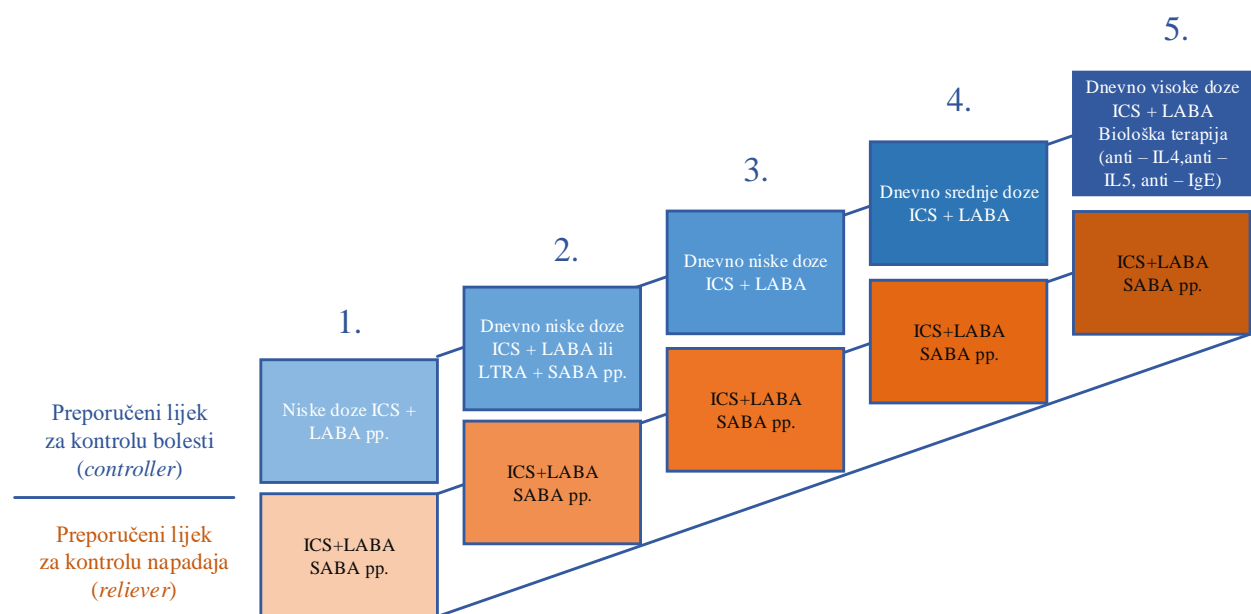
- pozitivan bronhodilatacijski test: povećanje FEV1 >12% odnosno >200 mL od inicijalno izmjerene vrijednosti 10-15 minuta nakon primjene bronhodilatatora (200-400 mcg albuterola ili njegovog ekvivalenta)
- varijabilnost vrijednosti PEF-a mjenog 2 puta dnevno kroz 2 tjedna: dnevna varijabilnost PEF-a >10%
- pozitivan test provokacije vježbanjem: smanjenje vrijednosti FEV1 <20% u odnosu na inicijalno izmjerenu vrijednost uz standardnu dozu metakolina ili histamina
- značajna varijabilnost plućne funkcije između posjeta: varijabilnost FEV1 >12% odnosno 200mL bez znakova respiratorne infekcije

1.3.1. Procjena težine astme

Težina astme procjenjuje se retrospektivno nakon nekoliko mjeseci primjene terapije koja je dovela do uspješne kontrole simptoma i egzacerbacija (30).

Prema posljednjim GINA smjernicama iz 2019.godine astma se prema težini dijeli na 3 stupnja:

1. Blaga astma – astma dobro kontrolirana s 1. ili 2. terapijskim korakom (slika 2.)
2. Umjerena astma – astma dobro kontrolirana 3. terapijskim korakom (slika 2.)
3. Teška astma – astma koja zahtjeva 4. ili 5. terapijski korak ili unatoč njegovoj adekvatnoj primjeni ostaje nekontrolirana (slika 2.)



Slika 2. Terapijski pristup liječenju astme odraslih i adolescenata. Napravljeno prema GINA 2019 smjernicama (30).

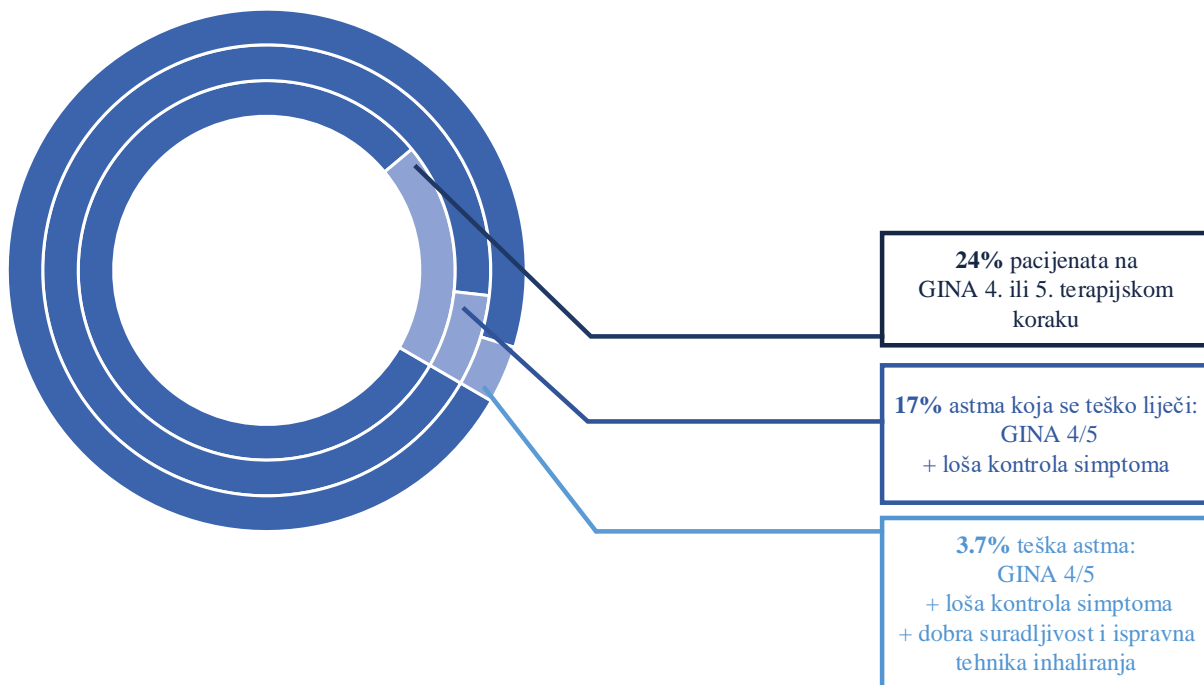
Koncept određivanja težine astme nadopunjuje se ACT (*Asthma Control Test*) i ACQ (*Asthma Control Questionnaire*) upitnicima.(31) Njihova upotreba poboljšava predviđanje rizika za buduće egzacerbacije (32).

2. TEŠKA ASTMA

Razlozi loše kontrolirane astme brojni su. Neke od njih čine pridružene bolesti gornjih dišnih puteva kao što je kronični sinusitis i sinonazalna polipoza, životna dob viša od 55 godina, ženski spol, pretilost i pušenje (33). Važan uzrok loše kontrole astme je neprimjerena suradljivost bolesnika pri čemu se naglašava važnost loše tehnike inhaliranja lijekova. Nekontrolirana astma (eng. *uncontrolled asthma*) podrazumijeva lošu kontrolu simptoma (o čemu zaključujemo na temelju učestalosti njihove pojave ili korištenja bronhodilatatora, ograničenja svakodnevnih aktivnosti i broja noćnih buđenja) i/ili česte egzacerbacije (dvije ili više u godini dana) koje zahtijevaju primjenu oralnih kortikosteroida ili teška egzacerbacija (jedna ili više u godini dana) koja zahtijeva hospitalizaciju (30).

Astma koja se teško liječi (eng. *difficult-to-treat asthma*) je astma koja za kontrolu simptoma zahtjeva terapijski korak 4 ili 5 (slika 2.) ili unatoč njegovoj primjeni ostaje nekontrolirana. U ovu skupinu ne ubrajamo pacijente čija kontrola bolesti nije adekvatna zbog neprimjerene suradljivosti, nepravilne tehnike inhaliranja lijeka, pušena ili komorbiditeta (30).

Teška astma (eng. *severe asthma*) u užem smislu predstavlja samo dio spektra astme koja se teško liječi (slika 3.), a odnosi se na astmu koja je nekontrolirana unatoč optimalnoj terapiji i kontroli pogoršavajućih čimbenika ili astmu koja se pogoršava kada se pokuša smanjiti terapijska doza. Astma se ne klasificira kao teška ako se poboljšava nakon ispravljanja tehnike inhaliranja ili poboljšanja suradljivosti pacijenta (30).



Slika 3. Udio pacijenata s teškom astmom i astmom koja se teško liječi u ukupnom broju pacijenata s astmom.

2.1. Patofiziologija teške astme

Potreba za detaljnim proučavanjem patofizioloških mehanizama astme izrodila se iz uočavanja kompleksnosti i heterogenosti ovog kliničkog entiteta. Astma je heterogena po pitanju težine kliničke slike, tijeka bolesti te odgovora na terapiju što proizlazi iz heterogenosti mehanizama koji su doveli do razvoja bolesti. U skladu s potrebama za individualnim pristupom pacijentima koji boluju od astme utemeljili su se novi pojmovi (fenotipovi i endotipovi) čija je svrha omogućiti primjenu ciljane terapije i uspostaviti što bolju kontrolu bolesti. Pojednostavljeno fenotipovi predstavljaju "promatrane karakteristike koje su rezultat kombinacije nasljednih i okolišnih čimbenika". Endotipovi se odnose na podležće patofiziološke mehanizme na staničnoj i molekularnoj razini (34).

2.1.1. Imunopatogeneza

Razumijevanje patogeneze astme krenulo je uočavanjem CD4⁺ T-staničnog odgovora kao dominantnog u upalnom procesu. Nakon otkrića Th1 i Th2 subpopulacija CD4⁺ limfocita, prepoznato je da je Th2 subpopulacija odgovorna za razvoj eozinofilne upale dišnih puteva stvaranjem velikih količina IL-4, IL-5 i IL-13 (34). Wenzel i suradnici (35) klasificirali su astmu ovisno o kortikosteroidima u dva podtipa ovisno o prisutnosti eozinofilije u dišnim putevima prije dva desetljeća. S vremenom su se iz njihove podjele formirala dva glavna endotipa astme: eozinofilna astma (eng. *Th2-high asthma*) i neozinofilna astma (eng. *Th2-low asthma*).

U novije vrijeme sve se više spominje i uloga ILC2 stanica (eng. *group 2 innate lymphoid cells*) koje, kao i Th2 stanice, imaju značajnu ulogu u tipu 2 imunskog odgovora (36–38). Iako su široko rasprostranjene u različitim tkivima, znatnije su zastupljene u tkivu dišnih puteva gdje proizvode velike količine IL-5 i IL-13 kao odgovor na alarmine, medijatore otpuštene iz epitelnih stanica u odgovoru na infekciju ili upalu. Budući da su Th2 stanice i ILC2 stanice zajedno primarni regulatori tipa 2 imunskog odgovora, naziv „Th2-high“ astma zamijenjen je s tip 2 ili T2 astma kako bi se istakla prisutnost i drugih imunoloških stanica koje su uključene u upalni proces (34).

2.1.2. Fenotipovi astme

Dugo se smatralo da se astma manifestira u obliku dva fenotipa: neatopična ili intrinzična, te atopična ili ekstrinzična. Kod djece i mladih najvišu prevalenciju ima atopična astma (eng. *early-onset atopic asthma*), dok se u starijoj dobi češće javlja neatopična astma. Ovi fenotipovi definirani su klasificiranjem pacijenata u grupe temeljene na varijabli kao što je težina bolesti, okidači, dob javljanja, egzacerbacije, opstrukcija dišnog puta (35,39). Noviji pristup temelji se na *cluster* analizi višestrukih komponenti u velikim kohortama kako bi se opisali i predvidjeli klinički fenotipovi i njihov molekularni mehanizam. U ove studije spadaju SARP (*Severe Asthma Research Program*) (40), U-BIOPRED (*Unbiased Biomarkers for the Prediction of Respiratory Disease Outcome*) (41) i ADEPT (*Airways Disease Endotyping for Personalised Therapeutics*) (42). Postignutim konsenzusom formirane su dvije velike skupine: eozinofilna (eng. *Th2-high*) i ne-eozinofilna (eng. *Th2-low*) grupa.

2.1.2.1. Eozinofilni (*T2-high*) endotip

Postoji niz različitih medijatora odgovornih za tip 2 imunološki odgovor koji je temelj razvoja ovog tipa astme i njihovo prepoznavanje okosnica je razvoja ciljane biološke terapije. Stanice s najznačajnijom ulogom u razvoju ovog endotipa su eozinofili. Na mjestu upale eozinofili otpuštaju upalne medijatore uključujući citokine (IL-13 i IL-5), kemokine (npr. eotaksin), te leukotrijene (LTC₄, LTD₄ i LTE₄) (34). Eozinofili sudjeluju u remodeliranju bronhalnog tkiva, konkretnije zadebljanju bazalne membrane, aktivirajući fibroblaste proizvodnjom fibroblastnih faktora (43). Osim eozinofila, mastociti i bazofili pridonose upali svojom ulogom u alergijskom odgovoru. Obje vrste stanica na svojoj površini izražavaju visokoafinitetne IgE receptore te se aktiviraju vezanjem IgE ili IL-33. U upalnom procesu kao odgovor na alergen stvara se specifični IgE koji se veže na visokoafinitetne FcεRI receptore koji su najzastupljeniji na mastocitima, te na niskoafinitetne FcεRII ili CD23 receptore na predočnim stanicama. Na taj način IgE posreduje prvom odgovoru na alergen aktivirajući mastocite, ali i inducira odgođenu reakciju koju karakterizira dolazak eozinofila i drugih upalnih stanica na mjesto upale (34). Prema novijim istraživanjima ekspresija FcεRI receptora mogla bi biti jedan od čimbenika u patogenezi remodeliranja bronhalnog tkiva pa bi tako IgE imao direktnu ulogu u remodeliranju tkiva kod teške astme (44).

Eozinofilnu astmu karakterizira tip 2 imunosti kojeg Th2 stanice stimuliraju proizvodnom citokina IL-4, IL-5 i IL-13, a manifestira se kao eozinofilija i visoki IgE titar. Važnu ulogu u patofiziološkom mehanizmu imaju alarmini (IL-25, IL-33, TSLP) i ILC2 stanice kao dio prirodene imunosti. Do otpuštanja alarmina dolazi vezanjem antigena za PRR receptore (eng. *pattern recognition receptors*) na epitelnim stanicama. Alarmini aktiviraju tip 2 imunološkog odgovora, odnosno ILC2 stanice. IL-33 i IL-25 aktiviraju ILC2 stanice, a TSLP predočne stanice. U nekim studijama gen za IL-33 bio je povezan s težinom egzacerbacije astme. IL-33 također uzrokuje remodeliranje u teškoj refrakternoj astmi (45). Istraživanjima je pokazano kako povećana ekspresija ovih markera u dišnim putovima asmatičara korelira s težinom bolsti (46–48). ILC2 stanice ne eksprimiraju na svojoj površini limfocitne antigene ni antigen-specifične receptore. Aktiviraju ih alarmini nakon čega one proizvode IL-5 i IL-13 i stimuliraju rani T2 odgovor. Njihovo otkriće dovelo je do promjene nomenklature iz *Th2-high* astma u tip 2 astma jer je prvi naziv implicirao da navedene citokine proizvode samo Th2 stanice (34). Od ostalih medijatora treba spomenuti prostaglandin D2 (PGD2) kojeg proizvode mastociti, a inducira vazodilataciju i povećaju vaskularnu permeabilnost. Istraživanjem je dokazano da prisutnost mastocita s većim potencijalom proizvodnje PGD2 rezultira lošijom kontrolom bolesti (49,50). Značajno povišene koncentracije PGD2 dokazane su u bronhoalveolarnom lavatu bolesnika s teškom astmom u odnosu na koncentraciju u pacijenata s blažim oblikom bolesti (49).

Klasifikacija T2 fenotipa astme:

1. Alergijska astma s početkom u ranoj dobi (eng. *early onset allergic asthma*) uobičajen je tip astme s početkom prije adolescencije (51) i često je udružen s alergijskim rinokonjuktivitisom i atopijskim dermatitisom (52). Za ovaj tip astme karakterističan je pozitivan alergijski kožni test (*prick test*) i povišena serumska razina specifičnog IgE (34).
2. Eozinofilna astma s početkom u kasnijoj dobi (eng. *late-onset allergic asthma*) obilježava učestala rezistencija na kortikosteroidnu terapiju (35), teža klinička slika (53) s fiksnom opstrukcijom dišnih putova, te prisutnost komorbiditeta kao što je kronični rinosinusitis i nazalni polipi. Ovaj fenotip nije povezan s atopijom. Obilježen je eozinofilijom u krvi i sputumu, visokom frakcijom izdahnutog dušika (FeNO) te normalnim ili povišenim ukupnim IgE koji vjerojatno ima manje značenje u etiopatogenezi (34).

3. Aspirinska astma (eng. *AERD-aspirin-exacerbated respiratory disease*) je podtip eozinofilne astme s početkom u kasnijoj dobi, ali se izdvaja zbog specifičnog mehanizma koji uzrokuje simptome. Riječ je o sindromu kojeg čine astma, kronični rinosinuitis s nosnom polipozom i egzacerbacija simptoma nakon uzimanja aspirina, odnosno nesteroidnih antireumatika (54). Iako mehanizam nastanka nije u potpunosti jasan neka od objašnjenja temelje se na aspirinskoj inhibiciji COX-1 i COX-2 enzima. Inhibicijom ovih enzima metabolizam arahidonske kiseline prelazi se s COX na 5-LOX mehanizam što dovodi do supresije rezidualnog PGE2 (nužnog za inhibiciju aktivacije mastocita i eozinofila) i rezultira prekomjernom proizvodnjom medijatora, kao što su leukotrijeni C4, D4 i E4, koji uzrokuju bronhokonstrikciju (34).

2.1.2.2. Ne-eozinofilni (T2-low) endotip

Iako je ne-eozinofilni endotip dokazan u gotovo 50% bolesnika s astmom te kod 37% bolesnika koji boluju od teške astme (55), mehanizmi njegova nastanka još uvijek nisu dovoljno istraženi. Zbog nepoznavanja mehanizma razvoja ovog endotipa astme on se trenutno opisuje nedostatkom markera eozinofilnog (T2) endotipa, kao što je eozinofilija. Općenito obilježje ne-eozinofilnog endotipa je neutrofilna (>40-60% neutrofila u sputumu) ili paucigranulocitna (uredan nalaz eozinofila i neutrofila u sputumu) upala te izostanak odgovora na kortikosteroidnu terapiju (56). Teška neutrofilna astma povezana je s pušenjem, pretilošću, infekcijom atipičnim bakterijama te abnormalnostima glatkih mišića (57). Uloga neutrofila u mehanizmu nastanka bolesti predmet je rasprava jer bi mogla biti samo posljedica visokih doza kortikosteroida (58). Do sada je mehanizam razvoja ovog endotipa povezan s aktivacijom Th1 i Th17 stanica. Prema nekim studijama aktivacija Th1 stanica praćena je proizvodnjom interferona gama (IFN- γ) u oko 50% bolesnika s teškom astmom. Povišena razina IFN- γ povezana je s visokom rezistencijom dišnih puteva, povećanim upalnim infiltratom i refrakternosti na kortikosteroidnu terapiju te njenim potencijalom pogoršanja upalnog procesa putem povećanja regrutiranja Th1 stanica (59). Zabilježena je povišena razina IL-17A i IL-17F u bronhalnom tkivu teških astmatičara (34). IL-17A potiče proliferaciju glatkih mišića bronha i odlaganje kolagena (60). IL-17F povezan je s učestalim egzacerbacijama (61). Osim IL-17, aktivnost IL-8 rezultira neutrofilnom upalom. Ekspresija kanala TRPV1 veća je kod teških astmatičara, a njegova stimulacija dovodi do stvaranja IL-8 i neutrofilne upale (62).

Klasifikacija ne-T2 (ne-eozinofilnog) endotipa

1. Astma povezana s pretilošću najčešće se javlja kod žena srednje dobi koje nisu atopičari, a unatoč relativno očuvanoj plućnoj funkciji imaju ozbiljne simptome (63). Ovaj fenotip povezan je s neutrofilnom ili paucigranulocitnom upalom s niskim brojem eozinofila (64,65). Uzrok nastanka ovog fenotipa može se povezati s upalom u adipoznom tkivu koju uzrokuju makrofagi (proizvodnjom IL-6, TNF-a) i leptin (66).

2. Astma povezana s pušenjem je neutrofilni, na kortikosteroidnu terapiju rezistentni fenotip. Mehanizam nastanka nije u potpunosti razjašnjen. Smatra se da oksidativni stres uzrokuje epigenetske modifikacije čija je posljedica aktivacija neutrofila i makrofaga (67). Pušenje također povećava rizik senzitivizacije na alergene i povećava ukupni IgE čime predstavlja poveznicu između astme i kronične opstruktivne plućne bolesti (KOPB). Relativno nedavno opisani sindrom preklapanja astme i KOPB-a obuhvaća pacijente sa značajnom povijesti pušenja i posljedičnom opstrukcijom dišnih puteva uz preklapajuća obilježja astme kao što su reverzibilnost na primjenu bronhodilatatora, eozinofilija i atopija (68).

3. Astma s vrlo kasnim početkom (>65 godina) (69) smatra se posljedicom starenja plućnog tkiva koje gubi svoja elastična svojstva. Imunosenescencija, proces starenja imunološkog sustava, također ima ulogu u razvoju ovog fenotipa astme (70). Obilježava je neutrofilija u sputumu kao posljedica Th1 i Th17 upalnog procesa (71).

2.2. Biomarkeri teške astme

Biomarker se definira kao „karakteristika koja se može objektivno izmjeriti i evaluirati, a indikator je normalnog biološkog procesa, patološkog procesa ili farmakološkog odgovora na terapijsku intervenciju“ (72). Identifikacija biomarkera nužna je za prepoznavanje endotipa teške astme i primjenu ciljane biološke terapije te je postala prioritet u istraživanju astme. Trenutno dostupni biomarkeri omogućavaju razlikovanje eozinofilnog (T2) od ne-eozinofilnog (ne-T2) tipa astme na temelju čega se vrši probir pacijenata koje se liječi trenutno dostupom T2 ciljanom terapijom.

2.2.1. Biomarkeri eozinofilne (T2) astme

U markere T2 fenotipa ubrajaju se povišen broj eozinofila u dišnim putevima kao glavni marker, te (kao njegova supstitucija) eozinofilija u perifernoj krvi, razina periostina u krvi, frakcija izdahnutog dušika (FeNO) i ukupni i alergeni-specifični IgE. Iako su eozinofili temeljni marker T2 fenotipa astme ne znači da su u mehanizmu razvoja bolesti temeljne upalne stanice, pa tako ni terapijsko djelovanje usmjereno na njihovo uklanjanje neće dati jednake rezultate u svim oblicima ovog fenotipa (34).

Eozinofili u induciranom sputumu ($\geq 3\%$) smatraju se zlatnim standardom za dokazivanje T2 fenotipa astme no rutinsko izvođenje ovog postupka ipak ne daje optimalne rezultate zbog nezgrapnog načina prikupljanja uzorka te mogućnosti uzorkovanja samo u specijaliziranim centrima.

Eozinofili u perifernoj krvi se po svom fenotipu razlikuju od eozinofila u plućima te se točnost njihove međusobne korelacije u studijama pokazala nekonzistentnom (34). Tako u nekim studijama eozinofili u perifernoj krvi nisu u potpunosti predstavljali njihovu prisutnost u dišnim putevima dovodeći u pitanje njihovu vrijednost kao biomarkera (73). Broj eozinofila u perifernoj krvi ne prikazuje uvijek adekvatno odgovor na biološku ciljanu terapiju. Supresija periferne eozinofilije anti-IL-5 lijekovima ne korelira uvijek s kliničkim odgovorom ili količinom eozinofila u induciranom sputumu (74). Iako je apsolutni broj eozinofila u perifernoj krvi široko korišten u praksi, čini se da nije dovoljno osjetljiv u identificiranju najtežih oblika T2 fenotipa astme. Uzrok može biti dijelom u inverznoj korelaciji između omjera eozinofila u sputumu i krvi s kliničkom težinom bolesti, posebice u astmi ovisnoj o kortikosteroidima (73).

Ukupni serumski IgE dobar je biomarker atopije. Razina serumskog IgE-a pozitivno korelira s težinom kliničke slike astme (75,76). Koristi se kao prediktor terapijskog odgovora na primjenu anti-IgE lijekova, ali ne kao marker praćenja odgovora na terapiju.

Alergen-specifični IgE u serumu kao odraz senzibilizacije na specifične alergene u direktnoj je korelaciji s vjerojatnošću pojave simptoma astme (75,76). Ova povezanost posebice je zamijećena u dječjoj populaciji gdje je povišeni titar specifičnog IgE uz prisutne simptome atopije i astme potvrđivao alergijsku astmu. Uloga ovog markera u praćenju aktivnosti ili kontrole bolesti nije u potpunosti jasna i treba se dalje ispitati.

FeNO (eng. *fractional excretion of nitric oxide*) predstavlja udio dušika u izdahnutom zraku. Dušikov oksid (NO) je produkt epitelnih stanica dišnih puteva, eozinofila i makofaga. FeNO pretežito označava IL-4 i IL-13 aktivnost te njegova koncentracija >50ppb (>35 ppb u djece) ukazuje na eozinofilnu upalu i odgovor na kortikosteroidnu terapiju (77). U kombinaciji s perifernom eozinofilijom predstavlja rizični faktor za preosjetljivost bronha i nekontroliranu astmu (78).

Periostin je protein izvanstaničnog matriksa koji stimulira degranulaciju eozinofila. Ekspresija periostina u tkivu bronha ne korelira s težinom kliničke slike, ali je marker perzistentne eozinofilne upale unatoč primjeni kortikosteroidne terapije (79). Razina periostina u serumu mogla bi biti korisna u predviđanju odgovora na T2 ciljanu biološku terapiju (80).

2.2.2. Biomarkeri ne-eozinofilne (ne-T2) astme

Za razliku od eozinofilne astme, znanje o biomarkerima ne-eozinofilne astme još uvijek je oskudno. Temelj raspoznavanja ovog endotipa je prisutnost neutrofilije u krvi/sputumu. Kod zdravih osoba neutrofili i makrofagi dominantne su stanice u induciranom sputumu. U urednom nalazu neutrofili čine 37% stanica dok su kod pacijenata s ne-eozinofilnom astmom vrijednosti neutrofila u sputumu između 40% i 76% (81). Međutim, nije u potpunosti jasno jesu li ovi neutrofili klinički relevantni ili su samo nusprodukt upalnog procesa. Također, prisutnost neutrofilije može biti posljedica primjene visokih doza kortikosteroida, izlaganja cigaretnom dimu ili bakterijske infekcije.

Nekoliko citokina povezuje se s neutrofilnim tipom upale. Il-6 se pokazao kao potencijalnim biomarkerom za težinu astme u pretilih. Postoji čvrsta poveznica između težine bolesti i koncentracije IL-16 i prije i nakon korekcije indeksa tjelesne mase. Njegova koncentracija se povećava tijekom virusne infekcije koja je jedan od glavnih uzroka egzacerbacije astme (65).

Iako IL-17 stimulira neutrofilnu upalu i njegova povišena koncentracija dokazana je u sputumu i biopsiji bronhalnog tkiva, njegova točna uloga u mehanizmu nastanka teške astme nije poznata (82–85). Randomizirana studija blokade IL-17 koristeći lijek brodalumab (anti-IL17RA monoklonsko protutijelo) u teškoj astmi pokazala se neučinkovitim (86).

Od ostalih potencijalnih biomarkera ne-eozinofilne astme spominju se CRP (87), metaloproteinaza 9 (MMP9), TNF α i biomarkeri oksidativnog stresa (81).

Tablica 1. Prikaz surogat biomarkera koji se koriste za fenotipizaciju teške astme prema broju stanica u induciranom sputumu (81).

| | Eozinofilna astma | Neutrofilna astma |
|---|-----------------------------|--|
| Biomarkeri koji se primjenjuju u kliničkoj praksi | FeNO | |
| | broj eozinofila u krvi | |
| | ukupni IgE u serumu | |
| | serumski periostin | |
| Potencijalno korisni biomarkeri | eotaxin-2, IL-5, DPP4, MCP4 | IL-17, IL-8, CRP, IL-6, MMP9, TNF α |

3. PUŠENJE DUHANA

Iako je pušenje duhana prisutno u Europskom društvu još od 15. stoljeća, tek su se početkom 20. stoljeća javile prve sumnje na njegovu povezanost s karcinomima usne šupljine i larinksa. Jedan od značajnijih znanstvenih radova koji je pridonio privlačenju pažnje na ovu problematiku objavljen je 1954. godine u časopisu *British Medical Journal* pod naslovom „*The Mortality of Doctors in Relation to Their Smoking Habits*“. Autori članka, Doll i Hill, na temelju podataka sakupljenih tijekom kohortnog istraživanja koje je trajalo 29 mjeseci, donijeli su inicijalne zaključke o povezanosti pušenja i rizika za razvoj karcinoma (88). Praćenje se nastavilo kroz idućih 50 godina i rezultiralo je brojnim spoznajama o utjecaju pušenja na zdravlje. Zaključeno je da polovica pušača umire od bolesti povezanih s pušenjem, a pola od njih umire u srednjoj životnoj dobi. Prestanak pušenja u bilo kojoj dobi učinkovit je u zaustavljanju daljnjeg smanjivanja očekivanog životnog vijeka iako se taj učinak smanjuje s godinama (89,90). Prvi pregled literature koji je ukazivao na moguću kauzalnu povezanost pušenja duhana s različitim stanjima objavljen je 1964. godine u Sjedinjenim Američkim Državama pod nazivom *Smoking and Health: Report of the Advisory Committee to the Surgeon General of the Public Health Service*. Danas je poznato da pušenje uzrokuje niz različitih bolesti kao što je koronarna arterijska bolest, kronična opstruktivna plućna bolest (KOPB), karcinomi u svim organskim sustavima te narušava reproduktivno zdravlje (91).

3.1. Epidemiologija

2014. godine 23% svjetske populacije bili su pušači, 32% od ukupnog broja muškarca i 7% od ukupnog broja žena. Najveću prevalenciju pušača imala je Istočna i Sjeveroistočna Azija s 45% pušača u ukupnoj populaciji, a najnižu prevalenciju imala je Sjeverna Amerika i Karibi s 20% pušača u ukupnoj populaciji (92). Prema podacima studije *Global Burden of Disease* iz 2017. godine pušenje je predstavljalo prvi uzrok prijevremene smrti muškaraca (93). Prema istraživanju Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo iz 2015. godine u općoj populaciji Hrvatske pušilo je 31,1% stanovništva od čega su 27,5% bili svakodnevni pušači, a 3,6% povremeni pušači. Gledano prema spolu 35,3% muškaraca bili su pušači, dok je od ukupnog broja žena pušilo 27,1%.

3.2. Pušenje i astma

Poznato je da pušači češće obolijevaju od astme nego nepušači, iako nije u potpunosti jasno je li pušenje i uzrok astme (94). Aktivno pušenje povećava rizik za razvoj astme kod adolescenata (95,96). Pasivno pušenje također je promatrano kao mogući uzrok astme (94,97). Djeca čije su majke bile pušačice češće su obolijevala od astme (97). Klinička slika pušača s astmom je teža (98). Pušači s astmom imaju češće i teže egzacerbacije, zahtijevaju češće intenzivno liječenje uz invazivnu ventilaciju i imaju viši mortalitet (99).

Postoji niz pretpostavljenih mehanizama utjecaja duhana na astmu kao što je negativan utjecaj na imunološki sustav dišnih puteva i izazivanje upalne reakcije. Duhanski dim aktivira neutrofile putem aktivacije makrofaga i drugih imunoloških stanica (100). Duhanski dim također modificira mikrobiom dišnih puteva što pridonosi razvoju neutrofilne upale (101). Duhanski dim uzrokuje kroničnu hipersekreciju sluzi, egzacerbacije i nedostatan terapijski odgovor (102). U novijim istraživanjima U-BIOPRED kohorte bolesnika s teškom astmom dokazana je povišena razina sistemnog oksidativnog stresa uzrokovanog duhanskim dimom (103).

Pušenje ima negativan utjecaj na plućnu funkciju (96,102,104). U epidemiološkoj studiji koja je pratila skupinu ispitanika od rođenja do 38. godine među osobama koje su razvile astmu pušenje je bilo povezano s nižim vrijednostima FEV1 i nižim FEV1/FVC (96). Utjecaj na sniženje vrijednosti FVC razlikuje se u istraživanjima (96,102). U istraživanju koje je 12 godina pratilo pacijente s astmom nastaloj u odrasloj dobi potvrdilo je rezultate prijašnjih istraživanja, ali uz povezivanje brzine narušavanja plućne funkcije s pušačkim godinama (koje se izračunaju množenjem broja popušanih kutija dnevno s brojem godina pušenja). Prema njihovim rezultatima smanjenje vrijednosti FEV1, FVC i FEV1/FVC bilo je značajno izraženije kod pacijenata koji su pušili više od 10 pušačkih godina (eng. *pack years*), bez obzira na to jesu li prestali pušiti ili ne (105).

Procjenjuje se da tešku astmu ima oko 5-10% pacijenata s astmom, ali prevalencija aktivnih i bivših pušača u ovoj skupini nije precizno procijenjena jer su pušači s dugim pušačkim stažem uglavnom bili isključivani iz istraživanja teške astme. U kohortnim istraživanjima TENOR (106) i *British Thoracic Society Severe Asthma Registry* (107) teški pušači nisu isključeni iz studije te je postotak aktivnih pušača među pacijentima koji su bolovali od teške astme iznosio 4% i 6%, a jedna trećina bili su bivši pušači (106,107).

3.2.1. Utjecaj pušenja na biomarkere teške astme

Prema istraživanju iz 2013. godine (Thomson) (108), aktivni pušači koji su bolovali od teške astme imali su smanjen udio eozinofila u sputumu, niže vrijednosti FeNO te rjeđe dokazanu senzibilizaciju na specifične alergene u odnosu na pacijente s teškom astmom koji nisu nikada pušili. Bivši pušači s teškom astmom imali su također povišene vrijednosti neutrofila u sputumu i rjeđe zabilježenu senzibilizaciju na specifične alergene u odnosu na pacijente s teškom astmom koji nisu nikada pušili, a udio eozinofila u sputumu i vrijednosti FeNO bile su slične u obje grupe. Na temelju tih podataka pretpostavilo se da pušenje utječe na upalni fenotip teške astme. Aktivni pušači imali su dominantno ne-eozinofilni fenotip u sputumu, dok je kod bivših pušača bio prisutan eozinofilni fenotip, ali uz povišene vrijednosti neutrofila u sputumu (108).

Neke od kasnije provedenih studija pokazale su da se fenotip teške astme uveliko razlikuje među pušačima. *Cluster* analiza teške astme pušača provedena u Japanu 2017. godine na uzorku od 127 pacijenata s teškom astmom svrstala je pacijente u 5 različitih skupina. Tri skupine činili su pušači, a razlikovali su se prema obilježju upale dišnih puteva. Jednu su činili pušači s fiksnom opstrukcijom dišnih puteva čiji je medijan pušačkih godina bio viši od ostalih, a njegova obilježja bila su niska razina eozinofila, IgE i FeNO, što odstupa od obilježja tipične eozinofilne astme. Drugu skupinu činili su pušači s obilježjima tipične eozinofilne astme, visokom razina eozinofila u sputumu i krvi, visokim FeNO i IgE. Treću skupinu činili su pušači s nižim medijanom pušačkih godina s predominantno neutrofilnom upalom slične prirode kao u prethodno opisanoj skupini, no različit profil citokina u sputumu ipak je ukazao na različitu patogenezu (109).

Iako pušenje nedvojbeno utječe na fenotip astme, težinu kliničke slike, terapijski odgovor i ishod bolesti, za procjenu fenotipa teške astme pušača te kao kriteriji za primjenu dosada dostupne biološke terapije koriste se klinički prihvaćeni biološki markeri eozinofilne (T2) astme, a to je kao zlatni standard broj eozinofila u sputumu te njegovi supstitucijski markeri: broj eozinofila u perifernoj krvi, FeNO, ukupni IgE i periostin. Ostali mogući fenotipovi astme pušača kao i njihovi biomarkeri te za njih ciljana biološka terapija još su predmet istraživanja i nisu primjenjivi u praksi.

3.2.1.1. Utjecaj pušenja na eozinofile u sputumu

Pušenje se u dosadašnjim studijama uglavnom povezivalo s neutrofilnom upalom dišnih puteva pacijenata koji boluju od astme (108,110). SATS studija provedena u Danskoj 2018. godine na kohorti koja se sastojala od bolesnika s dijagnosticiranom teškom astmom prikazala je poveznicu između eozinofilne upale i pušačkog staža izraženog u pušačkim godinama. Pokazali su da je eozinofilija dišnih puteva u teškoj astmi signifikantno povezana s pušačkim stažem ≥ 10 pušačkih godina naglasivši tako problematiku razumijevanja utjecaja pušenja na upalni odgovor u teškoj astmi, ali i potrebu kategoriziranja pacijenata prema povijesti pušenja izraženoj u pušačkim godinama (111).

3.2.1.2. Utjecaj pušenja na supstitucijske markere

Zamjenski markeri FeNO i broj eozinofila u perifernoj krvi najčešće su promatrani markeri jer su pokazali najbolju korelaciju s brojem eozinofila u sputumu, posebice ako se promatraju zajedno (112). Istraživanja njihove točnosti kod pušača s teškom astmom često su davala konfliktne rezultate. Diskrepanca između eozinofila u krvi i eozinofilije u dišnim putevima može se objasniti kao posljedica primjene visokih doza inhalacijskih ili oralnih kortikosteroida kod ovih pacijenata (113). Prema nekim istraživanjima vrijednosti FeNO bile su niže kod pušača (114). Studija objavljena u časopisu *European Respiratory Journal* 2015. godine pokazala je da vrijednost eozinofila u krvi i FeNO kod pušača i bivših pušača nema negativan utjecaj na procjenu eozinofilije u sputumu, odnosno pokazali su se validnim biomarkerom eozinofilne upale u ovim skupinama (112).

Utjecaj pušenja na vrijednosti periostina i IgE značajnije su nego utjecaj na FeNO i broj eozinofila u krvi. Zabilježena je snižena vrijednost periostina kod pušača u odnosu na nepušače i njegova slaba korelacija s brojem eozinofila u sputumu kod ovih bolesnika (115). Prema nekim istraživanjima ukupna razina IgE u serumu aktivnih i bivših pušača bila je viša u odnosu na osobe koje nikada nisu pušile (116) te on kod pušača s astmom ne pridonosi točnosti procjene eozinofilije u dišnim putevima (112).

4. BIOLOŠKA TERAPIJA U TEŠKOJ ASTMI

Prve European Respiratory Society (ERS)/American Thoracic Society (ATS) smjernice o dijagnosticiranju i liječenju teške astme kod odraslih i djece školske dobi objavljene su 2014. godine (117). Naglasak se stavlja na potvrđivanje točnosti dijagnoze astme i isključivanje stanja koja je mogu oponašati. Teška astma opisana je kao heterogeni entitet u koji se između ostalog ubraja i teška eozinofilna astma. Izdane su posebne preporuke za upotrebu broja eozinofila u sputumu i FeNO u vođenju terapijskog postupka. Prvi puta preporučena je upotreba anti-IgE protutijela omalizumaba u teškoj astmi (117).

Od tada do danas u upotrebi je još nekoliko bioloških lijekova koji ciljano djeluju na upalne komponente eozinofilnog (T2) tipa astme (118). Biološki lijekovi koji ciljano djeluju na ne-eozinofilnu astmu još uvijek nisu dostupni, a neke od njihovih ciljnih molekula mogle bi biti TNF α , Th17 stanice, IL-8, GM-CSF (119).

Tablica 2. Prikaz ciljnih molekula i pripadajućih monoklonskih protutijela koja se koriste u biološkoj terapiji astme.

| Ciljna molekula | Monoklonsko protutijelo |
|-----------------|-------------------------|
| IgE | omalizumab |
| IL-5 | mepolizumab, reslizumab |
| IL-5R | benralizumab |
| IL-4/IL-13 | dupilumab |

Kao glavni prediktor odgovora na terapiju anti-IgE lijekovima (omalizumab) koristi se ukupni serumski IgE. Doza omalizumaba računa se prema ukupnom serumskom IgE ($\text{IU} \cdot \text{mL}^{-1}$) i tjelesnoj masi (kg) (120,121). U ERS/ATS smjernicama objavljenima 2020. godine raspravljeno je pitanje upotrebe ostalih biomarkera u procjeni terapijskog odgovora na anti-IgE terapiju. Preporuka je upotrebljavati broj eozinofila u perifernoj krvi ($\geq 260 \mu\text{L}^{-1}$) i FeNO (≥ 19.5 ppb) u izboru bolesnika koji bi od ove terapije imali koristi, ali s oprezom jer postoje bolesnici koji mogu dobro odgovoriti na ovu terapiju, a imaju vrijednosti biomarkera ispod preporučenih vrijednosti koje se koriste kao granične. Upotreba periostina nije preporučena (118).

Kao glavni prediktor odgovora na anti-IL-5/IL-5R terapiju upotrebljava se broj eozinofila u perifernoj krvi. Preporuke o graničnoj vrijednosti razlikuju se. Prema GINA smjernicama (30) iz 2019. godine predlaže se da ta vrijednost bude $\geq 300 \mu\text{L}^{-1}$, a novije ERS/ATS smjernice (118) iz 2020. godine predlažu da ta vrijednost bude $\geq 150 \mu\text{L}^{-1}$. Zbog ograničenih podataka o vrijednostima drugih biomarkera (eozinofili u sputumu, FeNO i periostin) njihova upotreba u procjeni mogućeg terapijskog odgovora na anti-IL5 terapiju nije primjenjiva (118).

Preporuka o upotrebi anti-IL-4/IL-13 (dupilumab) terapije u liječenju teške astme razlikuje se. GINA smjernice (30) iz 2019. godine predlažu upotrebu ove terapije u bolesnika s teškom eozinofilnom (T2) astmom koja zahtjeva visoke doze inhalacijskih ili oralnih kortikosteroida, dok novije ERS/ATS smjernice predlažu upotrebu ove terapije bez obzira na broj eozinofila i u bolesnika s teškom astmom koja zahtjeva liječenje visokim dozama (118).

Problematika primjene biološke terapije kod pušača rezultat je strogih zahtjeva za uključivanje pacijenata u randomizirana kontrolirana klinička ispitivanja. Pušači s astmom često su isključeni iz ispitivanja kako bi se izbjegla nenamjerna zabuna s KOPB-om (118). Iako pušači s teškom astmom imaju pristup biološkoj terapiji ako za nju imaju dokazane potrebne dijagnostičke kriterije, utjecaj pušenja na njenu djelotvornost nije dovoljno istražen (122,123).

5. ZAKLJUČAK

Pušenje duhana ima vrlo kompleksan i nerazjašnjen utjecaj na bolesnike s astmom. Smatra se rizičnim čimbenikom za razvoj astme, utječe na težinu kliničke slike, povećava broj egzacerbacija, umanjuje odgovor na kortikosteroidnu terapiju i povećava mortalitet. Pitanje utjecaja na djelotvornost biološke terapije još uvijek je neodgovoreno. Razumijevanje utjecaja pušenja na pacijente s astmom posebno otežava činjenica da su pušači uglavnom isključivani iz istraživanja jer je postojala mogućnost da nedijagnosticirani KOPB utječe na rezultate. Iako će se na temelju novih saznanja iz studija koje su pušače uključili u praćenje mijenjati terapijski pristup tim bolesnicima, u kontroli njihove bolesti „zlatni standard“ će i dalje biti poticanje na prestanak pušenja.

6. ZAHVALE

Zahvaljujem mentorici prof. dr. sc. Sanji Popović-Grle na pomoći i riječima podrške pri izradi ovog diplomskog rada u okolnostima u kojima smo se zatekli.

Ovaj diplomski rad posvećujem svojim roditeljima Branki i Radi, bratu Marku i dečku Ivanu. Vaša podrška, strpljenje i ljubav prema meni neizostavan su dio svakog mog uspjeha.

7. LITERATURA

1. Astma. U: Hrvatska enciklopedija, mrežno izdanje [Internet]. Leksikografski zavod Miroslav Krleža; Dostupno na: <https://www.enciklopedija.hr>. Datum pristupa: 10.4.2020.
2. Popović-Grle S. Epidemiologija i značenje astme. U: Astma. Samaržija M. ur. Medicus 2013;22(1):7-12.
3. Colledge NR, Walker BR, Ralston SH. Davidson 's Principles & Practice of Medicine. Churchill Livingstone Elsevier. 2010;567-573.
4. Global Asthma Network. the Global Asthma Report 2018. Auckland, New Zealand. 2018. Dostupno na: <http://globalasthmanetwork.org>. Datum pristupa: 24.2.2020.
5. World Health Organization N. The Global Burden of Disease: 2004 update. Dostupno na: https://www.who.int/healthinfo/global_burden_disease/GBD_report_2004update_full.pdf. Datum pristupa 24.2.2020.
6. Stolley PD, Schinnar R. Association between asthma mortality and isoproterenol aerosols: A review. *Prev Med (Baltim)*. 1978; 7:519-538.
7. Braman SS. The global burden of asthma. U: *Chest*. 2006;130(1):4-12.
8. Asher MI, Keil U, Anderson HR, Beasley R, Crane J, Martinez F, et al. International study of asthma and allergies in childhood (ISAAC): Rationale and methods. U: *European Respiratory Journal*. 1995;8:483-491.
9. Beasley R. The burden of asthma with specific reference to the United States. U: *J Allergy Clin Immunol*. 2002;109(5):482-9.
10. Asher MI. Worldwide variations in the prevalence of asthma symptoms: The International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC). U: *Eur Respir J*. 1998;12:315-335.
11. Asher MI, Montefort S, Björkstén B, Lai CK, Strachan DP, Weiland SK, et al. Worldwide time trends in the prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis, and eczema in childhood: ISAAC Phases One and Three repeat multicountry cross-sectional surveys. U: *Lancet*. 2006;368(9537):733-743.

12. Patel SP, Järvelin MR, Little MP. Systematic review of worldwide variations of the prevalence of wheezing symptoms in children. U: *Environmental Health: A Global Access Science Source*. 2008; 10;7:57.
13. Pearce N, Aït-Khaled N, Beasley R, Mallol J, Keil U, Mitchell EA, et al. Worldwide trends in the prevalence of asthma symptoms: Phase III of the International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC). U: *Thorax*. 2007;62(9):758-66.
14. Pearce N, Sunyer J, Cheng S, Chinn S, Björkstén B, Burr M, et al. Comparison of asthma prevalence in the ISAAC and the ECRHS. ISAAC Steering Committee and the European Community Respiratory Health Survey. *International Study of Asthma and Allergies in Childhood*. U: *Eur Respir J*. 2000;16(3):420-6.
15. Banac S. Epidemiološki aspekti alergijskih bolesti u djece. U: *Paediatr Croat*. 2013;56(1):71–6.
16. Stipić-Marković A, Pevec B, Pevec MR, Čustović A. Prevalence of asthma, allergic rhinitis and conjunctivitis, and atopic eczema symptoms: ISAAC in school population of Zagreb, Croatia. U: *Acta Medica Croat*. 2003;57(4):281-5.
17. Banac S, Tomulić KL, Ahel V, Rožmanić V, Šimundić N, Zubović S, et al. Prevalence of asthma and allergic diseases in Croatian children is increasing: Survey study. *Croat Med J*. 2004;45(6):721–6.
18. Munivrana , Vorko-Jović A, Munivrana S et al. The prevalence of allergic diseases among Croatian school children according to the ISAAC Phase One questionnaire. U: *Med Sci Monit*. 2007;13(11):505–9.
19. Tudorić N i Pavičić F (2008) Astma. U: Vrhovac B, Jakšić B Vucelić B (Ur.) *Interna Medicina* (4. izdanje), Zagreb, Naklada Lijevak, 2008;655–661.
20. Ober C, Yao TC. The genetics of asthma and allergic disease: A 21st century perspective. U: *Immunol Rev*. 2011;242(1):10-30.
21. Holloway JW, Yang IA, Holgate ST. Genetics of allergic disease. U: *J Allergy Clin Immunol*. 2010;125(2):81-94.

22. Harb H, Renz H. Update on epigenetics in allergic disease. U: *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2015;135(1):15-24.
23. Mims JW. Asthma: Definitions and pathophysiology. U: *Int Forum Allergy Rhinol*. 2015;5:2–6.
24. 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. U: *Am J Respir Crit Care Med*. 2008;178(7):667-72.
25. National Heart, Lung, and Blood Institute. Guidelines for the Diagnosis and Management of Asthma (EPR-3). 2007; Dostupno na: <https://www.nhlbi.nih.gov/health-topics/guidelines-for-diagnosis-management-of-asthma>. Datum pristupa: 10.3.2020.
26. Bunyavanich S, Schadt EE. Systems biology of asthma and allergic diseases: A multiscale approach. U *J Allergy Clin Immunol*. 2015;135(1):31-42.
27. Raissy H, Blake K. Vitamin D and Asthma: Association, Causality, or Intervention? U: *Pediatric Allergy, Immunology, and Pulmonology*. 2015;28(1)60-62.
28. Wong KO, Hunter Rowe B, Douwes J, Senthilselvan A. Asthma and wheezing are associated with depression and anxiety in adults: An analysis from 54 countries. U: *Pulm Med*. 2013;2013:929028.
29. SeChristopher LR, Uribarri J, Tucker KL. Intake of high fructose corn syrup sweetened soft drinks is associated with prevalent chronic bronchitis in U.S. Adults, ages 20-55 y. U: *Nutr J*. 2015;14:107.
30. Global Initiative for Asthma. GINA 2019. *Glob Strateg Asthma Manag Preveticion*. 2019; Dostupno na: <https://ginasthma.org/>. Datum pristupa: 12.3.2020.
31. Jia CE, Zhang HP, Lv Y, Liang R, Jiang YQ, Powell H, et al. The asthma control test and asthma control questionnaire for assessing asthma control: Systematic review and meta-analysis. U: *J Allergy Clin Immunol*. 2013;131(3):695–703.
32. Uematsu M, Saito J, Sato S, Fukuhara A, Suzuki Y, Togawa R, et al. Association of Asthma Control Test (ACT) and Asthma Control Questionnaire (ACQ) with asthma exacerbation. U: *European Respiratory Journal*. 2018; 52: 4436.

33. Braido F. Failure in asthma control: reasons and consequences. U: *Scientifica*. 2013;2013:549252.
34. Kuruvilla ME, Lee FEH, Lee GB. Understanding Asthma Phenotypes, Endotypes, and Mechanisms of Disease. U: *Clin Rev Allergy Immunol*. 2019;56(2):219–33.
35. Wenzel SE, Schwartz LB, Langmack EL, Halliday JL, Trudeau JB, Gibbs RL, et al. Evidence that severe asthma can be divided pathologically into two inflammatory subtypes with distinct physiologic and clinical characteristics. U: *Am J Respir Crit Care Med*. 1999;106(3):1001-8.
36. Kim HY, Umetsu DT, Dekruyff RG. Innate lymphoid cells in asthma: Will they take your breath away? U: *Eur J Immunol*. 2016;46(4):795-806.
37. Everaere L, Ait Yahia S, Boute M et al. Innate lymphoid cells at the interface between obesity and asthma. U: *Immunology*. 2017;153(1):21–30.
38. Barlow JL, McKenzie ANJ. Type-2 innate lymphoid cells in human allergic disease. U: *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology*. 2014;14(5):397-403.
39. Miranda C, Busacker A, Balzar S, Trudeau J, Wenzel SE. Distinguishing severe asthma phenotypes: Role of age at onset and eosinophilic inflammation. U: *J Allergy Clin Immunol*. 2004;113(1):101-8.
40. Moore WC, Meyers DA, Wenzel SE, Teague WG, Li H, Li X, et al. Identification of asthma phenotypes using cluster analysis in the severe asthma research program. U: *Am J Respir Crit Care Med*. 2010;181(4):315–23.
41. Shaw DE, Sousa AR, Fowler SJ, Fleming LJ, Roberts G, Corfield J, et al. Clinical and inflammatory characteristics of the European U-BIOPRED adult severe asthma cohort. U: *Eur Respir J*. 2015;46(5):1308–21.
42. Loza MJ, Djukanovic R, Chung KF, Horowitz D, Ma K, Branigan P, et al. Validated and longitudinally stable asthma phenotypes based on cluster analysis of the ADEPT study. U: *Respir Res*. 2016;17(1):1–21.

43. Durrani SR, Viswanathan RK, Busse WW. What effect does asthma treatment have on airway remodeling? Current perspectives. U: *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2011;128(3):439-48.
44. Samitas K, Delimpoura V, Zervas E, Gaga M. Anti-IgE treatment, airway inflammation and remodelling in severe allergic asthma: Current knowledge and future perspectives. U: *European Respiratory Review*. 2015;24(138):594-601.
45. Guo Z, Wu J, Zhao J, Liu F, Chen Y, Bi L, et al. IL-33 promotes airway remodeling and is a marker of asthma disease severity. U: *J Asthma*. 2014;51(8):863-9.
46. Ying S, O'Connor B, Ratoff J, Meng Q, Mallett K, Cousins D, et al. Thymic Stromal Lymphopoietin Expression Is Increased in Asthmatic Airways and Correlates with Expression of Th2-Attracting Chemokines and Disease Severity. U: *J Immunol*. 2005;174(12):8183-90.
47. Préfontaine D, Lajoie-Kadoch S, Foley S, Audusseau S, Olivenstein R, Halayko AJ, et al. Increased Expression of IL-33 in Severe Asthma: Evidence of Expression by Airway Smooth Muscle Cells. U: *J Immunol*. 2009;183(8):5094-103.
48. Cheng D, Xue Z, Yi L, Shi H, Zhang K, Huo X, et al. Epithelial interleukin-25 is a key mediator in Th2-high, corticosteroid-responsive asthma. U: *Am J Respir Crit Care Med*. 2014;190(6):639-48.
49. Balzar S, Fajt ML, Comhair SAA, Erzurum SC, Bleecker E, Busse WW, et al. Mast cell phenotype, location, and activation in severe asthma: Data from the Severe Asthma Research Program. U: *Am J Respir Crit Care Med*. 2011;183(3):299-309.
50. Fajt ML, Gelhaus SL, Freeman B, Uvalle CE, Trudeau JB, Holguin F, et al. Prostaglandin D2 pathway upregulation: Relation to asthma severity, control, and TH2 inflammation. U: *J Allergy Clin Immunol*. 2013;131(6):1504-12.
51. Wenzel SE. Asthma: defining of the persistent adult phenotypes. U: *Lancet*. 2006.368(9537):804-13.
52. Schatz M, Rosenwasser L. The Allergic Asthma Phenotype. U: *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2014;2(6):645-8.

53. Peters MC, Kerr S, Dunican EM, Woodruff PG, Fajt ML, Levy BD, et al. Refractory airway type 2 inflammation in a large subgroup of asthmatic patients treated with inhaled corticosteroids. U: *J Allergy Clin Immunol*. 2019;143(1):104-113.
54. Kennedy DW. Aspirin exacerbated respiratory disease (AERD) treatment revisited. U: *Int Forum Allergy Rhinol*. 2019;9(12):1399–400.
55. Kuo CHS, Pavlidis S, Loza M, Baribaud F, Rowe A, Pandis I, et al. A transcriptome-driven analysis of epithelial brushings and bronchial biopsies to define asthma phenotypes in U-BIOPRED. U: *Am J Respir Crit Care Med*. 2017;195(4):443-455.
56. Carr TF, Zeki AA, Kraft M. Eosinophilic and noneosinophilic asthma. U: *Am J Respir Crit Care Med*. 2018;197(1):22–37.
57. Carr TF, Kraft M. Chronic Infection and Severe Asthma. *Immunology and Allergy Clinics of North America*. 2016;36(3):483-502.
58. Marwick JA, Dorward DA, Lucas CD, Jones KO, Sheldrake TA, Fox S, et al. Oxygen levels determine the ability of glucocorticoids to influence neutrophil survival in inflammatory environments. U: *J Leukoc Biol*. 2013;94(6):1285-92.
59. Raundhal M, Morse C, Khare A, Oriss TB, Milosevic J, Trudeau J, et al. High IFN- γ and low SLPI mark severe asthma in mice and humans. U: *J Clin Invest*. 2015;125(8):3037-50.
60. Al-Ramli W, Préfontaine D, Chouiali F, Martin JG, Olivenstein R, Lemièrre C, et al. TH17-associated cytokines (IL-17A and IL-17F) in severe asthma. U: *J Allergy Clin Immunol*. 2009;123(5):1185–7.
61. Ricciardolo FLM, Sorbello V, Folino A, Gallo F et al. Identification of IL-17F/frequent exacerbator endotype in asthma. U: *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2017;140(2)395–406.
62. McGarvey LP, Butler CA, Stokesberry S et al. Increased expression of bronchial epithelial transient receptor potential vanilloid 1 channels in patients with severe asthma. U: *J Allergy Clin Immunol*. 2014;133(3):704-12.
63. Peters U, Dixon AE, Forno E. Obesity and asthma. U: *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2018;141(4):1169-1179.

64. Sideleva O, Suratt BT, Black KE et al. Obesity and asthma: An inflammatory disease of adipose tissue not the airway. U: *Am J Respir Crit Care Med*. 2012;186(7):598-605.
65. Peters MC, McGrath KW, Hawkins GA, Hastie AT, Levy BD, Israel E, et al. Plasma interleukin-6 concentrations, metabolic dysfunction, and asthma severity: a cross-sectional analysis of two cohorts. U: *Lancet Respir Med*. 2016;4(7):574-584.
66. Sideleva O, Black K, Dixon AE. Effects of obesity and weight loss on airway physiology and inflammation in asthma. U: *Pulm Pharmacol Ther*. 2013;26(4):455-458.
67. Takahashi K, Pavlidis S, Ng F, Kwong K, Hoda U, Rossios C, et al. Sputum proteomics and airway cell transcripts of current and ex-smokers with severe asthma in U-BIOPRED : an exploratory analysis. U: *Eur Respir J*. 2018;51(5).
68. Nair P, O'Byrne PM. Measuring Eosinophils to Make Treatment Decisions in Asthma. U: *Chest*. 2016;150(3):485-7.
69. Gibson PG, McDonald VM, Marks GB. Asthma in older adults. U: *The Lancet*. 2010;376(9743):803-13.
70. Dunn RM, Busse PJ, Wechsler ME. Asthma in the elderly and late-onset adult asthma. U: *European Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2018;73(2):284-294.
71. Nyenhuis SM, Schwantes EA, Evans MD, Mathur SK. Airway neutrophil inflammatory phenotype in older subjects with asthma. U: *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2010;125(5):1163-5.
72. Atkinson AJ, Colburn WA, DeGruttola VG, DeMets DL, Downing GJ, Hoth DF, et al. Biomarkers and surrogate endpoints: Preferred definitions and conceptual framework. U: *Clin Pharmacol Ther*. 2001;69(3):89-95.
73. Hastie AT, Moore WC, Li H, Rector BM, Ortega VE, Pascual RM, et al. Biomarker surrogates do not accurately predict sputum eosinophil and neutrophil percentages in asthmatic subjects. U: *J Allergy Clin Immunol*. 2013;132(1):72-80
74. Nair P, Pizzichini MMM, Kjarsgaard M, Inman MD, Efthimiadis A, Pizzichini E, et al. Mepolizumab for prednisone-dependent asthma with sputum eosinophilia. U: *The New England Journal of Medicine*. 2009;360:985-993.

75. Burrows B, Martinez FD, Cline MG, Lebowitz MD. The relationship between parental and children's serum IgE and asthma. U: *Am J Respir Crit Care Med*. 1995;152(5):1497–500.
76. Gerald JK, Gerald LB, Vasquez MM, Morgan WJ, Boehmer SJ, Lemanske RF, et al. Markers of differential response to inhaled corticosteroid treatment among children with mild persistent asthma. U: *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2015;3(4):540-546.
77. Lim HF, Nair P. Airway Inflammation and Inflammatory Biomarkers. U: *Semin Respir Crit Care Med*. 2018;39(1):56–63.
78. Wagener AH, De Nijs SB, Lutter R, Sousa AR, Weersink EJM, Bel EH, et al. External validation of blood eosinophils, FENO and serum periostin as surrogates for sputum eosinophils in asthma. U: *Thorax*. 2015;70(2):115–20.
79. Jia G, Erickson RW, Choy DF, Mosesova S, Wu LC, Solberg OD, et al. Periostin is a systemic biomarker of eosinophilic airway inflammation in asthmatic patients. U: *J Allergy Clin Immunol*. 2012;130(3):647-654.
80. Corren J, Lemanske RF, Hanania NA, Korenblat PE, Parsey M V., Arron JR, et al. Lebrikizumab treatment in adults with asthma. U: *N Engl J Med*. 2011;365(12):1088-98.
81. Wan XC, Woodruff PG. Biomarkers in Severe Asthma. U: *Immunology and Allergy Clinics of North America*. 2016;36(3):547-557.
82. Nanzer AM, Chambers ES, Ryanna K, Richards DF, Black C, Timms PM, et al. Enhanced production of IL-17A in patients with severe asthma is inhibited by $1\alpha,25$ -dihydroxyvitamin D3 in a glucocorticoid-independent fashion. U: *J Allergy Clin Immunol*. 2013;132(2):297-304.
83. Irvin C, Zafar I, Good J, Rollins D, Christianson C, Gorska MM, et al. Increased frequency of dual-positive TH2/TH17 cells in bronchoalveolar lavage fluid characterizes a population of patients with severe asthma. U: *J Allergy Clin Immunol*. 2014;134(5):1175-1186.
84. Kim HY, Lee HJ, Chang YJ, Pichavant M, Shore SA, Fitzgerald KA, et al. Interleukin-17-producing innate lymphoid cells and the NLRP3 inflammasome facilitate obesity-associated airway hyperreactivity. U: *Nat Med*. 2014;20(1):54-61.

85. Bullens DMA, Truyen E, Coteur L, Dilissen E, Hellings PW, Dupont LJ, et al. IL-17 mRNA in sputum of asthmatic patients: Linking T cell driven inflammation and granulocytic influx? U: *Respir Res.* 2006;7:135
86. Busse WW, Holgate S, Kerwin E, Chon Y, Feng JY, Lin J, et al. Randomized, double-blind, placebo-controlled study of brodalumab, a human anti-IL-17 receptor monoclonal antibody, in moderate to severe asthma. U: *Am J Respir Crit Care Med.* 2013;188(11):1294-302.
87. de Lima Azambuja R, da Costa Santos Azambuja LSE, Costa C, Rufino R. Adiponectin in Asthma and Obesity: Protective Agent or Risk Factor for More Severe Disease? U: *Lung.* 2015;193(5):749-55.
88. Doll R, Hill AB. The Mortality of Doctors in Relation to Their Smoking Habits. U: *BMJ.* 1954;1(4877):1451-1455.
89. Doll R, Peto R, Wheatley K, Gray R, Sutherland I. Mortality in relation to smoking: 40 years' observations on male British doctors. U: *BMJ.* 1994;309(6959):901-11.
90. Doll R, Peto R, Boreham J, Sutherland I. Mortality in relation to smoking: 50 Years' observations on male British doctors. U: *BMJ.* 2004;328:1519.
91. Thomas N. Adams; Jason Morris. Smoking (Tobacco) [Internet]. 2019. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537066/>. Datum pristupa 25.3.2020.
92. Gowing LR, Ali RL, Allsop S, Marsden J, Turf EE, West R, et al. Global statistics on addictive behaviours: 2014 status report. U: *Addiction.* 2015;110(6):904-19.
93. WHO. Global Burden of Disease Study 2017. U: *Lancet.* 2017; Dostupno na: <https://www.thelancet.com>. Datum pristupa: 25.3.2020.
94. Hedman L, Bjerg A, Sundberg S, Forsberg B, Rönmark E. Both environmental tobacco smoke and personal smoking is related to asthma and wheeze in teenagers. U: *Thorax.* 2011;66(1):20-5.
95. Gilliland FD, Islam T, Berhane K, Gauderman WJ, McConnell R, Avol E, et al. Regular smoking and asthma incidence in adolescents. U: *Am J Respir Crit Care Med.* 2006;174(10):1094-100.

96. Hancox RJ, Gray AR, Poulton R, Sears MR. The effect of cigarette smoking on lung function in young adults with asthma. U: *Am J Respir Crit Care Med*. 2016;194(3):276-84.
97. Farber HJ, Batsell RR, Silveira EA, Calhoun RT, Giardino AP. The impact of tobacco smoke exposure on childhood asthma in a medicaid managed care plan. U: *Chest*. 2016;149(3):721-8.
98. Vesterinen E, Kaprio J, Koskenvuo M. Prospective study of asthma in relation to smoking habits among 14 729 adults. U: *Thorax*. 1988;43(7):534-9.
99. Silverman RA, Boudreaux ED, Woodruff PG, Clark S, Camargo CA. Cigarette smoking among asthmatic adults presenting to 64 emergency departments. U: *Chest*. 2003;123(5):1472-9.
100. Lugade AA, Bogner PN, Thatcher TH, Sime PJ, Phipps RP, Thanavala Y. Cigarette Smoke Exposure Exacerbates Lung Inflammation and Compromises Immunity to Bacterial Infection. U: *J Immunol*. 2014;192(11):5226-35.
101. Green BJ, Wiriyaichaiorn S, Grainge C, Rogers GB, Kehagia V, Lau R, et al. Potentially pathogenic airway bacteria and neutrophilic inflammation in treatment resistant severe asthma. U: *PLoS One*. 2014;9(6):E100645.
102. Çolak Y, Afzal S, Nordestgaard BG, Lange P. Characteristics and prognosis of never-smokers and smokers with asthma in the copenhagen general population study: A prospective cohort study. U: *Am J Respir Crit Care Med*. 2015;192(2):172-81.
103. Id RE, Id ATB, Kolmert J, Wheelock CE, Dahlen E, Loza MJ, et al. Enhanced oxidative stress in smoking and ex-smoking severe asthma in the U-BIOPRED cohort. U: *PLoS One* 2018;13(9):e0203874.
104. Apostol GG, Jacobs DR, Tsai AW, Crow RS, Dale Williams O, Townsend MC, et al. Early life factors contribute to the decrease in lung function between ages 18 and 40: The coronary artery risk development in young adults study. U: *Am J Respir Crit Care Med*. 2002;166(2):166-72.

105. Tommola M, Ilmarinen P, Tuomisto LE, Haanpää J, Kankaanranta T, Niemelä O, et al. The effect of smoking on lung function: A clinical study of adult-onset asthma. *Eur Respir J*. 2016;48:1298-1306.
106. Dolan CM, Fraher KE, Bleecker ER, Borish L, Chipps B, Hayden M Lou, et al. Design and baseline characteristics of The Epidemiology and Natural History of Asthma: Outcomes and Treatment Regimens (TENOR) study: A large cohort of patients with severe or difficult-to-treat asthma. *U: Ann Allergy, Asthma Immunol*. 2004;92(1):32-9.
107. Heaney LG, Brightling CE, Menzies-Gow A, Stevenson M, Niven RM. Refractory asthma in the UK: Cross-sectional findings from a UK multicentre registry. *U: Thorax*. 2010;65(9):787-94.
108. Thomson NC, Chaudhuri R, Heaney LG, Bucknall C, Niven RM, Brightling CE, et al. Clinical outcomes and inflammatory biomarkers in current smokers and exsmokers with severe asthma. *U: J Allergy Clin Immunol*. 2013;131(4):1008-16.
109. Konno S, Taniguchi N, Makita H, Nakamaru Y, Shimizu K, Shijubo N, et al. Distinct phenotypes of cigarette smokers identified by cluster analysis of patients with severe asthma. *U: Ann Am Thorac Soc*. 2018; 15(1):33-41.
110. Shimoda T, Obase Y, Kishikawa R, Iwanaga T. Influence of cigarette smoking on airway inflammation and inhaled corticosteroid treatment in patients with asthma. *U: Allergy Asthma Proc*. 2016;37(4):50-8.
111. Alexander Silberbrandt, Anna Von Bülow, Vibeke Backer CP. Airway eosinophilia in severe asthma is associated with smoking history. *U: European Respiratory Journal*. 2018;52:948.
112. Westerhof GA, Korevaar DA, Amelink M, De Nijs SB, De Groot JC, Wang J, et al. Biomarkers to identify sputum eosinophilia in different adult asthma phenotypes. *U: Eur Respir J*. 2015;46:688-696.
113. Liang Z, Zhao H, Lv Y, Li R, Dong H, Liu L, et al. Moderate accuracy of peripheral eosinophil count for predicting eosinophilic phenotype in steroid-naïve non-atopic adult asthmatics. *U: Intern Med*. 2012;51(7):717–22.

114. Bjermer L, Alving K, Diamant Z, Magnussen H, Pavord I, Piacentini G, et al. Current evidence and future research needs for FeNO measurement in respiratory diseases. U: *Respir Med*. 2014;108(6):830–41.
115. Thomson NC, Chaudhuri R, Spears M, Haughney J, McSharry C. Serum periostin in smokers and never smokers with asthma. U: *Respir Med*. 2015;109(6):708–15.
116. Kim YS, Kim HY, Ahn HS, Sohn TS, Song JY, Lee YB, et al. The association between tobacco smoke and serum immunoglobulin E levels in Korean adults. U: *Intern Med*. 2017;56(19):2571-2577.
117. Chung KF, Wenzel SE, Brozek JL, Bush A, Castro M, Sterk PJ, et al. International ERS/ATS guidelines on definition, evaluation and treatment of severe asthma. U: *Eur Respir J*. 2014;43(2):343–73.
118. Holguin F, Cardet JC, Chung KF, Diver S, Ferreira DS, Fitzpatrick A, et al. Management of severe asthma: A European Respiratory Society/American Thoracic Society guideline. U: *Eur Respir J*. 2020;55(1). Dostupno na: <https://erj.ersjournals.com/content/55/1/1900588>. Datum pristupa: 28.3.2020.
119. Pepper AN, Renz H, Casale TB, Garn H. Biologic Therapy and Novel Molecular Targets of Severe Asthma. U: *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2017;5(4):909-916.
120. Hanania NA, Wenzel S, Rosén K, Hsieh HJ, Mosesova S, Choy DF, et al. Exploring the effects of omalizumab in allergic asthma: An analysis of biomarkers in the EXTRA study. U: *Am J Respir Crit Care Med*. 2013;187(8):804-11.
121. Busse W, Spector S, Rosén K, Wang Y, Alpan O. High eosinophil count: A potential biomarker for assessing successful omalizumab treatment effects. U: *J Allergy Clin Immunol*. 2013;132(2):485-6.
122. Sposato B, Scalese M, Milanese M, Masieri S, Cavaliere C, Latorre M, et al. Factors reducing omalizumab response in severe asthma. U: *Eur J Intern Med*. 2018;52:78-85.
123. Cavalet Blanco D, Martins Becher L, Zani Da Silva L, Rocha Dullius C, Kahan F, Rocha Machado S, et al. Is omalizumab response influenced by passive smoking in severe asthma? U: *European Respiratory Journal*. 2018;52:1129.

8. ŽIVOTOPIS

Rođena sam 19.11.1995. u Ljubuškom, gradu u Hercegovini. Tamo sam završila osnovnu školu i gimnaziju kao jedna od najboljih učenika svoje generacije. 2014. godine upisala sam se na Medicinski fakultet u Zagrebu i završavam ga ove, 2020. godine.

U osnovnoj i srednjoj školi sudjelovala sam u različitim izvannastavnim aktivnostima, kao što su natjecanja iz matematike u kojem sam osvojila drugo mjesto na županijskoj razini, a moj interes za njih nastavio se tijekom studija. Tijekom treće i četvrte godine studija aktivno sam radila sa studentima kao demonstrator na katedri za Fiziologiju i imunologiju. Na 4. godini studija sudjelovala sam u Erasmus plus programu edukacije mladih u Turskoj s ciljem podizanja svijesti o raširenosti talasemije u Mediteranskom bazenu. Od prve godine član sam udruge studenata medicine CroMSIC u čijim sam aktivnostima redovito sudjelovala. Na 5. godini studija otišla sam na studentsku razmjenu u Casablancu, Maroko gdje sam u mjesec dana osim kliničkog iskustva imala priliku doživjeti potpuno drugi svijet. Na petoj godini sudjelovala sam na kongresu Hrvatskog torakalnog društva s izradom plakata.

Slobodno vrijeme volim provoditi u društvu bliskih prijatelja, u dugim šetnjama ili uživajući u pripremi hrane, a kada je vremena malo više nađe se i pokoje putovanje. Za svoj životni put ne bih rekla da je bio obasut trnjem, ali me svakako učinio vrlo tolerantnom, strpljivom i vrijednom osobom.