Odnos specifične i nespecifične nosne hiperreaktivnosti u bolesnika sa sezonskim alergijskim rinitisom

Tomljenović, Dejan

Doctoral thesis / Disertacija

2018

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://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:105:680365

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-08-11**

Repository / Repozitorij:

Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

MEDICINSKI FAKULTET

Dejan Tomljenović

ODNOS SPECIFIČNE I NESPECIFIČNE NOSNE HIPERREAKTIVNOSTI U BOLESNIKA SA SEZONSKIM ALERGIJSKIM RINITISOM

DISERTACIJA

Zagreb, 2018.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

MEDICINSKI FAKULTET

Dejan Tomljenović

ODNOS SPECIFIČNE I NESPECIFIČNE NOSNE HIPERREAKTIVNOSTI U BOLESNIKA SA SEZONSKIM ALERGIJSKIM RINITISOM

DISERTACIJA

Zagreb, 2018.

Disertacija je izrađena u Klinici za otorinolaringologiju i kirurgiju glave i vrata KBC Sestre milosrdnice, u Referentnom centru Ministarstva zdravstva RH za dijagnostiku i liječenje hiperreaktivnosti gornjih dišnih putova.

Voditelj rada: prof. dr. sc. Livije Kalogjera

ZAHVALA

Iskreno zahvaljujem svom mentoru prof. dr. sc. Liviju Kalogjeri na savjetima, potpori i upornosti te razumijevanju tijekom izrade ove disertacije.

Zahvaljujem Klinici za otorinolaringologiju i kirurgiju glave i vrata KBC Sestre milosrdnice, njezinu predstojniku, prof. dr. sc. Vladimiru Bedekoviću, i svim djelatnicima Klinike na ukazanoj potpori.

Zahvaljujem i mr. sc. Željki Bukovec Megla, voditeljici Endokrinološkog laboratorija, i prof. dr. sc. Nadi Vrkić, voditeljici Biokemijskog laboratorija, na pomoći pri provedbi ovog istraživanja.

Zahvaljujem svojoj obitelji, Ariani i Viti, na podršci i razumijevanju.

SADRŽAJ

Popis oznaka i kratica

1. Uvod 1

1.1. Anatomija i fiziologija gornjeg dišnog sustava 1

1.1.1. Anatomija nosa i paranazalnih šupljina 1

1.1.2. Vaskularizacija nosa i paranazalnih šupljina 7

1.1.3. Inervacija gornjih dišnih putova 8

1.1.4. Autonomna inervacija gornjih dišnih putova 10

1.1.5. Fiziologija gornjih dišnih putova 12

1.2. Specifična i nespecifična nosna hiperreaktivnost 14

1.3. Dijagnostika u rinologiji 23

1.3.1. Kožni alergološki test 23

1.3.2. Akustička rinometrija 25

1.3.3. Rinomanometrija 27

1.3.4. Vršni udisajni nazalni protok 28

1.3.5. Optička rinometrija 29

1.3.6. Laboratorijske analize 30

1.3.7. Endoskopija nosa 31

1.3.8. Radiološka dijagnostika 32

1.3.9. Schirmerov test 33

1.3.10. Saharinski test po Andersenu i test metilenskim modrilom 34

1.4. Nazalni i bronhalni provokacijski testovi 35

1.4.1. Histaminski nazalni test 42

1.4.2. Test hipertoničnom otopinom 42

1.4.3. Test hipotoničnom otopinom 43

1.4.4. Kapsaicinski test 43

1.4.5. Nazalni test inhalacijom hladnim-suhim zrakom 44

1.4.6. Nespecifični i specifični bronhoprovokacijski testovi 44

2. Hipoteza rada 46

3. Ciljevi rada 46

3.1. Opći cilj 46

3.2. Specifični ciljevi 46

4. Materijal i metode 47

4.1. Uključujući kriteriji 47

4.2. Isključujući kriteriji 48

4.3. Plan testiranja 50

5. Rezultati 56

5.1. Tvar P 58

5.2. Eozinofilni kationski protein 66

5.3. Triptaza 69

5.4. Ukupni imunoglobulin E 72

5.5. Intezitet kihanja nakon provokacijskih testova 74

5.6. Schirmerov zbroj 76

5.7. Akustička rinometrija 78

5.8. Usporedba simptoma Likertovom skalom 81

5.9. Usporedba rezultata alergijske i nealergijske skupine 94

6. Rasprava 99

7. Zaključci 108

8. Sažetak 111

9. Summary 112

10. Popis literature 113

11. Životopis 129

POPIS OZNAKA I KRATICA

KRS – kronični rinosinuitis

EPOS – engl. European Position Paper on Rhinosinusitis and Nasal Polyps

ERS – engl. European Rhinology Society

ARIA – alergijski rinitis i njegov utjecaj na astmu (engl. Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma)

NARES – nealergijski rinitis s eozinofilnom predominacijom

NINAR – nealergijski neinfektivni rinitis

IgE – imunoglobulin E

IgG – imunoglobulin G

IgA – imunoglobulin A

IgM – imunoglobulin M

IL-1 – interleukin 1

IL-3 – interleukin 3

IL-5 – interleukin 5

IL-6 – interleukin 6

IL-8 – interleukin 8

IL-13 – interleukin 13

IFN-ɣ – interferon gama

TGF-β – transformirajući faktor rasta β

PGE2 – prostaglandin E2

COX2 – ciklooksigenaza-2

VIP – vazoaktivni intestinalni peptid

CGRP – kalcitonin genski povezani peptid (engl. calcitonin gene-related peptide)

H1 receptor – histaminski receptor 1

NO – dušikov monoksid

OMC – ostiomeatalni kompleks

UZV – ultrazvuk

RTG – rentgen

CT – kompjuterizirana tomografija

MR – magnetska rezonancija

ASA – acetilsalicilna kiselina

TNF alfa – faktor tumorske nekroze alfa

VAS – vizualno analogna skala

ICAM 1 – intercelularna adhezijska molekula 1

VCAM 1 – žilno stanična adhezijska molekula 1

EKP – eozinofilni kationski protein (engl. eosinophil cell protein, ECP)

SP – tvar P (engl. substance P)

TRP – receptori s prolazno promjenjivim potencijalom

Try – triptaza

NEP – neutralna endopeptidaza

CPN – karboksipeptidaza N

ACE – angiotenzin-konvertirajući enzim

AR – akustička rinometrija

MCA1 – minimalni poprečni presjek 1

HTS – hipertonična otopina

FEV1 – forsirani ekspiratorni volumen tijekom prve sekunde ekspiracije

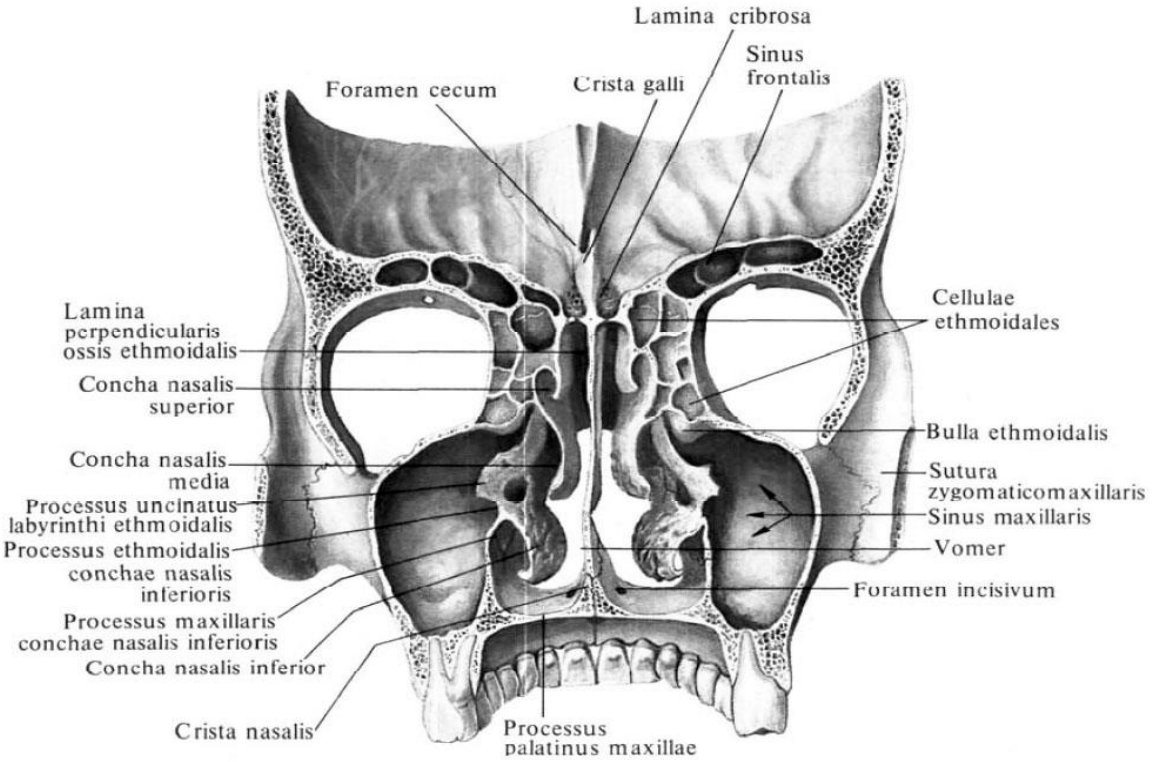
PNIF – peak nasal inspiratory flow

1. Uvod

1.1. Anatomija i fiziologija gornjeg dišnog sustava

1.1.1. Anatomija nosa i paranazalnih šupljina

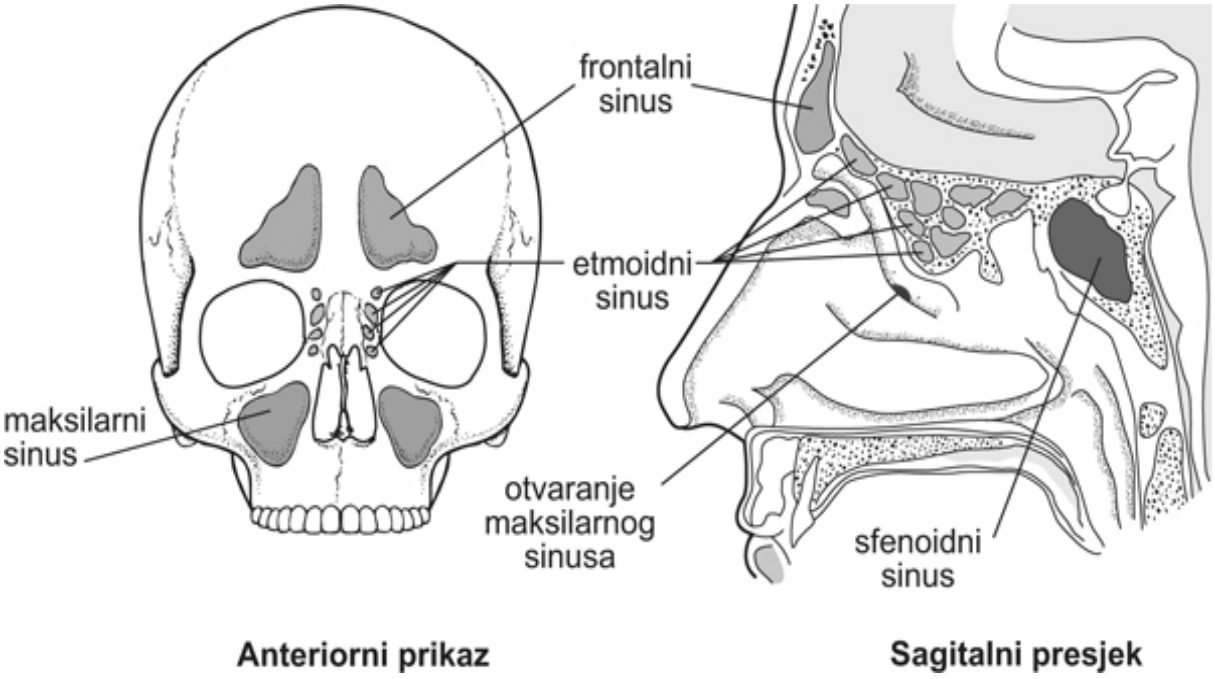
Nos se sastoji od dvije podjedinice, vanjskog dijela (nosne piramide) i unutarnjeg dijela (nosnih šupljina). Nosnu piramidu čine nosne hrskavice (alarne, triangularne, akcesorne), kosti lica (nosne kosti, čeljusne kosti, čeona kost) te mekotkivni pokrov (koža, potkožje, mišići). Vanjski nos se sastoji od korijena nosa, hrpta ili dorzuma nosa, nosnog vrška, nosnih krila i nosne kolumele. Nosna pregrada dijeli vanjski nos i nosne šupljine na dva zasebna prostora. Nosne šupljine prema straga putem koana komuniciraju s epifarinksom, lateralni zid nosnih šupljina sadrži tri nosne školjke i tri nosna hodnika u koje se otvaraju paranazalni sinusi i završava suzni put. Na krovu nosne šupljine nalazi se olfaktorna ploča, medijalni zid čini nosna pregrada sačinjena od perpendikularne i kvadrangularne hrskavice sprijeda te koštanog dijela (vomer) straga. Suzni put je poveznica oka i nosne šupljine, koji se putem suznih kanalikula, suzne vrećice i suznog kanala, otvara u donji nosni hodnik (Hasnerova valvula), te odvodi višak suza iz oka u nos (slika 1) (1).



Slika 1. Anatomija nosa i paranazalnih sinusa (preuzeto s web stranice www.wikipedia.com).

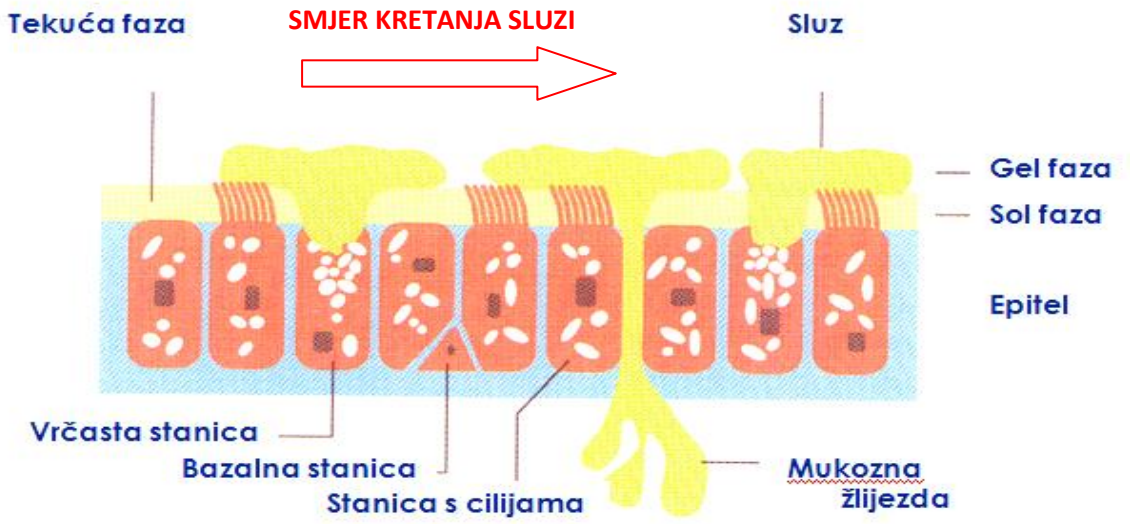
Paranazalni sinusi su parne šupljine smještene unutar kostiju lica, obložene respiratornom sluznicom, ispunjene zrakom te povezane izvodnim kanalima s nosnom šupljinom (2). Najveći su čeljusni ili maksilarni sinusi (volumen od 3 do 15 ml), smješteni u čeljusnoj kosti ispod oka, s individualnom varijacijom u veličini i obliku. Djelomično su razvijeni pri rođenju, a potpuni razvoj dostižu nakon druge denticije. Ograničenje čeljusnog sinusa prema gore čini dno orbite, medijalni zid čeljusnog sinusa čini dio lateralnog zida nosnog kavuma, dok zid prema straga je prednji zid fosse pterigopalatine. Izvodni kanal maksilarnog sinusa, koji izlazi u srednji nosni hodnik, smješten je na gornjem dijelu medijalnog zida sinusa. Čeoni ili

frontalni sinusi smješteni su u čeonoj kosti i razdvojeni su tankom koštanom pregradom. Oko 5% populacije ima aplaziju ili hipoplaziju frontalnih sinusa jedne ili obiju strana. Veličina sinusa iznosi oko 7 ml volumena. Stražnji zid čeonog sinusa je tanka koštana ploča koja razdvaja sinus od prednje lubanjske jame. Izvodni kanal frontalnog sinusa drenira se u srednji nosni hodnik. Etmoidni sinusi dijele se na prednje i stražnje, od kojih se prednje celule dreniraju u srednji nosni hodnik, dok se stražnje celule dreniraju u gornji nosni hodnik. Granica prema gore je lubanjska baza dok je granica prema lateralno medijalni zid orbite. Uz stražnje etmoidne celule se nalazi sfenoidni sinus. Sfenoidni sinus se nalazi u sfenoidnoj kosti, na prijelazu prednje u srednju lubanjsku jamu i okružen je vitalnim strukturama kao što su hipofiza, unutarnja karotidna arterija, optičkim živcem i kavernoznim sinusom. Kao i frontalni sinus tankom koštanom pregradom je razdijeljen na dva dijela (slika 2) (3).

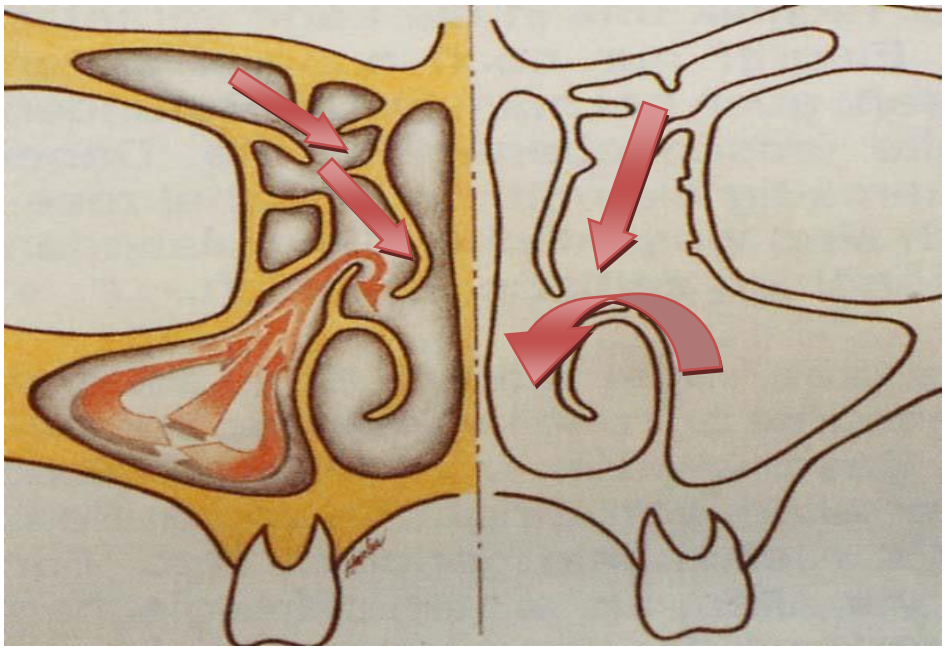


Slika 2. Anatomija nosa i paranazalnih sinusa (preuzeto s web stranice www.msd-prirucnici-bolesti-uha-grla-nosa. - sl. 89-1).

Epitel nosnih kavuma i paranazalnih sinusa je pseudostratificirani cilindrični cilijarni epitel, i sastoji se od bazalnih, cilindričnih i globlet stanica. Dvije trećine cilindričnih stanica imaju cilije i mikrovile čija je funkcija pokretanje mukocilijarnog transporta, dok je funkcija globlet stanica proizvodnja mukusa. Žlijezde su primarno seromukoznog tipa i smještene su odmah ispod bazilarne membrane. Epitel paranazalnih sinusa je znatno tanji od epitela nosnih šupljina s manjim brojem globlet stanica i seromukoznih žlijezda te su mikrovili cilindričnih stanica u sinusima znatno kraći nego kod cilindričnih stanica u nosnom kavumu. Većina žljezda smještena je u području ušća paranazalnih sinusa. Višeslojni pločasti i prijelazni epitel pokrivaju prednju trećinu nosnih kavuma te se postupno pretvaraju u cilindrični epitel u područ-ju između prednje i srednje trećine nosa (4). Olfaktorni epitel prekriva područje krova obiju nosnih šupljina, gornjeg dijela septuma te gornje i srednje nosne školjke, ukupne površine od oko 5 ccm (5). Iz olfaktornih receptora polaze živčane niti koje su uglavnom nemijelizirane, prolaze kroz laminu kribrozu te ulaze u olfaktorni bulbus. Olfaktorni se put nastavlja prema čeonom režnju, potom ide do hipotalamusa, korpus amigdala i hipokampusa gdje dolazi do interakcije s ostalim senzornim podražajima (6). Jedan od osnovnih zaštitnih mehanizama gornjeg i donjeg dišnog sustava je mukocilijarni transport. Mukocilijarnim transportom odstranjuju se razne čestice i onečišćenja s površine sluznice nosnih kavuma (7). Mukocilijarni transport nastaje ponavljajućim ritmičnim gibanjem cilija na površini cilindričnih stanica (100 cilija po stanici), i to u smjeru prema orofarinksu (8). Cilije svojim usmjerenim gibanjem prema straga pokreću površinski sloj mukusa (sol fazu) te s tim otklanjaju onečišćenja nakupljena na sluzi (gel faza) (slika 3). Mukocilijarni transport iz sinusa usmjeren je prema ušćima sinusa, potom prema orofarinksu (slika 4).



Slika 3. Fiziologija mukocilijarnog transporta (preuzeto s web stranice www.propharma.hr).



Slika 4. Smjer kretanja sluzi u mukocilijarnom transportu iz sinusa prema nosu u normalnoj anatomiji nosa i sinusa (lijevo), te kod operiranih sinusa (desno) (preuzeto s web stranice www.wikipedia.com).

Elektronska mikroskopija strukture cilije pokazuje da je svaka cilija sastavljena od devet dvostrukih mikrotubula koje okružuju dvije centralne mikrotubule. Frekvencija ritmičnog gibanja cilija iznosi oko 1000 udaraca u minuti. Brzi pomak cilija u smjeru mukocilijarnog transporta te polagani pomak prema natrag omogućavaju pokretanje sol i gel faze mukusa. Brzina kretanja sekreta pri mukocilijarnom transportu je od 3 do 25 mm/min (9).

U lamini propriji nalazimo dva sloja žlijezda, površinski i duboki sloj, koji su razdvojeni krvožilnim slojem. Žlijezde su seroznog, mukoznog i mješovitog tipa. Mukus sadrži 95% vode te oko 5% krute tvari (organskih materija i minerala). Dnevna sekrecija iznosi oko 0,3 ml/kg. Glavni organski sastojak mukusa je mucin, te albumini, sekretorni IgA, laktoferin, lizozimi te kalikrein. Mukus je hiperosmolaran u odnosu na plazmu, a pH mukusa iznosi od 5,5 do 6,5. U epitelu se nalaze još i limfociti te mastociti, čija je funkcija u prepoznavanju stranih antigena te početak aktivacije mehanizma imunološkog odgovora. Učinkovitost mukocilijarnog klirensa u otklanjanju onečišćenja nakupljenih na mukusa je takva da je 100% čestica veličine iznad 4 mikrometra odstranjeno u epifarinks i potom iskašljano ili progutano. Mukocilijarne abnormalnosti, kao što su primarna cilijarna diskinezija, Youngov sindrom i cistična fibroza, jesu kongenitalne imune deficijencije gdje ne postoji ili je abnormalna funkcija mukocilijarnog transporta (cilija) (10, 11). Izrazito niske vrijednosti nitričnog oksida (NO) u izdahnutom zraku jedan su od dijagnostičkih kriterija za postavljanje dijagnoze primarne cilijarne diskinezije ili cistične fibroze (12). Niske vrijednosti NO zabilježene su kod kroničnih bolesti sluznice nosa (kronični rinosinuitis s nosnom polipozom), alergijskog rinitisa.

1.1.2. Vaskularizacija nosa i paranazalnih sinusa

Vanjski dio nosa dobiva vaskularizaciju preko arterije facijalis i njenih ogranaka, te arterije dorzi nazi (ogranka arterije oftalmike). Njihove završne grane spajaju se u području korijena nosa, pa su preko te anastomoze povezani sustavi vanjske i unutarnje karotidne arterije. Venska mreža prati arterijski tok.

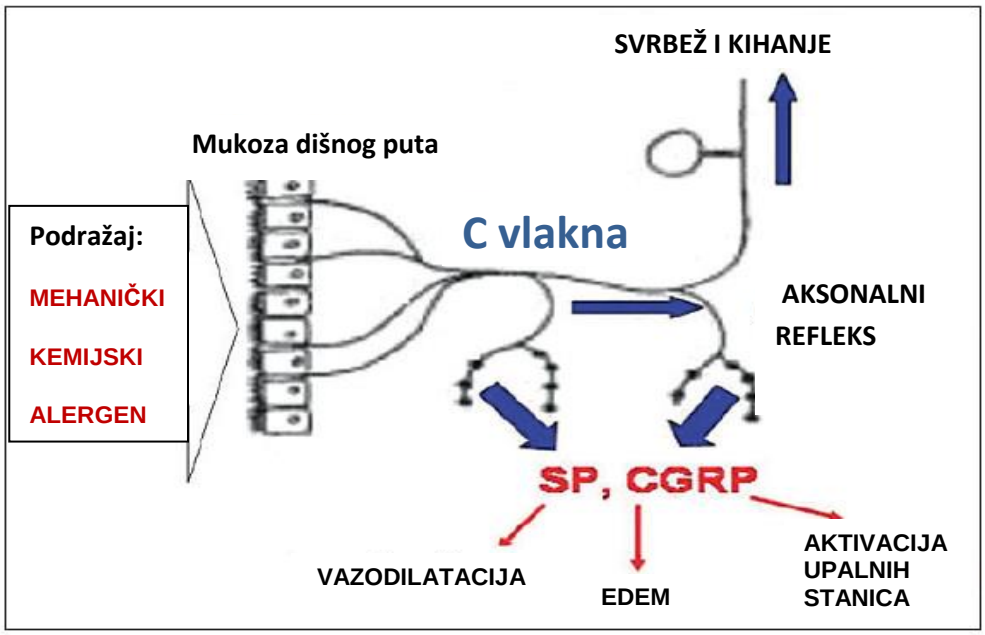
Unutarnji dio nosa i nosnih šupljina dobiva vaskularizaciju preko pet arterija. Arterija etmoidalis anterior i posterior dolaze od unutarnje karotidne arterije preko arterije oftalmike, a ostale grane dolaze od vanjske karotidne arterije. Arterija sfenopalatina je terminalni ogranak vanjske karotidne arterije te po ulasku u nosni kavum kroz foramen sfenopalatinum, daje jedan ogranak za septum i tri za lateralni zid kavuma. Arterija labijalis superior i arterija palatina vaskulariziraju vestibulum i prednje dijelove septuma i nosnih školjki. Sve te arterije, osim stražnje etmoidalne arterije, međusobno anastomoziraju u prednjem dijelu septuma tvoreći lokus Kiesselbachi.

Venski sustav čine vena facijalis i vena oftalmika te pleksus pterigoideus i pleksus faringeus.

1.1.3. Inervacija gornjih dišnih putova

Inervacija sluznice nosa i paranazalnih šupljina regulirana je putem senzornih, simpatičkih i parasimpatičkih nervnih završetaka. Aferentna inervacija senzornih niti nosa ide preko oftalmične i maksilarne grane nervusa trigeminusa (n. V) aksonima od periferije do semilunarnog ganglija, gdje su locirana tijela živčanih stanica. Aferentni put preko produljene moždine te lateralnog spinotalamičnog trakta završava u senzomotornom korteksu. Senzornu inervaciju provode dvije vrste nociceptivnih nervnih vlakana: tanka, mijelinizirana, brzoprovodeća A vlakna i sporoprovodeća, nemijelinizirana C vlakna. C vlakna su odgovorna za prenošenje taktilnog osjeta svrbeži, dok su A vlakna zadužena za prenošenje osjeta boli. Osjet boli izaziva brzu, refleksnu reakciju povlačenja i bijega, dok osjet svrbeži izaziva refleksnu reakciju češanja ili grebanja. Podražajem senzornih nociceptivnih završetaka refleksno dolazi i do aktivacije motornih refleksa kao što su kihanje ili kašalj (13, 14). Senzorni nervni sustav nadzire i regulira mikrookruženje sluznice te svojom aktivacijom izaziva refleksni protektivni odgovor (15). Nemijelinizirana C vlakna se aktiviraju oslobođenim medijatorima u alergijskoj reakciji ali mogu biti aktivirana i promjenom temperature, osmolarnosti, pH vrijednosti te različitim kemijskim supstancijama (16). Pokazano je da aferentni signal, pored centralnog širenja (dromično), obuhvaća i širenje prema periferiji (antidromično) neovisno o centralnoj kontroli. Aktivacijom senzornog nervnog sustava dolazi i do oslobađanja neuropeptida, kao što su supstancija P (SP), kalcitonin genski povezani peptid (calcitonin gene-related peptide - CGRP), vazoaktivni intestinalni polipeptid (vasoactive intestinal polypeptide - VIP), neurokinin A te time može dovesti do aktivacije neurogene upale, što uključuje mukoznu sekreciju, ekstravazaciju plazme te vazodilataciju i adherenciju leukocita za mikrovaskularni epitel (slika 5) (17).

Dokazana je i bliska povezanost nemijeliniziranih C nervnih završetaka s mastocitima i eozinofilima. Aktivacijom mastocita i eozinofila u alergijskoj reakciji te oslobađanjem medijatora upale (histamin, leukotrijeni, prostaglandini), dolazi do stimulacije H1 receptora na senzornim završecima i glatkoj muskulaturi te aktivacije kolinergičkih refleksa i posljedično pojave simptoma. Oslobođeni supstancija P, CGRP i VIP putem NK-1 receptora uzrokuju pojačanu degranulaciju mastocita i aktivaciju eozinofila. Oslobođeni prostaglandini i leukotrijeni dovode do aktivacije mehanoreceptora i nociceptora čime pridonose pojavi simptoma kao što su svrbež, kongestija sluznice i pojačana sekrecija. Zbog povezanosti neurogene upale i alergijske reakcije stvoren je naziv koji objedinjuje ta dva procesa, neuroalergijska upala (18, 19).

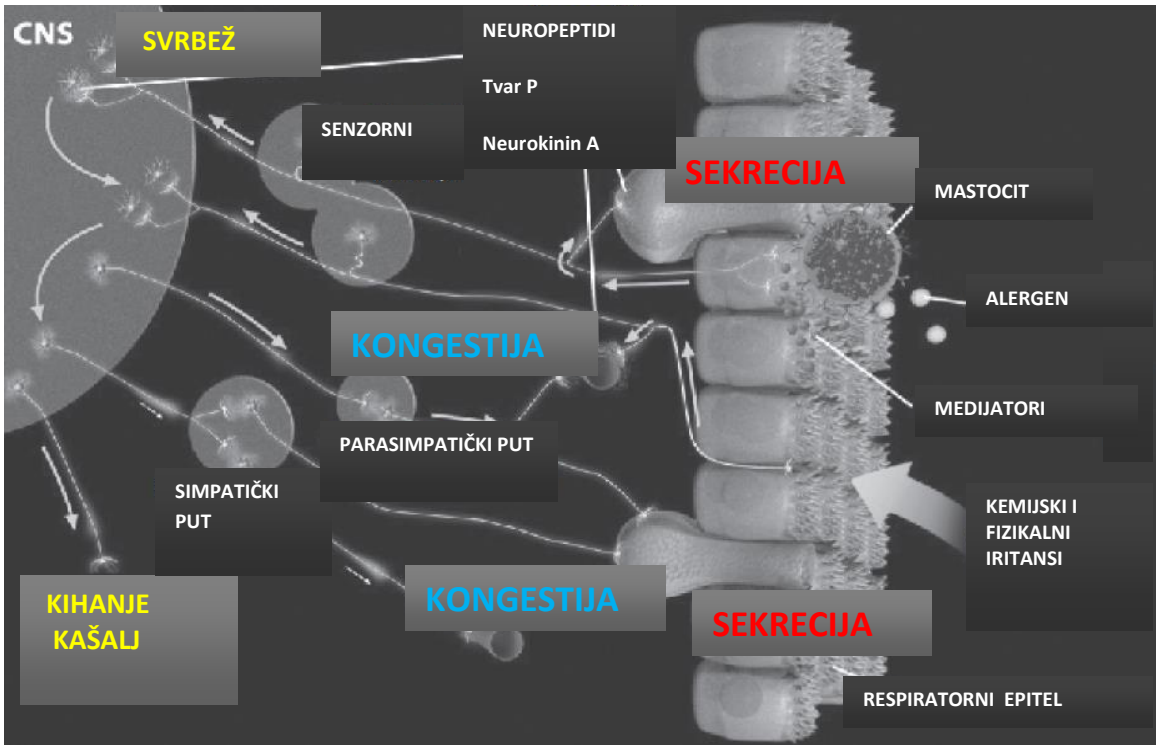


Slika 5. Patofiziologija neurogene upale. (preuzeto od Pfaar O, Raap U, Holz M, Hörmann K, Klimek L. Pathophysiology of itching and sneezing in allergic rhinitis. Swiss Med Wkly. 2009 Jan 24;139(3-4):35-40.).

1.1.4. Autonomna inervacija gornjih dišnih putova

Simpatički i parasimpatički sustav su zaduženi za regulaciju vazodilatacije i vazokonstrikcije vaskularnih struktura sluznice te regulaciju žljezdanog izlučivanja (20). Presimpatička vlakna parasimpatičke inervacije nosne sluznice idu iz facijalnih jezgara u moždanom deblu te se pridružuju vlaknima facijalnog živca (n. VII), koji prije ulaska u kavum timpani daje nervus petrozus major superficijalis, daljnji put vlakana je do sfenopalatinalnih ganglija. Simpatička vlakna također dolaze do sfenopalatinalnih ganglija putem uz unutarnju karotidnu arteriju. Parasimpatička vlakna završavaju oko stijenki arteriola, žlijezda i u epitelu nosne mukoze gdje iz svojih završetaka oslobađaju acetilkolin i VIP (vazoaktivni intestinalni peptid). Simpatička vlakna također završavaju u nosnoj mukozi i oslobađaju norepinefrin i neuropeptid Y. Aktivacijom parasimpatičkog sustava dolazi do vazodilatacije i vodenaste sekrecije. Aktivacija simpatičkog sustava dovodi do jake vazokonstrikcije krvnih žila u nosu, te do smanjene sekrecije. Autonomnoj inervaciji pripadaju i refleksi, kao što su nazookularni, nazobronhalni, kolinergički refleksi, kao važan regulatorni mehanizam u funkcioniranju gornjih dišnih putova (21, 22). Poremećaj u funkcioniranju autonomnog nervnog sustava, odnosno neravnoteža i predominacija jednog, bilo simpatičkog ili parasimpatičkog sustava, dovodi do razvoja kliničkih simptoma od strane nosa i sinusa (kongestije, sekrecije ili suhoće, žarenja i pečenja sluznice). Aktivacija refleksnih mehanizama uzrokuje pojavu simptoma okolnih organskih sustava, kao što su očni simptomi (suzenje, pečenje, osjetljivost na svjetlost i podražaje) za koje je odgovorna aktivacija nazookularnog refleksa, te simptoma

donjih dišnih putova (bronhoopstrukcija) koji su aktivirani nazobronhalnim refleksom (kolinergički refleksi) (23). Nazookularni refleks se aktivira podražajem receptora i aferentnih trigeminalnih nervnih završetaka u sluznici nosa različitim kemijskim, fizikalnim ili upalnim medijatorima (degranulacija mastocita u alergijskoj reakciji te oslobađanje histamina), te aktivacijom refleksnog eferentnog parasimpatičkog odgovora (putem Vidianovog živca) dovodi do pojave očnih simptoma (24, 25, 26). Dokazano je da se očni simptomi mogu ublažiti liječenjem intranazalnom upotrebom kortikosteroida, kojim se inhibira nazookularni refleks i sama neuroalergijska upala (27, 28). Identičan mehanizam aktivacije refleksnog luka kao u nazookularnom refleksu prisutan je i u nosu, podražajem jedne strane nosa dolazi do reaktivnog odgovora na drugoj strani, tzv. nazonazalni refleks (slika 6) (29).



Slika 6. Aktivacija refleksnih odgovora. (preuzeto od Naclerio RM, Bachert C, Baraniuk JN. Pathophysiology of nasal congestion. Int J Gen Med. 2010 Apr 8;3:47-57.).

1.1.5. Fiziologija gornjih dišnih putova

Postoji nekoliko osnovnih funkcija nosa: respiracijska, filtracijska, olfaktorna funkcija i kondicioniranje (priprema) udahnutog zraka. Oko 50% ukupnog otpora u dišnim putovima otpada na otpor u nosu. Glavni regulator nosnog otpora je područje nosne valvule (30). Volumen nosnog kavuma jedan je od najznačajnijih regulatornih čimbenika nosnog otpora. Ukupni volumen kavuma nosa je promjenjiv, sukladno utjecaju raznih čimbenika iz okoliša koji utječu na debljinu sluznice, kao što su promjena temperature, različiti lijekovi i hormoni te drugi čimbenici. Zrak ulazi laminarnom putanjom u nos početnom brzinom u području ispred nosne valvule od 12 do 18 m/s, potom iza nosne valvule zračna struja usporava na 2 do 3 m/s (31). Filtracijska funkcija nosa izrazito je efikasan mehanizam kojim se 100% čestica većih od 4 mikrometara zaustavlja u nosu i ne prolaze do donjih dišnih putova. Čestice iz zraka se zaustavljaju, „lijepe“ na sekretu sluznice nosa te mukocilijarnim transportom odstranjuju prema ždrijelu. Učinkovitost ovog filtracijskog mehanizma može se vidjeti kad on izostane, gdje čestice iz zraka zaobilaze filtracijsku funkciju nosa te direktno dolaze do sluznice donjih dišnih putova. Kod kroničnog izlaganja agensima iz okoliša dolazi do promjene cilindričnog respiratornog epitela u pločasti epitel zbog trajnog podražaja sluznice dišnog puta onečišćenjem. Kondicioniranje (priprema) zraka u nosu sprečava oštećivanje epitela donjih dišnih putova hladnim i suhim zrakom (32). Sluznica nosa zagrijava i vlaži udahnuti zraka, tako da je i u slučaju hladnog zraka od -4^0 C nakon 10 minuta u nazofarinksu temperatura zraka 31^0 C, a vlažnost 98%. Hladni i suhi zraka upotrebljavaju se kao provokacijski test jer mogu dovesti do bronhalne hiperreaktiv-

nosti te promjene volumena nosnih kavuma, a samim tim i nosnog otpora. Da bi sustav pripreme udahnutog zraka uredno funkcionirao potreban je dovoljan broj seromukoznih žlijezda te uredna funkcija mukocilijarnog transporta. Regulacija vlažnosti i zagrijanosti udahnutog zraka odvija se preko mukoznih senzornih proteina, koji čine osjetljivi receptorski regulatorni mehanizam koji se aktivira na promjene razine vlažnosti, osmolarnosti i temperature. Količina vode koja ulazi u pluća putem udahnutog zraka u prosječnog odraslog čovjeka iznosi oko 700 ml na dan, što iznosi petinu tekućine koja je unesena u organizam tijekom dana. Olfaktorna funkcija služi za prepoznavanje različitih mirisa te kao zaštitni mehanizam. Jedna od funkcija nosa koja još nije do kraja razjašnjena jest stvaranje nitričnog oksida (NO). Nitrični oksid sintetizira sama sluznica, prvenstveno sluznica paranazalnih šupljina, i njegova koncentracija se kreće od oko 200 do 2000 ppb (33). Nitrični oksid nastaje prijelazom semiesencijalne aminokiseline L-arginin u L-citrulin pod kontrolom inducirane nitrične sinteze. Poznato je bronhodilatatorno i vazokonstriktivno djelovanje nitričnog oksida već pri udisanju jako malih doza. Po nekim istraživanjima, inhalacija NO može utjecati na poboljšanje ventilacije i perfuzije u plućima (34, 35). Pri nazalnim provokacijskim testovima alergenima, razina NO značajno pada nakon 20 minuta te ostaje snižena nekoliko sati. Mehanizam koji uzrokuje sniženje vrijednosti NO opisuje se kao producirani edem sluznice PNS-a koji nastaje alergijskom reakcijom, koji blokira oslobađanje NO sa sluznice i s time smanjenje njegove koncentracije u izdahnutom zraku (36). Preporuku za mjerenje NO u izdahnutom zraku kao dijagnostički alat predložilo je 2005. godine Američko i Europsko pulmološko društvo (37).

1.2. Specifična i nespecifična nosna hiperreaktivnost

Prema podacima Svjetske zdravstvene organizacije 10% do 25% stanovništva u svijetu boluje od nekog oblika alergijskog rinitisa te se broj alergijskih bolesti gornjih dišnih putova u zemljama zapadne Europe udvostruči svakih deset godina (38). Specifična nosna hiperreaktivnost (alergijski rinitis) spada u alergijske reakcije preosjetljivosti prvog tipa (pretjerana aktivnost mastocita i bazofila pod utjecajem imunoglobulina E) (39). Alergijski rinitis zajedno s alergijskom astmom i atopijskim dermatitisom ubraja se u skupinu atopijskih bolesti. Atopija je genetska, prirođena sklonost alergijskim reakcijama i sustavnoj hiperprodukciji imunoglobulina E (40). Atopičari najčešće imaju nekoliko izraženih alergijskih bolesti koje su aktivne već od djetinjstva. Najčešće su povezani alergijski rinitis i alergijska astma. Entopija (entopijski rinitis) je sklonost lokaliziranoj alergijskoj reakciji i hiperprodukciji imunoglobulina E; nastupa pri kontaktu alergena s lokalno produciranim imunoglobulinom E na sluznici nosa. Entopija nije sistemska bolest, što je važan podatak u dijagnostičkim postupku jer je potrebno dokazati lokalnu alergijsku reakciju (41). U dijagnostičkoj obradi entopije potrebno je dokazati povišene vrijednosti specifičnog imunoglobulina E na sluznici nosa, dok su sistemske vrijednosti ukupnog i specifičnog imunoglobulina E te kožno testiranje negativni. Aspirinska intolerancija je poremećaj metabolizma arahidonske kiseline i sinteze njenih produkata te često izaziva pogoršanje simptoma alergijskog rinitisa pri uzimanju preparata nesteroidnih antireumatika (42). Alergijski rinitis se dijeli na intermitentni (sezonski) i perzistentni (cjelogodišnji). Incidencija sezonskog rinitisa u populaciji se procjenjuje na 20%, cjelogodišnjeg na 40%, a miješanog oblika na 40%

(cjelogodišnji sa sezonskim egzacerbacijama). Sezonski alergijski rinitis traje do četiri dana u tjednu i/ili manje od četiri tjedna godišnje, dok cjelogodišnji traje više od 4 dana u tjednu i/ili više od četiri tjedna godišnje. Druga podjela je prema utjecaju težine simptoma na kvalitetu života. Razlikujemo blagi, umjereni i teški oblik, s obzirom na to koliko je narušeno obavljanje svakodnevnih aktivnosti, bavljenje sportom, pohađanje škole i posla te poremećen san. Pacijenti ocjenjuju težinu svojih simptoma u vizualno-analognoj skali (VAS, Likert), bodujući svaki pojedini simptom zasebno. Vrijednosti zbrojene do tri upućuju na blage simptome, od tri do sedam na umjerene, a preko sedam na teške simptome. Simptomi alergijskog rinitisa su začepljenost nosa, serozna nosna sekrecija, svrbež sluznice nosa, nepca i ždrijela, podražaj na kihanje i kašalj te postnazalno slijevanje (43). Nosna kongestija je najčešći simptom zbog kojeg bolesnici posjećuju liječnika. Prisutan je kod rinitisa (alergijskog i nealergijskog) te kod rinosinuitisa i nosne polipoze (44). Kongestija se opisuje kao percipiranje smanjene prohodnosti nosa i osjećaj punoće i pritiska u projekciji nosa i sinusa. Upalni odgovor je glavni pokretač razvoja kongestije, koja nastaje proširenjem i pojačanom propusnošću kapilara, edemom tkiva te pojačanom sekrecijom. Različiti neurogeni medijatori i stanice pridonose aktivaciji upalnog odgovora (histamin, interleukini, adhezijske molekule). U 40% do 60% bolesnika simptomi nosa udruženi su sa simptomima oka (svrbež i hiperemija konjunktiva, pojačano suzenje i preosjetljivost na svjetlost i podražaje) (45). Alergijski keratokonjunktivitis može biti zaseban entitet ali je najčešće udružen s alergijskim rinitisom. Dijeli se, kao i alergijski rinitis, na sezonski i cjelogodišnji (46, 47). Kao i alergijski rinitis ubraja se u reakcije preosjetljivosti prvog tipa, aktivira se kontaktom alergena i protutijela na sluznici oka te se nastavlja klasičnom ranom i kasnom fazom alergijske reakcije. Entiteti kao što su vernalni i atopijski

keratokonjunktivitis su rijetke pojave. Dodatni mehanizmi kao što su aktivacija pojedinih autonomnih refleksa podražajem u nosu (nazookularni refleks), direktnim podražajem nervnih završetaka (kolinergički refleksi) te prolaskom medijatora retrogradno putem suznog puta, pridonose aktivaciji i održavanju simptoma alergijskog konjunktivitisa. Aktiviranjem kolinergičnih refleksa u području sluznice nosa izazivaju se i simptomi donjih dišnih putova (bronhospazam), koji su često pridruženi simptomima alergijskog rinitisa. Alergijski rinitis je definiran kao IgE posredovana upala nosne sluznice, izazvana izlaganjem alergenima. Patofiziološki mehanizam nastanka alergijske reakcije započinje izlaganjem sluznice nosa alergenima te senzibilizacijom na pojedine alergene. Važno je napomenuti da između 10% i 30% senzibiliziranih osoba na specifični alergen, pri ponovljenom kontaktu s alergenom ne razvija kliničke simptome. Sklonost razvijanju simptoma u te populacije raste s godinama, te se smatra da 60% takvih osoba ipak razvije simptome unutar tri godine. Prezentirajuće stanice predočuju alergen limfocitima T, koji otpuštanjem interleukina (interleukin 4, 6, 13) aktiviraju plazma stanice na sintetiziranje specifičnog imunoglobulina E za pojedini alergen. Specifični imunoglobulin E odlaže se na stanice mastocita i bazofila te u ponovljenom kontaktu alergena sa senzibiliziranim stanicama u sluznici nosa dolazi do aktivacije i degranulacije pojedinih stanica (48). Rana faza alergijske reakcije, koja se odvija u minutama nakon izlaganja alergenu, karakterizirana je oslobađanjem već sintetiziranih medijatora (histamin, triptaze, prostaglandini, leukotrijeni) iz granula mastocita i bazofila. Cisteinil leukotrijeni oslobođeni u ranoj fazi alergijske reakcije produciraju edem sluznice, kongestiju i pojačanu seroznu sekreciju, izazivaju kemotaksiju i ubrzano sazrijevanje eozinofila, inhibiraju eozinofilnu apoptozu. Tromboksan i prostaglandin D2 smatraju se jednim od glavnih medijatora u ranoj fazi alergijske

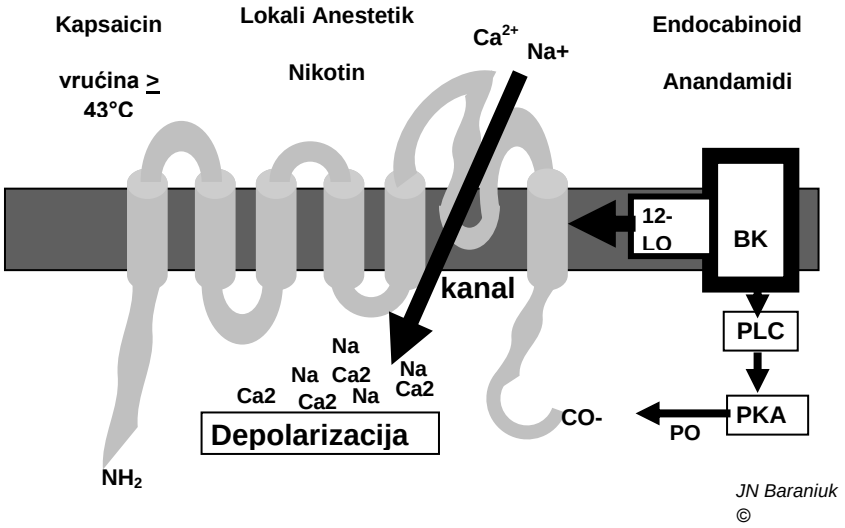
reakcije, izazivaju pojačanu vaskularnu permeabilnost, regrutiranje i pojačanu adheziju eozinofila (49). Kasna faza, koja nastupa nakon nekoliko sati po izlaganju alergenu (4 do 24 sata), počinje sintetiziranjem i oslobađanjem novih medijatora, citokina i kemokina (interleukin 3, 5, TNFalfa, GM-CSF) te privlačenjem i aktivacijom stanica upale, prvenstveno eozinofila, potom bazofila, neutrofila i limfocita. Interleukin 5 pojačava i ubrzava maturaciju i diferencijaciju eozinofila u koštanoj srži i cirkulaciji. TNFalfa je važan regulatorni medijator za kasnu fazu alergijske reakcije, ima značajan porast sat vremena nakon izlaganja alergenu. Osim što je odgovoran za aktivaciju neutrofila i eozinofila, izaziva pojačano izražavanje adhezijskih molekula (ICAM-1, VCAM-1). Značajan porast u kasnoj fazi imaju i proinflamatorni interleukini (interleukin 1, 6, 8). Nosioci rane faze alergijske reakcije prvenstveno su mastociti, dok su eozinofili glavni pokretači i regulatori kasne faze alergijske reakcije. Rana faza alergijske reakcije uzrokuje simptome unutar desetak minuta po izlaganju, dok kasna faza, ako je izražena, ponovo aktivira ili pojačava simptome nakon četiri do osam sati po izlaganju (50). Novosintetizirani i oslobođeni medijatori kasne faze ponovo izazivaju mehanizam degranulacije i oslobađanja interleukina rane faze alergijske reakcije te direktnim aktiviranjem nervnih završetaka u sluznici nosa i oštećenjem proteina stanične membrane, pojačavaju i produžuju kasnu fazu alergijske reakcije. Medijatori oslobođeni tijekom rane i kasne faze alergijske reakcije (MBP, EKP i leukotrijeni) uzrokuju direktno oštećenje epitela svojim djelovanjem te dovode do stvaranja kronične alergijske reakcije (51). Nespecifična nosna hiperreaktivnost je preosjetljivost respiratorne sluznice koja pojačanim odgovorom na neimunološke egzogene i endogene podražaje (čestice prašine, duhanski dim, promjena temperature, vlažnosti i tlaka te različiti mirisi i kemijski agensi) uzrokuje simptome koji su slični ili identični simptomima

kao kod alergijskog rinitisa. Može biti izražena kao zasebno stanje ili bolest mada je najčešće udružena s alergijskim rinitisom. Brojni radovi povezuju hiperreaktivnost gornjih i donjih dišnih putova s imunoglobulin E moduliranom alergijskom reakcijom, pogotovo važnu poveznicu između hiperreaktivnosti i kasne faze alergijske reakcije (52). Postoji još nekoliko skupina rinitisa s kojima se povezuje nespecifična hiperreaktivnost, npr. gustatorni, medikamentni, profesionalni, staračk, hormonski i nealergijski rinitis s eozinofilnom predominacijom (engl. non-allergic rhinitis with eosinophilic syndrome - NARES) (53). Kod nespecifične nosne hiperreaktivnosti pojavljuju se ovi simptomi: opstrukcija disanja, sekrecija uz postnazalno slijevanje te kihanje i podražaj na kašalj i oni se ne mogu razlikovati od simptoma alergijskog rinitisa. Postoji nekoliko dokazanih patofizioloških mehanizama nastanka i aktivacije nespecifične nosne hiperreaktivnosti te značajna uzajamna povezanost i regulacija sa specifičnim (alergijskim) rinitisom. Iako se često govori o istodobnom otpuštanju neurokinina tvari P (engl. substance P - SP) sa nervnih završetaka (C-vlakana) zbog otpuštanja medijatora upale pa se čak skovao i termin neuroalergijska upala, taj dio procesa je manje proučavan nego već spomenuta aktivacija upalnih stanica. Istodobno s alergijskom upalom dolazi do aktiviranja i kolinergičkih refleksa, koji su barem djelomice odgovorni za očne simptome i reakciju u donjim dišnim putovima. Ponavljano izlaganje alergenu dovodi do pojačanog imunološkog odgovora, nazvanog fenomenom "priming", za koji se smatra da je uvjetovan aktivacijom eozinofila u kasnoj fazi IgE posredovane reakcije, oštećenjem epitela nosne sluznice. Taj se proces smatra odgovornim za nespecifičnu hiperreaktivnost (54). Fenomen priming-a je reverzibilno stanje i aktivira se ponavljajućim izlaganjem alergenu, može trajati danima i tjednima i izaziva pojačanu osjetljivost na druge alergene. Fenomen priming-a može se pokaza-

ti primjerom gdje se izazivanjem podražaja aplikacijom alergena na jednoj strani nosa izaziva unilateralna alergijska reakcija; višestrukim ponavljanjem unilateralnog podražaja dolazi do razvoja priming-a ili hiperreaktivnog fenomena ali samo na provociranoj strani nosa. Nosni otpor suprotne strane nije ili je minimalno promijenjen (55). Fenomen priming-a je lokalni odgovor, a ne sistemska reaktivnost (56). Uz IgE posredovanu aktivaciju efektornih stanica, slični simptomi pojavljuju se i nakon nespecifičnih podražaja iz okoline, kao što su promjena temperature i vlažnosti zraka ili ekspozicija iritansima. Bolesnici s alergijskim rinitisom imaju izraženiju nespecifičnu hiperreaktivnost u vrijeme jače izloženosti alergenima. To je osobito izraženo u bolesnika s alergijom na polene, pri čemu u sezoni imaju znatno izraženiji odgovor na nespecifične podražaje nego nakon prekida izloženosti alergenu. Pretpostavlja se da je stupanj nespecifične hiperreaktivnosti u korelaciji sa stupnjem aktivacije mastocita i eozinofila na nespecifični podražaj, ali i sa bazalnom aktivnosti tih stanica prije provokacije. Odgovor nosne sluznice na medijatore i iritanse koji izaziva nosne i očne simptome refleksno, definira se kao nespecifična nosna hiperreaktivnost. Hiperreaktivni odgovor nosne sluznice kongestijom i hipersekrecijom temelji se na neuralnom odgovoru nakon stimulacije više populacija senzornih receptora. Samo dio bolesnika ima izražene nosne, a katkad i očne simptome na ekspoziciju promjenama ambijentalnog zraka, kemikalijama, iritansima i jakim mirisima; većina tijekom sezone, a manji dio i dugo nakon sezone. Nije poznato je li nespecifična hiperreaktivnost u dugotrajnoj odsutnosti alergena dominantno povezana s minimalnom perzistentnom upalom koja je povezana s IgE-ovisnim odgovorom i aktivnosti H1 receptora bez alergijske ekspozicije, je li ovisna i o aktivaciji iritantnih receptora, ili oboje. Već spomenuti mehanizmi reguliranja temperature, osmolarnosti, membranske fluidnosti na sluznici

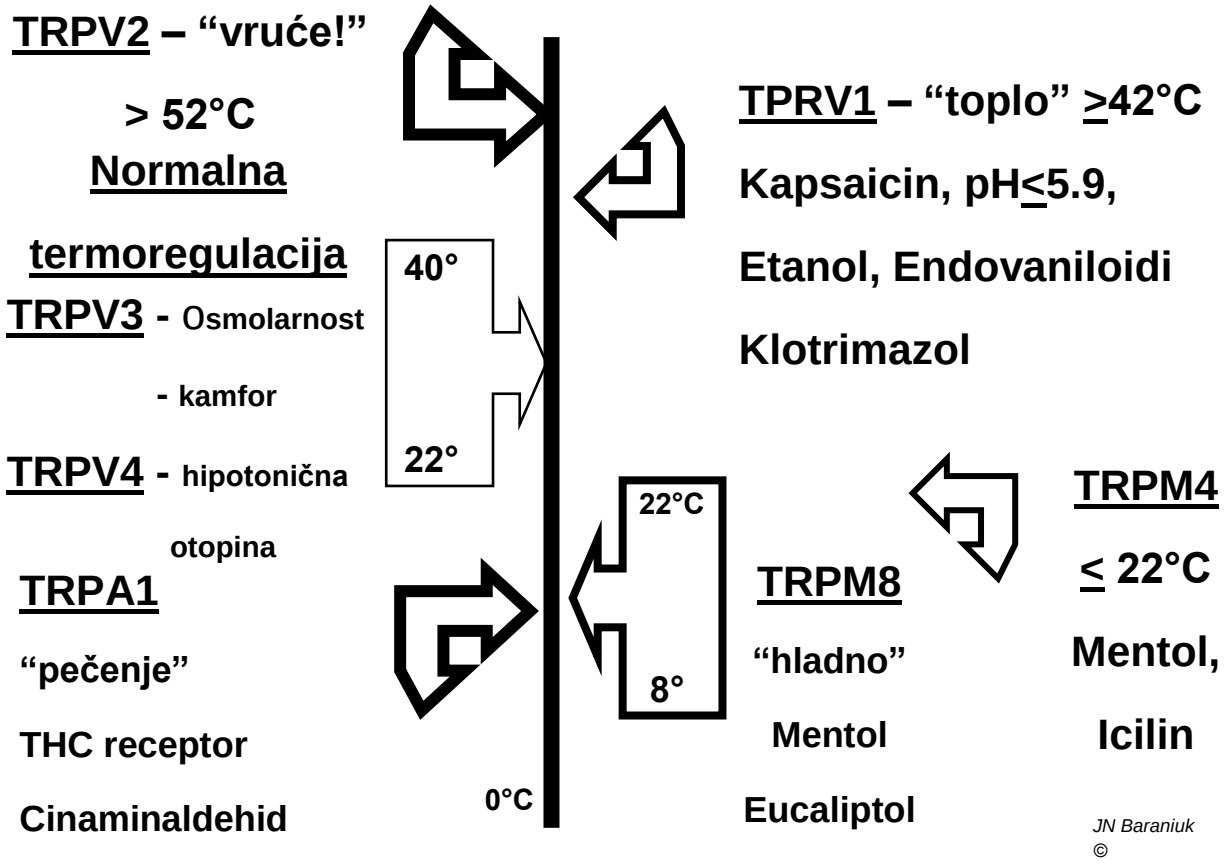
nosa odvijaju se putem osjetljivog receptorskog sustava ionskih kanala koji se zovu receptori s prolazno promjenjivim potencijalom (engl. transitional receptor potential proteini – TRP protein) (57, 58, 59). Oni su osjetljiv regulatorni mehanizam koji priprema zračnu struju pri prolasku kroz područje nosnih šupljina za donje dišne putove, te aktiviranjem refleksa kontrolira zasićenost zraka vlagom, temperaturne promjene, vrijednost tlaka, osmolarnost (60). Pojačano izražavanje tih receptora na sluznici, na keratinocitima i nervnim završecima, odnosno njihova hiperaktivnost odgovorna je za pojavu hiperreaktivnosti nosne sluznice. Kao što se mogu aktivirati različitim fizikalnim promjenama (mehanoreceptori, termoreceptori), tako su osjetljivi na različite kemijske iritanse. Postoji šest skupina TRP receptora: classical (TRPC), vanilloid (TRPV), melastatin (TRPM), muclopins (TRPML), polycystin (TRPP) i ANKTM1 (TRPA). TRPV1 receptori sadrže šest transmembranskih proteina koji se aktiviraju na podražaj kapsaicinom, temperaturom iznad 43 stupnja C, PH<5,9 i etanolom (slika 7). TRPV2 receptore aktivira visoka temperatura (preko 52 stupnja C), a TRPV3 promjena osmolarnosti i kamfor. TRPV4 aktivira hipotonična otopina; oni su i mehanoreceptori. TRPM4 aktivira niska temperatura, niža od 22 stupnja C i mentol, a TRPM8 temperatura ispod 8 stupnjeva C, mentol i eukaliptus; oni reguliraju membransku fluidnost (slika 8) (61, 62, 63). Kapsaicin (prirodni alkaloid izoliran iz ljute papričice) je selektivni aktivator senzornih neurona putem specifičnih (TRPV1) receptora. Taj receptor je neselektivni ionski kanal koji osim odgovora na podražaj kapsaicinom reagira i na podražaj povišene temperature. Aplikacija kapsaicina na sluznicu nosa izaziva, u osoba s hiperreaktivnom sluznicom, pojavu simptoma kao što su vodenasta sekrecija, kongestija, osjećaj pečenja ili žarenja te podražaj na kihanje. Taj mehanizam se može blokirati korištenjem antikolinergičkih lijekova prije provokacije,

što je ujedno i dokaz samog mehanizma djelovanja. Kapsaicin uzrokuje pojačano oslobađanje tvari P sa živčanih završetaka i ujedno se koristi kao lijek koji reverzibilno za nekoliko mjeseci smiruje simptome hiperreaktivnih osoba (vazomotorni rinitis), reducirajući količinu tvari P na nervnim završecima. Reverzibilno djeluje zato što kratkoročno smanji količinu sintetizirane tvari P pojačanim oslobađanjem iz nervnih završetaka te time umanjuje aktivnost C nervnih završetaka (64, 65, 66).



Slika 7. TRPV1 protein.

(preuzeto od Baraniuk JN, Merck SJ. New concepts of neural regulation in human nasal mucosa. Acta Clin Croat 2009;48:65-73).



Slika 8. Skupine TRP receptora.

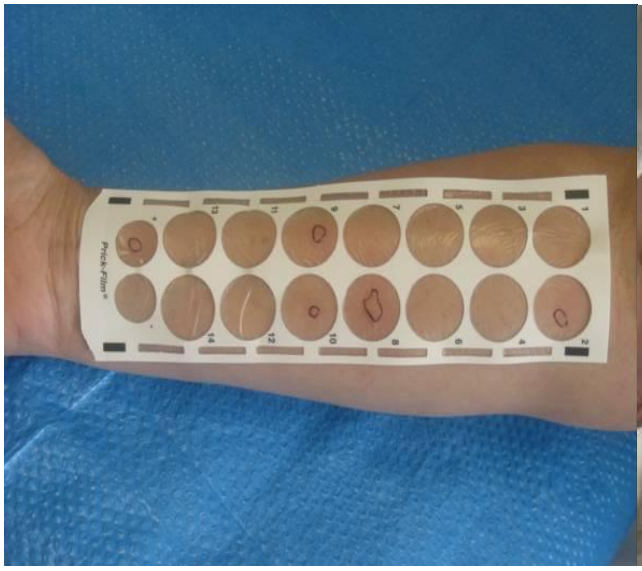
(preuzeto od Baraniuk JN, Merck SJ. New conceps of neural regulation in human nasal mucosa. Acta Clin Croat 2009;48:65-73).

1.3. Dijagnostika u rinologiji

1.3.1. Kožni alergološki test

Kožni test ubodom (*prick test*) na inhalacijske alergene je specifična, brza, reproducibilna i jeftina screening-metoda u dijagnostici alergijskih bolesti. Izvodi se ubadanjem lancetom u kožu malih doza alergena koji u preosjetljive osobe izaziva alergijsku reakciju prvog tipa. Ako je osoba alergična, na mjestu uboda alergenom za petnaest minuta pojavit će se oteklina (urtika) i crvenilo kao pokazatelji kemijskih tvari koje se oslobađaju tijekom alergijske reakcije (slika 9). Važan dio svakog kožnog testa je testiranje pozitivnom kontrolnom otopinom, najčešće histaminom, kojim se utvrđuje normoreaktivnost kože. Pozitivna reakcija na mjestu uboda histaminom pokazuje normalnu reakciju kože. Negativnom kontrolnom otopinom provjerava se nespecifična histaminoliberacija nastala npr. zbog fizikalne traume kože ili dermatografizma. Pokazatelj ispravne tehnike testiranja je ako ubodno mjesto ne krvari. U kožnom testu ubodom značajno pozitivnom reakcijom smatra se srednji promjer urtike jednak ili veći od 3 mm. Mjeri se najveći promjer urtike i promjer pod kutom od 90 stupnjeva te izračunava srednja vrijednost. Histaminska urtika očitava se nakon 8 do 15 minuta, a alergenska urtika nakon 15 minuta. U interpretaciji rezultata kožnog testa pozitivna reakcija ne znači dijagnozu bolesti, kao što negativan kožni test ne isključuje kliničke simptome koje bolesnik navodi. Kožni test treba ponavljati u slučaju promjene simptoma ili izlaganja novim alergenima, kao i pri procjeni učinkovitosti specifične imunoterapije.

Preporučuje se da tjedan dana prije kožnog testa ispitanik ne uzima antialergijske lijekove (antihistaminike, oralne kortikosteroide) ili neke druge lijekove koji mogu utjecati na rezultate testa (triciklički antidepresivi). Liječnik mora imati podatke o trudnoći, alergijama, kao i o jačim alergijskim reakcijama (oteklina usnica ili jezika, otežano disanje, anafilaktički šok) ili o kroničnim bolestima (poremećaji rada srca, bolesti štitnjače). Testiranje se ne može provoditi na promijenjenoj koži (alergijska reakcija ili upala kože na mjestu testiranja). Najčešće ispitivani inhalacijski alergeni su grinja kućne prašine, dlaka životinja, perje, pelud trava, pelud korova, pelud stabala, gljivice. Test s nanošenjem alergena u obliku flastera na koži leđa ili trupa koji se donedavno koristio u pedijatrijskoj populaciji zamjenjen je klasičnim ubodnim kožnim testom zbog male osjetljivosti i niske pouzdanosti samog testa (slika 10) (67, 68, 69).



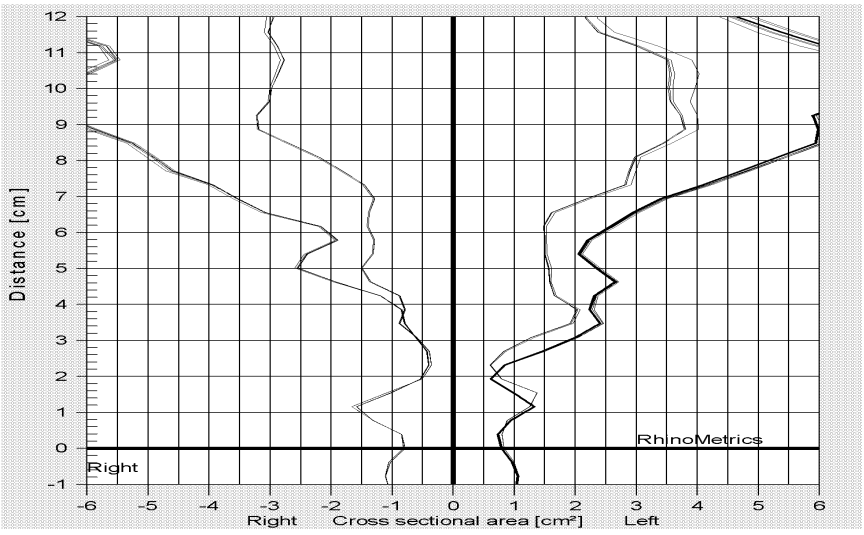
Slika 9. Kožni test (prick test) (preuzeto s web stranice www.wikipedia.com).

Slika 10. Kožni test flasterima (preuzeto s web stranice www.wikipedia.com).

1.3.2. Akustička rinometrija

Prema definiciji (Hilberg, 1989.), akustička rinometrija (AR) je neinvazivna, objektivna metoda procjene geometrije nosne šupljine koja, na temelju analize refleksije akustičkih valova odaslanih u nosnu šupljinu, vrši njezinu rekonstrukciju kao funkciju površine poprečnog presjeka izražene u kvadratnim centimetrima u odnosu na udaljenost od nosnica do koana (70, 71). Apsolutni izmjereni minimum površine poprečnog presjeka nosne šupljine zabilježen AR krivuljom nazivamo minimalnom površinom poprečnog presjeka nosne šupljine (engl. minimal cross sectional area, MCA) (72). Mjeri se nekoliko MCA presjeka kroz oba kavuma nosa i ukupni volumen pojedinog kavuma. Nekoliko karakterističnih područja ili suženja očitava se pri mjerenju; C1 (I čvor) odgovara poziciji ostiuma internuma a udaljen je 1,3 cm od nosnica. C2 (C čvor) naziva se još i konhalni čvor, odgovara poziciji prednjeg pola donje nosne školjke i udaljen je 2 do 3 cm od nosnica. C3 (treći čvor) odgovara poziciji prednjeg pola srednje nosne školjke, a udaljenost od nosnica je oko 5 cm (73). Akustičkom rinometrijom se mjeri ukupni volumen prvih 5 do 6 centimetara kavuma nosa. Na poziciji iza 6 cm udaljenosti od nosnica otvaraju se ušća sinusa, prvenstveno maksilarnog sinusa (ostiomeatalni kompleks), te iza te udaljenosti nije precizno mjerenje ukupnog volumena nosa. Mjerenje na udaljenosti od dva do šest centimetara daje najviše podataka pri provokacijskim testiranjima, jer su na toj poziciji locirani prednji polovi nosnih školjki. Udaljenost između 6 i 10 centimetara od nosnica daje informaciju o sinusnim ušćima (74). Ispitivanje se provodi u prostorijama s konstantnom temperaturom (24-26 stupnja C) i vlažnosti zraka (45%), na koje je potrebno pola sata prije testiranja adaptirati ispitanika. Pri mjerenju adapter sonde se prisloni uz samu nosnicu, bez

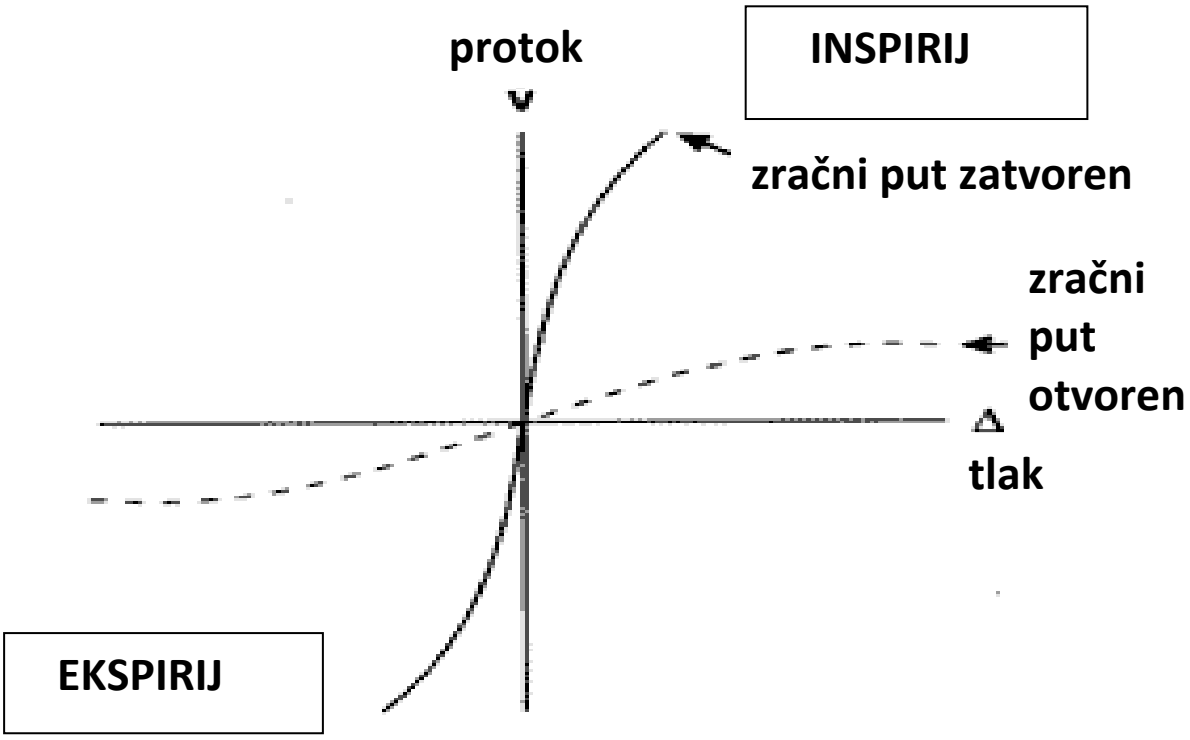
jakog pritiska kako se ne bi deformirala nosnica, a ispitanika se zamoli da zadrži dah pri samom mjerenju. Pretraga je izvediva u pedijatrijskoj populaciji, ali se ne preporučuje u ispitanika sa septalnom perforacijom, izraženom jakom sekrecijom i kongestijom. Apsolutnih normalnih vrijednosti rezultata nema, rezultati su individualni za pojedinog ispitanika i ne ovise o dobi, spolu i visini ispitanika. Usporedbom rezultata mjerenja pojedinih presjeka i volumena prije i poslije liječenja, korištenja terapije ili provokacijskih testova prati se učinak terapije i osjetljivost sluznice na podražaje (slika 11). Akustička rinometrija mora biti standardizirana na jednostavan i pristupačan način kako bi se moglo objektivno procijeniti stupanj i značenje nosne opstrukcije, odabrati adekvatan način liječenja i uspoređivati rezultate liječenja. Akustička rinometrija je značajnu primjenu našla u nespecifičnim i specifičnim provokacijskim testovima, gdje se mogu objektivizirati nalazi promjene volumena nosnih kavuma nakon provokacije, odnosno izmjeriti razina opstrukcije uzrokovane provokacijom (75, 76). Međunarodno rinološko društvo (International Rhinologic Society) je izdalo smjernice za dijagnosticiranje promjene nosnog otpora i nosne prohodnosti u nazalnim provokacijskim testovima te uporabu akustičke rinometrije pri tom testiranju (77).



Slika 11. Princip akustičke rinometrije (vlastita slika).

1.3.3. Rinomanometrija

Rinomanometrija je standardna metoda mjerenja respiratorne funkcije. Mjerenjem brzine protoka zračne struje u nosnim šupljinama (cm3/s), te promjene tlaka (100/150/300 Pa) u nosu i epifarinksu, objektivizira nalaz respiratorne funkcije pri udisaju i izdisaju. Prednja rinomanometrija daje podatke za nosne šupljine zasebno, dok stražnja rinomanometrija daje ukupne vrijednosti za obje nosne šupljine. Aktivno mjerenje provodi se kad ispitanik diše, a pasivno kad zadrži dah (78). Godine 1984. Odbor za standardizaciju rinomanometrije (Committee on Standardization of Rhinomanometry) je predložio prednju rinomanometriju kao standardnu, jednostavnu, reproducibilnu metodu ispitivanja za dijagnostičke testove u rinologiji (79). Usporedbom rezultata koje dobijemo prednjom i stražnjom rinomanometrijom, te aktivnom i pasivnom, dobivaju se informacije o prohodnosti nosnih kavuma pri udisaju i izdisaju, odnosno informacije o postojanju i mjestu opstrukcije. Mogu se uspoređivati rezultati prije i poslije operativnog zahvata ili terapijskog liječenja, odnosno pratiti stupanj poboljšanja ili pogoršanja prohodnosti nosa. Velik dijagnostički značaj ima u provokacijskim testovima, gdje se rezultati mjerenja prikazuju i mogu uspoređivati odmah po učinjenim testovima. Rezultati se izražavaju tako da je u X osi prikazana vrijednost tlaka, dok je u Y osi prikazana vrijednost protoka zračne struje (slika 12). Rinomanometrija je visokosenzibilna i visokospecifična dijagnostička metoda i nije ju moguće izvoditi u ispitanika s perforacijom nosne pregrade, izraženom rinorejom ili kongestijom. Pri mjerenju je potrebna kooperabilnost ispitanika; mjerenje je teško izvedivo u nesuradljivih ispitanika (80).



Slika 12. Principi rinomanometrije (vlastita slika).

1.3.4. Vršni udisajni nazalni protok

Vršni udisajni nazalni protok (eng. peak nasal inspiratory flow, PNIF) je pretraga za mjerenje nosnog otpora i protoka zraka pri inspiriju. Izvodi se instrumentom koji se prisloni uz lice, s posebnim adapterom (maskom) za područje nosa (slika 13). Prove-de se nekoliko mjerenja i uzima najveća vrijednost i izračuna kapacitet inspiriranog volumena zraka na nos izražen kroz L/min. Pretraga objektivizira nosnu opstrukciju mjereći vršni udisajni nosni protok i korisna je za praćenje učinkovitosti provođenja

terapije. Ispitanici s oštećenom plućnom funkcijom i izraženom kongestijom nisu adekvatni za takvu vrstu pretrage (81, 82).

Slika 13. Mjerač nosnog protoka (vlastita slika).

1.3.5. Optička rinometrija

To je spektroskopska pretraga kojom se ispituje edem nosne sluznice mjerenjem promjena koje edem sluznice radi na protok krvne struje u sluznici. 800-nm emiter i detektor postave se na svaku stranu nosa te se analizira apsorpcija svjetlosti (83, 84). Ako se protok krvne struje ubrzava, više će emitirane svjetlosti biti apsorbirano hemoglobinom, te će manja količina biti detektirana detektorom. Optička rinometrija je novija dijagnostička pretraga koja, prema nekim radovima (Wüstenberg i sur., 2007.), pokazuje bolju korelaciju nego prednja rinomanometrija za osjećaj kongestije sluznice nosa pri provokacijskim testovima (85).

1.3.6. Laboratorijske analize

Od pretraga koje se koriste u dijagnosticiranju nespecifičnog i specifičnog rinitisa treba istaknuti **citološki bris nosa** koji daje uvid u populaciju stanica koje nastanjuju sluznicu nosa (eozinofili, neutrofili, mastociti, degenerirane epitelne stanice). Predominacija odgovarajuće populacije stanica usmjerava nas na vrstu upale (npr. alergijska, bakterijska ili virusna upala) te potvrđuje ili isključuje lokalna zbivanja, kao što je entopija (predominacija eozinofila). **Lavaža nosnog sadržaja**, osim što pokazuje populaciju stanica na sluznici, pokazuje i koncentraciju medijatora upale oslobođenih iz tih stanica (npr. triptaze, eozinofilnog kationskog proteina). Izvodi se ispiranjem nosnih šupljina fiziološkom otopinom, tehnikom koju su opisali Naclerio i sur. (86). Nakon adaptacije ispitanika na uvjete okoliša (temperatura i vlažnost zraka) od 30 minuta, ispitaniku se aplicira 2,5 do 5 ml fiziološke otopine obostrano u nos (otopina zagrijana na 37 stupnjeva C). Ispitanikova glava je zabačena prema natrag i nalazi se pod kutom od 30 do 45 stupnjeva. Aplicirana otopina se nakon 10 do 20 sekundi pokupi u posudu koja se postavi ispod nosa ispitanika. Ispitaniku se objasni da je važno da ne proguta otopinu. Lavažom se dobiva uvid u koncentraciju oslobođenih medijatora iz slobodnih nervnih završetaka (npr. tvari P iz nemijeliniziranih nervnih završetaka) te lokalne vrijednosti pojedinih imunoglobulina (87). Korisna je za uvid u koncentraciju medijatora kod provokacijskih testova te razine medijatora u sezoni i izvan sezone alergije. Prihvatljivija je metoda od četkanja i biopsije sluznice. **Četkanje** ili **grebanje** (engl. brushing) **sluznice** i **biopsija sluznice nosa i sinusa** su invazivne metode koje se izvode u epimukoznoj ili lokalnoj anesteziji. Biopsijom se uzima uzorak sluznica (najčešće donji dijelovi donje nosne školjke) koji se analizira mikrobiološki ili patohistološki.

Metodom četkanja sluznice nosa stvara se manja trauma sluznice (najčešće srednja ili donja nosna školjka) te se dobije bolji uzorak površinskog epitela, dok se biopsijom sluznice dobije uvid u sve slojeve sluznice i podležeće strome (88). Zbog svoje agresivnosti, stvaranja lokalne traume, krvarenja i nemogućnosti čestog ponavljanja rjeđe se provode od nosne lavaže. Vrijednosti **ukupnog** i **specifičnog imunoglobulina E** iz krvi nam daju podatke o sistemskoj osjetljivosti organizma na alergene (atopiji), odnosno osjetljivosti na pojedini alergen. **Mikrobiološka analiza** sadržaja nosa daje nam informacije o postojanju, vrsti i količini bakterija ili gljivica na sluznici nosa i sinusa. Bakterijski antigeni mogu umanjiti ili pojačati senzibilizaciju ili težinu alergijske bolesti te su važan trenutak ekspozicije.

1.3.7. Endoskopija nosa

Prednja rinoskopija je neizostavna dijagnostička pretraga kojom se dobiva uvid u stanje prednjeg dijela nosnih šupljina (nosnog septuma, nosnih školjki, stanje sluznice, postojanje patološkog sekreta, stranih tijela ili patologije) i koja prethodi endoskopiji nosa. **Stražnja rinoskopija** se izvodi pogledom kroz orofarinks, retrogradno putem ogledalca. Daje uvid u područje epifarinksa, stražnjih polova nosnih školjki, adenoidnih vegetacija, postojanja patologije tog područja. **Fiberendoskopija** i **klasična endoskopija** nosa su pretrage kojima se dobiva uvid u prednje i stražnje dijelove nosnih šupljina, stanje epifarinksa, sinusnih ušća i olfaktornog područja. Neizostavan su dijagnostički alat pri operativnim zahvatima u području nosa, sinusa i epifarinksa.

Endoskopskim metodama se može vizualno pratiti reaktivnost sluznice (kongestija, pojačana sekrecija, hiperemija) na provokacijske testove.

1.3.8. Radiološka dijagnostika

Ultrazvučna pretraga sinusa je neinvazivna metoda koja se često koristi radi potvrde ili isključenja akutnog zbivanja u području maksilarnih sinusa, rjeđe frontalnog. Ultrazvuk sinusa je usporediv s konvencionalnom radiografijom za maksilarni i frontalni sinuitis u rukama iskusnog ultrasoničara. Dobar je za praćenje ali niske osjetljivosti (64%) i visoke specifičnosti (95%) u usporedbi s MR-om za akutni maksilarni sinuitis. Ultrazvukom sinusa moguće je prikazati akutni proces u sinusnoj šupljini ili postojanje mekotkivne promjene (npr. zadebljanja sluznice, ciste) u lumenu sinusa. Najveće ograničenje ultrazvuka u dijagnostici bolesti paranazalnih sinusa je njihov smještaj u kosti i ispunjenost zrakom. Zbog fizikalnih svojstava ultrazvuka, na granici između medija kost-zrak dolazi do gotovo potpune refleksije ultrazvučnog snopa, tako da se na monitoru prikazuju samo linije reverberacije. **Klasična radiološka snimka paranazalnih šupljina prema Watersu** daje nam uvid u anatomiju koštanih struktura kostiju lica i podatke o postojanju deformacija, posttraumatskih ili prirođenih malformacija. Insuficijentna je prema **kompjuteriziranoj tomografiji** i **magnetskoj rezonanciji**, koje izvrsno prikazuju postojanje patologije nosa i paranazalnih šupljina, kao što su polipoza nosa i sinusa, deformacije nosne pregrade, malformacije nosnih školjki, akutne i kronične promjene sluznice nosa i sinusa te različita benigna i maligna patologija.

1.3.9. Schirmerov test

Schirmerov test je pretraga koja se provodi Schirmerovim filter-trakicama, postavljanjem tih trakica na sluznicu donjeg kapka za svako oko posebno te mjerenjem kolekcije suza u trajanju od pet minuta (89). Trakice su markirani filter-papir duljine do 35 milimetara, a postavljaju se u lateralni kut oka. To je bezbolna, brzo izvediva pretraga koja daje podatke o produkciji suza za svako oko posebno. Normalna vrijednost testa iznosi više od 10 milimetara u pet minuta skupljanja suza na trakicu. Vrijednosti ispod prikazane ukazuju na suho oko, odnosno na nedovoljnu produkciju suza (slika 14).

Slika 14. Schirmerov test, trakica za Schirmerov test (vlastita slika).

Suze prikupljene pomoću trakica mogu se koristiti za citološku i mikrobiološku analizu te za mjerenje koncentracije oslobođenih medijatora alergijske reakcije (IgE, EKP, SP, triptaza), odnosno u dijagnostici alergijskog keratokonjunktivitisa (90).

1.3.10. Saharinski test po Andersenu i test metilenskim modrilom

Saharinski test po Andersenu i test metilenskim modrilom koriste se za mjerenje mukocilijarnog transporta nanošenjem 1 grama saharina ili kapi metilenskog modrila na područje prednjeg pola donje nosne školjke. Prati se vrijeme koje je potrebno da se pojavi boja na stražnjoj stijenci ždrijela (metilensko modrilo) ili osjet slatkog okusa (saharin) u grlu. Tim se testom mjeri postojanje i učinkovitost mukocilijarnog transporta, odnosno vrijeme koje je potrebno cilijama da odstrane sekret iz područja prednjeg dijela nosa, prema koanama i epifarinksu. Normalne vrijednosti u zdravih osoba iznose od 10 do 20 minuta. Ako je test negativan, potrebna je dodatna obrada (biopsija sluznice i elektromikroskopija strukture cilija) radi isključenja bolesti ili poremećaja cilija (cilijarnih diskinezija).

1.4. Nazalni i bronhalni provokacijski testovi

Provokacijski testovi su dijagnostičke metode kojima se želi ispitati postoji li, i kolika je reaktivnost sluznice gornjeg i donjeg dišnog puta. Postoje specifični provokacijski testovi kojima se aplicira u područje sluznice nosa specifični alergen (npr. alergen trava, korova) i prati reakcija sluznice (91). Nespecifičnim provokacijskim testovima provodi se provokacija sluznice nosa nespecifičnim reagensima, kao što su hladni suhi zrak, hipertonična otopina ili histamin i prati se reakcija sluznice na tu vrstu podražaja. Provokacijskim testovima dokazuje se ili isključuje postojanje specifične ili nespecifične hiperreaktivnosti (92). Isto tako mogu se kombinirati specifični s nespecifičnim provokacijskim testovima. Svaki nazalni provokacijski test zahtijeva odgovarajuću pripremu i adaptaciju na uvjete okoliša. Ispitanik mora biti upoznat s postupkom provokacijskog testiranja, s njegovim pozitivnim ali i mogućim negativnim ishodom. Ispitanik mora prije testiranja, a nakon upoznavanja s procedurom, potpisati informirani pristanak. Mora biti bez simptoma (npr. prehlada, alergijski simptomi, konjunktivitis, astma) u trenutku ispitivanja i mora proći četiri tjedna od zadnje respiratorne infekcije. Lijekovi koji mogu utjecati na ispitivanje moraju biti izostavljeni odgovarajuće vrijeme prije testiranja (oralni antihistaminici do dva tjedna, topikalni antihistaminici jedan tjedan, nazalni kortikosteroidi dva do tri dana, oralni kortikosteroidi dva do tri tjedna, kromoglikati jedan do tri tjedna, nazalni dekongestivi dva dana, triciklički antidepresivi dva do tri tjedna, NSAID jedan tjedan, antihipertenzivi tri tjedna). Prije testiranja ne smije se konzumirati alkohol i cigarete 24 do 48 sati. Ako je ispitanik imao operativni zahvat u području nosa i sinusa, mora proći šest do osam tjedana od operacije. Provokacijski testovi ne preporučuju se u trudnoći, u slučaju nekontrolirane astme ili drugih kroničnih plućnih bolesti te u ispitanika koji imaju septalnu perforaciju.

Uvjeti u kojima se odvija testiranje trebali bi biti konstantni (temperatura zraka od 20 do 22 stupnja C, vlažnost od 40% do 60%), jer vrijednosti više ili niže od navedenih mogu utjecati na reaktivnost sluznice i dovesti do lažno pozitivnih ili negativnih rezultata. Ispitanik se mora adaptirati (aklimatizirati) na uvjete okoliša (mirovanje tijekom pola sata prije ispitivanja). Ispitivanje se preporučuje u jutarnjim satima da bi se izbjegao podražaj svakodnevnih vanjskih stimulusa (duhanski dim, začinjena hrana, stres). Ispitivač treba biti upoznat i s mogućim neželjenim reakcijama i događajima tijekom provokacijskog testiranja te mora imati adekvatnu potporu za rješavanje tih mogućih stanja. Korištenje standardiziranih alergena je ključno da bi metoda nazalne provokacije bila sigurna, precizna i reproducibilna. Doza alergena za provokacijski test računa se iz koncentracije koja je korištena pri kožnom testiranju. Uglavnom, testiranje započinje s koncentracijom 1:1000, a potom se povećava koncentracija alergena za faktor 10 (u istraživačkim studijama preporučuje se povećanje za faktor 3). Neki autori preporučuju onu koncentraciju alergena koja u kožnom testu producira urtiku od 3 mm promjera, za početnu koncentraciju (93). Postoji nekoliko načina primjene alergena ili reagensa na sluznicu nosa, npr. inhalacijom mikroinhalera, aplikacijom supstancije mikropipetom (najčešće na područje prednjeg pola donje ili srednje nosne školjke), postavljanjem filter-papira, diska ili spužvice natopljenih reagensom na sluznicu ili inhalacijom para s alergenom putem posebno prilagođenih komora. Svaka od navedenih tehnika provokacije ima i prednosti i nedostatke, od kojih su neki navedeni u radu Dordala i sur. (tablica 1) (73). Supstancija se može aplicirati u nos jednostrano ili obostrano, ali se reaktivni odgovor uvijek prati na obje strane. Preporučuje se obostrana aplikacija mikropipetom na prednju polovicu donje nosne školjke pri zadržavanju daha ispitanika.

Tablica 1. Načini aplikacije alergena kod nazalnih provokacijskih testova (preuzeto i modificirano od Dordal i sur. J Investig Allergol Clin Immunol. 2011;21(1):1-12).

APLIKATOR	KOLIČINA OTOPINE, MJESTO PRIMJENE	PREDNOSTI	NEDOSTACI
ŠPRICA	0,1 mL	Jednostavnost	Moguća aspiracija u donje dišne putove
KAPALJKA	Broj kapi	Jednostavnost	Moguća aspiracija u donje dišne putove
MIKROPIPETA	0,1 mL (donja nosna školjka)	Preciznost	Mehanički podražaj sluznice
SPREJ ZA NOS	0,1 mL (donja nosna školjka)	Velika distribucija, jednostavnost	Raznolikost aplikatora/ nejednolika doza-ža
NATOPLJENA VATA	0,1 - 0,5 mL (donja/srednja nosna školjka)	Preciznost	Mehanički podražaj sluznice
NATOPLJENI DISK 4 mm diameter	0,1 - 0,5 mL (donja nosna školjka)	Preciznost	Mehanički podražaj sluznice

Putem dijagnostičkih pretraga, kao što su prednja akustička rinometrija, rinomanometrija ili mjerenjem vršnog udisajnog nazalnog protoka objektivizira se promjena u području nosnih kavuma, npr. promjena ukupnog volumena i MCA udaljenosti (akustička rinometrija), ili promjena protoka zračne struje i tlaka (rinomanometrija) (94). Provokacijski test se smatra pozitivnim ako se vrijednosti u subjektivnoj ocjeni simptoma povećaju za pet ili više bodova, ako se u akustičkoj rinometriji vrijednost MCA reduci-

ra za 25% ili više, ako u aktivnoj prednjoj rinometriji nastane 100% povećanje otpora/protok na 150 Pa te ako se u vršnom inspiratornom nazalnom protoku reducira protok za više od 40% (preporuka Španjolskog udruženja za alergologiju i kliničku imunologiju) (73). Subjektivna ocjena promjene težine simptoma provodi se pomoću nekoliko vrsta testova. Vizualno analogne skale (VAS) su testovi gdje ispitanici sami ocjenjuju promjenu jačine i težine simptoma prije i nakon provokacijskog testa, bodujući ili markirajući na skali od 0 do 10 trenutnu težinu simptoma. Vrijednosti od 0 do 3 predstavljaju blago izražene simptome, vrijednosti od 4 do 7 srednje, a vrijednosti od 8 do 10 teške simptome. Likertova skala je sličan način bodovanja simptoma, a vrijednosti su izražene od 0 do 3. Vrijednost 0 je bez prisutnosti simptoma, 1 označava blage simptome, 2 srednje teške i 3 teške simptome (tablica 2).

Tablica 2. Likertova skala za ocjenu nazalnih i očnih simptoma (vlastita slika).

Molim Vas, označite/zaokružite na skali trenutnu težinu svojih simptoma:

Nosna začepljenost	**0**	**1**	**2**	**3**	Izrazita
Bez začepljenosti	I----------			----------I	začepljenosti
Nosna sekrecija	**0**	**1**	**2**	**3**	
Bez sekrecije	I----------			----------I	Izrazita sekrecija
Svrbež nosa	**0**	**1**	**2**	**3**	
Bez svrbeži nosa	I----------			----------I	Izrazita svrbež
Pečenje nosa	**0**	**1**	**2**	**3**	
Bez pečenja	I----------			----------I	Izrazito pečenje
Svrbež očiju	**0**	**1**	**2**	**3**	
Bez svrbeža oka	I----------			----------I	Izrazita svrbež
Suzenje	**0**	**1**	**2**	**3**	
Bez suzenja	I----------			----------I	Izrazito suzenje

Osim toga, postoje i standardni testovi za ocjenu pojedinih simptoma (npr. Lebelov test, Linderov test) kod kojih se gleda pojedinačni i ukupni zbroj bodova (tablice 3 i 4) (95).

Tablica 3. Lebelova bodovna skala simptoma (J Allergy Clin Immunol. 1988;82[5 Pt 1]:869-77).

SIMPTOM	RASPON BROJA KIHANJA (0-10); LOKACIJA SIMPTOMA	BROJ BODOVA
KIHANJE	0-2 puta dnevno	0
	3-4 puta dnevno	1
	>5 puta dnevno	3
SVRBEŽ	NOS	1
	UHO, NEPCE	1
VODENASTA SEKRECIJA	NAPRIJED	1
	POSTNAZALNO	1
ZAČEPLJENOST (OTEŽANO DISANJE)	JEDNA STRANA NOSA	1
	OBJE STRANE NOSA	2
		3
OČNI SIMPTOMI (SUZENJE, PEČENJE)	OČI	1

Pozitivan test >5 bodova (maksimalna vrijednost je 11 bodova)

Tablica 4. Linderova bodovna skala simptoma (Clin Allergy. 1988;18:29-37).

SIMPTOM	RASPON BROJA KIHANJA (0-10); LOKACIJA SIMPTOMA	BROJ BODOVA
KIHANJE	0-2 puta dnevno 3-4 puta dnevno >5 puta dnevno	0 1 3
SVRBEŽ	NOS, UHO, NEPCE	1 bod po lokaciji
VODENASTA SEKRECIJA	NOS	0 - 3
ZAČEPLJENOST	NOS	0 - 3
OČNI SIMPTOMI (SUZENJE, PEČENJE)	OČI	1
Pozitivan test >5 bodova (maksimalna vrijednost je 13 bodova)		

Supstancija za provokaciju sluznice nosa, i kod specifičnih i nespecifičnih provokacijskih testova, se može davati jednokratno u jednoj dozi ili u rastućim dozama i višekratno. Serijska aplikacija rastuće doze alergena odvija se u intervalima od 15 do 60 minuta (ovisno o alergenu i senzitivnosti ispitanika). Pri svakoj provokaciji ispitaniku je potrebno napomenuti da zadrži dah tijekom apliciranja supstancije radi zaštite od prodora alergena u područje donjih dišnih putova i izazivanja bronhalne hiperraktivnosti. Ispitanik ostaje na promatranju dva sata nakon provokacijskog testiranja radi praćenja smirivanja simptoma. Bitno je zabilježiti je li bilo pogoršanja simptoma nakon 4 do 12 sati poslije provokacije, radi evaluacije kasne faze alergijske reakcije koja u nekih ispitanika može biti izražena.

Da bi se isključio učinak fenomena priming-a preporučuje se testiranje jednom vrstom alergena na dan. Ako se provodi više vrsta provokacijskih testova potrebno je napraviti pauzu najmanje tjedan dana između testiranja. Uzorkovanje nosnog sekreta prije i poslije provokacijskih testova putem lavaže, filter-papira, trakica, spužvica ili diskova daje nam uvid u promjenu koncentracije medijatora koji su odgovorni za alergijsku reakciju ili hiperreaktivnu rinopatiju. Za sakupljanje nosnog sadržaja preporučuju se tehnike lavaže, skupljanje filter-trakicom ili spužvicom kao sigurne, reproducibilne i neagresivne metode. Tehnike četkanja i biopsije sluznice agresivnije su i rjeđe se izvode iako daju kvalitetniji uvid u strukturu sluznice, te zasićenost sluznice upalnim stanicama i medijatorima upale. Iritativni efekt koji se izaziva na sluznici bilo kojom metodom prikupljanja nosnog lavata je značajno niži pri manje agresivnim metodama kao što su lavaža ili filter-trakice. To je potvrdilo i istraživanje Riechelmanna i sur. (2003.) (96) koji je pratio porast alfa-2-makroglobulina i laktat dehidrogenaze (markeri eksudacije i tkivne traume) nakon postavljanja filter-trakica i spužvica, i usporedio te dvije metode s lavažom i ispuhivanjem nosa. Nije zabilježio značajan porast tkivnih markera niti razlika između pojedinih metoda uzorkovanja. Pri sakupljanju uzoraka bitno je napomenuti da upotreba inhibitora proteaza blokira djelovanje sakupljenih proteaza sa sluznice nosa što daje realnu sliku populacije medijatora koji se istražuju (97, 98). Neutralne endopeptidaze (NEP), karboksipeptidaze N (CPN) i angiotenzin-konvertirajući enzim (ACE) neke su od brojnih proteaza na sluznici nosa koje su bitne u regulaciji medijatora (bradikini, tvar P) te je ključna njihova blokada u mjerenju koncentracije tih medijatora (99). Inhibitori proteaza se koriste i kod okularnih provokacijskih testova, npr. kolekcije suza pri ispitivanju alergijskog konjunktivitisa.

Vrste nazalnih i bronhalnih provokacijskih testova:

1.4.1. Histaminski nazalni test

Provokacijski test histaminom izaziva refleksni nazalni kolinergički odgovor (kihanje i svrbež sluznice nosa), povećanje nosnog otpora pojačanom sekrecijom (vaskularna permeabilnost) i kongestijom sluznice. Pokazuje pojačani odgovor (hiperreaktivnost) na histamin u ispitanika koji imaju alergijski rinitis za razliku od zdravih, nealergičnih ispitanika, te je korisna dijagnostička pretraga za razlikovanje tih skupina (100). Test se koristi i u praćenju učinkovitosti liječenja različitih skupina lijekova (kortikosteroida, dekongestiva). Najčešće se koristi aplikacija histamina na prednji pol nosne školjke, obostrano u nos, pomoću mikropipete. Koncentracija histamina kojom se započinje testiranje najčešće iznosi od 0,25 do 0,5 mg/mL da bi se potom koristile doze od 1, 2, 4 i više mg/mL (101). Testom se mjeri kvantitativni i kvalitativni odgovor na provokaciju (broj kihanja, pojačanu sekreciju, povećanje nosnog otpora), te koncentracija otpuštenih medijatora (SP, CGRP, VIP) (101). Reaktivni odgovor značajno je pojačan kod specifične i nespecifične nosne hiperreaktivnosti (102).

1.4.2. Test hipertoničnom otopinom

Hipertonična otopina (engl. hypertonic saline - HTS) djeluje kao iritans na sluznicu gornjeg i donjeg dišnog sustava stimulirajući nociceptivne živčane završetke i aktivirajući glandularnu sekreciju. Ne djeluje na vaskularnu permeabilnost (103). Pri bronhoprovokacijskom testu u astmatičara uzrokuje značajnu opstrukciju. Najčešće se aplicira pomoću mikropipete ili spreja, na područje prednjeg pola nosne školjke, u

ispitanika izaziva osjećaj pečenja ili bolnosti, kongestiju i pojačanu seroznu sekreciju (104). Aktivirajući tanka mijelinizirana A nervna vlakna izaziva trenutnu reakciju, osjećaj pečenja i bolnosti (primarna bolnost), te se podraženost potom smiruje, ostavljajući blaže simptome (parestezije) kroz neko vrijeme (sekundarna bolnost). Reaktivni odgovor i simptomi ovisni su o dozi, koncentraciji (2, 4, 8% NaCL) koja je aplicirana. CO2, manitol i adenozin su supstancije koje imaju sličan mehanizam djelovanja kao i HTS i također se mogu koristiti u provokacijskim testovima (105).

1.4.3. Test hipotoničnom otopinom

Kao i hipertonična otopina, hipotonična otopina izaziva povećanje nosnog otpora i pad protoka zračne struje, u osoba s alergijskim i nealergijskim rinitisom, za razliku od zdrave populacije. Test se izvodi inhalacijom putem maske, u vremenu od 5 do 10 minuta aplicira se 10 ccm hipotonične otopine (destilirana voda) (106).

1.4.4. Kapsaicinski test

Ko što je spomenuto, kapsaicin je selektivni aktivator senzornih neurona putem specifičnih (TRPV1) receptora. Aplikacija kapsaicina na sluznicu nosa izaziva, u osoba s hiperreaktivnom sluznicom, pojavu simptoma kao što su vodenasta sekrecija, kongestija, osjećaj pečenja ili žarenja te podražaj na kihanje. Koristi se kao kapi ili sprej koji se nanese na sluznicu nosa. Najčešće se koriste koncentracije od 30 do 500 ng/ml (107).

1.4.5. Nazalni test inhalacijom hladnim-suhim zrakom

U osoba s nespecifičnom hiperreaktivnosti (idiopatski rinitis) izaziva značajni pad protoka zračne struje (opstrukciju) (108). Zdrave osobe nemaju reakciju na takav podražaj. Provokacijski test se provodi inhalacijom na masku hladnog suhog zraka, u trajanju od 5 do 10 minuta. Izaziva trenutni odgovor sluznice (sekrecija, kongestija, osjećaj pečenja) aktivacijom mastocita i senzornih nervnih završetaka (109). Bradikinin ima identičan učinak kao i hladni suhi zrak u osoba s idiopatskim rinitisom. Bronhoprovokacijski test hladnim suhim zrakom (-18 stupnjeva C) kroz 4 minute se koristi kao dijagnostički test u dokazivanju astme, prvenstveno u djece (110).

Osim nespecifičnih provokacijskih testova primjenjuju se i specifični nazalni i očni testovi za dokazivanje alergijskog ili profesionalnog rinitisa i konjunktivitisa aplikacijom reagensa na sluznicu nosa i oka. Testiranje se provodi u kontroliranim bolničkim uvjetima sa obaveznim nadzorom ispitanika kroz 24 sata.

Preosjetljivosti donjih dišnih putova ispituje se bonhoprovokacijskim testovima.

1.4.6. Nepecifični i specifični brohoprovokacijski testovi

Nespecifični bronhoprovokacijski testovi djeluju putem direktne stimulacije receptora glatke muskulature. U tu se svrhu koristi metakolin i histamin koji izazivaju bronhokonstrikciju u ekvivalentnim koncentracijama. Metakolin se koristi češće jer ima manje neželjenih popratnih pojava, a predstavlja sintetski derivat acetilkolina. Pojavljuje se u obliku suhog kristaliničnog praška čije su otopine stabilne na nižim temperatu-

rama (4 ◦C) do tri mjeseca. Rezultat testa prikazuje se kao provokacijska koncentracija koja uzrokuje pad FEV_1 (forsirani ekspiratorni volumen tijekom prve sekunde ekspiracije) za 20% - $PC_{20}FEV_1$ ili kao provokacijska doza koja uzrokuje pad FEV_1 za 20% - $PD_{20}FEV_1$. Nespecifični bronhoprovokacijski testovi mogu se učiniti adenozin monofosfatom, manitolom, tjelesnim naporom ili eukapnička hiperventilacijom. Tjelesni napor tako pomaže pri dijagnosticiranju bronhokonstrikcije inducirane pretjeranom fizičkom aktivnošću, kad je spirometrija u mirovanju uredna. Vrši se na pokretnoj traci ili biciklu u trajanju oko 10 minuta. Spirometrija se provodi prije opterećenja te 5, 10, 15, 20 i 30 minuta nakon opterećenja (bronhokonstrikcija obično nastaje 10 do 15 minuta po završetku testa). Test se smatra pozitivnim kad FEV_1 padne za 10%-15%. Kako je u nekim slučajevima astmu teško dijagnosticirati, nespecifični testovi bronhoprovokacije pokazali su se kao izvrstan dijagnostički alat. Bitno je naglasiti kako se sva bronhoprovokacijska testiranja izvode u remisiji bolesti, pri normalnoj funkciji pluća.

Specifični bronhoprovokacijski test se provodi inhalacijom općeg ili profesionalnog alergena te aspirin lizina u bolničkim uvjetima s obaveznim nadzorom bolesnika kroz najmanje 24 sata.

2. Hipoteza rada

Nespecifična hiperreaktivnost korelira s intenzitetom odgovora na specifičnu provokaciju alergenom (**rana i/ili kasna faza**).

3. Ciljevi rada

3.1. Opći cilj

Utvrditi odnos intenziteta simptoma i nazalnih refleksa s neuroalergijskim upalnim odgovorom u različitim modelima nosne provokacije.

3.2. Specifični ciljevi

1. izmjeriti intenzitet aktivacije upalnih stanica kao i razinu otpuštanja tvari P u različitim modelima provokacije,

2. utvrditi korelaciju između intenziteta nosnih i očnih simptoma i razine staničnih biljega i tvari P u nosnom sekretu i suzama,

3. utvrditi odnos subjektivne procjene simptoma s objektivno izmjerenim parametrima nosne prohodnosti, kihanja i suzenja.

4. Materijal i metode

Ovo je prospektivna studija temeljena na subjektivnim i objektivnim mjerenjima specifične i nespecifične nosne hiperreaktivnosti u bolesnika sa sezonskim alergijskim rinitisom. Studija će se provesti u KBC Sestre milosrdnice, u Klinici za otorinolaringologiju i kirurgiju glave i vrata, u Referentnom centru Ministarstva zdravstva RH za dijagnostiku i liječenje hiperreaktivnosti gornjih dišnih putova, gdje su provokacijski testovi koji će se koristiti rutinske dijagnostičke metode. Studija će obuhvatiti 30 bolesnika sa sezonskim alergijskim rinitisom, obaju spolova, dobi od 18 do 60 godina, koji potpišu informirani pristanak, uz odobrenje Etičkog povjerenstva.

4.1. Uključujući kriteriji

- ispunjen informirani pristanak,
- klinička monoalergija na pelud trave ili pelud Ambrozije s aktivnim simptomima tijekom dvije posljednje sezone, pozitivnim kožnim testom i dokazanim specifičnim IgE protutijelima u serumu (najmanje razred II),
- značajan učinak na kvalitetu života u sezoni (umjereni do teški simptomi prema ARIA smjernicama, barem jedan simptom s ocjenom 3 u Likertovoj skali u sezoni),
- dob od 18 do 65 godina.

4.2. Isključujući kriteriji

- klinički značajne senzibilizacije na perenijalne (trajne) alergene,
- bronhijalna astma,
- akutna respiratorna infekcija,
- operacija nosa i/ili sinusa unutar osam tjedana,
- nedavna alergijska reakcija kože ili drugih organa,
- anamnestički podatak o anafilaktičkoj reakciji tijekom života,
- uzimanje antialergijskih lijekova ili onih koji mogu dovesti do intolerancije u provokacijskom testu, a koje ne može biti prekinuto u odgovarajućem periodu prije provokacijskog testa: antihistaminici 14 dana, topikalni kortikosteroidi 14 dana, peroralni ili parenteralni kortikosteroidi 14 dana, ACE inhibitiori i beta blokatori 4 tjedna),
- vakcinacija tjedan dana prije početka provokacijskih testova,
- imunosupresivno liječenje,
- ozbiljne sistemske imunološke bolesti i neoplazme,
- nošenje kontaktnih leća,
- konjunktivitis nealergijske etiologije,
- trenutni topikalni tretman očnim kapima ili mastima.

Kao kontrolna skupina bit će 10 bolesnika s nealergijskim rinitisom, s cjelogodišnjim hiperreaktivnim simptomima te negativnim kožnim testom na inhalacijske alergene i niskim ukupnim IgE.

Ispitanicima će se učiniti specifični i nespecifični nazalni provokacijski testovi izvan sezone u odvojenim dolascima, s tim da se provokacija histaminom provede 24 sata nakon provokacije alergenom, a provokacija hipertoničnom otopinom najmanje 48 sati nakon provokacije histaminom. Provokacijski testovi obuhvaćaju aplikaciju alergena, histamina i hiperosmolarne otopine u nos, mikropipetom na donju nosnu školjku obostrano. Alergen se aplicira u dozi od ukupno 1000 i.j., histamin 60 do 100 mcg. i 1 ml 2% hipertonične otopine (Imunološki zavod, Rockefellerova 2., Zagreb, Hrvatska). Svim ispitanicima će se pri prvom dolasku učiniti provokacija inhalacijom 10 mililitara destilirane otopine u trajanju od 10 minuta.

Mjerenje volumena nosnih šupljina akustičkom rinometrijom, kao mjera kongestije, primjenjivat će se u skladu s preporukama Europskog rinološkog društva (engl. European Rhinology Society, ERS) i prihvaćenim međunarodnim smjernicama (93, 73, 77, 103). Odgovor na provokaciju mjeriti će se određivanjem intenziteta nosnih i očnih simptoma na skali simptoma (Likertov test 0-3, VAS skala 0-10). Redukcija nosne prohodnosti mjeriti će se akustičkom rinometrijom. Pratiti će se broj kihanja postprovokacijski i prvog dana ukupno te će se određivati upalni markeri u nosnom lavatu i suzama sakupljenim Schirmerovim testom. Ispitanici će bodovati šest simptoma u simptomskoj bodovnoj skali prije i poslije svakog provokacijskog testa (začepljenost nosa, sekrecija, svrbež nosa, pečenje sluznice nosa, svrbež oka i suzenje). Mjerit će se lokalna razina IgE, eozinofil kationski protein (EKP), tvar P i triptaza u lavatu, kao i upalni medijatori, tvar P i celularni markeri u suzama. Korelirat će se težina upale izražena aktivnošću upalnih stanica, kao i odgovor na provokacijski test izražen razinama subjektivne ocjene intenziteta na Likertovoj i VAS skali i promjena nosne pro-

hodnosti nakon provokacije, te subjektivna razina simptoma u stvarnoj ekspoziciji tijekom peludne sezone.

Težina očnih simptoma u sezoni korelirat će se s odgovorom na nespecifični nazalni provokacijski test podraživanjem histaminskih i iritantnih receptora. (tablica 5 i 6) (24, 101).

4.3. Plan testiranja

Prvi posjet, 0. dan (izvan sezone alergije):

- informirani pristanak,
- bazična klinička evaluacija (rinoskopija i nazalna endoskopija),
- bazalna nosna lavaža,
- bazalni Schirmerov test,
- intenzitet nosnih simptoma (Likertova skala, VAS skala),
- slijepa provokacija inhalacijom 10 mililitara destilirane otopine,
- lavaža nosa na 30 minuta nakon provokacije destiliranom otopinom.

Posjeti od 2. do 4. obuhvaćaju

- bazičnu lavažu nosa,
- ocjenu simptoma prije i poslije provokacije (2 - alergenom, 3 - histaminom, 4 - hipertoničnom otopinom) u odvojenim danima,
- Schirmerov test,

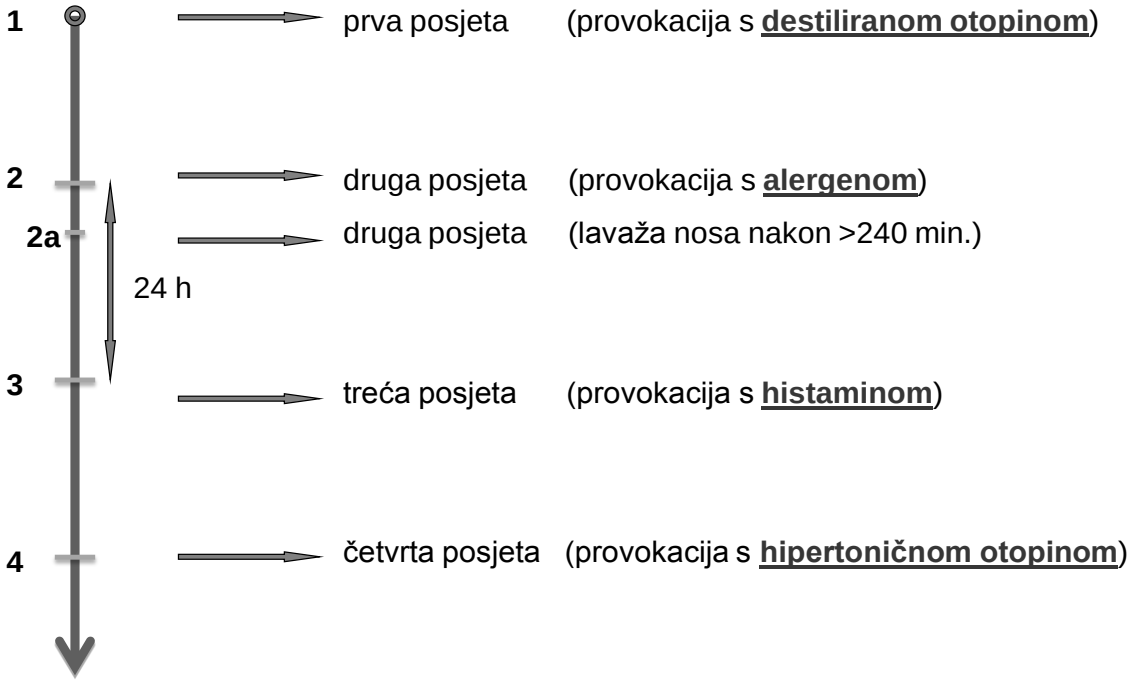
- nosne lavaže nakon provokacije,
- skupljanje suza nakon provokacije,
- ukupan broj kihanja nakon provokacije.

Nakon provokacije alergenom lavaža nosa se uzima i nakon 4-6 sati, te nakon 24 sata (prije provokacije histaminom).

Tablica 5. Vremenski tijek izvođenja provokacijskih testova.

PARAMETAR	1. POSJETA destilirana otopina	2. POSJETA alergenska provokacija	3. POSJETA histaminska provokacija	4. POSJETA HTS provokacija
Informirani pristanak	**x**			
Upitnik (Likert)	**x**	**xx**	**xx**	**xx**
Bazalna AR	**x**	**x**	**x**	**x**
Schirmer test		**x**	**x**	**x**
Postprovok. AR	**x**	**x**	**x**	**x**
EKP u ispirku nosa	**x**	**xx**	**xx**	**xx**
Triptaza u ispirku nosa	**x**	**xx**	**xx**	**xx**
IgE u ispirku nosa	**x**	**xx**	**xx**	**xx**
Tvar P u ispirku nosa	**x**	**xx**	**xx**	**xx**
Tvar P u suzama		**x**	**x**	**x**
Triptaza u suzama		**x**	**x**	**x**
EKP u suzama		**x**	**x**	**x**
IgE u suzama		**x**	**x**	**x**

Tablica 6. Protokol testiranja.



Nosni ispirak uzima se modificiranom metodom po Nacleriu (86). Ispitaniku se u ležećem položaju, sa zabačenom glavom, obostrano u nos mikropipetom aplicira 3 ml fiziološke otopine (0,9% NaCl). Ispitanika se prethodno uputi da u trenutku ukapavanja otopine u nos ne bi trebao gutati i da bi cijelo vrijeme trebao disati na usta. Nakon 30 sekundi ispitanik ispuše nos u Petrijevu posudicu. Povrat sadržaja nosa iznosi između 50% i 80% volumena apliciranog u nos. Sadržaj posudice prebaci se u epruvetu (111). Uzorci u epruvetama pohranjuju se odmah na led i upućuju se u laboratorij na obradu. Centrifugiranjem na 1600xg tijekom 10 minuta (centrifuga Heraeus Sepatech, Verifuge 3.OR) se razdvaja supernatant od sedimenta sa stanicama. Supernatant se čuva na -80 C, sve do izvođenja analize. Nosni lavat se analizira na tripta-

zu, EKP, IgE i tvar P. Analize lavata provodit će se u Endokrinološkom laboratoriju KBC Sestre milosrdnice (voditelj: dr. sc. Željka Bukovec Megla). Koncentracija triptaza, EKP-a te ukupnih protutijela IgE određuje se kvantitativno, metodom ImmunoCAP (Phadia AB, Uppsala, Sweden) na aparatu UniCAP 100, a SP EIA metodom (Cayman, USA). Koncetracija triptaze je izražena u vrijednostima < 1 mcg/mL, a EKP u vrijednostima 2-200 mcg/mL. Vrijednost koncentracije tvari P mjerena u nosnom sekretu i suzama izražena je do vrijednosti 3,9 pg/ml (Cayman, MI, USA).

Kolekcija suza izvodit će se Schirmerovim testom (slika 14), gdje se količina suza izražava u mm na traci filter-papira. Trakice se postavljaju obostrano pod donji kapak u vanjskom dijelu oka. Zahvat se provodi bez primjene lokalnog anestetika te se ispitanik zamoli da drži oba oka zatvorena i miruje kad se postave trakice radi što manje mehaničke iritacije konjunktiva samim trakicama. Kolekcija suza se provodi na oba oka u vremenu od 5 minuta; nakon 5 minuta trakice se odstrane te se očita vrijednost u mm ispunjenog filter-papira svakog oka zasebno. Ako trakica nakupi suze prije 5 minuta, odstranjuje se i zabilježi vremenski period nakupljanja za svako oko zasebno. Schirmerove trakice stavljaju se zajedno u Eppendorf posudicu te se dodatno razrijede sa 300 mcl fiziološke otopine, pohranjuju na -4 stupnja C kroz 24 sata, a onda spremaju na -80 stupnjeva C. Kako se Scirmerov test provodi na oba oka te se prikupljaju suze obostrano i stavljaju u istu posudicu, izražene vrijednosti koncentracije tvari P u suzama predstavljaju srednju vrijednost oba oka. Da bi se objektivizirala razina suzenja svakog oka zasebno, uveden je pojam Schirmerov zbroj koji za svako oko izračunava volumen suza u jedinici vremena (takvo izračunavanje je neophodno zbog razlike u nakupljanju suza u 5 min u pojedinih ispitanika, jedna skupina ispuni

35 mm trakice filter-papira prije 5 minuta, dok druga ne). Ukupni Schirmerov zbroj je zbroj Schirmerovih rezultata za oba oka.

Vrijednosti tvari P u suzama se korigiraju u odnosu na težinu i volumen suza prema formuli:

$$C = \left(\frac{1000+VRL}{VRL} \times CD\right) \times 10^{-3} \quad [pg/\mu L]$$

VRL – volumen suza oba oka

CD – koncentracija tvari P u razrijeđenom uzorku

Testiranja se provode najmanje dva mjeseca od završetka sezonskih simptoma.

Po prikupljanju rezultata učinit će se statistička analiza s ciljem utvrđivanja korelacije nespecifične hiperreaktivnosti i intenziteta nosnih i očnih simptoma u sezoni i nakon provokacijskih testova te značajnosti odgovora komparirajući različite testove. Svi će uzorci biti prikupljeni u skladu s etičkim i bioetičkim principima, tako da je privatnost podataka ispitanika/bolesnika obuhvaćenih istraživanjem i zaštita tajnosti podataka u potpunosti osigurana, prvenstveno šifriranjem uzorka po uzimanju. Cjelokupni istraživački proces obavit će se u skladu sa svim primjenjivim smjernicama, uključujući Os-

nove dobre kliničke prakse, Helsinšku deklaraciju, Zakon o zdravstvenoj zaštiti Republike Hrvatske (NN121/03) i Zakon o pravima pacijenata Republike Hrvatske (NN 169/04). Svi primijenjeni statistički testovi bit će dvosmjerni. P vrijednosti manje od 0,05 smatrat će se statistički značajnima.

Dobiveni rezultati testirat će se na normalnost distribucije unutar skupina Smirnov-Kolmogorovljevim testom te će se shodno dobivenim rezultatima koristiti parametrijski (Studentov T-test), odnosno neparametrijski testovi (Mann-Whitneyjev U test, Wilcoxonov test) za parne i neovisne uzorke te odgovarajući prikaz kontinuiranih vrijednosti (aritmetičke sredine i standardne devijacije, odnosno medijani i interkvartilni rasponi). Korelacije će se izračunavati ovisno o normalnosti distribucije Pearsonovim ili Spearmanovim testom.

5. Rezultati

Ispitivanje je obuhvatilo 30 ispitanika sa sezonskim alergijskim rinitisom, 15 muškaraca i 15 žena, te kao kontrolnu skupinu 10 osoba s nealergijskim rinitisom (svi ispitanici ženskog spola). U alergijskoj skupini prosječna životna dob je 36 godina (SD = 10,5), muškaraca 36,9 godina (SD = 12,2), žena 35,1 godine (SD = 8,9). U nealergijskoj skupini prosječna životna dob je iznosila 36,8 (SD = 13,3) (tablica 7).

Tablica 7. Raspodjela po dobi i spolu te srednje vrijednosti specifičnog IgE.

ALERGIJSKI RINITIS	**n = 30**	**DOB (srednja vrijednost)**	**Spec. IgE (srednja vrijednost)**
M	15	**36,9** (24-61)	**19,9** (0,5-100)
Ž	15	**35,1** (19-49)	**8,4** (0,5-26,7)
		36 (19-61)	**14,2** (0,5-100)
NEALERGIJSKI RINITIS	**n = 10**		
M	0	x	x
Ž	10	**36,8** (20-53)	x

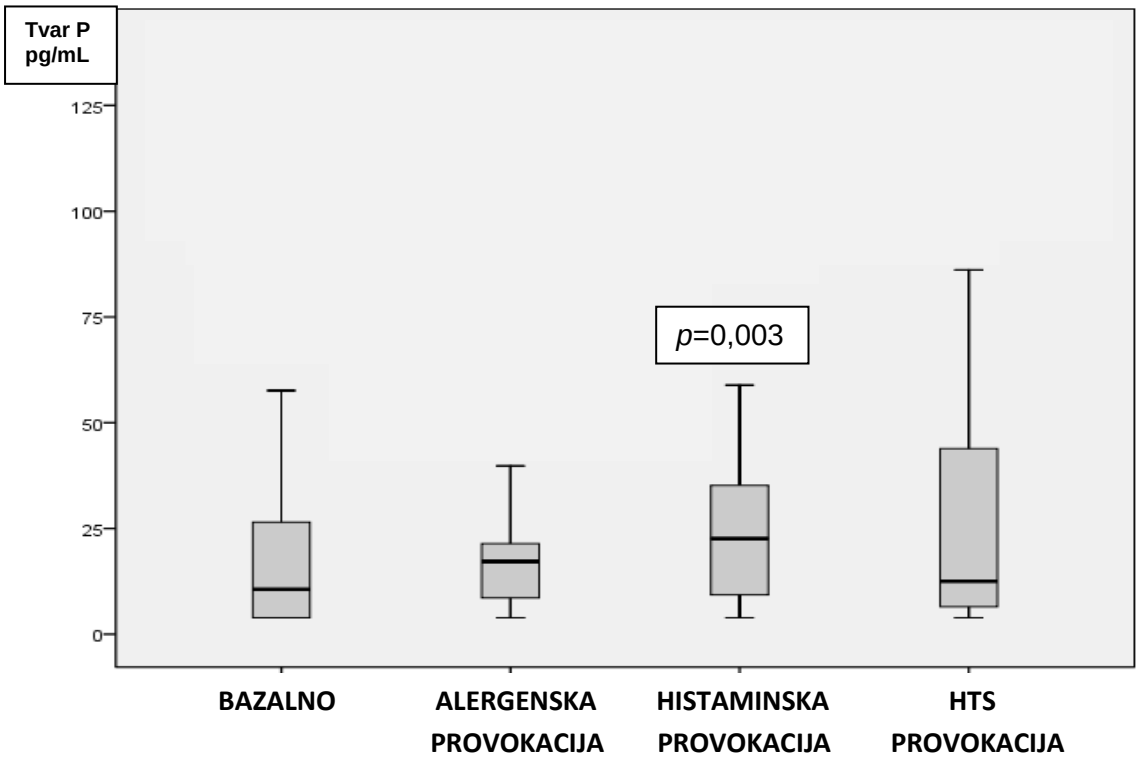
Prosječna vrijednosti specifičnog imunoglobulina E je iznosila 14,2 kU/L (19,9 kU//L u muškaraca, te 8,4 kU/L u žena). U alergijskoj skupini 10 osoba je imalo alergiju na pelud trava (Phleum pratense i Dactylis glomerata), 20 na pelud Ambrosia elatior (tablica 8).

Tablica 8. Pojedinačne vrijednosti specifičnog imunoglobulina E.

RB.	DOB	specifični IgE (kU/L)
1	38	Ambrosia elatior 14,9
2	49	Ambrosia elatior 20
3	24	Phleum pratense 23,5
4	41	Ambrosia elatior 1,8
5	40	Ambrosia elatior 1,8
6	31	Ambrosia elatior 0,7
7	37	Ambrosia elatior 0,5
8	26	Ambrosia elatior 5,7
9	34	Dactylis glomerata 2,4
10	19	Ambrosia elatior 1,4
11	25	Ambrosia elatior 1
12	51	Phleum pratense 2
13	31	Phleum pratense 0,5
14	46	Ambrosia elatior 3,7
15	35	Ambrosia elatior 1,3
16	38	Ambrosia elatior 26,7
17	57	Phleum pratense 2,3
18	61	Phleum pratense 2
19	26	Ambrosia elatior 0,7
20	44	Ambrosia elatior 67
21	32	Ambrosia elatior 23
22	38	Ambrosia elatior 14,9
23	32	Ambrosia elatior 0,9
24	25	Dactylis glomerata 17
25	28	Ambrosia elatior 39,9
26	49	Ambrosia elatior 5,7
27	24	Phleum pratense 23,5
28	44	Phleum pratense 10,7
29	31	Ambrosia elatior 9,6
30	25	Phleum pratense >100

5.1. Tvar P

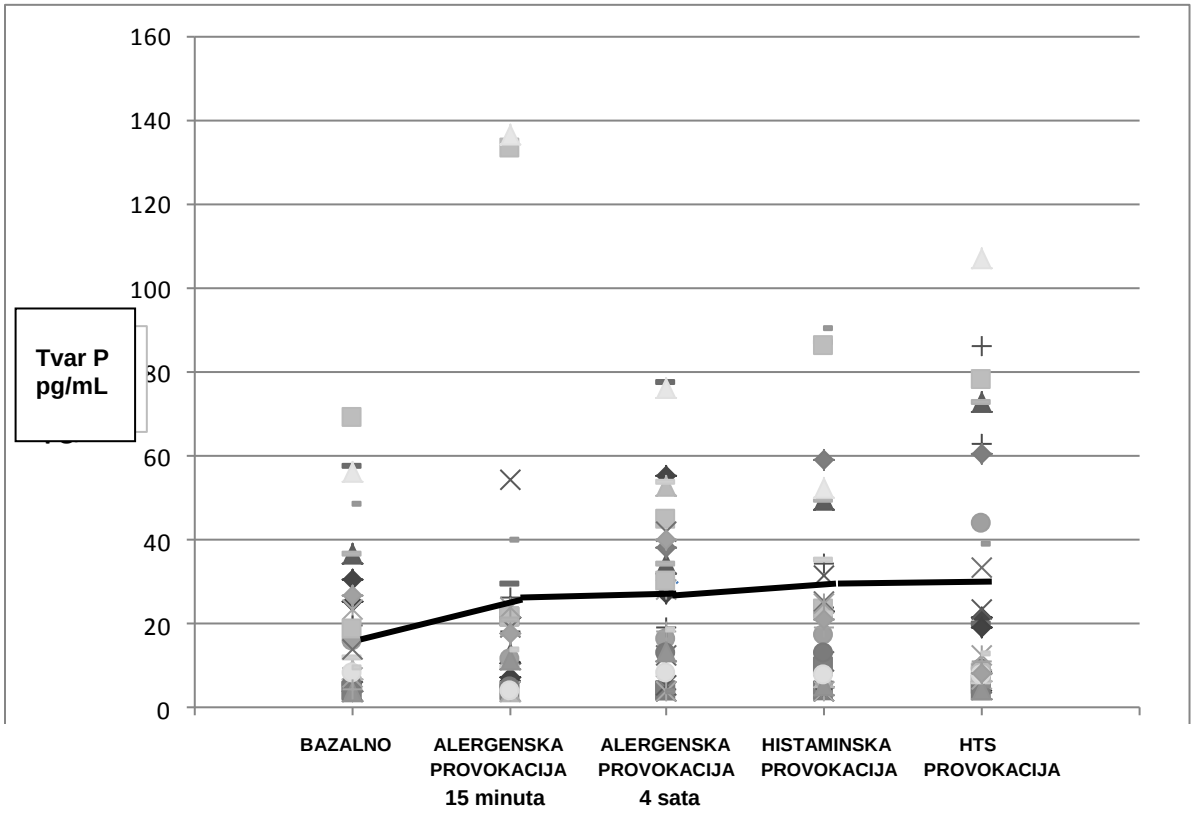
U skupini ispitanika s alergijskim rinitisom vrijednosti medijatora neurogene upale (tvar P) u nosnom sekretu uspoređivane bazalno i nakon tri vrste provokacijskih testova pokazuju statistički značajnu razliku nakon provokacijskog testa histaminom (*p*=0,003), dok za provokacijski test alergenom i hipertoničnom otopinom nije bilo statistički značajne razlike (alergen *p*=0,561, hipertonična otopina *p*=0,078 Wilcoxon signed rank test) (slika 15, tablica 9). Raspodjela vrijednosti tvari P u nosnom sekretu alergijske skupine ispitanika i srednja vrijednost tvari P nakon bazalnog mjerenja te provokacijskih testova prikazana je na slici 16.



Slika 15. Grafički box plot prikaz tvari P u nosnom sekretu u alergijskoj skupini ispitanika bazalno i nakon provokacijskih testova pokazuje statistički značajnu razliku nakon provokacijskog testa histaminom (*p*=0,003).

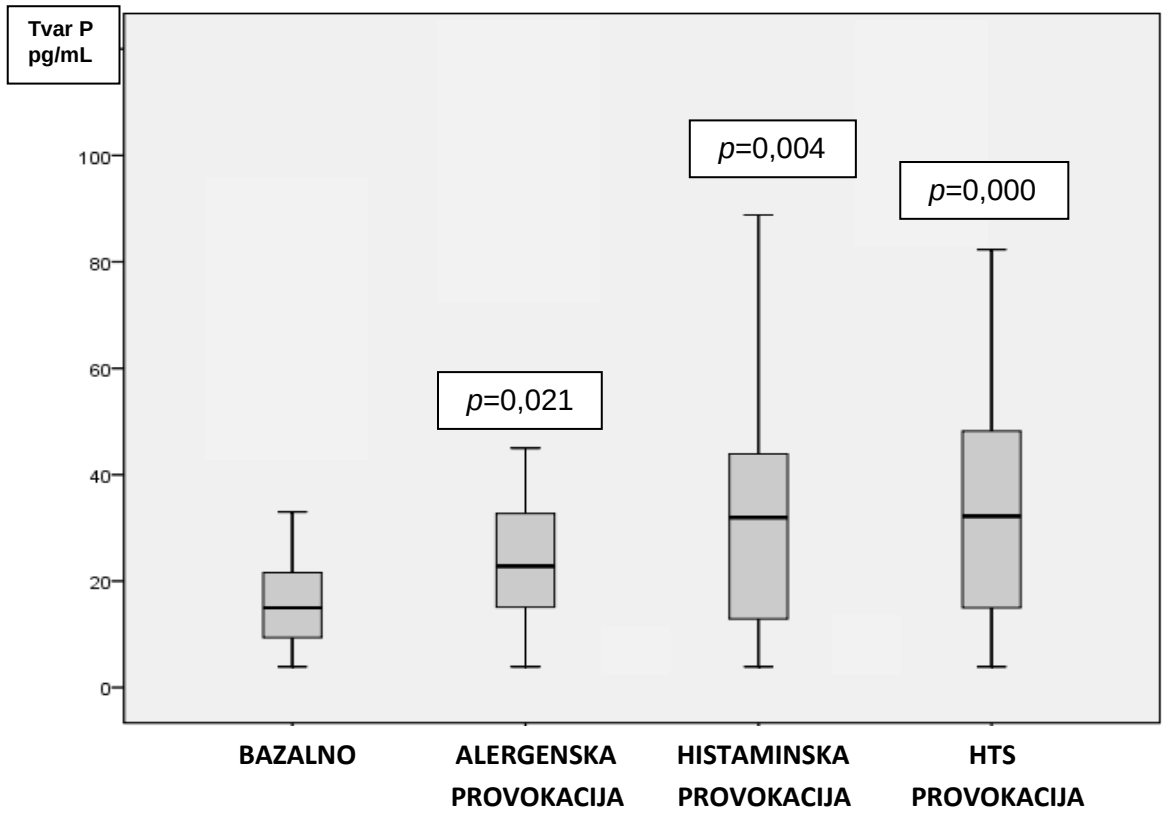
Tablica 9. Tvari P u nosnom sekretu bazalno i nakon provokacijskih testova alergenom, histaminom i hipertoničnom otopinom, statistički značajna razlika nakon provokacijskog testa histaminom (*p*=0,003 Wilcoxonov signed rank test).

	ALERGENSKA PROVOKACIJA/ bazalno	**HISTAMINSKA PROVOKACIJA/ bazalno**	**HTS PROVOKACIJA/ bazalno**
Z	**-0,581**	**-2,949**	**-1,762**
p	**0,561**	**0,003**	**0,078**



Slika 16. Grafički prikaz raspodjele pojedinih rezultata te srednjih vrijednosti tvari P u nosnom sekretu u alergijskoj skupini bazalno i nakon provokacijskih testova.

U skupini ispitanika s alergijskim rinitisom vrijednosti tvari P u suzama uspoređivane bazalno i nakon tri vrste provokacijskih testova pokazuju statistički značajnu razliku na provokacijske testove histaminom (*p*=0,004), alergenom (*p*=0.021) i hipertoničnom otopinom (*p*=0,000 Wilcoxonov signed rank test) (slika 17, tablica 10).

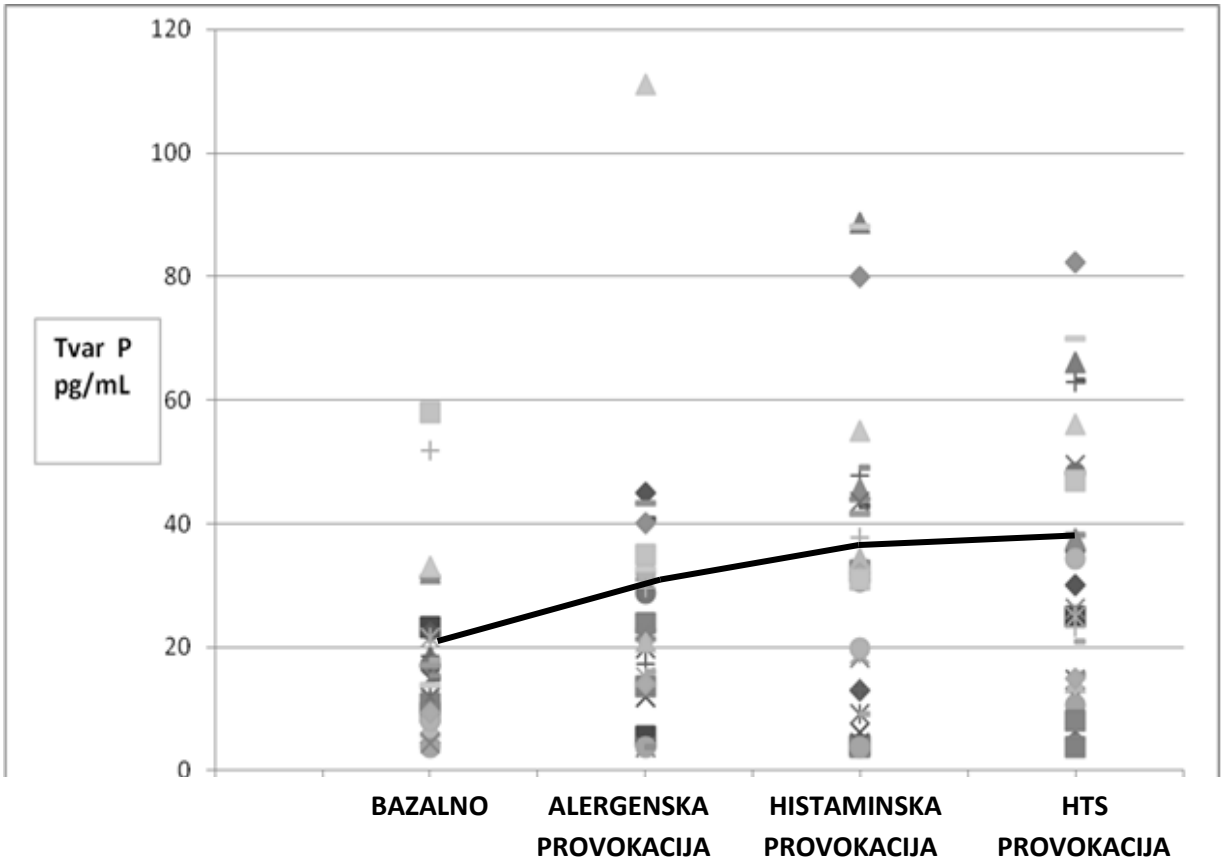


Slika 17. Grafički box plot prikaz tvari P u suzama alergijske skupine ispitanika bazalno i nakon provokacijskih testova pokazuje statistički značajnu razliku na provokacijski test histaminom (*p*=0,004), alergenom (*p*=0.021) i hipertoničnom otopinom (*p*=0,000).

Tablica 10. Tvari P u suzama bazalno i nakon provokacijskih testova alergenom, histaminom i hipertoničnom otopinom (Wilcoxonov signed rank test).

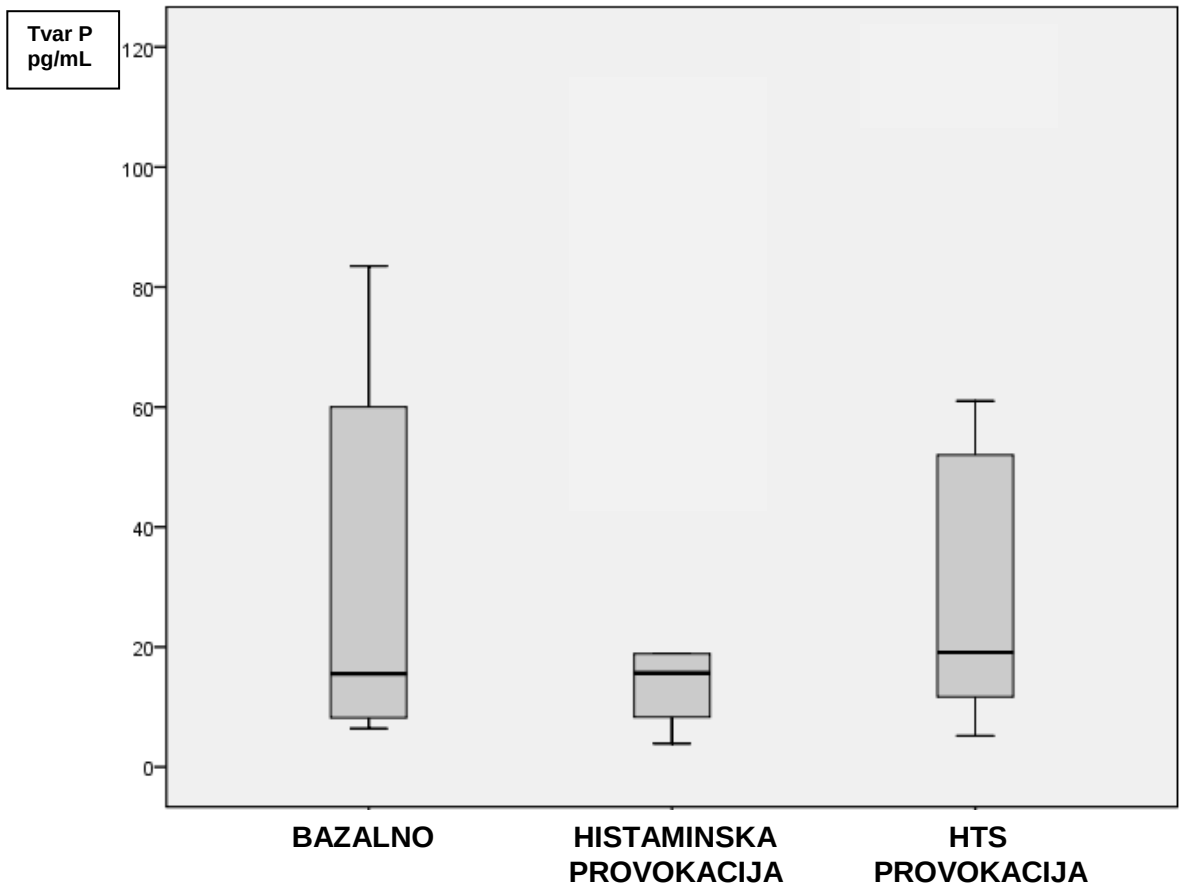
	ALERGENSKA PROVOKACIJA/ bazalno	HISTAMINSKA PROVOKACIJA/ bazalno	HTS PROVOKACIJA/ bazalno
z	-2,314	-2,865	-3,487
p	0,021	0,004	0,000

Raspodjela vrijednosti tvari P u suzama alergijske skupine ispitanika i srednja vrijednost tvari P nakon bazalnog mjerenja te provokacijskih testova prikazana je na slici 18.

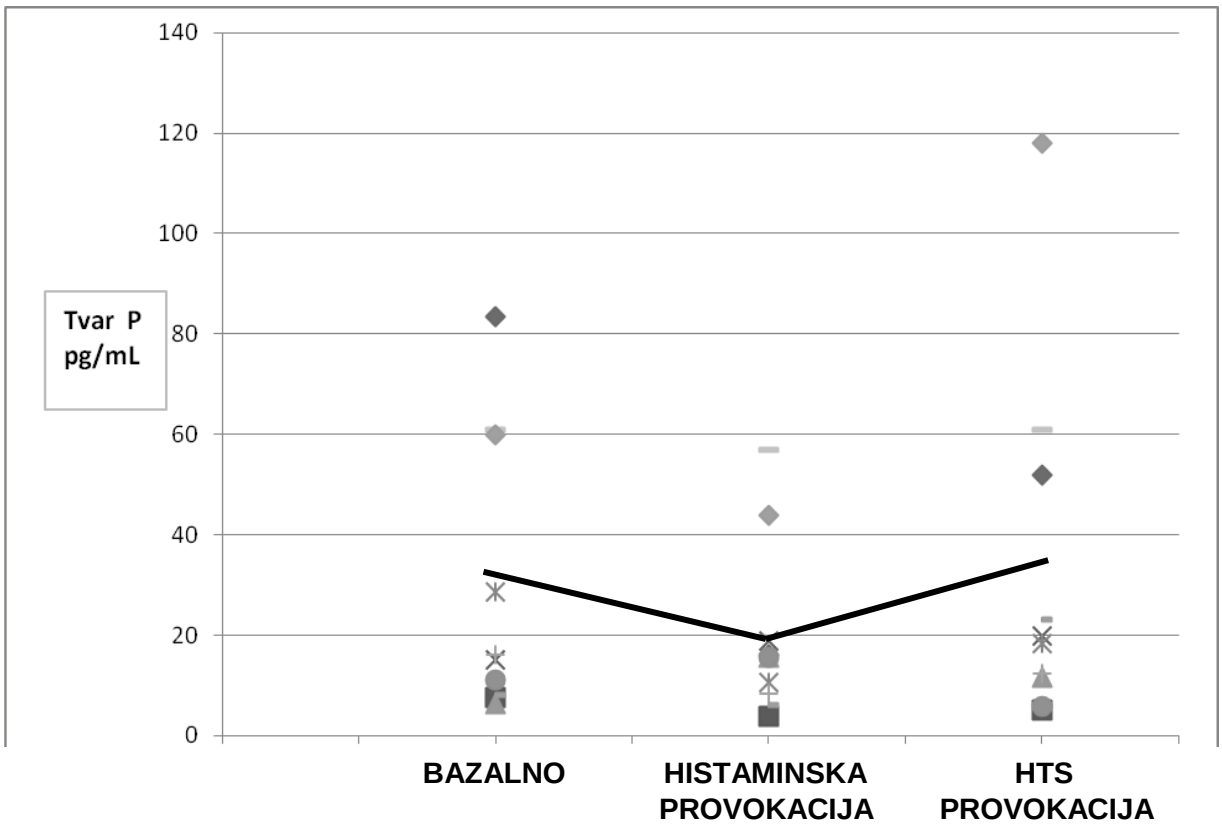


Slika 18. Grafički prikaz raspodjele pojedinih rezultata te srednjih vrijednosti tvari P u suzama alergijske skupine bazalno i nakon provokacijskih testova.

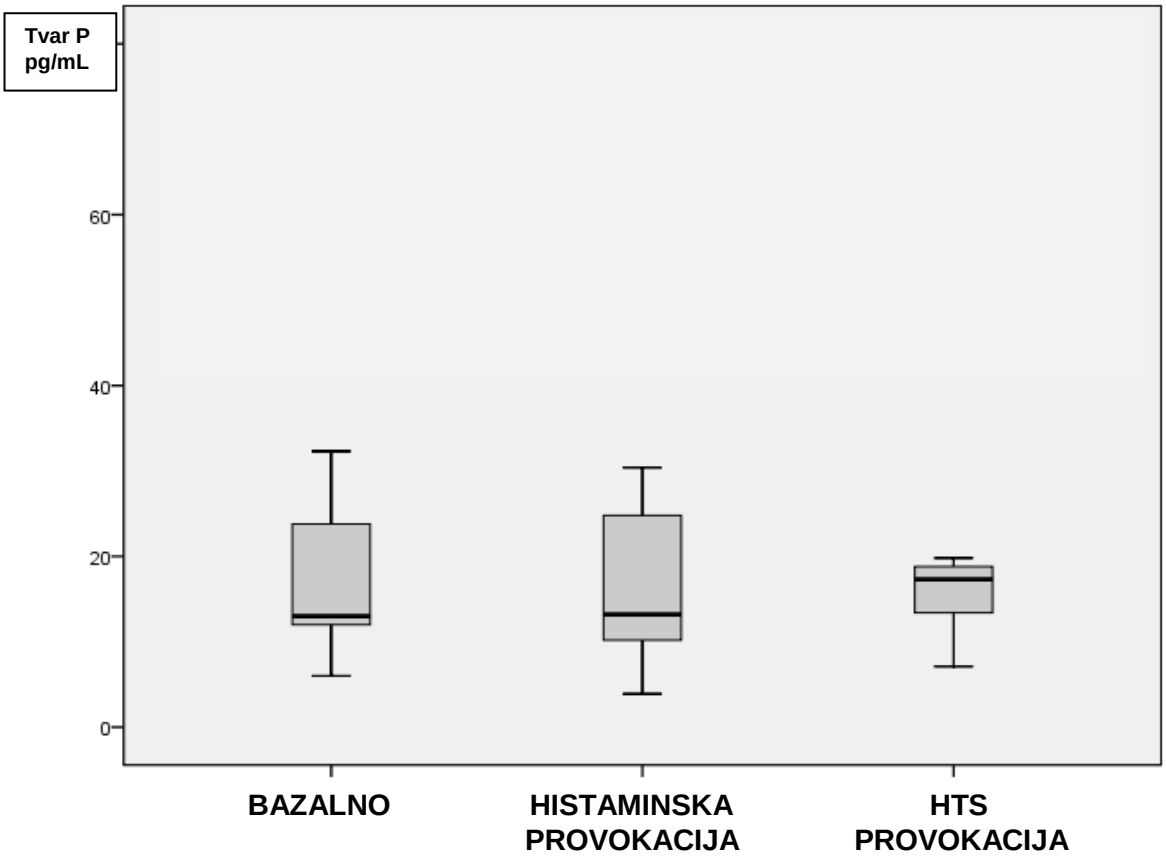
Nije bilo statistički značajne razlike vrijednost tvari P uspoređujući bazalno mjerenje i provokacijske testove u skupini ispitanika s nealegijskim rinitisom u nosnom sekretu i suzama (slike 19 i 20, slike 21 i 22).



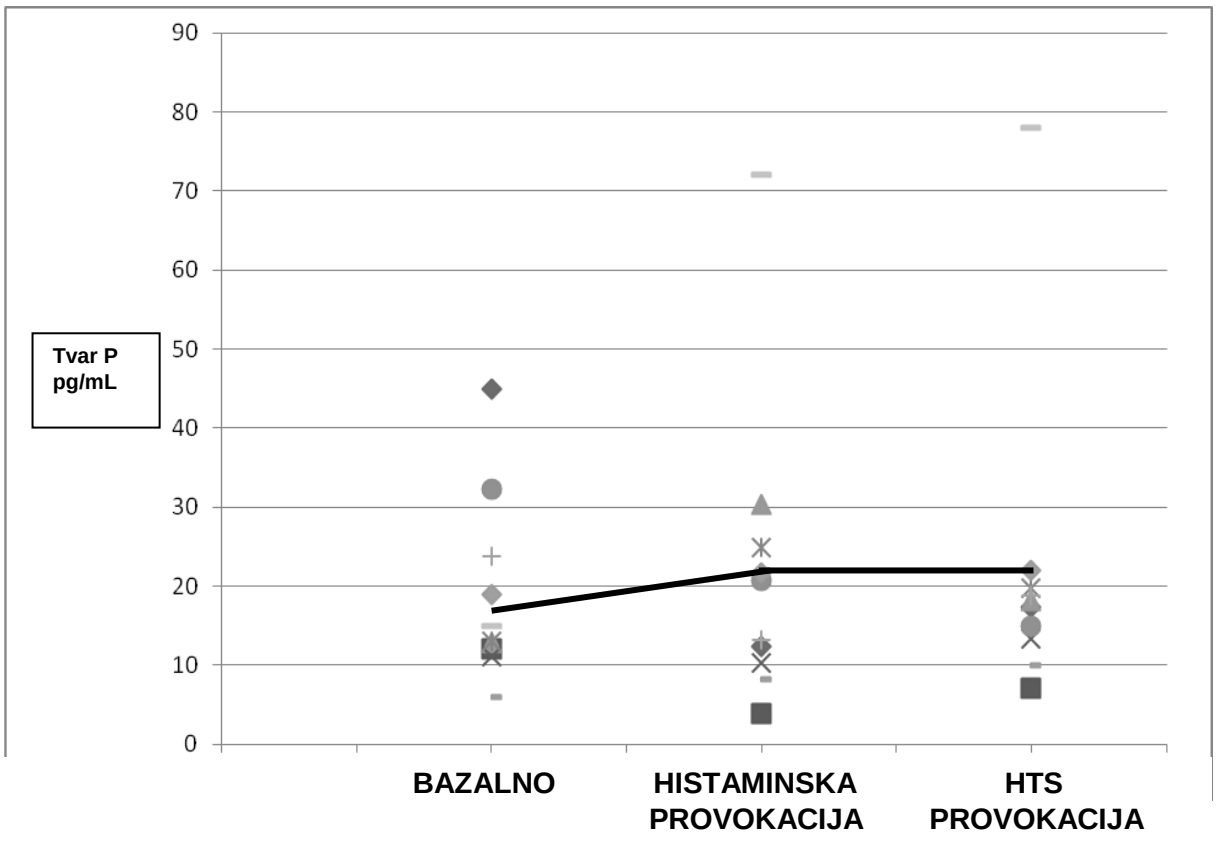
Slika 19. Grafički box plot prikaz tvari P u nosnom sekretu u nealergijskoj skupini ispitanika bazalno i nakon provokacijskih testova histaminom i hipertoničnom otopinom pokazuje da nije bilo statističke značajne razlike prije i nakon provokacijskih testova.



Slika 20. Grafički prikaz raspodjele pojedinih rezultata te srednjih vrijednosti tvari P u nosnom sekretu nealergijske skupine bazalno i nakon provokacijskih testova.



Slika 21. Grafički box plot prikaz tvari P u suzama u nealergijskoj skupini bazalno i nakon provokacijskih testova histaminom i hipertoničnom otopinom pokazuje da nije bilo statističke značajne razlike prije i nakon provokacijskih testova.



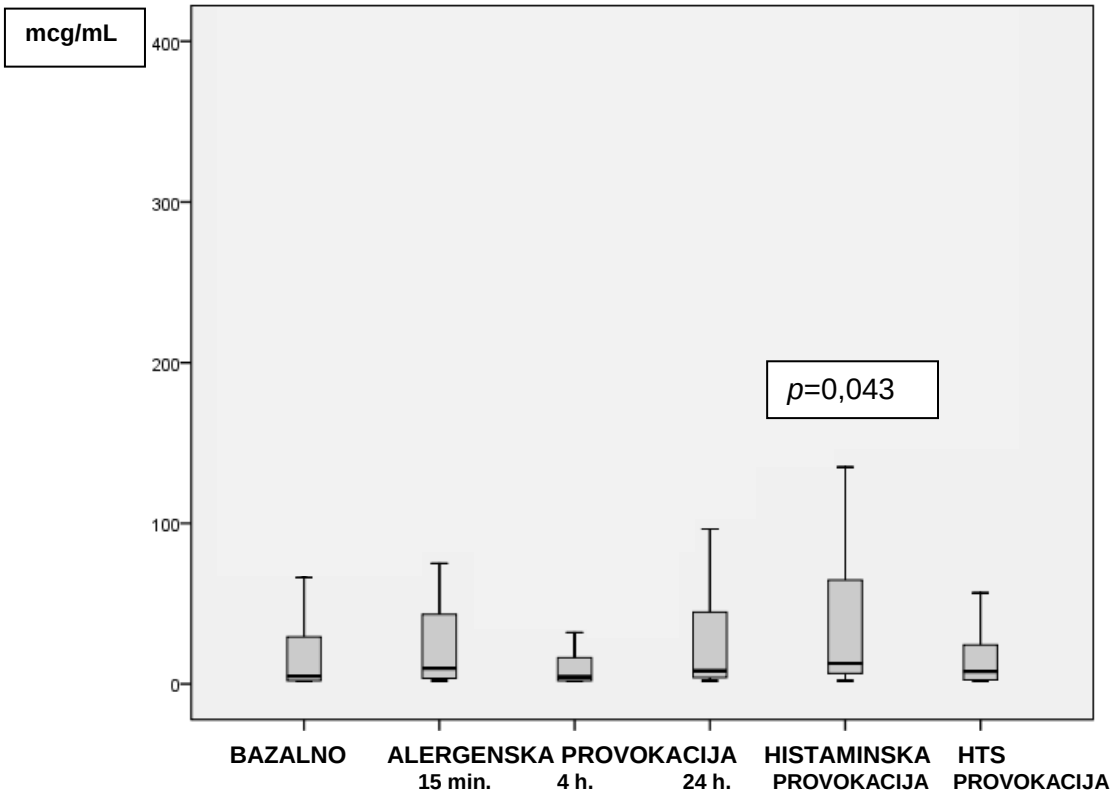
Slika 22. Grafički prikaz raspodjele pojedinih rezultata te srednjih vrijednosti tvari P u suzama u nealergijskoj skupini bazalno i nakon provokacijskih testova histaminom i hipertoničnom otopinom.

5.2. Eozinofilni kationski protein

U skupini ispitanika s alergijskim rinitisom vrijednosti celularnog markera kasne faze alergijske reakcije, eozinofilnog kationskog proteina (EKP) u nosnom sekretu uspoređivane bazalno i nakon tri vrste provokacijskih testova pokazuju statistički značajnu razliku nakon provokacijskog testa histaminom (p=0,043), dok za provokacijski test alergenom i hipertoničnom otopinom nije bilo statistički značajne promjene vrijednosti. Intervalno su rađene lavaže nosa i uzorkovanje nosnog sekreta, 15 minuta, 4 sata i 24 sata nakon alergenskog provokacijskog testa. Odvojene lavaže su rađene nakon histaminskog testa i testa hipertoničnom otopinom. Vrijednosti EKP-a nakon provokacijskog testa alergenom su iznosile: 15 minuta p=0,561, 4 sata p=0,264, 24 sata p=0,264, za histaminski test vrijednost je iznosila p=0,043, a za hipertoničnu otopinu p=0,631 (Wilcoxonov signed rank test) (tablica 11, slika 23).

Tablica 11. Usporedba vrijednosti EKP-a u nosnom sekretu bazalno i nakon tri vrste provokacijskih testova alergenom (15 min, 4 sata i 24 sata nakon provokacijskog testa) te histaminom i hipertoničnom otopinom u alergijskoj skupini ispitanika (Wilcoxonov signed rank test).

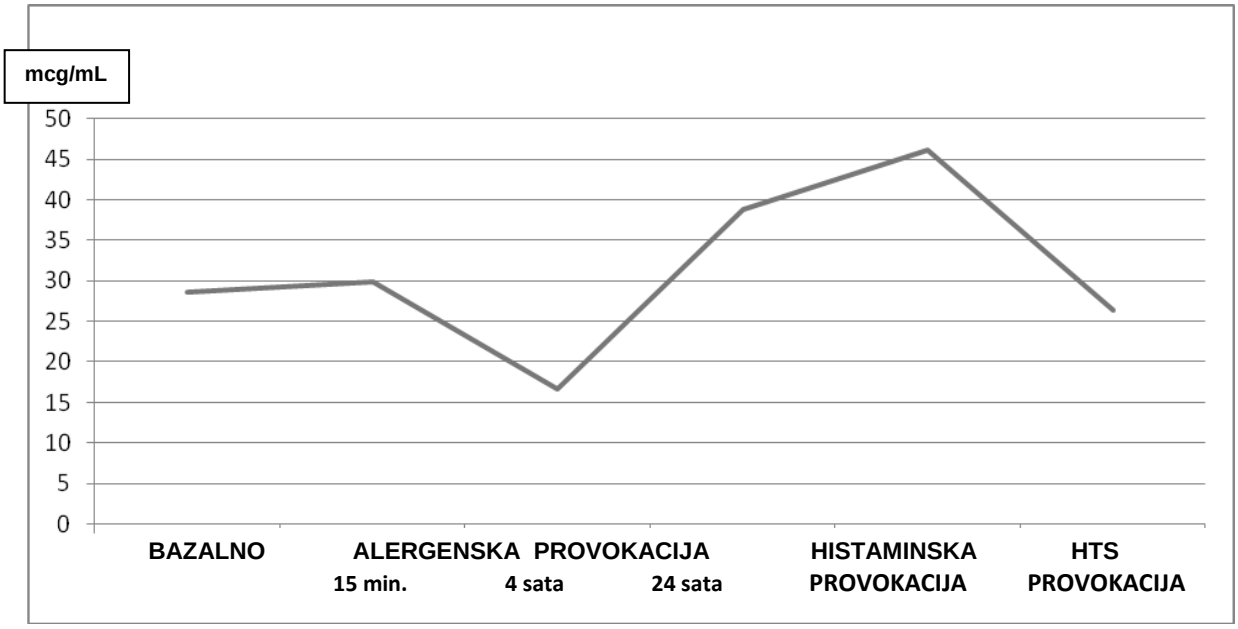
	ALERGENSKA PROVOKACIJA/ BAZALNO			**HISTAMINSKA PROVOKACIJA/ BAZALNO**	**HTS PROVOKACIJA/ BAZALNO**
	15 min.	**4 sata**	**24 sata**		
Z	**-1,970**	**-1,117**	**-1,116**	**-2,022**	**-0,481**
p	**0,561**	**0,264**	**0,264**	**0,043**	**0,631**



Slika 23. Grafički box plot prikaz EKP-a u nosnom sekretu alergijske skupine ispitanika bazalno i nakon provokacijskih testova alergenom, histaminom i hipertoničnom otopinom pokazuje statistički značajnu razliku nakon provokacijskog testa histaminom (p=0,043).

Vrijednosti EKP-a u suzama u alergijskoj skupini ispitanika nakon provokacijskih testova nisu bile mjerljive.

Srednje vrijednosti koncentracije eozinofilnog kationskog proteina u alergijskoj skupini ispitanika uspoređujući bazalno s mjerenjima 15 minuta, četiri sata i 24 sata nakon provokacije alergenom, te nakon provokacije histaminom i hipertoničnom otopinom prikazane su na slici 24.

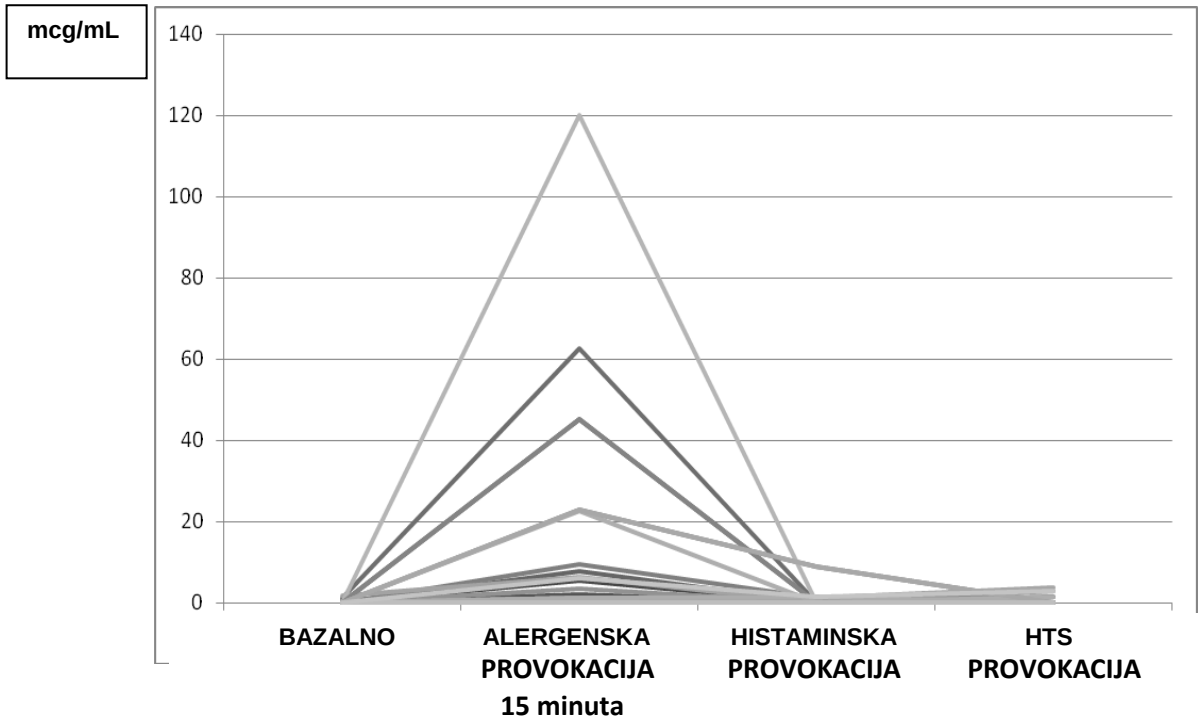


Slika 24. srednje vrijednosti koncentracije EkP-a u nosnom sekretu u alergijskoj skupini ispitanika bazalno, 15 minuta, četiri sata i 24 sata nakon provokacije alergenom, te nakon provokacije histaminom i hipertoničnom otopinom.

U nealergijskoj skupini ispitanika nije bilo statistički značajne razlike u mjerenim vrijednostima EKP-a uspoređujući bazalnu lavažu nosa i provokacijski test histaminom i hipertoničnom otopinom (Wilcoxonov signed rank test).

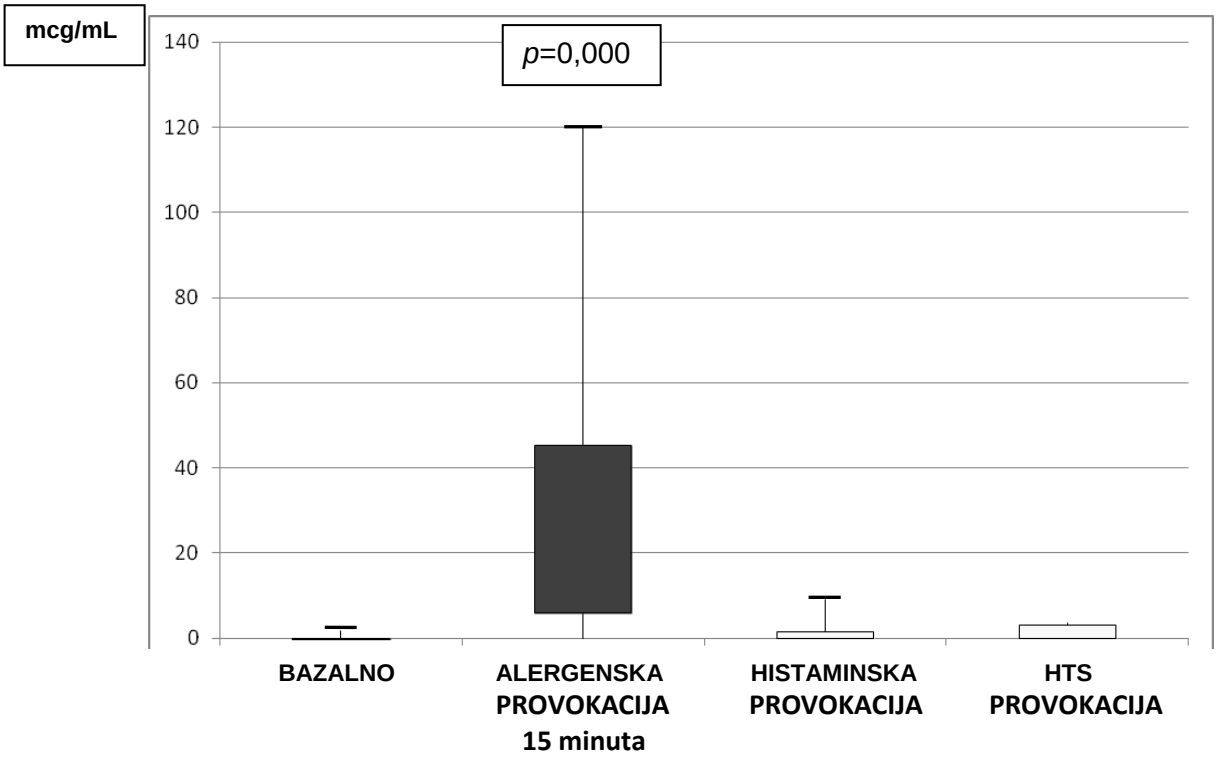
5.3. Triptaza

Raspodjela vrijednosti triptaze u nosnom sekretu u alergijskoj skupini ispitanika nakon bazalnog mjerenja te provokacijskih testova prikazana je kao srednja vrijednost na slici 25.



Slika 25. Srednje vrijednosti triptaze u nosnom sekretu alergijske skupine ispitanika mjerene bazalno te poslije provokacijskog testa alergenom, histaminom i hipertoničnom otopinom.

U skupini s alergijskim rinitisom vrijednosti celularnog markera rane faze alergijske reakcije tripaze (marker mastocitne degranulacije) u nosnom sekretu pokazuju statistički značajnu razliku 15 minuta nakon provokacijskog testa alergenom (p=0.000), dok nije bilo značajne razlike na provokacijski test histaminom (p=0,180) i hipertoničnom otopinom (p=0,180 Wilcoxonov signed rank test) (slika 26, tablica 12).



Slika 26. Grafički box plot prikaz triptaze u nosnom sekretu alergijske skupine bazalno i nakon provokacijskih testova alergenom, histaminom i hipertoničnom otopinom pokazuje značajnu razliku poslije provokacijskog testa alergenom (*p*=0.000 Wilcoxonov signed rank test).

Tablica 12. Usporedba vrijednosti triptaze u nosnom sekretu bazalno i nakon tri vrste provokacijskih testova (Wilcoxonov signed rank test).

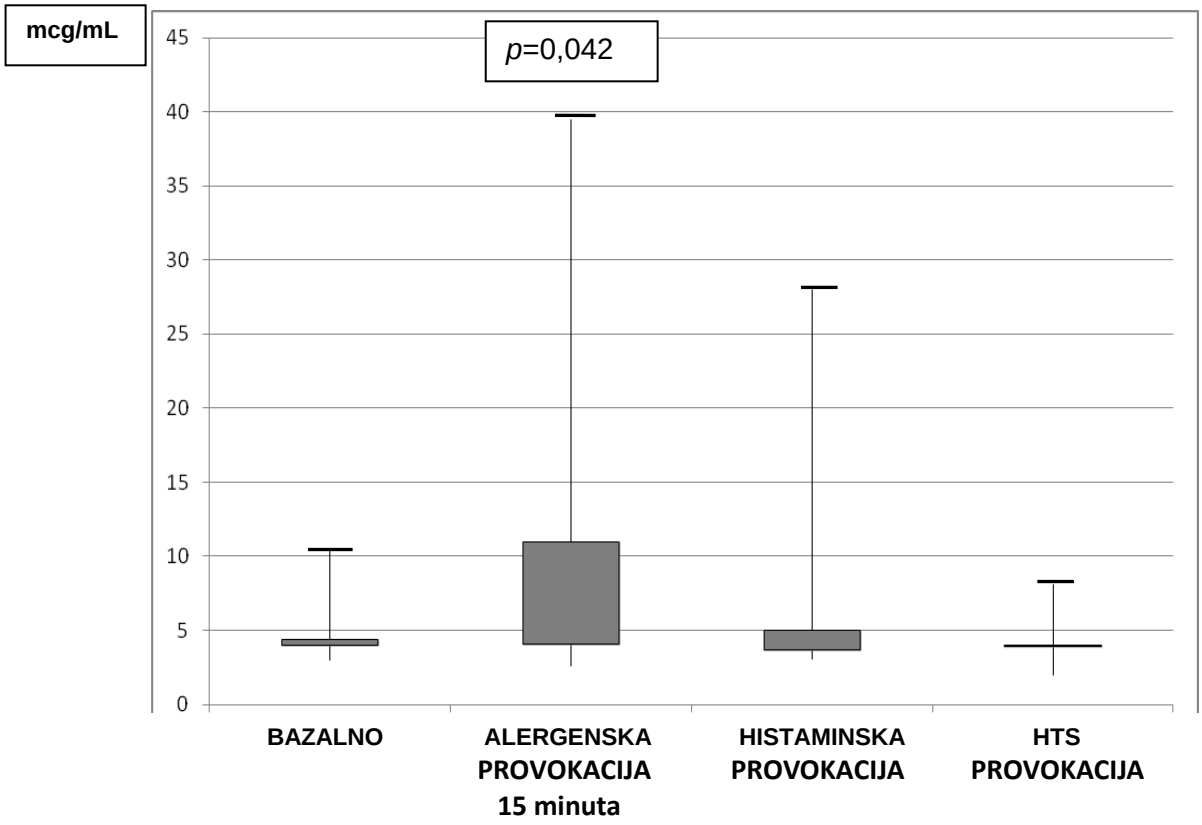
	ALERGENSKA PROVOKACIJA/ bazalno	**HISTAMINSKA PROVOKACIJA/ bazalno**	**HTS PROVOKACIJA/ bazalno**
Z	**-3,623**	**-1,342**	**-1,342**
p	**0,000**	**0,180**	**0,180**

U skupini s alergijskim rinitisom vrijednost celularnog markera rane faze alergijske reakcije tripaze u suzama nije bila mjerljiva nakon provokacijskog testa alergenom, histaminom i hipertoničnom otopinom.

U nealergijskoj skupini ispitanika nije bilo statistički značajne razlike u mjerenim vrijednostima triptaze u nosnom sekretu i suzama uspoređujući bazalne vrijednosti i provokacijski test histaminom i hipertoničnom otopinom (Wilcoxonov signed rank test).

5.4. Ukupni IgE

Usporedba vrijednosti ukupnog imunoglobulina E u alergijskoj skupini ispitanika bazalno i nakon provokacijskih testova pokazuje statistički značajnu razliku nakon provokacijskog testa na alergen u nosnom sekretu (*p*=0.042), dok nije bilo značajne razlike na provokacijski test histaminom (*p*=0,088) i hipertoničnom otopinom (*p*=0,282 Wilcoxonov signed rank test) (slika 27, tablica 13).



Slika 27. Grafički box plot prikaz vrijednosti ukupnog IgE-a bazalno i nakon provokacijskih testova alergenom, histaminom i hipertoničnom otopinom pokazuje značajnu razliku nakon provokacijskog testa na alergen u nosnom sekretu (*p*=0.042).

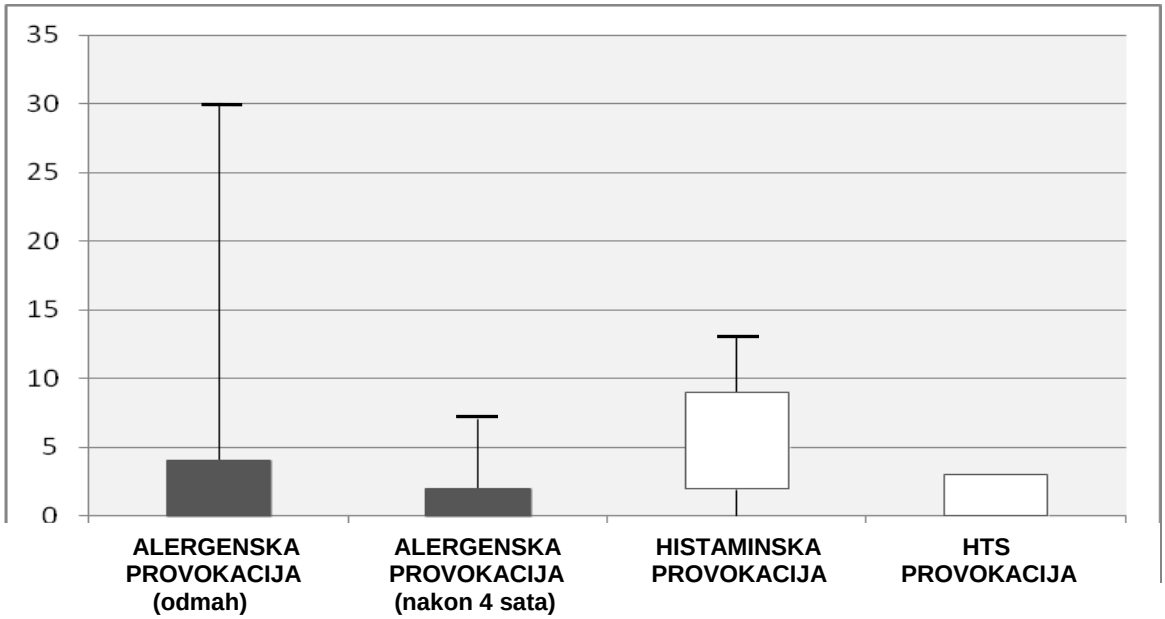
Tablica 13. Usporedba vrijednosti ukupnog IgE-a u nosnom sekretu uspoređivane bazalno i nakon tri vrste provokacijskih testova (Wilcoxonov signed rank test).

	ALERGENSKA PROVOKACIJA/ BAZALNO	**HISTAMINSKA PROVOKACIJA/ BAZALNO**	**HTS PROVOKACIJA/ BAZALNO**
Z	**-2,030**	**-1,708**	**-1,077**
p	**0,042**	**0,088**	**0,282**

U nealergijskoj skupini ispitanika nije bilo porasta vrijednosti ukupnog IgE-a nakon provokacijskog testa uspoređujući s bazalnim mjerenjem.

5.5. Intezitet kihanja nakon provokacijskih testova

Intenzitet kihanja mjeren je brojem kihanja nakon provokacijskih testova. U alergijskoj skupini ispitanika poslije alergenske provokacije bilježen je broj podražajnog kihanja odmah nakon aplikacije alergena i u vremenu nakon 4 sata od provokacijskog testa. Vrijednosti nakon alergenske provokacije kreću se do 30 odmah nakon podražaja, sa srednjom vrijednošću 3. U vremenu do 4 sata najveći broj je bio sedam sa srednjom vrijednošću 1,8. Na podražaj histaminom najveći broj je bio 13 sa srednjom vrijednošću 3,3, dok na podražaj hipertoničnom otopinom najveći broj kihanja je iznosio tri sa srednjom vrijednošću 0,2. Devetnaest osoba je kihnulo na podražaj alergenom, 20 na podražaj histaminom, a samo tri osobe na podražaj hipertoničnom otopinom (slika 28).



Slika 28. Grafički box plot prikaz broja kihanja u alergijskog skupini ispitanika nakon provokacijskih testova alergenom (odmah i nakon 4 sata iza provokacije), histaminom i hipertoničnom otopinom.

Usporedba broja kihanja po pojedinim skupinama provokacijskih testova pokazuje statistički značajnu razliku nakon provokacije hipertoničnom otopinom u odnosu na alergensku provokaciju (alergen 15 min) (p=0,000) te statistički značajnu razliku nakon provokacije hipertoničnom otopinom u odnosu na histaminsku provokaciju (p=0,000). Nije bilo značajne razlike gledajući odnos histaminske provokacije i alergenske provokacije 15 min (p=0,208) i alergenske provokacije 4 sata i alergenske provokacije 15 min (p=0,391 Wilcoxonov signed rank test) (tablica 14).

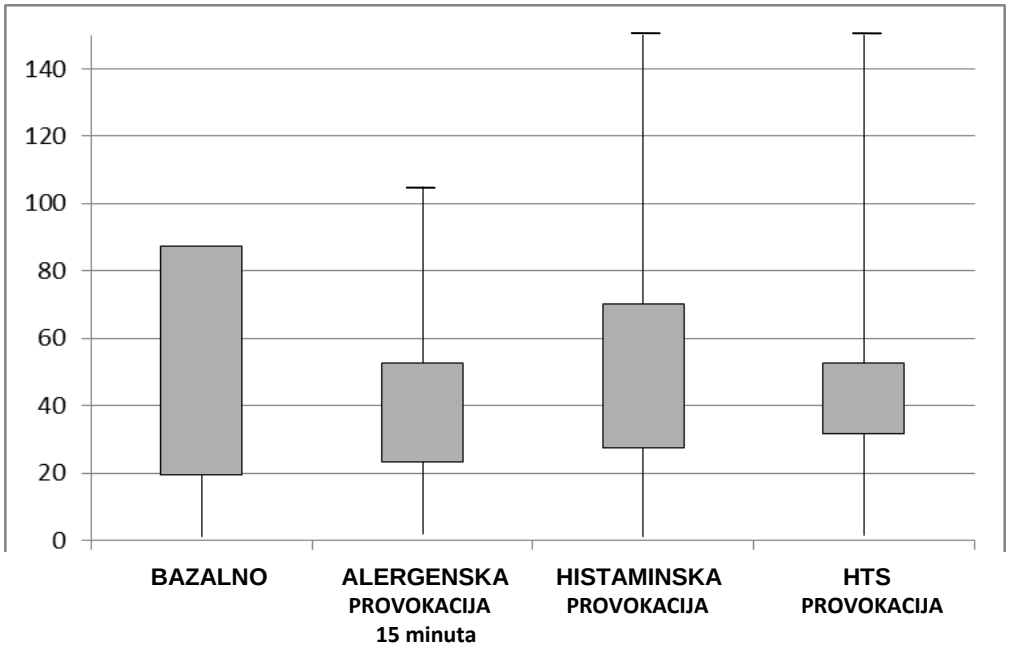
Tablica 14. Statistička značajnost razlike u broju kihanja između raznih provokacijskih testova.

	ALERGENSKA PROVOKACIJA 4 h./ ALERGENSKA PROVOKACIJA 15 min.	**HISTAMINSKA PROVOKACIJA/ ALERGENSKA PROVOKACIJA 15 min.**	**HTS PROVOKACIJA/ ALERGENSKA PROVOKACIJA 15 min.**	**HTS PROVOKACIJA/ HISTAMINSKA PROVOKACIJA**
Z	**-0,858**	**-1,260**	**-3,489**	**-3,955**
p	**0,391**	**0,208**	**0,000**	**0,000**

U nealergijskoj skupini ispitanika nakon provokacijskih testova histaminom i hipertoničnom otopinom četiri osobe su kihnule na podražaj, najveća vrijednost nakon provokacije histaminom bila je 11 sa srednjom vrijednošću od 1,5. Na provokacijski test hipertoničnom otopinom samo je jedna osoba kihnula dva puta.

5.6. Schirmerov zbroj

Intenzitet suzenja mjeren je kolekcijom suza Schirmerovim testom, a vrijednosti su izražene kao Schirmerov zbroj. Zbroj za svako oko zasebno predstavlja broj milimetara ispunjenih suzama na Schirmerovoj trakici jednog oka podijeljenih s vremenom koje je bilo potrebno da se ispune trakice. Ukupni Schirmerov zbroj jest vrijednost koja se dobije zbrajanjem pojedinačnih Schirmerovih vrijednosti za oba oka (slika 29).



Slika 29. Grafički prikaz box plot ukupnog Schirmerovog zbroja u alergijskog skupini ispitanika nakon provokacijskih testova alergenom, histaminom i hipertoničnom otopinom.

Srednje vrijednosti ukupnog Schirmerovog zbroja u alergijskoj skupini ispitanika iznose bazalno 16,5. Poslije provokacije alergenom 21,6, histaminom 36,9 a hipertonič-

nom otopinom 51. U nealergijskoj skupini ispitanika srednje vrijednosti ukupnog Schirmerovog zbroja iznose bazalno 6,4 koliko iznose i poslije provokacije na histamin. Poslije provokacije hipertoničnom otopinom skor je iznosio 7,5.

Korelacija ukupnog Schirmerovog zbroja bazalno te nakon provokacijskih testova alergenom, histaminom i hipertoničnom otopinom s Likertovom razlikom očnih simptoma (Likertova razlika suzenja bazalno i nakon provokacijskih testova) pokazala je da nije bilo statistički značajne korelacije (p>0,05). Međutim, signifikantna korelacija postoji između pojedinih ukupnih Schirmerovih zbrojeva (p=0,000 Spearmanov rho test koeficijenata korelacije) (tablica 15).

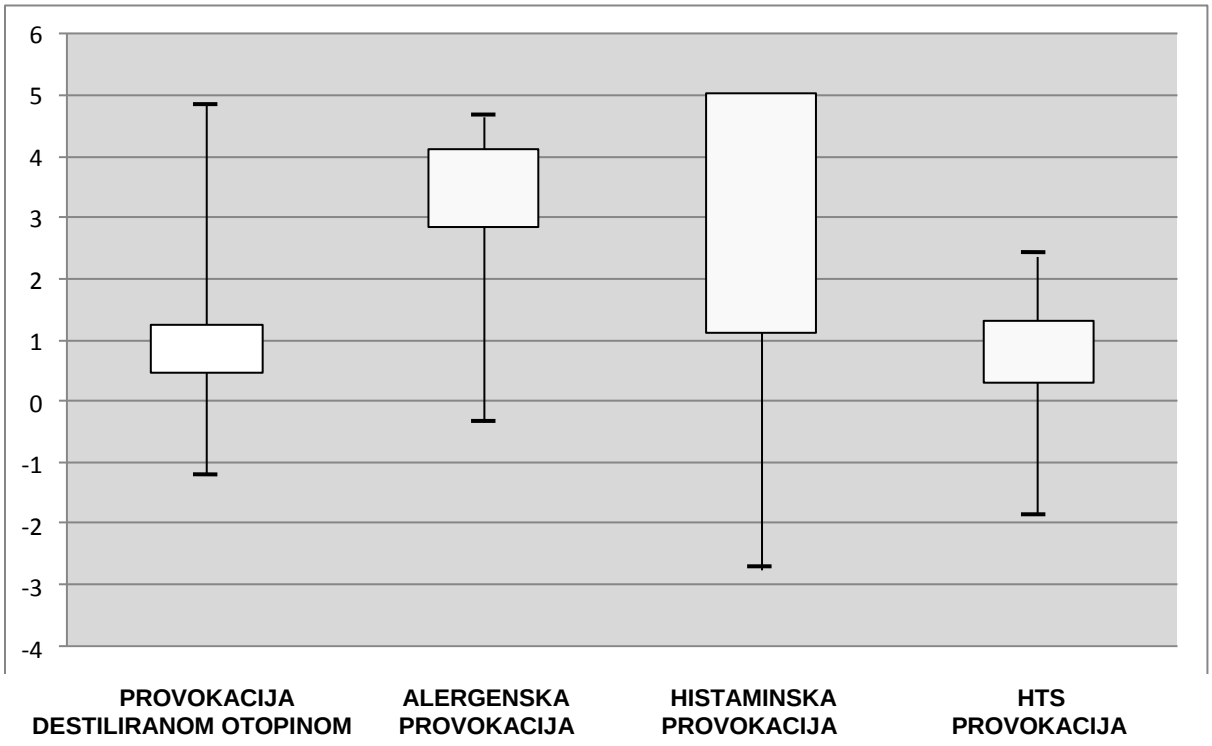
Tablica 15. Signifikantna korelacija između ukupnih Schirmerovih zbrojeva nakon pojedinih provokacijskih testova (p=0,000) (Spearmanov rho test koeficijenata korelacije).

Spearman. rho		**Schirmerov zbroj bazalno**	**Schirmerov zbroj alergenska provokacija**	**Schirmerov zbroj histaminska provokacija**	**Schirmerov zbroj HTS provokacija**
Schirmerov zbroj bazalno	**ρ**	1,000	0,871	0,771	0,710
	p	0,000	0,000	0,000	0,000
Schirmerov zboj alergenska provokacija	**ρ**	0,871	1,000	0,728	0,734
	p	0,000	0,000	0,000	0,000
Schirmerov zbroj histaminska provokacija	**ρ**	0,771	0,728	1,000	0,611
	p	0,000	0,000	0,000	0,000
Schirmerov zbroj HTS provokacija	**ρ**	0,710	0,734	0,611	1,000
	p	0,000	0,000	0,000	0,000

5.7. Akustička rinometrija

Akustičkom rinometrijom objektivizirane su vrijednosti promjene volumena prvih 5 centimetara nosnih kavuma prije i poslije provokacijskih testova. U alergijskoj skupini ispitanika provedena su četiri provokacijska testa (inhalacijom destilirane otopine, provokacija aplikacijom alergena, histamina i hipertonične otopine), te se mjerila promjena ukupnog volumena prvih 5 centimetara svake nosne šupljine zasebno. U nealergijskoj skupini ispitanika provedeni su provokacijski testovi inhalacijom destilirane otopine, te aplikacijom histamina i hipertonične otopine. Dobiveni rezultati prije i poslije testova zbrajani su za svaku stranu nosa zasebno te poslije i međusobno; dobivena vrijednost ukupni je volumen nosa i prikazana je kao ukupni zbroj AR. Većina rezultata prikazala se kao pozitivna vrijednost, nastala zbog smanjenja ukupnog volumena nosnih šupljina na provokacijski test u odnosu na volumen prije testa. Dio rezultata prikazan je kao negativna vrijednost, što se objašnjava povećanjem volumena nosnih šupljina na provokacijski test.

Srednje vrijednosti ukupnog zbroja AR u skupini alergijskih ispitanika na inhalaciju destiliranom otopinom iznose 1,2, na provokaciju alergenom 2,2, na provokacijski test histaminom 1,6 te na provokaciju hipertoničnom otopinom 0,5 (slika 30).



Slika 30. Grafički prikaz box plot ukupnog zbroja AR u alergijskog skupini ispitanika nakon provokacijskih testova inhalacijom destilirane otopine, alergenom, histaminom i hipertoničnom otopinom.

Usporedba zbrojeva AR u alergijskoj skupini ispitanika pokazala je statistički značajnu razliku između zbroja AR nakon inhalacijske provokacije destiliranom otopinom i alergenske provokacije (p=0,005) te zbroja AR nakon inhalacijske provokacije destiliranom otopinom i provokacijskog testa hipertoničnom otopinom (p=0,012), dok nije bilo statistički značajne razlike između zbroja AR nakon inhalacijske provokacije destiliranom otopinom i zbroja AR nakon histaminske provokacije (p=0,409 Paired samples Wilcoxon test) (tablica 16).

Tablica 16. Prikaz statističke značajnosti usporedbe zbrojeva AR pojedinih provokacijskih testova (paired samples Wilcoxon test).

Uparene razlike							
	95% interval pouzdanosti						
ZBROJEVI AR KOJI SE USPOREĐUJU	Srednja vrijednost	SD	Greška SD	Min.	Max.	t	***p***
Inhalacijska provokacija/ alergenska provokacija	-0,91433	1,62856	0,29733	-1,52245	-0,30622	-3,075	**0,005**
Inhalacijska provokacija/ histaminska provokacija	-0,38067	2,48613	0,45390	-1,30900	0,54767	-0,839	**0,409**
Inhalacijska provokacija/ HTS provokacija	0,72700	1,49423	0,27281	0,16905	1,28495	2,665	**0,012**

Korelacija ukupnog zbroja AR bazalno te nakon provokacijskih testova alergenom, histaminom i hipertoničnom otopinom s Likertovom razlikom simptoma opstrukcije, sekrecije, pečenja i svrbeža sluznice nosa, svrbeža oka i suzenja pokazala je da nije bilo statistički značajne korelacije (p>0,05 Spearmanov rho test koeficijenata korelacije).

U nealergijskoj skupini ispitanika srednje vrijednosti dobivenih rezultata na inhalacijsku provokaciju destiliranom otopinom iznose 0,8, na histaminsku provokaciju 0,4 te na HTS provokaciju 0,5. Usporedba zbrojeva AR nakon provokacijskih testova inhalacijom destilirane otopine, histaminom i HTS-om u nealergijskoj skupini ispitanika nije pokazala statistički značajnu razliku (p >0,05 paired samples Wilcoxon test).

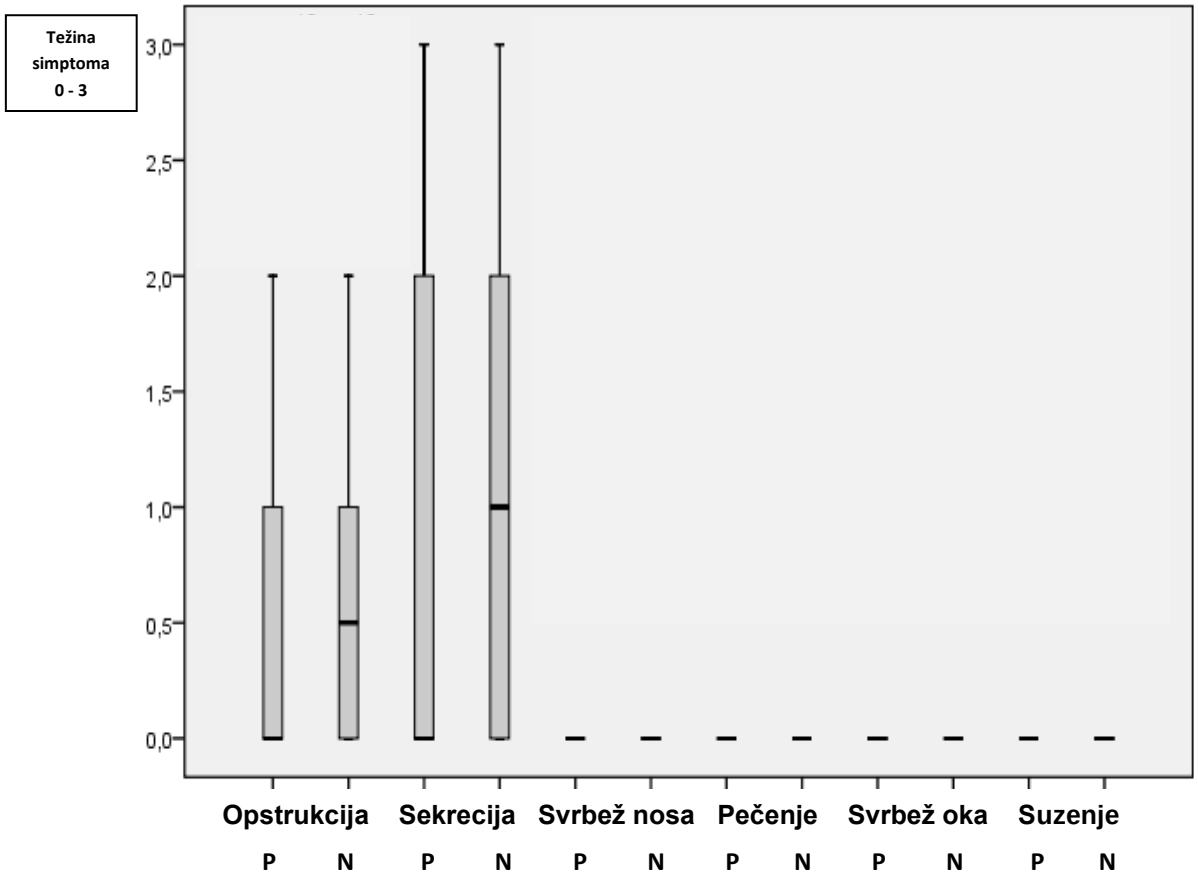
5.8. Usporedba simptoma Likertovom skalom

Usporedba subjektivne procjene simptoma (opstrukcije nosa, sekrecije nosa, svrbeža sluznice nosa, pečenja sluznice nosa, svrbeža oka i suzenja) prije i nakon provokacijskih testova koju su ispitanici bodovali putem Likertove skale prikazana je grafički.

Provokacijski test inhalacijom destiliranom otopinom nije pokazao statistički značajnu razliku u izraženosti simptoma prije i poslije provokacije ($p > 0,05$ paired samples Wilcoxon test) (tablica 17, slika 31).

Tablica 17. Prikaz razlika ocjene simptoma u Likertovoj skali nakon provokacije inhalacijom destilirane otopine (paired samples Wilcoxon test).

Likertova skala Simptoma	Uparene razlike						
	95% interval pouzdanosti						
Provokacija inhalacijom destilirane otopine	Srednja vrijednost	SD	Greška SD	Min.	Max.	t	***p***
Opstrukcija prije/ opstrukcija poslije	-0,10000	0,88474	0,16153	-0,43037	0,23037	-0,619	**0,541**
Sekrecija nosa prije/ sekrecija nosa poslije	-0,33333	1,06134	0,19377	-0,72964	0,06298	-1,720	**0,096**
Svrbež nosa prije/ svrbež nosa poslije	-0,06667	0,36515	0,06667	-0,20302	0,06968	-1,000	**0,326**
Pečenje nosa prije/ pečenje nosa poslije	-0,06667	0,36515	0,06667	-0,20302	0,06968	-1,000	**0,326**
Svrbež oka prije/ svrbež oka poslije	-0,10000	0,30513	0,05571	-0,21394	0,01394	-1,795	**0,083**
Suzenje oka prije/ suzenje oka poslije	-0,13333	0,43417	0,07927	-0,29546	0,02879	-1,682	**0,103**

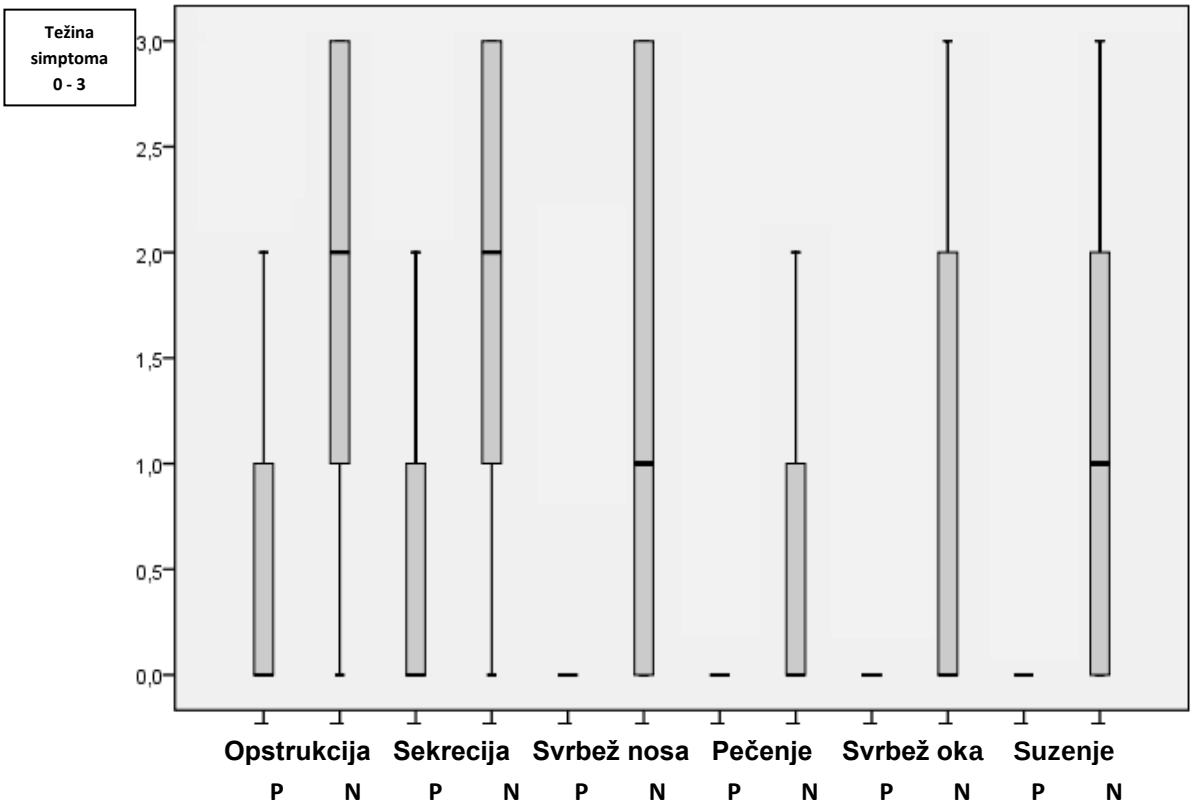


Slika 31. Grafički box plot prikaz subjektivne Likertove ocjene simptona prije i nakon provokacijskog testa inhalacijom destilirane otopine (P – prije provokacije, N – nakon provokacije).

Provokacijski test alergenom pokazao je statistički značajnu razliku u svih šest ispitivanih simptoma ($p < 0,05$ paired samples Wilcoxon test) (tablica 18, slika 32).

Tablica 18. Prikaz razlika ocjene simptoma u Likertovoj skali nakon alergenske provokacije (paired samples Wilcoxon test).

Likertova skala simptoma **alergenska provokacija**	Uparene razlike					t	***p***
	95% interval pouzdanosti						
	Srednja vrijednost	SD	Greška SD	Min.	Max.		
Opstrukcija prije/ opstrukcija poslije	-1,20000	1,34933	0,24635	-1,70385	-0,69615	-4,871	**0,000**
Sekrecija nosa prije/ sekrecija nosa poslije	-1,50000	1,13715	0,20761	-1,92462	-1,07538	-7,225	**0,000**
Svrbež nosa prije/ svrbež nosa poslije	-0,93333	1,25762	0,22961	-1,40294	-0,46373	-4,065	**0,000**
Pečenje nosa prije/ pečenje nosa poslije	-0,83333	1,17688	0,21487	-1,27279	-0,39388	-3,878	**0,001**
Svrbež oka prije/ svrbež oka poslije	-0,76667	1,16511	0,21272	-1,20172	-0,33161	-3,604	**0,001**
Suzenje oka prije/ suzenje oka poslije	-1,03333	1,12903	0,20613	-1,45492	-0,61175	-5,013	**0,000**

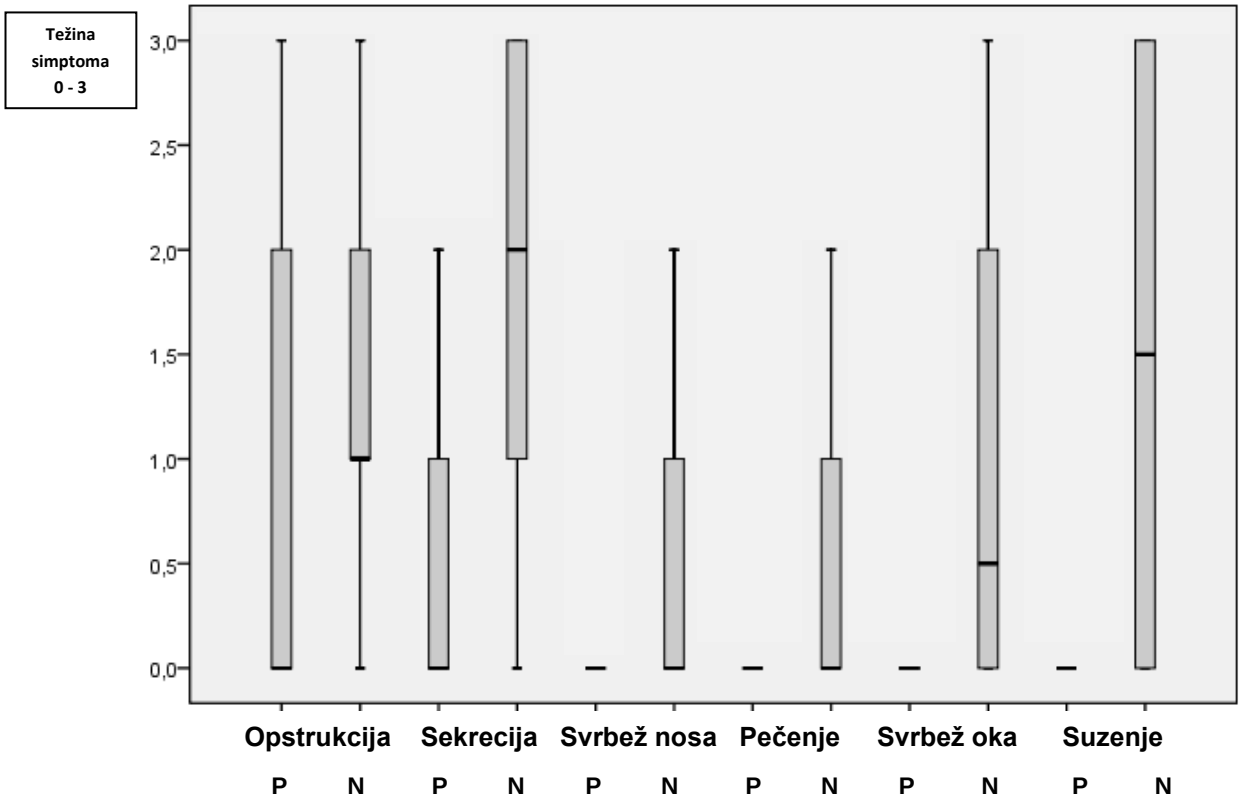


Slika 32. Grafički box plot prikaz subjektivne Likertove ocjene simptoma prije i nakon alergenske provokacije (P – prije provokacije, N – nakon provokacije).

Provokacijski test histaminom pokazao je statistički značajnu razliku u svih šest ispitivanih simptoma ($p < 0,05$ paired samples Wilcoxon test) (tablica 19, slika 33).

Tablica 19. Prikaz razlika ocjene simptoma u Likertovoj skali nakon histaminske provokacije (paired samples Wilcoxon test).

Likertova skala simptoma **Histaminska provokacija**	Uparene razlike					t	***p***
	95% interval pouzdanosti						
	Srednja vrijednost	SD	Greška SD	Min.	Max.		
Opstrukcija prije/ opstrukcija poslije	-0,73333	1,22990	0,22455	-1,19258	-0,27408	-3,266	**0,003**
Sekrecija nosa prije/ sekrecija nosa poslije	-1,06667	0,90719	0,16563	-1,40542	-0,72792	-6,440	**0,000**
Svrbež nosa prije/ svrbež nosa poslije	-0,50000	0,86103	0,15720	-0,82152	-0,17848	-3,181	**0,003**
Pečenje nosa prije/ pečenje nosa poslije	-0,36667	0,61495	0,11227	-0,59629	-0,13704	-3,266	**0,003**
Svrbež oka prije/ svrbež oka poslije	-0,83333	1,20583	0,22015	-1,28360	-0,38307	-3,785	**0,001**
Suzenje oka prije/ suzenje oka poslije	-1,16667	1,26173	0,23036	-1,63780	-0,69553	-5,065	**0,000**



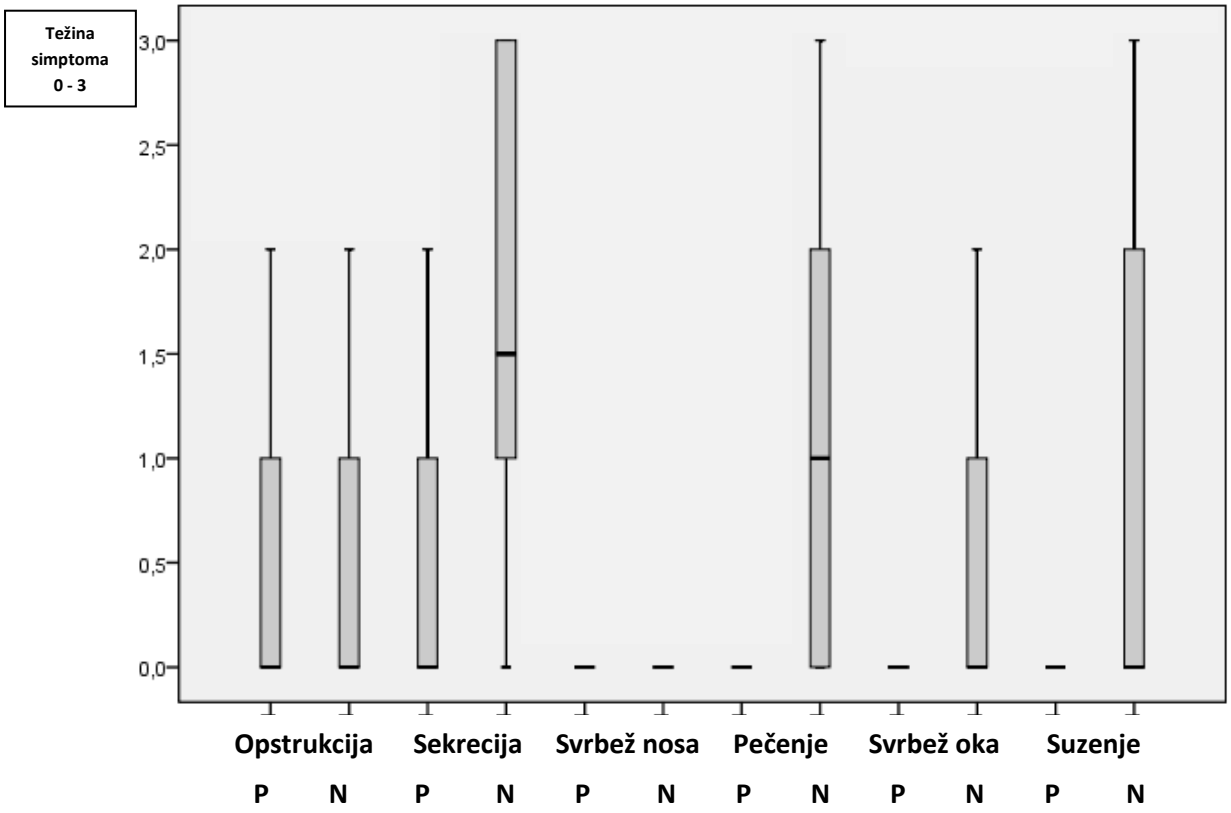
Slika 33. Grafički box plot prikaz subjektivne Likertove ocjene simptoma prije i nakon histaminske provokacije (P – prije provokacije, N – nakon provokacije).

Provokacijski test hipertoničnom otopinom je pokazao statistički značajnu razliku kod simptoma pečenja sluznice nosa i očnih simptoma (svrbež oka i suzenje), dok kod simptoma opstrukcije, sekrecije i svrbeža nosa nije bilo statistički značajne razlike (p>0,05 paired samples Wilcoxon test) (tablica 20, slika 34).

Tablica 20. Prikaz razlika ocjene simptoma u Likertovoj skali nakon provokacijskog testa hipertoničnom otopinom (paired samples Wilcoxon test).

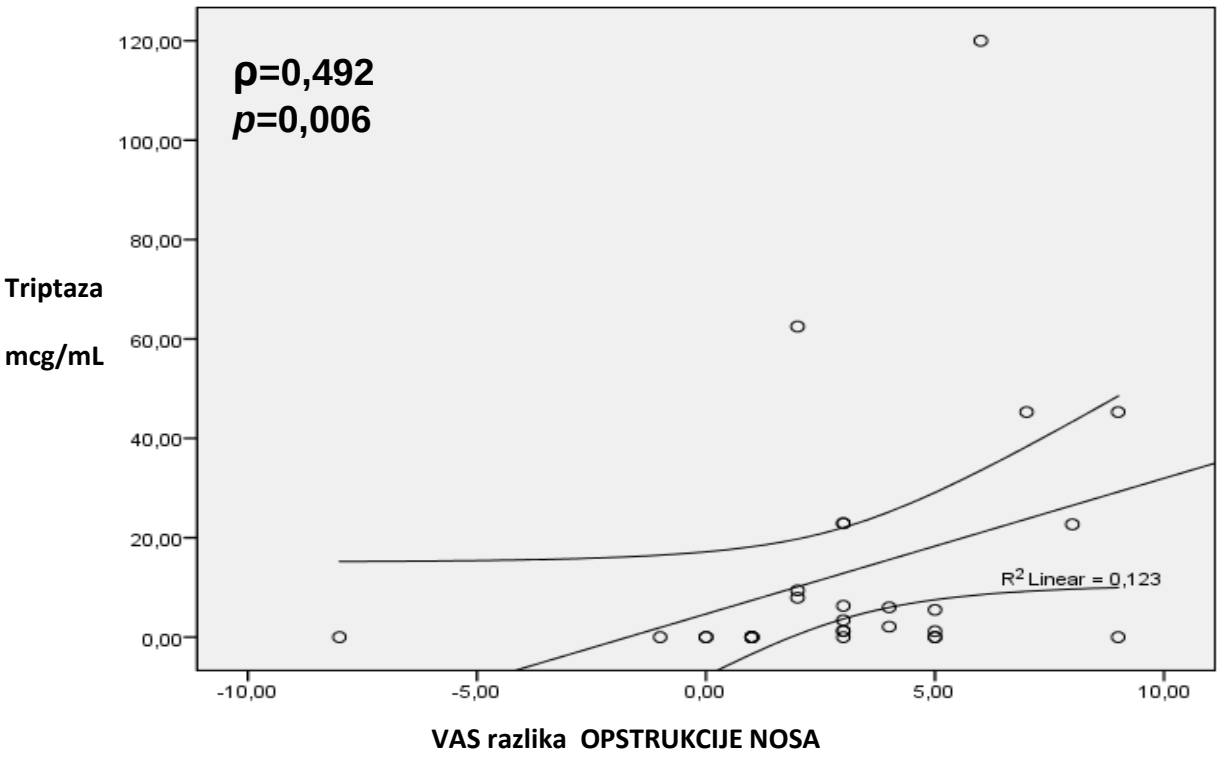
Test sparenih uzoraka

Likertova skala simptoma **HTS** **provokacija**	Uparene razlike					t	*p*
	95% interval pouzdanost						
	Srednja vrijednost	SD	Greška SD	Min.	Max.		
Opstrukcija prije/ opstrukcija poslije	-0,16667	1,01992	0,18621	-0,54751	0,21418	-0,895	**0,378**
Sekrecija nosa prije/ sekrecija nosa poslije	-0,36667	0,99943	0,18247	-0,73986	0,00652	-2,009	**0,054**
Svrbež nosa prije/ svrbež nosa poslije	-0,30000	0,74971	0,13688	-0,57995	-0,02005	-2,192	**0,037**
Pečenje nosa prije/ pečenje nosa poslije	-1,03333	1,15917	0,21163	-1,46618	-0,60049	-4,883	**0,000**
Svrbež oka prije/ svrbež oka poslije	-0,36667	0,66868	0,12208	-0,61635	-0,11698	-3,003	**0,005**
Suzenje oka prije/ suzenje oka poslije	-0,83333	1,14721	0,20945	-1,26171	-0,40496	-3,979	**0,000**

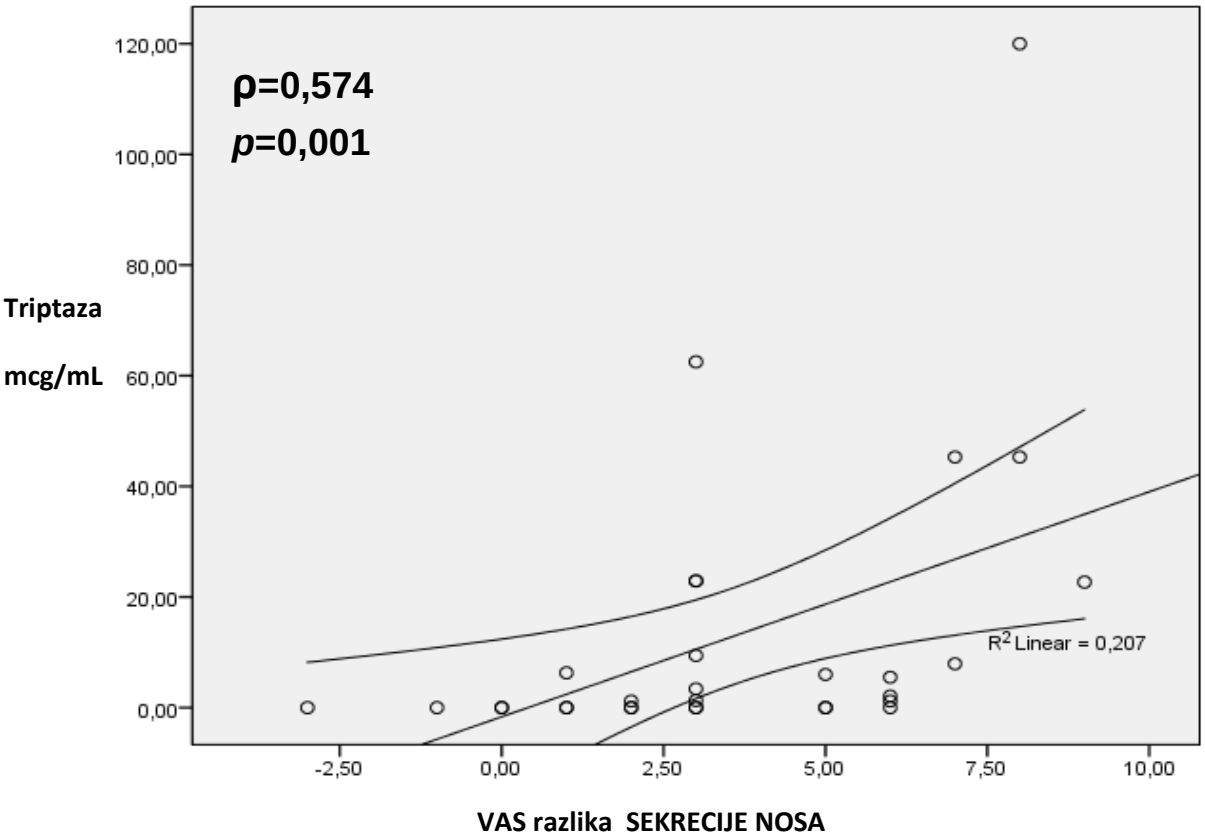


Slika 34. Grafički box plot prikaz subjektivne Likertove ocjene simptoma prije i nakon provokacijskog testa hipertoničnom otopinom (P – prije provokacije, N – nakon provokacije).

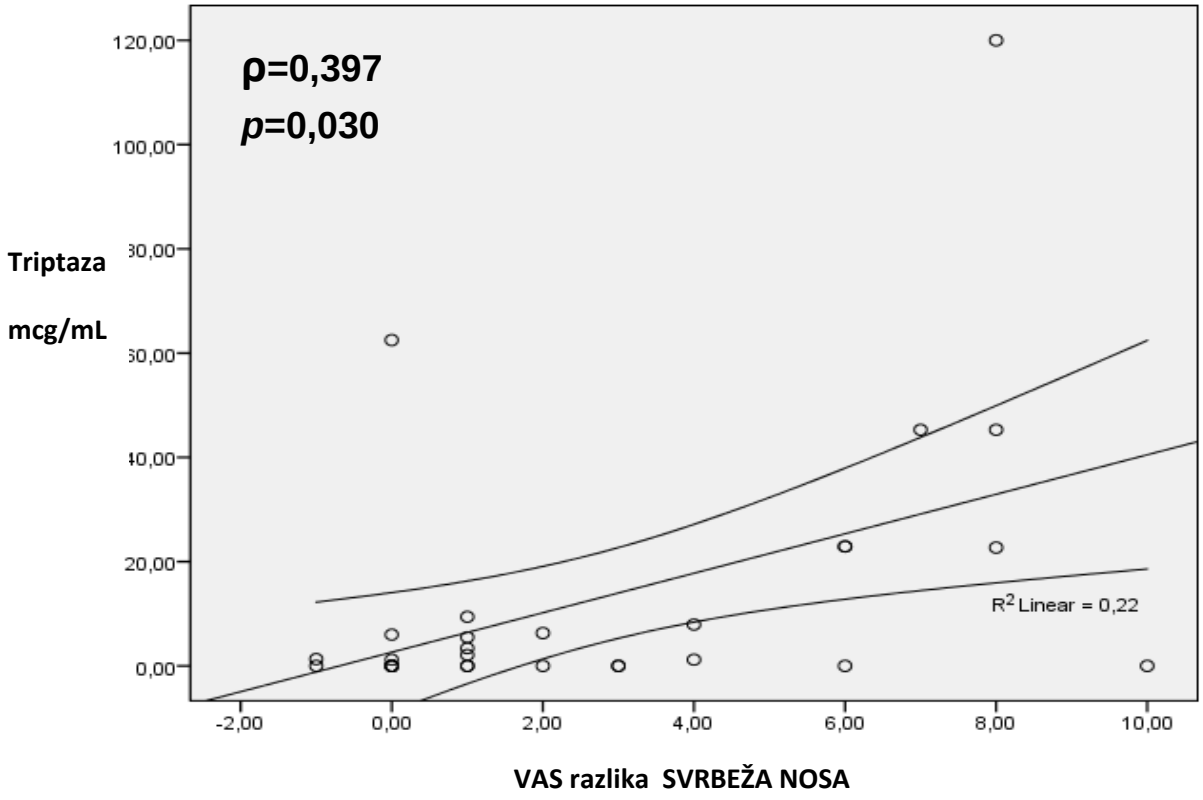
Korelacija simptoma (opstrukcije nosa, sekrecije nosa, svrbeža sluznice nosa, pečenja sluznice nosa, svrbeža oka i suzenja) s vrijednostima markera rane faze alergijske reakcije triptaze pokazana je u korelacijskim grafovima. Subjektivni simptomi bodovani su prije i poslije provokacijskog testa alergenom u Likertovoj i VAS skali te su vrijednosti prikazane kao Likertova razlika i VAS razlika prije i nakon provokacijskog testa alergenom. Signifikantna korelacija je nađena za simptome opstrukcije nosa (slika 35), sekrecije nosa (slika 36), svrbeža sluznice nosa (slika 37) i suzenja oka (slika 38) ($p < 0,05$ Spearmanov rho koeficijent korelacije), dok simptomi pečenja sluznice nosa i svrbež oka nisu pokazali statistički značajnu korelaciju s vrijednostima triptaze u nosnom lavatu i suzama ($p > 0,05$ Spearmanov rho koeficijent korelacije).



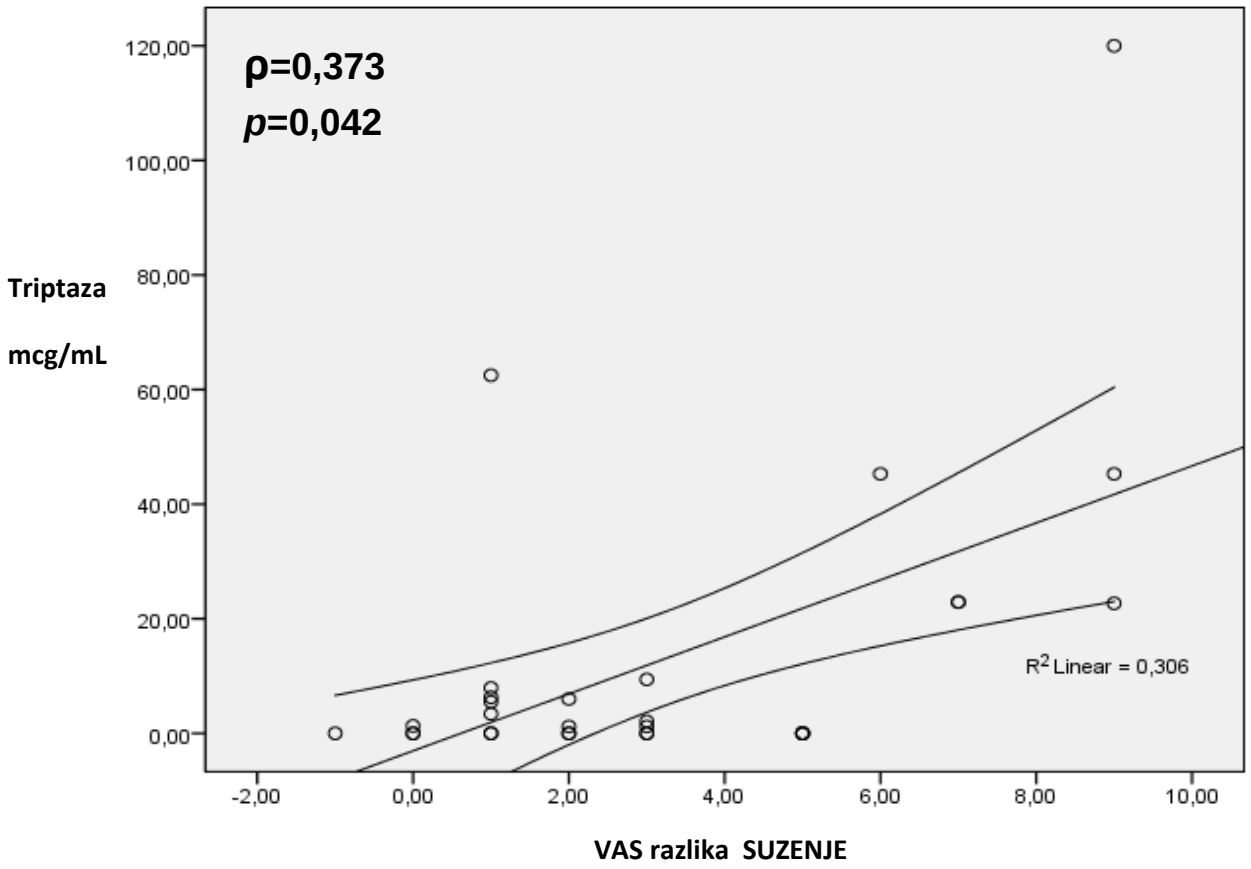
Slika 35. Korelacija između vrijednosti triptaze nakon provokacijskog testa alergenom i simptoma opstrukcije nosa (Spearmanov rho test koeficijenata korelacije).



Slika 36. Korelacija između vrijednosti triptaze nakon provokacijskog testa alergenom i simptoma sekrecije nosa (Spearmanov rho test koeficijenata korelacije).



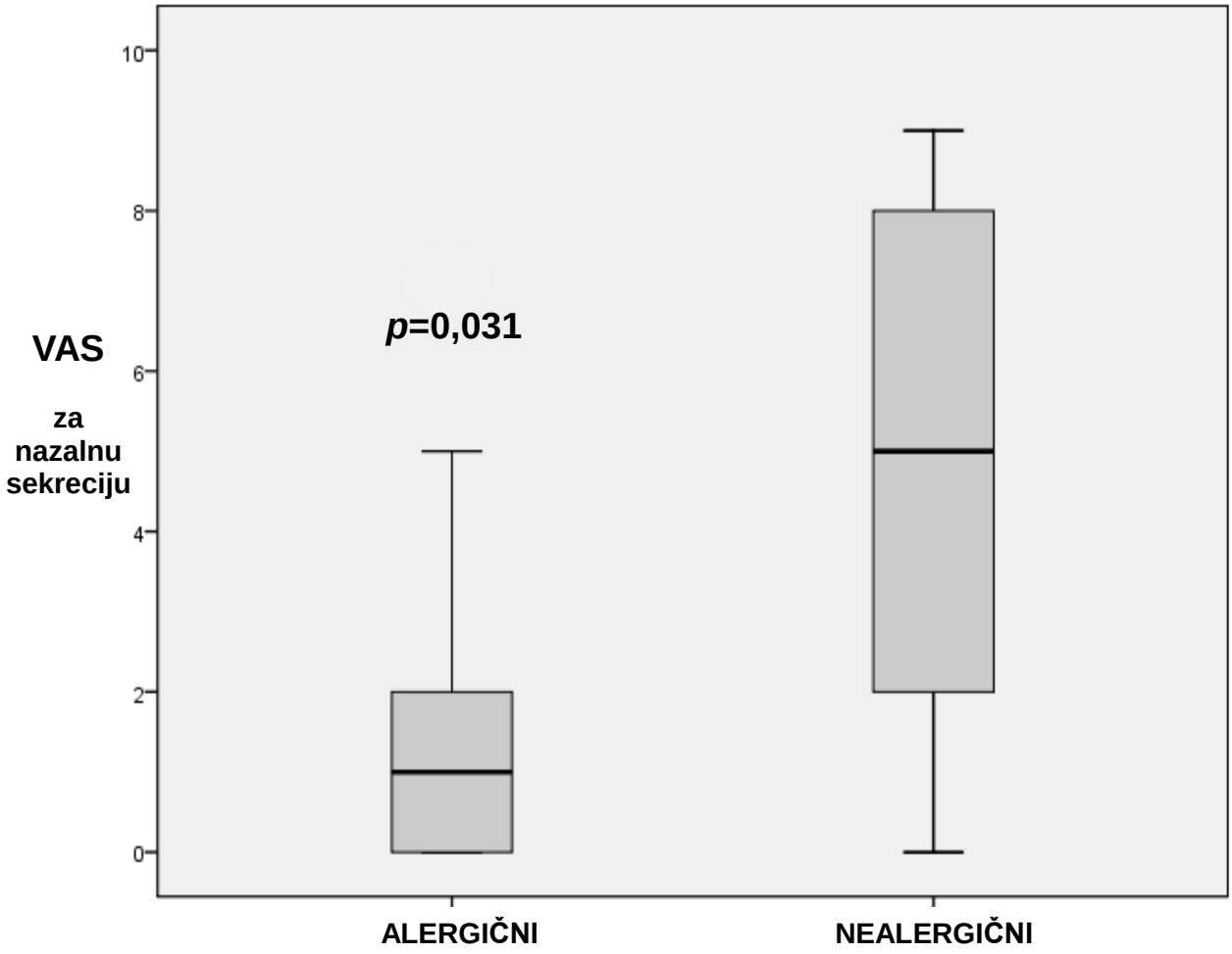
Slika 37. Korelacija između vrijednosti triptaze nakon provokacijskog testa alergenom i simptoma svrbeža nosa (Spearmanov rho test koeficijenata korelacije).



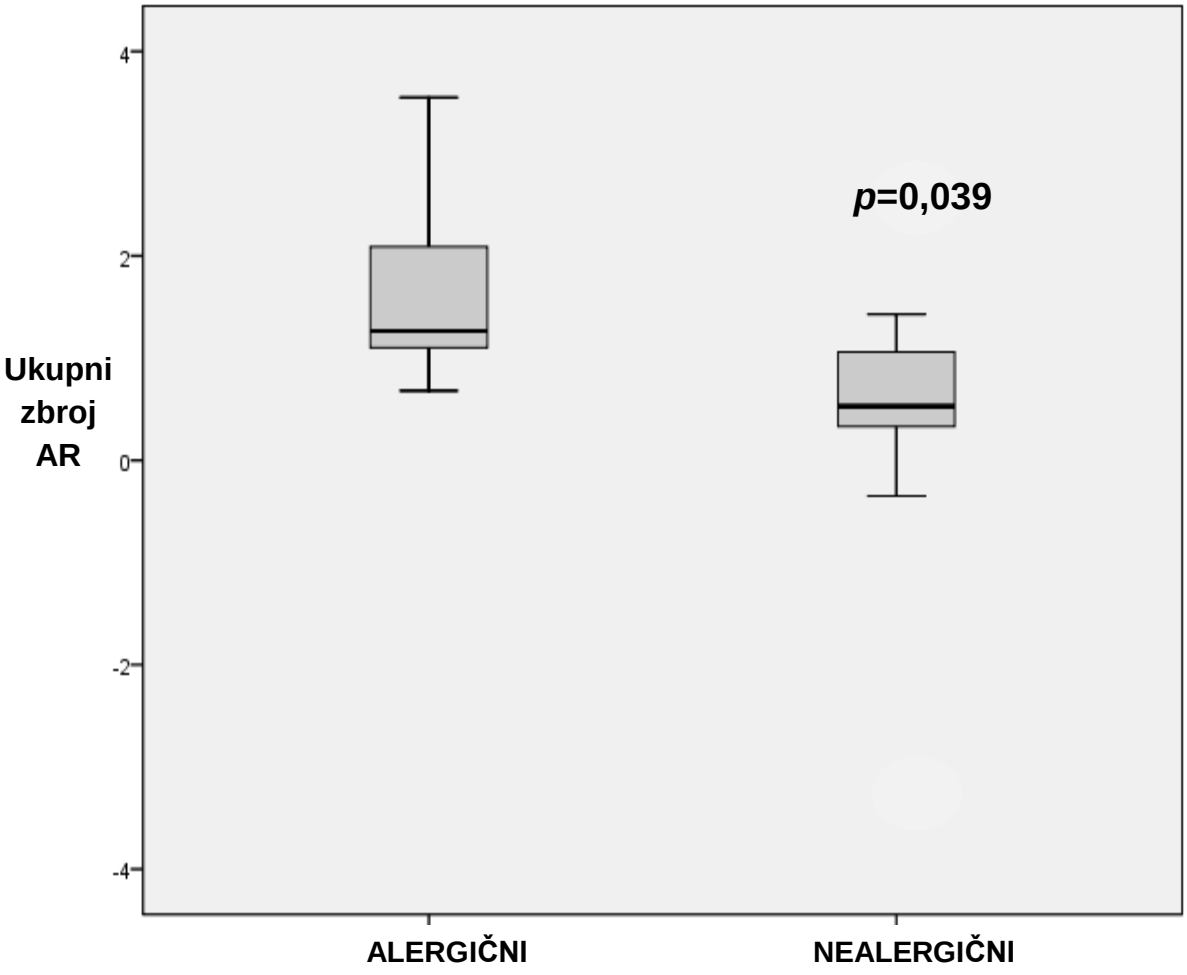
Slika 38. Korelacija između vrijednosti triptaze nakon provokacijskog testa alergenom i simptoma suzenja oka (Spearmanov rho test koeficijenata korelacije).

5.9. Usporedba rezultata alergijske i nealergijske skupine ispitanika

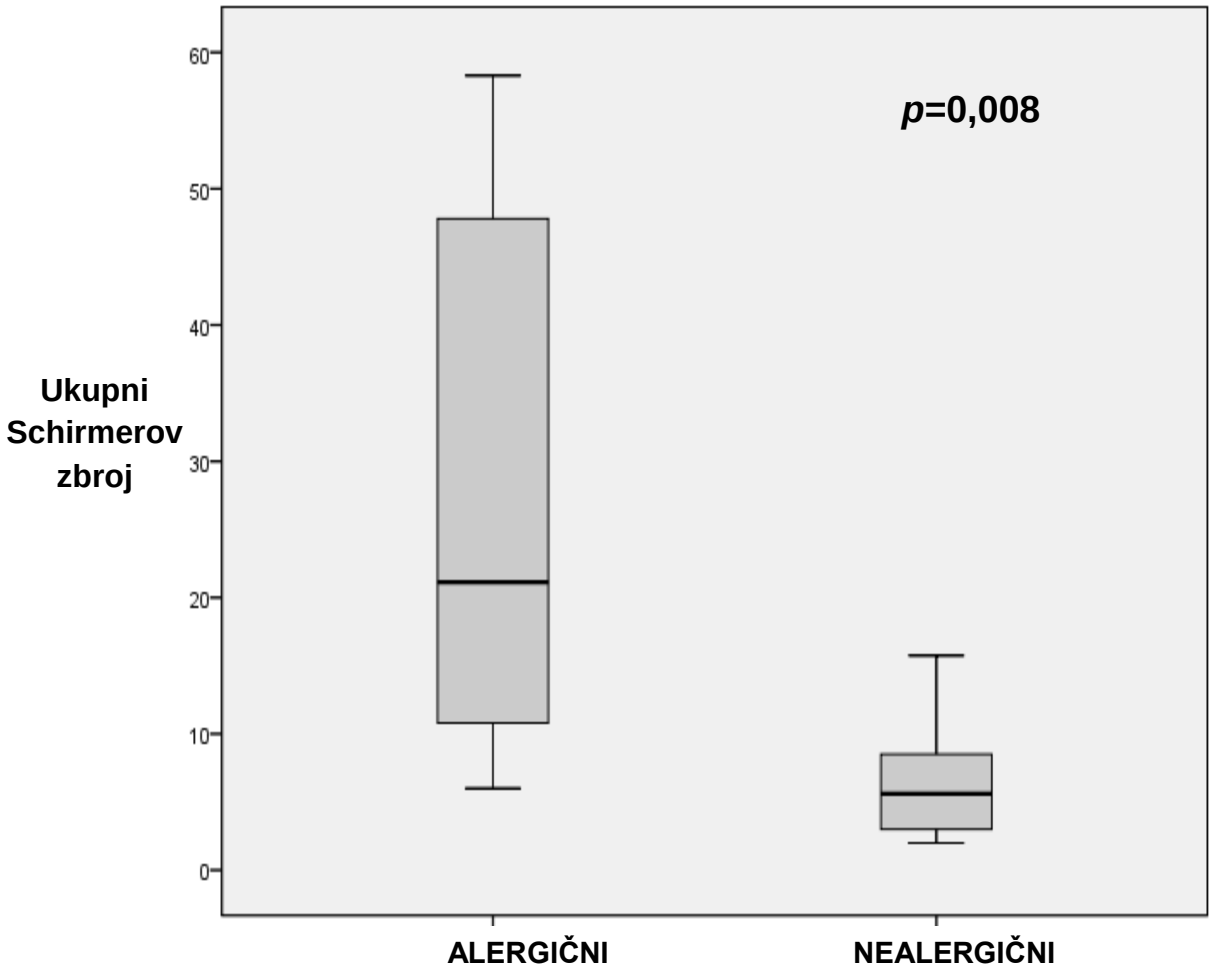
Uspoređujući međusobno sve dobivene rezultate alergijske i nealergijske skupine ispitanika (VAS i Likertov zbroj, vrijednosti medijatora prije i nakon provokacijskih testova, AR zbroj, Schirmerov zbroj, kihanje) uočene su statistički značajne razlike za simptome sekrecije bodovane u VAS skali prije provokacijskih testova (p=0,031) (slika 39), ukupni zbroj AR (p=0,039) (slika 40) i ukupni Schirmerov zbroj nakon histaminske provokacije (p=0,008 Mann-Whitneyjev U test) (slika 41). Statistički značajna razlika između alergijske i nealergijske skupine pokazala se za simptome opstrukcije (p=0,043) i sekrecije (p=0,043) nakon provokacijskog testa histaminom, te simptom sekrecije nakon provokacijskog testa hipertoničnom otopinom (p=0,043 Mann-Whitneyjev U test) (slika 42).



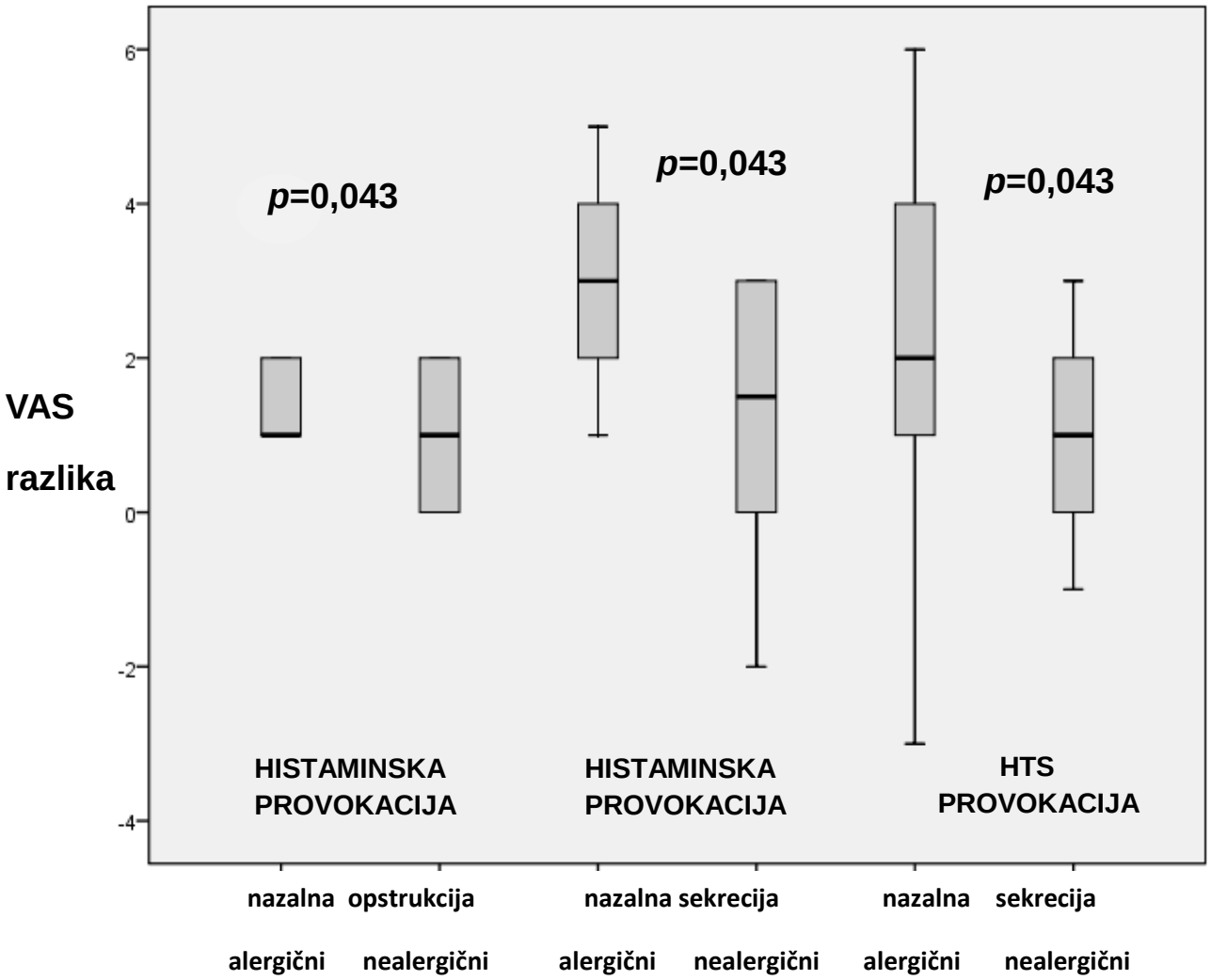
Slika 39. Razlika simptoma nazalne sekrecije između alergijske i nealergijske skupine ispitanika prije provokacijskih testova bodovana u VAS skali (p=0,031 Mann-Whitneyjev U test).



Slika 40. Razlika između alergijske i nealergijske skupine ispitanika za ukupni zbroj AR nakon histaminske provokacije (*p*=0,039 Mann-Whitneyjev U test).



Slika 41. Razlika između alergijske i nealergijske skupine ispitanika za ukupni Schirmerov zbroj nakon histaminske provokacije (p=0,008 Mann-Whitneyjev U test).



Slika 42. Razlika između alergijske i nealergijske skupine ispitanika za simptom opstrukcije nosa nakon histaminske provokacije, simptom sekrecije nosa nakon provokacije histaminom te simptom nazalne sekrecije nakon provokacijskog testa hipertoničnom otopinom izražen putem VAS razlike (p=0,0043 Mann-Whitneyjev U test).

8. Rasprava

Cilj je ovog istraživanja utvrditi odnos intenziteta simptoma i nazalnih refleksa s neuroalergijskim upalnim odgovorom u različitim modelima nosne provokacije u ispitanika sa sezonskim alergijskim rinitisom. Usporedimo li ovu studiju sa sličnim studijama u kojima se proučava razina nazo-okularnog odgovora u alergijskoj skupini ispitanika, u ovoj studiji odlučili smo se za selekcioniranu populaciju ispitanika koji imaju samo sezonske alergijske simptome bez cjelogodišnjih simptoma, a pritom smo ih provocirali izvan sezone ekspozicije. Tim smo odabirom htjeli izbjeći moguću interakciju perenijalnog alergijskog podražaja s provokacijskim testom, odnosno utjecaj priming-a zbog cjelogodišnjeg podražaja na promjene razine samog odgovora na provokacijski test (111). Ispitanici s intenzivnim očnim simptomima u sezoni alergije (suzenje i svrbež oka) nisu bili obuhvaćeni testiranjem s namjerom praćenja razine reaktivnog odgovora u ispitanika s blagim i umjerenim simptomima oka na različite tipove provokacijskih testova.

U Schirmerovu testu nismo koristili lokalni anestetik zbog mogućnosti blokiranja oslobađanja tvari P iz nemijeliniziranih nervnih završetaka samim anestetikom (112). Ispitanici su zamoljeni da ne otvaraju oko pri samom testu i da što manje pokreću očne jabučice kako bi se izbjegla mehanička iritacija konjunktive trakicama i time prevenirало pojačano suzenje i oslobađanje tvari P mehaničkim podražajem.

Od nekoliko metoda aplikacije alergena na sluznicu nosa odabrali smo provokacijski test kojim se mikropipetom nanese obostrano u nos mala doza alergena na prednju polovicu donje nosne školjke (tablica 1) (73). Takvom se metodom najpreciznije dostavi alergen na područje sluznice donje nosne školjke, isključuju se mogućnost pro-

dora alergena u područje epifarinksa i potencijalna aspiracija, a i minimalizirana je mogućnost mehaničkog podražaja sluznice. Metoda je reproducibilna, kontrolirana i neagresivna. Isto kao i kod Schirmerovog testa poželjno je provesti test sa što manje kontakta mikropipete sa sluznicom nosa kako bi se izbjegao podražaj sluznice a samim tim prevenirala pojačana sekrecija i kihanje. Kako postoji nekoliko tehnika dostavljanja alergena na područje nosne sluznice, tako postoji i nekoliko tehnika uzorkovanja nosnog sadržaja prije i poslije testiranja. Watelet i sur. (87) u svom su radu pokazali opciju uzorkovanja nosnog sekreta putem postavljanja posebno adaptirane spužvice u područje između nosne pregrade i donje nosne školjke. Guy Scadding i sur. (117) usporedili su dvije metode uzorkovanja nosnog sekreta putem posebno pripravljenih sintetskih materijala (filter-trakice i spužvice) koje se prislone na sluznicu nosa i nosnih školjki. Po količini apsorbiranih medijatora te volumenu dobivenog sadržaja pokazala se prihvatljivija tehnika uzorkovanja putem spužvica naspram filter-trakica. Mi smo se odlučili za metodu prikupljanja nosnog sadržaja tehnikom ispiranja koju su prikazali Naclerio i sur. (86) i nju smo iscrpno opisali u metodologiji studije. Iritacija sluznice izaziva se pri bilo kojoj metodi prikupljanja nosnog lavata. Ona je značajno niža pri manje agresivnim metodama, kao što je lavaža nosa, nego mehanički podražaj sluznice kolektorom, kao što je spužva ili filter-papir. To je osobito važno za naše istraživanje, jer smo mjerili tvar P, neurokinin na čije otpuštanje utječe razina mehaničkog podražaja sluznice. Potvrdu tom daje istraživanje Riechelmanna i sur. (96). Uspoređujući tehniku skupljanja sadržaja nosa filter-trakicama i spužvicama koju su koristili Guy Scadding i suradnici, s našom tehnikom lavaže nosa, nismo dobili značajnija odstupanja u vrijednostima prikupljenih medijatora, odnosno srednje vrijednosti triptaze, EKP-a i IgE-a su bile slične (117).

Aplikacija niske doze histamina nakon 24 sata po aplikaciji alergena testira fenomen priming-a koji je, prema literaturi, hipotetski izraženiji u ispitanika u kojih postoji kasna faza alergijske reakcije. Naši rezultati ne ukazuju na to, ali pokazuju da je fenomen priming-a prisutan, jer postoji korelacija intenziteta i profila simptoma nakon alergena i histamina. Slični modeli ispitivanja fenomena priming-a pojavljuju se u radovima skandinavskih alergologa potkraj osamdesetih godina. Međutim, mi smo ispitivali i razinu neurogene upale koju izazivamo hipertoničnom otopinom. Otpuštanje tvari P praćeno je višim subjektivnim osjećajem pečenja u nosu, a u nekih ispitanika i svrbežom oka.

Zbog što realnije slike populacije medijatora u prikupljenom uzorku nosnog sadržaja i suza potrebno je blokirati aktivnost proteaza u samom uzorku (97, 98, 99). Upotreba inhibitora proteaza je standardna tehnika koja se koristi za blokiranje aktivnosti nekoliko vrsta proteaza (triptaze, kimaze) koje se nalaze na sluznici nosa i oka. Osim korištenja inhibitora proteaza postoji metoda blokiranja aktivnosti proteaza putem leda i tehnike smrzavanja uzoraka za koju smo se mi odlučili. Uzorak sadržaja nosa koji se dobije lavažom i uzorak suza koji se dobije Schirmerovim testom pohranjuju se u epruvete koje se odmah stavljaju na led. Nakon laboratorijske obrade pohranjuje se na -80 stupnjeva C do izvođenja analize. Smrzavanje i korištenje leda neposredno nakon uzorkovanja sadržaja nosa i oka značajno usporavaju aktivnost proteaza. Niže vrijednosti koncentracije tvari P koje su dobivene u našem istraživanju mogu se tumačiti odabirom protokola čuvanja uzoraka s ledom a ne korištenjem inhibitora proteaza u samom testiranju, što ipak ukazuje na nepotpunu blokadu aktivnosti proteaza.

Brojni autori preporučuju različite doze alergena pri provokacijskim testovima. Vrijednosti se kreću od 100 i.j. do nekoliko tisuća. Isto tako, postoje različite kombinacije rastućih doza alergena u provokacijskom testu. Vrijednosti kojima smo se mi služili iznose ukupno 1000 i.j. alergena. Obostrano u nos dozira se alergen u količini od 500 i.j. Callebaut i sur. (23) koristili su visoke doze alergena u provokacijskom testu (10.000 i.j.), ali nisu dobili značajno veće vrijednosti oslobađanja tvari P u usporedbi s našim mjerenjem s niskim dozama alergena. Zbog niskih doze provokativnih tvari (alergen, histamin, hipertonična otopina) koje smo koristitili pri provokacijskim testovima, odlučili smo se za obostranu primjenu na područje sluznice nosa radi što boljeg i kvalitetnijeg provokacijskog podražaja. Isto tako ispiranje nosa i Schirmerov test provedeni su obostrano radi dobivanja što kvalitetnijeg uzorka nosnog sekreta i suza. Za stimulaciju nemijeliniziranih C nervnih završetaka odabrali smo provokaciju niskom dozom hipertonične otopine (2%). Nismo odabrali ponavljajuće provokacije alergenom rastućim dozama, kojima se koriste brojni autori radi aktivacije i mjerenja intenziteta fenomena priming-a (etapno se daju sve veće doze alergena dok se ne dostignu vrijednosti gornje granice podražaja u procjeni subjektivnog skora), već smo odabrali protokol gdje se daje pojedinačna doza alergena od 1000 i.j. uz provokaciju niskom dozom histamina (60-100 mcg) 24 sata od provokacije alergenom, kako bi se procijenila razina fenomena priming-a na provokaciju niskom dozom histamina. Podražaj H1 receptora niskom dozom histamina i aktivacija fenomena priming-a uspoređivala se s aktivacijom nemijeliniziranih C vlakana na podražaj niskom dozom 2% hipertonične otopine.

Vrijednost tvari P u suzama nakon provokacijskih testova alergenom (p=0.021), histaminom (p=0,004) i hipertoničnom otopinom (p=0,000) pokazala je statistički zna-

čajnu razliku uspoređujući je s bazalnim vrijednostima iako je vrijeme uzorkovanja suza Scirmerovim testom bilo pet minuta nakon provokacijskog testa (slika 17, tablica 10). Brojna istraživanja su pokazala da period otpuštanja tvari P nakon podražaja započinje samim podražajem te doživljava svoj vrhunac 15-tak minuta nakon podražaja, što može opravdati niže vrijednosti tvari P u našem istraživanju (23, 28, 113).

Vrijednost tvari P u nosnom sekretu pokazala je statistički značajnu razliku uspoređujući je s bazalnim vrijednostima samo na provokacijski test histaminom (p=0,003), a nije bilo značajne razlike na provokacijski test alergenom i hipertoničnom otopinom (slika 15, tablica 9). Vrijeme uzorkovanja nosnog sekreta nakon provokacijskog testa alergenom iznosilo je 15 minuta, 4 sata i 24 sata od provokacijskog testa (prije same provokacije histaminom). Period od 15 minuta i 4 sata nakon provokacijskog testa alergenom za sakupljanje nosnog sadržaja vjerojatno je bio prekratak za detekciju najviših vrijednosti tvari P (114). Uzorkovanje nosnog sekreta nakon provokacije histaminom rađeno je istim protokolom, 15 minuta nakon provokacije, gdje smo dobili značajne vrijednosti tvari P. Oslobađanje velike količine tvari P iz nemijeliniziranih nervnih završetaka nakon provokacijskog testa histaminom može se tumačiti kao trenutni neuralni refleksni odgovor aktivacijom H1 receptora i posljedično mjerljive visoke vrijednosti tvari P nakon 15 minuta u našem testu (115, 116). Tvar P u nosnom sekretu i suzama u nealergijskoj skupini ispitanika bazalno i nakon provokacijskih testova nije pokazala statistički značajnu razliku prije i nakon provokacijskih testova.

Vrijednosti triptaze bile su povišene u 17 ispitanika na provokaciju alergenom, srednja vrijednost je iznosila 12,8 mcg/mL. Vrijeme provođenja lavaže 15 minuta

nakon provokacijskog testa pokazalo se pravovremeno za mjerenje oslobođene razine triptaze kao markera rane faze alergijske reakcije. U radu Guy W. Scaddinga i suradnika vršne vrijednosti oslobođene triptaze zabilježene su već nakon pet minuta od provokacijskog testa da bi se potom kroz 30 minuta do sat vremena normalizirale (117). Nije bilo mjerljivih vrijednosti triptaze na druge provokacijske testove u nosnom sekretu. U suzama nisu zabilježene povišene vrijednosti niti na provokaciju alergenom kao i na provokaciju hitaminom i hipertoničnom otopinom. Značajnu razliku dobili smo nakon provokacijskog testa alergenom (p=0.000) uspoređujući ih s bazalnim mjerenjem. Od simptoma triptaza je značajno korelirala s opstrukcijom nosa (p=0.006), sekrecijom nosa (p=0.001), svrbežom sluznice nosa (p=0.030) i suzenjem oka (p=0.042). Nije korelirala sa svrbežom oka i pečenjem sluznice nosa.

Razina aktivacije, period trajanja i samo mjerenje intenziteta kasne faze alergijske reakcije u dosadašnjim istraživanjima pokazuju oprečne rezultate. U radu de Graafa i skupine autora iz Nizozemske (114) pratila se aktivacija kasne faze alergijske reakcije i njezin intenzitet nakon provokacije kućnom prašinom u alergijskih ispitanika, te su se povišene vrijednosti EKP-a pokazale nakon 4 sata (srednja vrijednost 20 mcg/mL) s najvišim dosegom nakon 8,5 sati (70 mcg/mL). Od 24 ispitanika u toj studiji 11 je imalo izraženu samo ranu fazu alergijske reakcije dok je 13 ispitanika imalo izražene obje faze alergijske reakcije. Srednja vrijednost EKP-a u našoj studiji se kretala od 29,8 mcg/mL 15 minuta nakon provokacijskog testa s tendencijom pada na 16,7 mcg/mL nakon 4 sata te potom porasta na 38,8 mcg/mL nakon 24 sata. Histaminska provokacija koja se provodila nakon 24 sata od aplikacije alergena pokazala je vrijednost EKP-a od 46,2 mcg/mL, te statistički značajnu razliku u usporedbi s bazalnim vrijednostima (p=0,043). Vrijednosti EKP-a nakon provokacijskog testa hipertoničnom

otopinom nisu bile povišene. U suzama kao i nealergijskoj skupini nisu bile mjerlijve vrijednosti EKP-a na provokacijske testove. Trinaest ispitanika je imalo stalnu tendenciju porasta vrijednosti EKP-a u vremenu od 15 do 24 sata nakon provokacijskog testa. Deset osoba je imalo izraženu ranu i kasnu fazu alergijske reakcije. Uspoređujući vrijednosti EKP-a u našoj studiji sa sličnom studijom koju su provodili Guy Scadding i suradnici (117) dobili smo sličnu raspodjelu vrijednosti EKP-a i sličan vremenski interval najviših vrijednosti otpuštenog EKP-a.

Ukupni IgE je pokazao značajnu razliku nakon provokacijskog testa na alergen uspoređujući s bazalnim mjerenjem u nosnom sekretu (p=0.042). Nije bilo razlike na provokacijski test histaminom i hipertoničnom otopinom. Isto tako nije bilo značajne razlike u suzama te u nealergijskoj skupini ispitanika.

Subjektivna ocjena simptoma prije i poslije provokacijskih testova te procjena razine promjene simptoma na testove provedena je Likertovom i VAS bodovnom skalom. Ispitanici su bodovali težinu svojih simptoma prije i poslije svakog testa u obje skale. Upotrebljavali smo obje vrste bodovnih skala radi što bolje i preciznije procjene subjektivnih bodovanja. Uz subjektivnu procjenu simptoma rađena je objektivna procjena promjene prohodnosti nosa putem akustičke rinometrije, te međusobna usporedba dobivenih rezultata.

Razinu neurogene upale, odnosno razinu otpuštanja tvari P iz aktiviranih nemijeliniziranih C vlakana pratili smo pri provokacijskom testu hipertoničnom otopinom. Iako se nije pokazala značajna razlika uspoređujući razinu oslobođene tvari P bazalno i nakon provokacijskog testa hipertoničnom otopinom u alergijske (p=0,078) (slika 15) i nealergijske skupine (p=0,06) (slika 19) ispitanika u nosnom sekretu, u suzama smo

dobili značajnu razliku (p=0,00) (slika 17) u alergijskoj skupini. U nealergijskoj skupini u suzama vrijednosti tvari P su bile povišene ali bez statističke značajnosti (slika 21).

Akustičkom rinometrijom pratili smo promjenu volumena nosnih šupljina na provokacijski test hipertoničnom otopinom. Neki se autori služe drugim tehnikama i metodama za objektiviziranje promjene prohodnosti i volumena nosa (rinomanometrija, PNIF) dok smo se mi odlučili za AR metodologiju zbog dostupnosti, jednostavnosti procedure i reproducibilnosti (118). To je, konačno, i jedina metoda koju priznaje američka Food and Drug Administration, kao objektivnu mjeru nosne prohodnosti. Srednje vrijednosti ukupnog zbroja AR u skupini alergijskih ispitanika na inhalaciju destiliranom otopinom iznose 1,2, na provokaciju alergenom 2,2, na provokacijski test histaminom 1,6 te na provokaciju hipertoničnom otopinom 0,5 (slika 30). Vidljivo je iz prikazanih rezultata da ne postoji značajna promjena volumena na provokaciju hipertoničnom otopinom, odnosno da provokacijski test ne izaziva kongestiju nego naprotiv u nekih ispitanika povećava ukupni volumen nosnih šupljina (119). Isto tako provokacijski test hipertoničnom otopinom je pokazao statistički značajnu razliku kod simptoma pečenja sluznice nosa i očnih simptoma (svrbež oka i suzenje), dok kod simptoma opstrukcije, sekrecije i svrbeža nosa nije bilo statistički značajne razlike (p>0,05) (tablica 20, slika 34). Usporedba zbrojeva AR u alergijskoj skupini ispitanika pokazala je statistički značajnu razliku između zbroja AR nakon inhalacije i na provokaciju hipertoničnom otopinom (p=0,012) (tablica 16), dok kod nealergijske skupine ispitanika nije bilo značajne razlike.

Usporedba subjektivne procjene simptoma (opstrukcije, sekrecije, svrbeža sluznice nosa, pečenja sluznice nosa, svrbeža oka i suzenja) prije i nakon provokacijskih testova u alergijskoj skupini koju su ispitanici bodovali pomoću Likertove skale pokazuje

značajnu razliku za svih šest praćenih simptoma u provokacijskom testu alergenom i histaminom, dok na provokaciju hipertoničnom otopinom značajni su samo očni simptomi (suzenje i svrbež) i pečenje sluznice nosa. Ako se gleda usporedba alergijske i nealergijske skupine ispitanika i njihov odnos simptoma, odnosno razina suzenja i kongestija sluznice nosa, na provokaciju histaminom značajnije je u alergijskoj skupini izražena kongestija (p=0,039) (slika 40) i suzenje (p=0,008) (slika 41). Gledajući razliku u simptomima između alergijske i nealergijske skupine značajna razlika na strani alergijske skupine je za simptome opstrukcije i sekrecije kod provokacije histaminom, te sekrecije nakon provokacije hipertoničnom otopinom (p=0,043) (slika 42) (120).

Zbog nepostojanja fenomena priming-a u nealergijskoj skupini ispitanika, za razliku od alergijske skupine, odgovor na provokacijski test histaminom je znatno slabiji. To pokazuje i naše ispitivanje iako dio uspoređivanih rezultata između skupina nije pokazao statističku značajnost zbog velike interindividualne varijabilnosti.

7. Zaključci

Hipoteza rada da nespecifična hiperreaktivnost korelira s intenzitetom subjektivnog i upalnog odgovora rane i kasne faze potvrđena je samo djelomično.

1. Postoji snažna korelacija između pogoršanja ukupnog zbroja simptoma nakon provokacije alergenom i provokacije histaminom (ρ=0,751, *p*=0,0001), ali ne i nakon provokacije hipertoničnom otopinom.

2. Značajna je korelacija između pogoršanja simptoma nakon provokacije histaminom i hipertoničnom otopinom (ρ=0,459, *p*=0,01).

3. Pogoršanje ukupnog zbroja simptoma nakon provokacije alergenom i histaminom značajno korelira s biljegom rane faze alergijske reakcije, tj. triptazom (ρ=0,479, *p*=0,009), ali ne i pogoršanje ukupnog zbroja simptoma nakon provokacije hipertoničnom otopinom.

4. Biljeg kasne faze alergijske reakcije (EKP) 24 sata nakon provokacije alergenom značajno korelira s pogoršanjem simptoma nakon provokacije histaminom (ρ=0,408, *p*=0,025), ali ne i hipertoničnom otopinom. Biljeg kasne faze alergijske reakcije značajno korelira s pogoršanjem zbroja simptoma nakon provokacije histaminom i hipertoničnom otopinom samo nakon provokacije hipertoničnom otopinom (ρ=0,466, *p*=0,01).

5. Statistički je značajan (*p*=0,0001) porast triptaze 15 minuta nakon provokacije alergenom u dozi od ukupno 1000 BU. Rezultat je degranulacije mastocita, kao rane faze alergijske reakcije. Triptaza je u tom terminu detektabilna u nešto više od 50% (17/30) ispitanika.

6. Statistički je značajan porast EKP-a u nosnom sekretu nakon provokacije histaminom (*p*=0,04) 24 sata nakon provokacije alergenom u dozi od ukupno 1000

BU. Porast EKP-a rezultat je degranulacije eozinofila, kao dokaz kasne faze alergijske reakcije. EKP je u tom terminu povišen u manje od 50% ispitanika.

7. Statistički je značajan porast tvari P u nosnom sekretu nakon provokacije histaminom (p=0,003), a u suzama nakon provokacije histaminom (p=0,004), alergenom (p=0.021) i hipertoničnom otopinom (p=0,000). SP je detektabilan u svim uzorcima, a rezultat je uglavnom otpuštanja peptida s nemijeliniziranih nervnih završetaka.

8. Postoji statistički značajna korelacija između simptoma opstrukcije, sekrecije, svrbeža nosa i suzenja nakon provokacije alergenom s razinom triptaze u nosnom sekretu 15 minuta nakon provokacije alergenom, ali ne i svrbeža očiju, te pečenja nosa.

9. Postoji signifikantna korelacija EKP-a u nosnom sekretu 24 sata nakon nazalne provokacije alergenom s intenzitetom nosne sekrecije (ρ=0,491, p=0,006).

10. Postoji značajna korelacija razine tvari P u nosnom sekretu nakon nazalne provokacije hipertoničnom otopinom s nosnom sekrecijom (ρ=0,457, p=0,003) i suzenjem (ρ=0,486, p=0,014).

11. Postoji značajna korelacija tvari P u suzama nakon provokacije s hipertoničnom otopinom s nosnom sekrecijom (ρ=0,455, p=0,004,), opstrukcijom (ρ=0,410, p=0,09) i suzenjem (ρ=0,392, p=0,039).

12. Postoji značajna korelacija između razine triptaze u nosnom sekretu i EKP-a nakon jednog sata (ρ=0,458, p=0,001), te negativna korelacija razine triptaze iz

nosnog sekreta s tvari P nakon provokacijskog testa s hipertoničnom otopinom (ρ=0,534, *p*=0,002).

13. Postoji značajna korelacija broja kihanja nakon provokacije alergenom i zbroja simptoma nakon alergena (ρ=0,658, *p*=0,000) i histamina (ρ=0,646, *p*=0,000), te razine triptaze nakon provokacije alergenom (ρ=0,714, *p*=0,000).

14. Postoji značajna korelacija broja kihanja nakon provokacije histaminom i zbroja simptoma nakon alergena (ρ=0,546, *p*=0,002) i histamina (ρ=0,520, *p*=0,003), razine triptaze nakon provokacije alergenom (ρ=0,511, *p*=0,004), ali i koncentracije EKP-a 24 sata nakon alergena (ρ=0,660, *p*=0,000).

15. Ne postoji značajna korelacija između zbrojeva Schirmerovog testa i subjektivnog osjećaja suzenja nakon pojedinih provokacijskih testova.

16. Ne postoji značajna korelacija između subjektivnog osjećaja nosne prohodnosti i nosnog volumena mjerenog akustičkom rinometrijom, ali volumen akustičkom rinometrijom nakon provokacije alergenom korelira s koncentracijom EKP-a 24 sata nakon alergena.

17. Alergijska skupina ispitanika pokazuje statistički značajno veću aktivaciju mastocita i eozinofila (statistički značajno veće vrijednosti triptaze i EKP-a nakon provokacijskog testa) u odnosu na kontrolnu nealergijsku skupinu.

18. Postoji statistički značajna razlika za simptome opstrukcije (*p*=0,043) i sekrecije (*p*=0,043) nakon provokacije histaminom u alergijske skupine ispitanika uspoređujući je s kontrolnom nealergijskom skupinom.

8. Sažetak

Ova studija temeljena je na hipotezi da je intenzitet nespecifične nosne hiperreaktivnosti u značajnoj korelaciji s intenzitetom specifične nosne hiperreaktivnosti i intenzitetom aktivacije upalnih stanica rane i kasne faze alergijske reakcije u ispitanika sa sezonskim alergijskim rinitisom. Studija obuhvaća 30 odraslih ispitanika sa *in vivo* i *in vitro* dokazanim sezonskim alergijskim rinitisom, te kao kontrolnu skupinu 10 bolesnika s nealergijskim rinitisom. U ispitanika su provedene provokacije alergenom izvan sezone, te 24 i 72 sata nakon provokacije alergenom nespecifične provokacije histaminom i hipertoničnom otopinom. Mjeren je subjektivni intenzitet nosnih i očnih simptoma, nosna prohodnost se evaluirala akustičkom rinometrijom, a koncentracije triptaze, eozinofilno-kationskog proteina i tvari P određivane su u nosnom sekretu i suzama bazalno i nakon provokacijskih testova. Dokazana je značajna korelacija subjektivnog odgovora na provokaciju alergenom i histaminom, s razinama triptaze neposredno nakon provokacije alergenom, te EKP 24 sata nakon provokacije alergenom. Te korelacije nisu dokazane s odgovorom na provokaciju hipertoničnom otopinom. Subjektivni odgovor na provokaciju alergenom i histaminom jače korelira s degranulacijom mastocita, tj. intenzitetom rane faze alergijske reakcije, nego s aktivacijom eozinofila u bolesnika sa sezonskim alergijskim rinitisom. Neurogena upala izražena otpuštanjem neurokinina nakon provokacije manje je povezana sa subjektivnim simptomima nego aktivacija upalnih stanica.

Ključne riječi: alergija, ambrozija, pelud trava, provokacijski testovi, tvar P, EKP, triptaza, nosna prohodnost, intenzitet simptoma.

9. Summary

Relationship between specific and nonspecific nasal hyperreactivity in patients with seasonal allergic rhinitis (Dejan Tomljenović, 2018.)

This study is based on the hypothesis that the intensity of non-specific nasal hyperreactivity correlates with the intensity of specific nasal hyperreactivity and the intensity of early and late phase allergic cellular reaction in patients with seasonal allergic rhinitis. It included 30 patients of both sexes, aged 18 to 65, with monoallergy to grass or ambrosia pollen. Ten patients with non-alergic rhinitis were included as a control group. An out-of-allergy-season, provocation test with a specific allergen was administered to the patients' nasal mucosa, followed by histamine and hypertonic solutions with a 24 and 72 hour delay, respectively. The subjective intensity of nasal and ocular symptoms was recorded. Nasal patency was evaluated through acoustic rhinometry, and tryptase, eosinophillic cationic protein and substance P concentrations were measured in nasal secretions and tears before and after provocation. A statistically significant correlation in immediate subjective response and tryptase levels after allergen and histamine provocation was noted. In addition, eosinophillic cationic protein levels correlated with subjective response 24 hours after allergen exposure. These correlations were not observed after hypertonic fluid provocation. The subjective response to allergen and histamine provocation showed a stronger correlation with mast cell degranulation than eosinophillic activation in patients with seasonal allergic rhinitis. Cellular inflammatory response seems to have a stronger correlation to subjective symptoms scores than neurogenic inflammation.

Key words: allergy, ambrosia, grass pollen, provocation test, substance P, tryptase, nasal patency, symptom score.

10. Popis literature:

1. Lund VJ, Stammberger H, Fokkens WJ, Beale T, Bernal-Sprekelsen M, Eloy P i sur. European position paper on the anatomical terminology of the internal nose and paranasal sinuses. Rhinol Suppl. 2014;24:1-34.

2. Marušić A. Anatomija čovjeka. Medicinska naklada. 2002.

3. Watelet JB, Van Cauwenberge P. Applied anatomy and physiology of the nose and paranasal sinuses. Allergy. 1999;54:14-25.

4. Baraniuk JN, Merck SJ. New conceps of neural regulation in human nasal mucosa. Acta Clin Croat. 2009;48:65-73.

5. Leopold DA, Hummel T, Schwob JE, Hong SC, Knecht M, Kobal G. Anterior distribution of human olfactory epithelium. Laryngoscope. 2000;110:417-21.

6. Hatt H. Molecular and cellular basis of human olfaction. Chem Biodivers. 2004:1857-69.

7. Cole P. Pathophysiology and treatment of airway mucociliary clearance. A moving tale. Minerva Anestesiol. 2001;67:206-9.

8. Stannard W, O'Callaghan C. Ciliary function and the role of cilia in clearance. J Aerosol Med. 2006;19:110-5.

9. Widdicombe JG. The physiology of the nose. Clin Chest Med. 1986;7:159-70.

10. Afzelius BA. A human syndrome caused by immotile cilia. Science.1976;193:317-9.

11. Young D. Surgical treatment of male infertility. J Reprod Fertil. 1970;23:541-2.

12. Lundberg JO, Weitzberg E, Nordvall SL, Kuylenstierna R, Lundberg JM, Alving K. Primarily nasal origin of exhaled nitric oxide and absence in Kartagener's syndrome. Eur Respir J. 1994;7:1501-4.

13. Sarin S, Undem B, Sanico A, Togias A. The role of the nervous system in rhinitis. J Allergy Clin Immunol. 2006;118:999-1016.

14. Baraniuk JN. Sensory, parasympathetic, and sympathetic neural influences in the nasal mucosa. J Allergy Clin Immunol. 1992;90:1045-50.

15. Kim D, Baraniuk JN. Neural aspects of allergic rhinitis. Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg. 2007;15:268-73.

16. Pfaar O, Raap U, Holz M, Hörmann K, Klimek L. Pathophysiology of itching and sneezing in allergic rhinitis. Swiss Med Wkly. 2009;139:35-40.

17. Naclerio RM, Bachert C, Baraniuk JN. Pathophysiology of nasal congestion. Int J Gen Med. 2010;3:47-57.

18. Klimek L, Pfaar O. Allergic rhinitis. Immunological and neurogenic mechanisms. HNO. 2011;59:1191-7.

19. Sarin S, Undem B, Sanico A, Togias A. The role of the nervous system in rhinitis. J Allergy Clin Immunol. 2006;118:999-1016.

20. Skoner DP. Allergic rhinitis: definition, epidemiology, pathophysiology, detection, and diagnosis. J Allergy Clin Immunol. 2001;108:S2-8.

21. Baraniuk JN, Merck SJ. Nasal reflexes: implications for exercise, breathing, and sex. Curr Allergy Asthma Rep. 2008;8:147-53.

22. Kim D, Baraniuk JN. Neural aspects of allergic rhinitis. Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg. 2007;15:268-73.

23. Callebaut I, Spielberg L, Hox V, Bobic S, Jorissen M, Stalmans I i sur. Conjunctival effects of a selective nasal pollen provocation. Allergy. 2010 ;65:1173-81.

24. Baroody FM, Foster KA, Markaryan A, deTineo M, Naclerio RM. Nasal ocular reflexes and eye symptoms in patients with allergic rhinitis. Ann Allergy Asthma Immunol. 2008;100:194-9.

25. Klossek JM, Annesi-Maesano I, Pribil C, Didier A. The burden associated with ocular symptoms in allergic rhinitis. Int Arch Allergy Immunol. 2012;158:411-7.

26. Lee JE, Kim KR, Rha KS, Dhong HJ, Roh HJ, Rhee CS i sur. Prevalence of ocular symptoms in patients with allergic rhinitis: Korean multicenter study. Am J Rhinol Allergy. 2013;27:135-9.

27. Baroody FM, Logothetis H, Vishwanath S, Bashir M, Detineo M, Naclerio RM. Effect of intranasal fluticasone furoate and intraocular olopatadine on nasal and ocular allergen-induced symptoms. Am J Rhinol Allergy. 2013;27:48-53.

28. Baroody FM, Shenaq D, DeTineo M, Wang J, Naclerio RM. Fluticasone furoate nasal spray reduces the nasal-ocular reflex: a mechanism for the efficacy of topical steroids in controlling allergic eye symptoms. J Allergy Clin Immunol. 2009;123:1342-8.

29. Baraniuk JN, Kim D. Nasonasal reflexes, the nasal cycle, and sneeze. Curr Allergy Asthma Rep. 2007;7:105-11.

30. Scherer PW, Hahn II, Mozell MM. The biophysics of nasal airflow. Otolaryngol Clin North Am. 1989;22:265-78.

31. Salman SD, Proctor DF, Swift DL, Eveering SA. Nasal resistance: description of a method and effect of temperature and humidity changes. Ann Otol Rhinol Laryngol. 1971;80:736-43.

32. Naclerio RM, Pinto J, Assanasen P, Baroody FM. Observations on the ability of the nose to warm and humidify inspired air. Rhinology. 2007;45:102-11.

33. Lundberg JO, Rinder J, Weitzberg E, Lundberg JM, Alving K. Nasally exhaled nitric oxide in humans originates mainly in the paranasal sinuses. Acta Physiol Scand. 1994;152:431-2.

34. Durland WF Jr, Lane AP, Durland KW, Smith TL, Johnson KL, Prazma J i sur. Nitric oxide is a mediator of the late-phase response in an animal model of nasal allergy. Otolaryngol Head Neck Surg. 2000;122:706-11.

35. Maniscalco M, Sofia M, Carratů L, Higenbottam T. Effect of nitric oxide inhibition on nasal airway resistance after nasal allergen challenge in allergic rhinitis. Eur J Clin Invest. 2001;31:462-6.

36. Colantonio D, Brouillette L, Parikh A, Scadding GK. Paradoxical low nasal nitric oxide in nasal polyposis. Clin Exp Allergy. 2002;32:698-701.

37. American Thoracic Society/ European Respiratory Society. ATS/ERS recommendations for standardized procedures for the online and offline measurement of exhaled lower respiratory nitric oxide and nasal nitric oxide, 2005. Am J Respir Crit Care Med. 2005 Apr 15;171(8):912-30.

38. Brozek JL, Bousquet J, Baena-Cagnani CE, Bonini S, Canonica GW, Casale TB i sur. Global Allergy and Asthma European Network; Grading of Recommendations Assessment, Development and Evaluation Working Group Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) guidelines: 2010 revision. J Allergy Clin Immunol 2010;126:466-76.

39. Pawankar R, Baena-Cagnani CE, Bousquet J. State of World Allergy Report 2008: Allergy and Chronic Respiratory Diseases. WAO Journal 2008;Supl:S4:7-17.

40. Powe DG, Jagger C, Kleinjan A, Carney AS, Jenkins D, Jones NS. 'Entopy': localized mucosal allergic disease in the absence of systemic responses for atopy. Clin Exp Allergy 2003;33:1374-9.

41. Hellings PW, Fokkens WJ. Allergic rhinitis and its impact on otorhinolaryngology. Allergy 2006;61:656-64.

42. Scadding GW, Calderon MA, Bellido V, Koed GK, Nielsen NC, Lund K i sur. Optimisation of grass pollen nasal allergen challenge for assessment of clinical and immunological outcomes. J Immunol Methods 2012;384:25-32.

43. Hellings PW, Fokkens WJ, Akdis C, Bachert C, Cingi C, Dietz i sur. Uncontrolled allergic rhinitis and chronic rhinosinusitis: where do we stand today? Allergy 2013;68:1-7.

44. Fokkens W, Lund V, Mullol J. European position paper on rhinosinusitis and nasal polyps 2007. Rhinol Suppl 2007;20:1-136.

45. Callebaut I, Vandewalle E, Hox V. Nasal corticosteroid treatment reduces substance P levels in tear fluid in allergic rhinoconjunctivitis. Ann Allergy Asthma Immunol 2012;109:141-6.

46. Leonardi A, Bogacka E, Fauquert JL, Kowalski ML, Groblewska A, Jedrzejczak-Czechowicz M i sur. Ocular allergy: recognizing and diagnosing hypersensitivity disorders of the ocular surface. Allergy. 2012;67:1327-37.

47. Virchow JC, Kay S, Demoly P, Mullol J, Canonica W, Higgins V. Impact of ocular symptoms on quality of life (QoL), work productivity and resource utilisation in allergic rhinitis patients -- an observational, cross sectional study in four countries in Europe. J Med Econ 2011;14:305-14.

48. White M. Mediators of inflammation and the inflammatory process. J Allergy Clin Immunol. 1999;103:378-81.

49. Van Gerven L, Boeckxstaens G, Hellings P. Up-date on neuro-immune mechanisms involved in allergic and non-allergic rhinitis. Rhinology. 2012;50:227-35.

50. Corey JP, Houser SM, Ng BA. Nasal congestion: a review of its etiology, evaluation, and treatment. Ear Nose Throat J. 2000;79:690-698.

51. Wang DY, Raza MT, Gordon BR. Control of nasal obstruction in perennial allergic rhinitis. Curr Opin Allergy Clin Immunol. 2004;4:165-70.

52. Moscato G, Siracusa A. Rhinitis guidelines and implications for occupational rhinitis. Curr Opin Allergy Clin Immunol. 2009;9:110-5.

53. Baudoin T, Kalogjera L, Geber G, Grgić M, Cupić H, Tiljak MK. Correlation of histopathology and symptoms in allergic and non-allergic patients with chronic rhinosinusitis. Eur Arch Otorhinolaryngol. 2008;265:657-61.

54. Brozek JL, Bousquet J, Baena-Cagnani CE, Bonini S, Canonica GW, Casale TB i sur. Global Allergy and Asthma European Network; Grading of Recommendations Assessment, Development and Evaluation Working Group. Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) guidelines: 2010 revision. J Allergy Clin Immunol. 2010;126:466-76.

55. Connell JT. Quantitative intranasal pollen challenges. 3. The priming effect in allergic rhinitis. J Allergy. 1969;43:33-44.

56. Wachs M, Proud D, Lichtenstein LM, Kagey-Sobotka A, Norman PS, Naclerio RM. Observations on the pathogenesis of nasal priming. J Allergy Clin Immunol. 1989;84:492-501.

57. Tai CF, Baraniuk JN. Upper airway neurogenic mechanisms. Curr Opin Allergy Clin Immunol. 2002;2:11-9.

58. Belmonte C, Viana F. Molecular and cellular limits to somatosensory specificity. Mol Pain. 2008;4:14.

59. Van Der Stelt M, Di Marzo V. Endovanilloids. Putative endogenous ligands of transient receptor potential vanilloid 1 channels. Eur J Biochem. 2004;271:1827-34.

60. Moran MM, Xu H, Clapham DE. TRP ion channels in the nervous system. Curr Opin Neurobiol. 2004;14:362-9.

61. Silver WL, Clapp TR, Stone LM, Kinnamon SC. TRPV1 receptors and nasal trigeminal chemesthesis. Chem Senses. 2006;31:807-12.

62. Andersson DA, Nash M, Bevan S. Modulation of the cold-activated channel TRPM8 by lysophospholipids and polyunsaturated fatty acids. J Neurosci. 2007;27:3347-55.

63. Cummins TR, Sheets PL, Waxman SG. The roles of sodium channels in nociception: Implications for mechanisms of pain. Pain. 2007;131:243-57.

64. Caterina MJ, Schumacher MA, Tominaga M, Rosen TA, Levine JD, Julius D. The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway. Nature. 1997;389:816-24.

65. Kowalski ML, Dietrich-Miłobedzki A, Majkowska-Wojciechowska B, Jarzebska M. Nasal reactivity to capsaicin in patients with seasonal allergic rhinitis during and after the pollen season. Allergy. 1999;54:804-10.

66. Greiff L, Svensson C, Andersson M, Persson CG. Effects of topical capsaicin in seasonal allergic rhinitis. Thorax. 1995;50:225-9.

67. Bousquet J, Heinzerling L, Bachert C, Papadopoulos NG, Bousquet PJ, Burney PG i sur. Global Allergy and Asthma European Network; Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma. Practical guide to skin prick tests in allergy to aeroallergens. Allergy. 2012;67:18-24.

68. Zuberbier T, Bachert C, Bousquet PJ, Passalacqua G, Walter Canonica G, Merk H i sur. GA¸LEN/EAACI pocket guide for allergen-specific immunotherapy for allergic rhinitis and asthma. Allergy. 2010;65:1525-30.

69. Chinoy B, Yee E, Bahna SL. Skin testing versus radioallergosorbent testing for indoor allergens. Clin Mol Allergy. 2005;3:4.

70. Hilberg O, Jackson AC, Swift DL, Pedersen OF. Acoustic rhinometry: evaluation of nasal cavity geometry by acoustic reflection. J Appl Physiol. 1989;66:295-303.
71. Hilberg O. Objective measurement of nasal airway dimensions using acoustic rhinometry: methodological and clinical aspects. Allergy. 2002;57:5-39.

71. Hilberg O, Pedersen OF. Acoustic rhinometry: recommendations for technical specifications and standard operating procedures. Rhinol Suppl. 2000 Dec;16:3-17. Erratum in: Rhinol 2001 Jun;39(2):119.

72. Corey JP, Gungor A, Nelson R, Liu X, Fredberg J. Normative standards for nasal cross-sectional areas by race as measured by acoustic rhinometry. Otolaryngol Head Neck Surg. 1998;119:389-93.

73. Dordal MT, Lluch-Bernal M, Sánchez MC, Rondón C, Navarro A, Montoro J i sur. SEAIC Rhinoconjunctivitis Committee. Allergen-specific nasal provocation testing: review by the rhinoconjunctivitis committee of the Spanish Society of Allergy and Clinical Immunology. J Investig Allergol Clin Immunol. 2011;21:1-12

74. Hilberg O, Pedersen OF. Acoustic rhinometry: influence of paranasal sinuses. J Appl Physiol .1996;80:1589-94.

75. Larsson C, Millqvist E, Bende M. Relationship between subjective nasal stuffiness and nasal patency measured by acoustic rhinometry. Am J Rhinol. 2001;15:403-5.

76. Gungor A, Moinuddin R, Nelson RH, Corey JP. Detection of the nasal cycle with acoustic rhinometry: techniques and applications. Otolaryngol Head Neck Surg. 1999;120:238-47.

77. Malm L, Gerth van Wijk R, Bachert C. Guidelines for nasal provocations with aspects on nasal patency, airflow, and airflow resistance. International Committee on Objective Assessment of the Nasal Airways, International Rhinologic Society. Rhinology. 2000;38:1-6.

78. Hellings PW, Scadding G, Alobid I, Bachert C, Fokkens WJ, Gerth van Wijk R i sur. Executive summary of European Task Force document on diagnostic tools in rhinology. Rhinology. 2012;50:339-52.

79. Clement PA, Gordts F. Standardisation Committee on Objective Assessment of the Nasal Airway, IRS, and ERS. Consensus report on acoustic rhinometry and rhinomanometry. Rhinology. 2005;43:169-79.

80. Nathan RA, Eccles R, Howarth PH, Steinsvíg SK, Togias A. Objective monitoring of nasal patency and nasal physiology in rhinitis. J Allergy Clin Immunol. 2005;115:442-59.

81. Fairley JW, Durham LH, Ell SR. Correlation of subjective sensation of nasal patency with nasal inspiratory peak flow rate. Clin Otolaryngol Allied Sci. 1993;18:19-22.

82. Wihl JA, Malm L. Rhinomanometry and nasal peak expiratory and inspiratory flow rate. Ann Allergy. 1988;61:50-5.

83. Hampel U, Schleicher E, Wüstenberg E, Hüttenbrink KB, Freyer R. Optical rhinometry--a method for objective assessment of nasal provocation. Biomed Tech (Berl). 2002;47:598-9.

84. Wüstenberg EG, Hüttenbrink KB, Hauswald B, Hampel U, Schleicher E. Optical Rhinometry. Continuous, direct measurement of swelling of the nasal mucosa with allergen provocation. Real-time monitoring of the nasal provocation test usi-ng optical rhinometry. HNO. 2004;52:798-806.

85. Wüstenberg EG, Zahnert T, Hüttenbrink KB, Hummel T. Comparison of optical rhinometry and active anterior rhinomanometry using nasal provocation testing. Arch Otolaryngol Head Neck Surg. 2007;133:344-9.

86. Naclerio RM, Meier HL, Kagey-Sobotka A, Adkinson NF Jr, Meyers DA, Norman PS i sur. Mediator release after nasal airway challenge with allergen. Am Rev Respir Dis. 1983;128:597-602.

87. Watelet JB, Gevaert P, Holtappels G, Van Cauwenberge P, Bachert C. Collection of nasal secretions for immunological analysis. Eur Arch Otorhinolaryngol. 2004;261:242-6.

88. Jeffery P, Holgate S, Wenzel S. Endobronchial Biopsy Workshop. Methods for the assessment of endobronchial biopsies in clinical research: application to studies of pathogenesis and the effects of treatment. Am J Respir Crit Care Med. 2003;168:1-17.

89. Karampatakis V, Karamitsos A, Skriapa A, Pastiadis G. Comparison between normal values of 2- and 5-minute Schirmer test without anesthesia. Cornea. 2010;29:497-501.

90. Leonardi A, Curnow SJ, Zhan H, Calder VL. Multiple cytokines in human tear specimens in seasonal and chronic allergic eye disease and in conjunctival fibroblast cultures. Clin Exp Allergy. 2006;36:777-84.

91. Melillo G, Bonini S, Cocco G, Davies RJ, de Monchy JG, Frrlund L i sur. EAACI provocation tests with allergens. Report prepared by the European Academy of Allergology and Clinical Immunology Subcommittee on provocation tests with allergens. Allergy. 1997;52:1-35.

92. Airaksinen L, Tuomi T, Vanhanen M, Voutilainen R, Toskala E. Use of nasal provocation test in the diagnostics of occupational rhinitis. Rhinology. 2007;45:40-6.

93. Bousquet J, Lebel B, Khivert H, Bataille Y, Martinot B, Michel FB. 1987. Nasal challenge with pollen grains, skin-prick test and specific IgE in patients with grass pollen allergy. Clin. Allergy 17, 529.

94. Pirilä T, Nuutinen J. Acoustic rhinometry, rhinomanometry and the amount of nasal secretion in the clinical monitoring of the nasal provocation test. Clin Exp Allergy. 1998;28:468-77.

95. Rondón C, Romero JJ, López S, Antúnez C, Martín-Casańez E, Torres MJ i sur. Local IgE production and positive nasal provocation test in patients with persistent nonallergic rhinitis. J Allergy Clin Immunol. 2007;119:899-905.

96. Riechelmann H, Deutschle T, Friemel E, Gross HJ, Bachem M. Biological markers in nasal secretions. Eur Respir J. 2003;21:600-5.

97. Lee CH, Igarashi Y, Hohman RJ, Kaulbach H, White MV, Kaliner MA. Distribution of secretory leukoprotease inhibitor in the human nasal airway. Am Rev Respir Dis. 1993;147:710-6.

98. Westin U, Fryksmark U, Polling A, Ohlsson K. Localisation of secretory leucocyte proteinase inhibitor mRNA in nasal mucosa. Acta Otolaryngol. 1994;114:199-202.

99. Ohkubo K, Okuda M, Kaliner MA. Immunological localization of neuropeptide-degrading enzymes in the nasal mucosa. Rhinology. 1994;32:130-3.

100. Gerth van Wijk R, Dieges PH. Nasal reactivity to histamine and methacholine: two different forms of upper airway responsiveness. Rhinology. 1994;32:119-22.

101. Krayenbuhl MC, Hudspith BN, Brostoff J, Scadding GK, Guesdon JL, Latchman Y. Nasal histamine release following hyperosmolar and allergen challenge. Allergy. 1989;44:25-9.

102. Larivée Y, Leon Z, Salas-Prato M, Ganeva E, Desrosiers M. Evaluation of the nasal response to histamine provocation with acoustic rhinometry. J Otolaryngol. 2001;30:319-23.

103. Baraniuk JN, Ali M, Naranch K. Hypertonic saline nasal provocation and acoustic rhinometry. Clin Exp Allergy. 2002;32:543-50.

104. Mosimann BL, White MV, Hohman RJ, Goldrich MS, Kaulbach HC, Kaliner MA. Substance P, calcitonin gene-related peptide, and vasoactive intestinal peptide increase in nasal secretions after allergen challenge in atopic patients. J Allergy Clin Immunol. 1993;92:95-104.

105. Baroody FM, Gavanescu L, Wang JH, DeTineo M, Naclerio RM. The effect of intranasal carbon dioxide on the acute response to nasal challenge with allergen. Allergy Asthma Proc. 2011;32:206-12.

106. Meslier N, Braunstein G, Lacronique J, Dessanges JF, Rakotosihanaka F, Devillier P i sur. Local cellular and humoral responses to antigenic and distilled water challenge in subjects with allergic rhinitis. Am Rev Respir Dis. 1988;137:617-24.

107. Rinder J, Stjärne P, Lundberg JM. Capsaicin de-sensitization of the human nasal mucosa reduces pain and vascular effects of lactic acid and hypertonic saline. Rhinology. 1994;32:173-8.

108. Van Gerven L, Boeckxstaens G, Jorissen M, Fokkens W, Hellings PW. Short-time cold dry air exposure: a useful diagnostic tool for nasal hyperresponsiveness. Laryngoscope. 2012;122:2615-20.

109. Cruz AA, Togias A. Upper airways reactions to cold air. Curr Allergy Asthma Rep. 2008;8:111-7.

110. Nielsen KG, Bisgaard H. Hyperventilation with cold versus dry air in 2- to 5-year-old children with asthma. Am J Respir Crit Care Med. 20051;171:238-41.

111. Belda J, Parameswaran K, Keith PK, Hargreave FE. Repeatability and validity of cell and fluid-phase measurements in nasal fluid: a comparison of two methods of nasal lavage. Clin Exp Allergy. 2001 Jul;31(7):1111-5.

112. Muraki M, Iwanaga T, Haraguchi R, Kubo H, Tohda Y. Continued inhalation of lidocaine suppresses antigen-induced airway hyperreactivity and airway inflammation in ovalbumin-sensitized guinea pigs. Int Immunopharmacol. 2008;8(5):725-31.

113. Pelikan Z. Mediator profiles in tears during the conjunctival response induced by allergic reaction in the nasal mucosa. Mol Vis. 2013;12;19:1453-70.

114. de Graaf-in't Veld C, Garrelds IM, van Toorenenbergen AW, Gerth van Wijk R. Nasal responsiveness to allergen and histamine in patients with perennial rhinitis with and without a late phase response. Thorax. 1997;52(2):143-8.

115. Baroody FM, Naclerio RM. Nasal-ocular reflexes and their role in the management of allergic rhinoconjunctivitis with intranasal steroids. World Allergy Organ J. 2011;4(1 Suppl):S1-5.

116. Juliusson S, Holmberg K, Baumgarten CR, Olsson M, Enander I, Pipkorn U. Tryptase in nasal lavage fluid after local allergen challenge. Relationship to histamine levels and TAME-esterase activity. Allergy. 1991;46(6):459-65.

117. Scadding GW, Calderon MA, Bellido V, Koed GK, Nielsen NC, Lund K i sur. Optimisation of grass pollen nasal allergen challenge for assessment of clinical and immunological outcomes. J Immunol Methods. 2012 Oct 31;384(1-2):25-32.

118. Holmstrom M, Scadding GK, Lund VJ, Darby YC. 1990. Assessment of nasal obstruction. A comparison between rhinomanometry and nasal inspiratory peak flow. Rhinology 28, 191.

119. Kim YH, Jang TY. Proposed diagnostic standard using visual analogue scale and acoustic rhinometry in nasal provocation test in allergic patients. Auris Nasus Larynx 2011;38(3):340.

120. Wagenmann M, Schumacher L, Bachert C. The time course of the bilateral release of cytokines and mediators after unilateral nasal allergen challenge. Allergy 2005;60: 1132.

13. Životopis

Rođen sam 24. svibnja 1979. godine u Bihaću, Bosna i Hercegovina, gdje sam završio osnovno i srednjoškolsko obrazovanje. Medicinski fakultet u Rijeci upisao sam 1998. godine, diplomirao 2004. godine, a stručni ispit položio 2006. godine. Nakon obavljenog liječničkog pripravničkog staža 2007. godine odobrena mi je specijalizacija iz otorinolaringologije i kirurgije glave i vrata. Specijalizantski staž proveo sam od 2007. do 2011. godine u Klinici za otorinolaringologiju i kirurgiju glave i vrata KBC Sestre milosrdnice, gdje danas radim. Specijalistički ispit iz otorinolaringologije i kirurgije glave i vrata položio sam 2011. godine. Tijekom specijalizacije završio sam obavezni stručni Poslijediplomski studij iz otorinolaringologije na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu, a 2012. upisao sam Poslijediplomski doktorski studij na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Subspecijalistički ispit iz plastičnorekonstruktivne kirurgije glave i vrata položio sam 2016. godine. U sklopu Referentnog centra za dijagnostiku i liječenje hiperreaktivnih bolesti gornjih dišnih putova Ministarstva zdravstva pri Klinici za otorinolaringologiju i kirurgiju glave i vrata KBC Sestre milosrdnice, pod mentorstvom prof. dr. sc. Livija Kalogjere, aktivno sudjelujem u dijagnosticiranju i liječenju bolesnika s alergijskim i nealergijskim hiperreaktivnostima. Autor sam i koautor nekoliko znanstvenih radova objavljenih u indeksiranim časopisima i kongresnih priopćenja koje sam prikazao na više domaćih i međunarodnih stručnih kongresa i simpozija. Član sam Hrvatskog društva za otorinolaringologiju i kirurgiju glave i vrata, Hrvatskog liječnikog zbora, Hrvatskog rinološkog društva i Europskog rinološkog društva (Europan Rhinology Society). U sretnom sam braku s Arianom s kojom imam kćerkicu Vitu.