

# Odnos upalne stanične infiltracije i biljega aktivacije upalnih stanica u bolesnika s kroničnim čeljusnim rinosinitisom

---

Vagić, Davor

Doctoral thesis / Disertacija

2008

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:140594>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-03-15**



Repository / Repozitorij:

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





## **Središnja medicinska knjižnica**

**Vagić, Davor (2008) *Odnos upalne stanične infiltracije i biljega aktivacije upalnih stanica u bolesnika s kroničnim čeljusnim rinosinitisom [Relation between cellular infiltration and markers in patients with chronic rhinosinusitis].* Doktorska disertacija, Sveučilište u Zagrebu.**

<http://medlib.mef.hr/571>

University of Zagreb Medical School Repository

<http://medlib.mef.hr/>

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
MEDICINSKI FAKULTET

***Davor Vagić***

***Odnos upalne stanične infiltracije i  
biljega aktivacije upalnih stanica u  
bolesnika s kroničnim čeljusnim  
rinosinuitisom.***

**DIZERTACIJA**

Zagreb, 2008.

Rad je izrađen u Klinici za otorinolaringologiju i kirurgiju glave i vrata KB «  
Sestre milosrdnice»

Voditelj rada je prof. dr. sc. Livije Kalogjera

## ZAHVALA

Iskreno se zahvaljujem svom mentoru prof. dr. sc. Liviju Kalogjeri na velikoj potpori, savjetima te upornosti tijekom izrade ovog rada.

Zahvaljujem se i Klinici za otorinolaringologiju i kirurgiju glave i vrata sa prof. dr. sc. Vladom Petricom kao predstojnikom Klinike

Zahvalnost dugujem dr. Željku Ferenčiću, mr.sc. dipl. ing. Željki Bukovec na podršci i pomoći pri provedbi istraživanja, te prof.dr.sc. Jadranki Božikov na pomoći i strpljivosti kod statističke obrade podataka.

Iskreno se zahvaljujem roditeljima na usađenim životnim načelima koja me vode kroz život.

Ovaj rad je posvećen Mateju koji čini sve smislenim.

### *Skraćenice*

RTG – rentgen  
MR - magnetska rezonanca  
CT – kompjuterizirana tomografija  
VIP - vazoaktivni intestinalni peptid  
NO - nitričnog oksida  
FEV 1 - forsirani ekspiracijski volumen u prvoj sekundi  
PEF - vršni ekspiracijski protok .  
IgE – imunoglobulin E  
IgA - imunoglobulin A  
IgG - imunoglobulin G  
IgM - imunoglobulin M  
APC - antigen prezentirajuće stanice  
MHC I - glavnim kompleksima histokompatibilnosti tip I  
MHC II - glavnim kompleksima histokompatibilnosti tip II  
Th 1 - T pomoćnički limfocit tipa 1  
Th 2 - T pomoćnički limfocit tipa 2  
IL 2 - interleukin 2  
IL 4 - interleukin 4  
IL 5 - interleukin 5  
IL 6 - interleukin 6  
IL 8 - interleukin 8  
IL 10 - interleukin 10  
IL 12 - interleukin 12  
IL 13 - interleukin 13  
INF gama - interferon gama  
NK - natural killer limfociti  
MAdCAM 1 – mukozno adresirana stanična adhezijska molekula  
MC - mastocit  
mMC – mukozni mastociti  
vMC – vezivni mastociti  
GM CSF – granulocitno makrofagni stimulirajući faktor  
VCAM 1 – žilno stanična adhezijska molekula tipa 1  
ECP - eozinofilni kationski protein  
MBP - glavni bazični protein  
EPO - eozinofilna peroksidaza  
EDN - eozinofilno derivirani neurotoksin  
MPO - mijeloperoksidaza  
LFA 1 - leukocitni funkcionalni antigen tipa 1  
ICAM 1 - intercelularna adhezijska molekula tipa 1  
FVC - forsirani vitalni kapacitet  
mRNA – glasnička ribonukleinska kiselina  
TNF alfa – tumor nekrotizirajući faktor  
Try - triptaze  
GINA – globalna inicijativa za astmu  
PAF - faktora aktivacije trombocita  
TGF-a - transformirajući faktor rasta  
HRFs - faktor otpuštanja histamina  
CTAP III - vezivno tkivni aktivirajući peptid III  
NAP-2 neutrofilni aktivirajući peptid -2

RANTES - *Regulated upon Activation, Normal T cell Expressed and Secreted*  
(VAS) vizualno analognom skalom (VAS)  
SF 36 - *Medical Outcomes Study Short Form*  
SNOT 20 - *Sinonasal Outcome test 20*  
CSS - *Sinusitis Survey*  
RSDI - *Rhinosinusitis Disability Indeks*  
RSUI - *Rhinitis Symptom Utility Indeks*  
EPOS europske smjernice za liječenje kroničnog rinosinuitisa  
DAB - diaminobenzidinom  
PCR – polimeraza lančana reakcija

## 1.Uvod

Kronični rinosinuitis (KRS) jedna je od najčešćih kroničnih bolesti odrasle populacije s trendom porasta prevalencije, a u Sjedinjenim Američkim Državama kronična je bolest za čije se liječenje propisuje najviše antibiotika. Istraživanja pokazuju da između 10 i 30 % odrasle populacije boluje od kroničnog rinosinuitisa (1). Brojne studije dokazuju veliki utjecaj KRS-a na kvalitetu života, bolesti donjih dišnih putova te troškove zdravstva u cjelini (2). Dijagnoza se postavlja na temelju simptoma, a šarolikost kliničke slike i povezanost s više predisponirajućih čimbenika (alergija, nealergijska hiperreaktivnost, astma, cilijarna diskinezija, anatomske deformacije), kao i udruženost s nizom drugih bolesti cjelokupnog dišnog sustava, čini etiologiju nedovoljno razjašnjenom i temom mnogih istraživanja (3,4). Temeljna su istraživanja u bolesnika s kroničnim rinosinuitisom dokazala pojačanu aktivnost citokina IL-3 i IL-5 koje su povezane s aktivacijom mastocita i eozinofila i Th2 putom alergijske reakcije te IL-8 koji je povezan s aktivacijom neutrofila (5,6). Aktivnost je citokina u korelaciji s razinama staničnih biljega aktivacije, eozinofilnog kationskog proteina (ECP) za eozinofile, triptaze za mastocite te mijeloperoksidaze (MPO) za neutrofile (7,8). Sve je više dokaza u prilog ulozi vezivanja IgE-a na receptore na upalnim stanicama, čak i u bolesnika u kojih kožnim testom nije dokazana alergija na inhalacijske alergene, dok su serumske razine IgE-a u granicama normale. IgE pozitivni mastociti dokazani su imunohistokemijski u sluznica 45 % bolesnika s CRS-om, 50 % s polipozom i 69 % s astmom (9). Visoke tkivne razine IgE-a dokazane su u tkivu nosnih polipa i u onih s niskim serumskim razinama (IgE na enterotoksin *Staphylococcus aureus*). Navedeno ukazuje na veću učestalost lokalne alergijske upale u bolesnika s višim stupnjem hiperreaktivnosti u dišnim putevima. Eozinofilna upala, praćena polipozom, vođena citokinima Th-2 profila u sinusnoj je sluznici najizraženija kada postoji bolest jedinstvenih (gornjih i donjih) dišnih putova (*united airways disease*), a vjerojatno s time korelira i lokalna aktivnost IgE-a (9). Suprotno

tomu, tzv. fungalna hipoteza pretpostavlja da je eozinofilna upalna infiltracija sinusne sluznice rezultat odgovora na gljivične antigene koji se dokazuju u sinusnom sekretu u preko 90 % ispitanika s kroničnim rinosinitisom (ali i u više od 90 % zdravih ispitanika), ali ne kao rezultat IgE-om posredovane reakcije (10). Pokazalo se da lošiji zbrojevi objektivnih parametara imaju lošiji prognostički značaj za konzervativno i kirurško liječenje, tj. češće je ponovno pojavljivanje simptoma kroničnog rinosinitisa u duljem vremenskom periodu (11). S obzirom na to da postoji niz mogućih dijagnostičkih postupaka kojima se procjenjuju objektivni parametri, od kojih su većina istraživačke, a ne kliničke metode, postoji potreba za razvijanjem jednostavnijih dijagnostičkih pretraga koje su trenutno na istraživačkoj razini, ali koje su potencijalno značajne u procjeni prognoze pojedinih načina liječenja KRS-a. Navedene dijagnostičke pretrage bile bi potrebne za procjenu učinaka topičkih ili sustavnih steroida, koji su učinkovitiji kod KRS-a u astmatičara ili alergičara, odnosno makrolida koji su efikasniji kod visoke aktivnosti IL-8 što je većinom povezano s bakterijskom infekcijom (12,13).

## 1.1 Anatomija i fiziologija gornjih dišnih putova

### 1.1.1..Anatomija gornjih dišnih putova

Gornji dišni put počinje u vestibulumu nosa i ide do larinksa gdje se nastavlja u donje dišne putove. Pored dijela dišnog puta kroz koji zrak prolazi u gornje dišne putove ubrajamo i paranazalne sinuse. Vanjski nos građen je od koštanog i hrskavičnog dijela, a koštani dio od nosnih kostiju i čeonih nastavka čeljusnih kostiju. Hrkavični dio sastoji se od alarnih i triangularnih hrskavica. Koštani dio važan je s estetske strane, dok je hrskavični dio bitan pri disanju na nos jer deformacije u ovom području mogu povećati otpor disanju na nos (14). Nosni septum dijeli desni od lijevog nosnog kavuma. Prednji dio građen je od hrskavice (*lamina quadrangularis*). Stražnji dio je koštane građe, *lamina perpendicularis*, od etmoidne i nepčane kosti u gornjem dijelu i dolje od vomera. Paranazalni su



sinusi šupljine u kostima lica, ispunjeni zrakom, a povezani su nosnom šupljinom izvodnim kanalima. Sa svake strane mamo posebno razvijene sinuse tako da kod svakog sinusa imamo lijevi i desni koji su često različite veličine. Najveći je čeljusni sinus koji se nalazi u čeljusnoj kosti i čiji volumen može biti do 15 ml. Medijalni zid čeljusnog sinusa dio je lateralnog zida nosnog kavuma i u njemu se nalazi i izvodni kanal koji se otvara u srednji nosni hodnik. Krov je čeljusnog sinusa dno orbite dok je stražnji zid granica prema *fossi pterigopalatini*. Korijeni zuba mogu stršiti u alveolarne recesuse čeljusnih sinusa te pri odontogenoj upali može doći do širenja upale u sinus bez ikakve anatomske zapreke. Čeoni sinusi većinom nisu veći od 7 ml. Lijevi je od desnog odvojen tankom koštanom pregradom koja može biti dehicijentna. Tijekom rasta čeoni sinusi zadnji se razvijaju tako da je njihova veličina jako varijabilna s time da kod 5 % populacije nalazimo aplaziju jednog čeonog sinusa. Izvodni kanal čeonog sinusa, kao i čeljusnog i prednjih etmoidnih sinusa izlazi u srednji nosni hodnik. Etmoidni sinusi nastaju pneumatizacijom etmoidne kosti i sastoje se od 6 do 8 celula. Dijele se na najprednije (*ager nasi*), prednje, srednje(*bula etmoidalis*) i stražnje. Granica je prema gore baza lubanje dok je lateralna granica medijalni zid orbite. Sfenoidni sinus nalazi se u sfenoidnoj kosti što samo po sebi ukazuje na brojne važne strukture koje ga okružuju – *art carotis interna*, *n. opticus*, hipofiza i kavernozi sinus. Sfenoidni sinus drenira se u gornji nosni hodnik, a često komunicira sa stražnjim etmoidnim celulama. Velika važnost poznavanja anatomskih odnosa paranazalnih sinusa i okolnih struktura očita je kod kirurških zahvata paranazalnih sinusa radi blizine bitnih struktura koje ne smiju biti oštećene tijekom operacije kada one ponekad sličje prolasku kroz labirint.

### 1.1.2.Histologija gornjih dišnih putova.

Poznavanje histologije sluznice dišnih putova bitno je za shvaćanje funkcije gornjih dišnih putova. Na ulazu u nosni kavum u vestibulumu nosa nalazi se višeslojni pločasti i prijelazni epitel (15). Nakon tog početnog dijela nalazi se pseudostratificirani cilindrični cilijarni epitel koji prekriva nosni kavum i paranazalne sinuse i sastoji se od bazalnih, cilindričnih i goblet stanica. Cilindrične i goblet stanice dolaze do površine epitela dok su bazalne stanice uz bazilarnu membranu i ne dolaze do površine epitela (16). Pored navedenih stanica, u epitelu se nalaze mastociti i intraepitelni limfociti (17). Glavna je funkcija ovih imunokompetentnih stanica prepoznavanje i odstranjivanje stranih antigena. Intraepitelni limfociti su B i T tipa i to CD3, CD4 i CD8 staničnih biljega. Intraepitelni mastociti čine do 2 % epitelnih stanica i posjeduju većinu osobina subepitelijalnih mastocita uz sposobnost otpuštanja upalnih medijatora koji djeluju na spojeve među epitelnim stanicama i time na povećanje propusnosti epitela (17). Goblet stanice proizvode mukus i u određenoj fazi sekrecije mogu imati mikrovile u dijelu stanice prema površini epitela. Cilindrične stanice posjeduju cilije i mikrovile (do 100 cilija na površini jedne stanice). Epitel je u paranazalnim sinusima tanji nego u nosnom kavumu s manje goblet stanica i seromukoznih žlijezda. Bazalna membrana dijeli epitel od lamine proprije. Bazalna membrana ne propušta samo tekućinu već i manje čestice koje dolaze u mukocilijarni prekrivač (18). Osnovna razlika između bazilarne membrane u nosu prema drugim dijelovima tijela jest u tome što je u nosu ona propusnija. Za djelovanje respiratornog epitela bitno je poznavanje i građe lamine proprije. U njemu ispod bazilarne membrane nalazimo površni sloj žlijezdi, potom sloj krvnih žila i ispod toga duboki sloj žlijezdi. Žlijezde su slinovnice seromukoznog tipa i nalaze se ispod bazilarne membrane u lamini propriji. Češće su u sluznici nosnog kavuma na nosnom septumu i donjoj nosnoj školjci nego u paranazalnim sinusima. Većinom se u sinusima nalaze oko sinusih ušća, a vrlo rijetko u sluznici zidova (19). Mukus se sastoji od 95 % vode, 3 % organskih tvari i 2 % minerala. Glavni je organski sastojak mucin te uz njega albumin, sekretorni IgA, *lactoferin*, *lyzozim*

*kalikrein*. Značajno je da je mukus hiperosmolalan u odnosu na plazmu. Opskrba krvi nosa i paranazalnih sinusa ide preko grana *art carotis externe* – *a. sphenopalatine*, *a ethmoidalis anterior* i *posterior* te u prednjem dijelu *a. facialis*. Postoji najmanje četiri vrste krvnih žila u sluznici nosa: prekapilarne žilice, kapilare, vene i venske prostori i arteriovenske anastomoze (20). Arteriole dovode krv do subepitelijalnih i periglandularnih kapilara iz kojih se krv slijeva u venske sinuse. Venski sinusi tvore vensko erektilno tkivo mukoze koje svojim širenjem dovodi do povećanja volumena sluznice (20). Mukocilijarni transport nalazimo u gornjim i donjim dišnim putovima. Funkcija mu je odstranjenje malih čestica sa sluznice dišnog puta. Mukocilijarni transport nastaje gibanjem cilija na površini cilindričnih stanica u smjeru orofarinksa. Same su cilije građene od dviju centralnih mikrotubula koje okružuje devet dvostrukih mikrotubula (21). Cilije imaju brzu i sporu komponentu gibanja, brza je u smjeru orofarinksa, dok je spora u suprotnom smjeru i s njom se cilije vraćaju u početni položaj. Frekvencija je gibanja cilija 1000 puta u minuti što dovodi do brzine od 5 mm/min do 20 mm/min (21). Poremećaj mukocilijarnog transporta vidljiv je kod Kartagenerova sindroma i primarne cilijarne diskineze.

### 1.1.3. Inervacija gornjih dišnih putova

Aferentna inervacija sluznice nosa ide preko maksilarne i oftalmičke grane *n. trigeminusa*. Poruka putuje do semilunarnog ganglija gdje se nalaze tijela živčanih stanica. Bitno je da su po vrsti to nemijelinizirana C vlakna koja mogu biti podražena promjenom temperature, osmolanosti, širenjem, kemikalijama ili promjenom u osmolanosti. Jedna je od značajki inervacije gornjih dišnih putova da pored širenja signala prema centralnom živčanom sustavu (dromičko), signal se može širiti iz semilunarnog ganglija prema periferiji (antidromičko) bez centralne kontrole (22). Prilikom ovog antidromičkog širenja može doći do neurogene upale oslobađanjem supstancije P i tahikinina. Dolazi do mukozne sekrecije, ekstravazacije plazme, vazodilatacije i vezanja leukocita za mikrovaskularni epitel. U

kliničkoj slici ovaj refleks može dovesti do bronhoopstrukcije i astme, a u konačnici i do apneje (22).

Presimpatička vlakna parasimpatičke inervacije nosne sluznice kreću iz facijalnih jezgara u moždanom deblu, idu putem *n. facijalisa* do ulaza u *kavum timpani*. Tada se odvaja *n. petrosus major superficialis* koji parasimpatička vlakna vodi do sfenopalatinalnih ganglija (23). Parasimpatička vlakna završavaju oko arteriola, žlijezdi i epitelu nosne sluznice, a sadrže acetilkolin i VIP (vazoaktivni intestinalni peptid). Aktivacijom parasimpatikusa i oslobađanjem navedenih medijatora dolazi do vazodilatacije i vodenaste sekrecije (21). Simpatička vlakna idu simpatičkim spletom iza *art. carotis comunis* i dalje uz *art. carotis internu* do sfenopalatinalnih ganglija. Simpatička vlakna završavaju u nosnoj mukozi i oslobađanjem se luče norepinefrin i neuropeptid Y. Prilikom aktivacije simpatikusa dolazi do vazokonstrikcije u nosu i smanjenja sekrecije.

#### 1.1.4. Fiziologija gornjih dišnih putova

Četiri su osnovne funkcije nosa: disanje, kondicioniranje zraka, filtracija zraka i osjet mirisa. U ukupnom otporu pri disanju u dišnim putovima čak 70 % otpora otpada na disanje na nos radi turbulentnog strujanja kroz složeni sustav nosnih šupljina. Širina je nosnog kavuma osnovni čimbenik otpora disanju kroz nos. Na širinu mogu djelovati razni čimbenici kao što su anatomske malformacije ili promjena debljine sluznice pod utjecajem raznih lijekova, utjecaja okoline, hormona ili upale (23). Značajan je čimbenik koji utječe na disanje na nos fenomen nosnog ciklusa. Nosni je ciklus pojava izmjenične kongestije i dekongestije poglavito sluznice donjih nosnih školjki lijevog i desnog nosnog kavuma. Ove se promjene događaju svakih 30 minuta do 3 sata promjenom dominantne parasimpatičke ili simpatičke inervacije, a manjim dijelom i vanjskim čimbenicima, upalom ili deformacijama nosne pregrade. Ukupan otpor disanju na nos, zbroj otpora za lijevu i desnu nosnicu, u idealnim bi okolnostima ostao isti. Veće septalne deformacije, osobito one kod kojih dolazi do kontakta donje nosne školjke i septuma mogu blokirati nosni ciklus. Uporaba dekonjestivnih kapi blokira privremeno nosni ciklus. Pretpostavka je da nosni ciklus djeluje zaštitno na sluznicu nosnih kavuma smanjujući dugotrajnu izloženost sluznice zračnoj struji što može dovesti do metaplazije trepetiljkastog epitela u pločasti. Kondicioniranje zraka u nosu priprema zrak za donje dišne putove i na taj ih način štiti. U nosu dolazi do grijanja i ovlaživanja zraka. Primjer je u slučaju boravka na zraku temperature  $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$ , nakon 10 minuta temperatura je zraka u nazofarinksu  $31\text{ }^{\circ}\text{C}$ , a vlažnost 98 %, kao i pri udisanju zraka na temperaturi  $23\text{ }^{\circ}\text{C}$  i vlage 40 % (21). U kondicioniranju zraka ulogu ima cijela sluznica uključujući žlijezde, mukocilijarni transport, promjenu volumena nosnog kavuma kroz otok sluznice i dobru vaskularizaciju lamine proprije. Odrasli čovjek unese zrakom 700 ml vode u pluća dnevno, a to je petina ukupne količine vode što se unese u tijelo dnevno. Filtracija zraka u nosu zaustavlja sve čestice veće od 5 mikrometara i na taj način štiti donje dišne putove (24). Pri disanju na

traheostomu nemamo kondiociniranje i filtraciju zraka u nosu i tada dolazi do veće učestalosti bolesti traheobronhalnog stabla, a pokazana je promjena epitela u traheji iz cilindričnog respiratornog epitela u višeslojni pločasti epitel (21). Osjet je mirisa bitan zaštitni mehanizam jer nas upozorava na razne opasne tvari i pokreće obrambene mehanizme. Dokazano je stvaranje nitričnog oksida (NO) u nosu, prijelazom semiesencijalne aminokiseline L-arginin u L-citruline. Ovaj se proces događa većinom u gornjim dišnim putovima i to osobito u paranazalnim sinusima pod kontrolom inducirane nitrične sinteze (16). Pokazano je bronhodilatatorno i vazokonstriktorno djelovanje pri udisanju u malim dozama (25).

## 1.2. Donji dišni putovi

Prijelaz je gornjeg u donji dišni put u grkljanu. Ovaj je prijelaz dogovoran jer se danas smatra da gornji i donji dišni put čine cjelinu i da ih na takav način treba i proučavati (*united airways*) (4). Donji dišni put započinje trahejom, nastavlja se nakon karine u lijevi i desni glavni bronh. Glavni bronhi daju ogranke za lobuse pluća. Lijevo su dva, desno su tri lobusa pluća. Lobusi se dijele na segmente pluća dok se bronhi dijele na bronhilole i na kraju dolaze do alveola koje su osnovna funkcijska jedinica pluća. Osnovna je funkcija alveola izmjena plinova iz zraka prema krvi i u suprotnom smjeru. U plućima čovjeka ima oko 800 000 alveola ukupne respiratorne površine 100 četvornih metara (25). Jedan je od osnovnih mehanizama zaštite donjih dišnih putova mukocilijarni transport. Kao i u nosu služi za čišćenje dišnog puta od štetnih tvari koje dolaze udahnutim zrakom. Smjer je mukocilijarnog transporta prema orofarinksu. Sama građa tubula na površini stanica i sluzni sastav isti su kod gornjih i donjih dišnih putova. U donjem pericilijarnom dijelu sluz je u sol formi, dok je u gornjem dijelu u gel formi. U području terminalnih bronhiola prestaje mukocilijarni transport. U ovom

području ulogu čistača imaju makrofagi što je bitno jer se njihovom aktivacijom može aktivirati imunološki odgovor (21). Vrlo je bitan učinak surfaktanata koji stvaraju stanice u terminalnim bronhiolima i alveolama. Zadaća surfaktanta smanjenje je površinske napetosti alveolarnih stijenki čime se spriječava kolaps alveola (21). Osnovna funkcija donjih dišnih putova izmjena je plinova. Do glavnog problema u donjim dišnim putovima dolazi radi opstrukcije. Uzrok opstrukcije ovisi o veličini dišnog puta. U velikim dišnim putovima uzrok je opstrukcije najčešće nakupljanje sekreta. Kod srednje velikih dišnih putova uzrok je opstrukcije hipertrofija i spazam glatke muskulature dok je u malim dišnim putovima uzrok edem sluznice.

### 1.3. Interakcija gornjih i donjih dišnih putova

Danas se o gornjim i donjim dišnim putovima govori kao o jednoj cjelini. Pojam *united airways* označuje pogled prema jedinstvu dišnih putova. Sukladno tome pokušava se govoriti i o kroničnoj upalnoj bolesti dišnih puteva, što uključuje astmu i kronični rinosinuitis. Interakcija gornjih i donjih dišnih putova pokazana je i u radu Correna i autora iz 1992. godine (26). U tom su radu ispitivani bolesnici koji navode pogoršanje astme nakon egzacerbacije sezonskog alergijskog rinitisa. Uspoređujući nalaz po izlaganju nosne sluznice alergenu nakon jednog sata i nakon pet sati, kod tih je bolesnika dokazano da se doza spazmogena (metakolina) koji je potreban za 20-postotno sniženje plućne funkcije smanjuju, uspoređujući dozu s onom koja je bila potrebna prije provokacije. Važno je naglasiti da su alergeni bili obilježeni radioaktivnim tvarima te da u plućima nije nađeno tih tvari što pokazuje da su ove promjene u donjim dišnim putovima uzrokovane djelovanjem alergena u gornjim dišnim putovima. Kao mogući mehanizmi te interakcije navode se tri glavna mehanizma, i to: nazobronhalni refleks, postnazalni sekret upalnih stanica i medijatora te resorpcija medijatora u cirkulaciju s posljedičnim djelovanjem u plućima. Kao indirektni mehanizam moguć je izostanak filtracije, vlaženja i grijanja udahnutog zraka u nosu. Nazobronhalni refleks, dokazan u životinja, ide aferentnim vlaknima iz nosa putem *n. trigeminusa* te potom eferentno putem *n. vagusa* u pluća gdje dovodi do kontrakcije glatke muskulature i

sužavanja bronha (27). Postojanje ovog refleksa u čovjeka još je uvijek dvojbeno. Jedno od istraživanja koje govori u prilog postojanju ovog refleksa kod ljudi istraživanje je na bolesnicima s alergijskom astmom i akutnim alergijskim rinitisom. Kod tih je bolesnika korišten kapsaicin, koji je specifični živčani stimulans u nosu. Prilikom primjene kapsaicina na nosnoj sluznici nakon 30 sekundi kod 30 % ispitanika javlja se značajan pad FEV-a 1 i FVC-a. Ovaj efekt traje kratko i već nakon minute dolazi do povratka FEV-a 1 i FVC-a na početne vrijednosti (27). Djelovanje gornjih na donje dišne puteve preko postnazalne sekrecije također je dvojbeno. Zasad nema sigurnog eksperimentalnog dokaza da kod čovjeka dolazi do aspiracije postnazalnog sekreta. Zanimljivo je istraživanje provedeno na miševima koje pokazuje da kod njih nakon injiciranja dijela komplementa *C5a des arg* u maksilarne sinuse dolazi do razvoja sterilnog sinuitisa koji je povezan s hiperreaktivnošću donjih dišnih puteva na histamin (28). Ovaj je efekt bio eliminiran kad se u sinuse stavila fiziološka otopina te nije došlo do upale. Do hiperreaktivnosti nije došlo ni kada zbog gravitacije nije moglo doći do slijevanja sekreta (glava dolje) ili kada je mehanički bio spriječen prolaz iz gornjih u donje dišne puteve (*tubus s cuffom*). Također je primijećeno da se 24 sata nakon izlaganja nosne sluznice alergenu broj leukocita u cirkulaciji udvostručio. (27).

#### 1.4.Kronični rinosinitis

Rinosinitis je upala sluznice nosnih šupljina i sluznice jednog ili više paranazalnih sinusa. Uzrok upale može biti bakterijska infekcija, virusi, gljivice, alergija, a u jednog se dijela pacijenata ne uspije otkriti točan uzrok upale. Prema trajanju simptoma rinosinitisi se dijele na akutne kod kojih simptomi traju do 4 tjedna; akutne rekurirajuće kod kojih se javlja 4 i više epizoda akutnog rinosinitisa tijekom jedne godine; subakutne kod kojih simptomi traju 4 do 12 tjedana; i kronične kod kojih simptomi traju dulje od 12 tjedana.



#### 1.4.1. Etiologija kroničnog rinosinuitisa i predisponirajući čimbenici

##### Mikroorganizmi

Zdrave su paranazalne šupljine sterilne. Jedan je od osnovnih uvjeta zdravih paranazalnih sinusa dobra ventilacija. Najčešći je put razvoja sinuitisa širenje infekcije iz nosnog kavuma ili otoka sluznice u području ušća sinusa što dovodi do poremećaja u ventilaciji sinusa i posljedično do upale sluznice sinusa. Kod akutnog je sinuitisa uzročnika u načelu lakše naći nego kod kroničnog sinuitisa. Uzročnici su akutnog sinuitisa najčešće virusi. Istraživanja su pokazala da kod običnog virusnog rinitisa u 87 % bolesnika dolazi i do upale u paranazalnim sinusima (29). Najčešće bakterije koje uzrokuju akutni sinusitis jesu *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* i *Moraxella catarrhalis*. U 10 % bolesnika nađe se i miješana bakterijska flora s anaerobnom infekcijom. Etiologija kroničnog sinuitisa često je nejasna. Najčešće je izolirana bakterija kod kroničnog sinuitisa *Staphylococcus aureus* i to koagulaza negativni tip bakterije. Nije poznat točan patogenetski utjecaj ove bakterije, no postoje hipoteze koje objašnjavaju da toksini zlatnog stafilokoka oštećuju sluznicu paranazalnih sinusa i dovode do imunološkog odgovora (30). Pretpostavlja se da je utjecaj anaeroba kod kroničnog sinuitisa veći nego kod akutnog. Često se u mikrobiološkim brisevima izolira polimikrobna flora s predominacijom anaeroba tako da je proučavanje njihove uloge jedan od putova kojima se pokušava rasvijetliti etiologija kroničnog sinuitisa.

Pojam *Fungalna revolucija* objašnjava da je kronični rinosinuitis uzrokovan gljivicama (10). Istraživanja su pokazala da se u 90 % bolesnika s kroničnim sinuitisom u ispirku sinusa nađu gljivice. Upala se objašnjava djelovanjem gljivica kao saprofita na sluznici sinusa koje dovode do lokalnog imunološkog poremećaja. Upale se osobito pokreću infiltracijom i aktivacijom eozinofila koji se degranuliraju i otpuštaju toksine s ciljem uništenja hifa, a toksini neselektivno oštećuju sluznice sinusa i pritom se

razvija kronični sinusitis. Zadnjih godina više studija osporava ulogu gljivica u razvoju kroničnog sinusitisa.

### Anatomske deformacije

Deformacija nosnog septuma, konha buloza i opstrukcija ostiomeatalnog kompleksa dugo su smatrani kao jedni od značajnih predisponirajućih čimbenika za razvoj kroničnog rinosinuitisa (31). Neke novije studije opovrgavaju ovo donedavno općeprihvaćeno mišljenje jer nisu našle statističku povezanost između anatomskih deformacija i kroničnog rinosinuitisa (32). Jedina deformacija za koju je nađena povezanost s kroničnim rinosinuitisom deformacija je nosnog septuma i to s odmakom septuma više od 3 mm od medijalne linije (33). Rješenje tegoba kroničnog rinosinuitisa nakon sinonazalne kirurgije ne znači i potvrdu da je uzrok tegoba bio u anatomskim deformacijama. Sve ovo ukazuje da je pitanje anatomskih deformacija kao predisponirajućeg čimbenika razvoju kroničnog rinosinuitisa i dalje neriješeno.

### Poremećaj mukocijarnog transporta

Kao što je navedeno u poglavlju o histologiji gornjih dišnih putova značajnu ulogu u čišćenju sluznice ima mukocilijarni transport koji sprječava razvoj kronične upale. Sekundarna cilijarna diskineza može se naći kod pacijenata s kroničnim rinosinuitisom i u tim je slučajevima najčešće reverzibilna (34). U pacijenata s Kartaginerovim sindromom i primarnom cijarnom diskinezom mukocilijarni je transport trajno oštećen i kod tih se pacijenata kronični rinosinuitis javlja znatno češće nego u ostaloj populaciji.

### Alergija

Jednu od glavnih uloga u razvoju kroničnog sinusitisa imaju alergije i nosna hipereaktivnost. Alergijski rinitis produžuje otok sluznice u području ušća paranazalnih sinusa gdje i mali otok sluznice slabije ventilira paranazalne sinusa što pogoduje razvoju sinusitisa. Sve više je prihvaćena i teza da su

sluznica nosne šupljine i sluznica paranazalnih sinusa jedna cjelina (35). Brojne studije ukazuju na veću učestalost alergije u bolesnika s kroničnim rinosinuitisom nego u općoj populaciji. U Benningerovu istraživanju pozitivni prik-test nađen je u 54 % bolesnika s kroničnim rinosinuitisom (36). U pacijenata s kroničnim rinosinuitisom koji idu na operaciju paranazalnih sinusa učestalost je alergija još veća i iznosi od 60 do čak 94 % u pacijenata kod kojih je učinjena sfenoetmidetomija (37,38). S druge strane neka epidemiološka istraživanja ne nalaze veću učestalost infektivnih rinitisa u alergičara tijekom alergijske sezone (39). Ovaj rad pokušava pridonijeti objašnjenju pitanja alergije koja se javlja lokalno na sluznici paranazalnih sinusa kod bolesnika s kroničnim rinosinuitisom.

Imunokompromitirani pacijenti.

Kod prirođenih se imunodeficijencija kronični rinosinitis javlja već u dječjoj dobi. Kod stečenih imunodeficijencija problemi mogu nastati u odrasloj populaciji. Kod težih kroničnih rinosinuitisa nađena je velika učestalost poremećaja imunološkog sistema. Kod 60 pacijenata, istražujući funkciju T limfocita *in vitro*, nađeno je u 55 % neodgovarajući odgovor na antigene. Poremećaj humoralne imunosti nađen je u 17 % bolesnika s kroničnim rinosinuitisom (40). Pitanje povezanosti infekcije HIV-om i kroničnog rinosinuitisa nije do kraja riješeno. Neke studije ukazuju da čak pola bolesnika s HIV-om ima i kronični rinosinitis dok druge studije ukazuju na manju učestalost (41,42). Zadnje studije ukazuju na povezanost broja CD4+ stanica s jačinom kroničnog rinosinuitisa (42). Probleme kod HIV-pozitivnih pacijenata u sinonazalnom području mogu stvarati i neoplazme kao što je Kaposiev sarkom i non-Hodgkin limfom. Iz svega navedenog može se zaključiti da je potrebna imunološka obrada bolesnika s kroničnim rinosinuitisom koji je refraktoran na konzervativnu terapiju.

Genetski faktori

Često se primjećuje da više članova iste porodice (genetski povezanih) boluju od kroničnog rinosinuitisa. Za sada genske analize nisu našle

povezanost genskih pogrešaka s kroničnim rinosinitisom. Treba istaknuti da kod bolesnika s nasljednim bolestima kao što su Kartagenerov sindrom i cistična fibroza nalazimo znatno češće kronični rinosinitis. Kod pacijenata s cističnom fibrozom dolazi do mutacije gena CFTR na 7. kromosomu (43). U bolesnika s cističnom fibrozom nalazimo u gornjim dišnim putovima kronični rinosinitis i nosnu polipozu u 25 – 40 % slučajeva (44).

#### Trudnoća i hormonski status

Sam se patofiziološki mehanizam ne zna, ali je primijećeno da 20 % žena u trudnoći osjeti začepljenost nosa (45). Postoje razne teorije o uzroku ove začepljenosti koju većina objašnjava utjecajem estrogena, progesterona i hormona rasta placentе na sluznicu nosa. Sama povezanost začepljenosti nosa i razvoja kroničnog rinosinitisa u trudnica nije pronađena. Od ostalih hormonskih poremećaja nađena je povezanost hipotiroidizma i veće učestalosti kroničnog rinosinitisa.

#### 1.4.2. Upalni mehanizmi kroničnog rinosinitisa.

Kao što je već navedeno, kronični je rinosinitis ustvari heterogena skupina bolesti različita po svojoj etiologiji tako da se pod tim širokim pojmom često nalaze različiti upalni mehanizmi koji razvijaju bolest. U analizi sekreta iz sinusa koji je uzet tijekom operacije paranazalnih sinusa najčešće se od upalnih stanica nalaze neutrofili dok se eozinofili, mastociti i bazofili nalaze rjeđe (46,47). Histološka slika kroničnog rinosinitisa pokazuje karakteristično zadebljanje bazalne membrane, hiperplaziju goblet stanica, subepitelijarni edem i infiltraciju mononukleara. Jedna studija pokazala je da kod pacijenata s kroničnim rinosinitisom na 1000 upalnih stanica broj je eozinofila manji od 10 %, dok se kod pacijenata koji uz kronični rinosinitis imaju i nazalnu polipozu taj broj penje na 50 % (48). Uspoređujući broj IgE pozitivnih mastocita dokazani su imunohistokemijski u sluznicama 45 %

bolesnika s kroničnim rinosinuitisom, 50 % s polipozom i 69 % s astmom i kroničnim rinosinuitisom (9).

Studije su pokazale veću koncentraciju MPO-a i ECP-a u bolesnika s kroničnim rinosinuitisom u tkivu donje nosne školjke, nego u kontrolnoj skupini što upućuje na jaču aktivnost neutrofila i eozinofila (49).

U kroničnom rinosinuitisu nađena je visoka koncentracija IL-8 koji ima jaki kemotaktički učinak za neutrofile (50). Zanimljivo je da je koncentracija IL-8 značajno veća u pacijenata s kroničnim rinosinuitisom nego u pacijenata s alergijskim rinitisom koristeći pri analizi imunohistokemijske metode i hibridizaciju *in situ* (51). U studiji mjerenja koncentracije citokina IL-3, IL-4, IL-5, IL-8 i GM-CSF-a u tkivu nađena je povišena koncentracija IL-8 u bolesnika s akutnim rinosinuitisom i IL-3 u pacijenata s kroničnim rinosinuitisom (52). Moguće je da je IL-3 uključen u lokalni upalni odgovor i popravak oštećene sluznice potičući više stanica na aktivaciju i time stvaraju fibrozu i zadebljanja sluznice (53). Zanimljivo je da nije nađena povišena ekspresija VCAM-1 molekule, koja je adhezijska molekula za eozinofile, i IL-5, koji je značajan citokin za aktivaciju eozinofila (52). Ovakve vrijednosti nađene su i u akutnom virusnom rinosinuitisu s iznimkom višeg ECP-a u kroničnom rinosinuitisu.

#### 1.4.2.1. Medijatori upale

Kemijski su medijatori upale molekule što ih stvaraju stanice koje imaju sposobnost djelovati na promjene odgovora drugih stanica i na taj način imaju važnu ulogu u upalnim procesima. Po kemijskoj strukturi medijatori su peptidi, proteini, lipidi ili amini. Oni djeluju vazoaktivno ili spazmogeno poput faktora aktivacije trombocita (PAF), leukotriena, prostaglandina ili tvari P. Ostali poput TGF-a (od engl. *transforming growth factor*), TNF-alfa ili vazoaktivnog intestinalnog peptida (VIP) mogu mijenjati sastav ekstracelularne tekućine. Neki poput kemokina, leukotriena, histamina i prostaglandina privlače stanice i utječu na njihovu migraciju. Među medijatore ubrajaju se i adhezivne molekule kao što su selektini, VCAM-1 i GM-CSF.

Stanice koje proizvode medijatore jesu mastociti, eozinofili, bazofili, neutrofil i makrofagi. Važan su izvor medijatora i T-limfociti u kojima nastaju brojni citokini. Također, treba spomenuti i autonomne i senzoričke živce koji otpuštaju neurotransmitere koji djeluju poput medijatora upale (54,55).

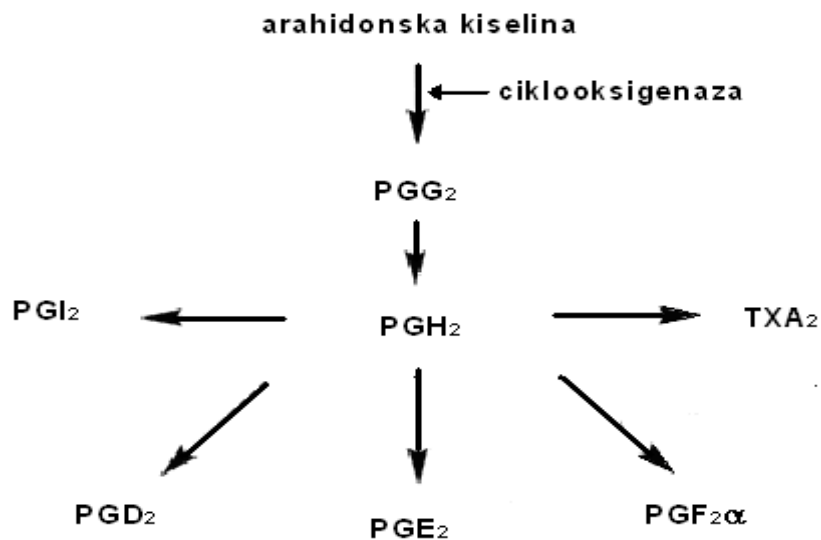
## Histamin

Otkriven je prije 100 godina i prepoznat kao glavni medijator u alergijskoj upali koji je izoliran u alergijskom rinitisu, astmi, urtikariji i anafilaksiji. Postoje tri vrste receptora za histamin: receptor H1 koji je odgovoran za djelovanje pri alergijskoj reakciji, receptor H2 odgovoran za lučenje želučane kiseline i receptori H3 koji su otkriveni u centralnom živčanom sistemu ljudi (56). Histamin se iz mastocita ili bazofila oslobađa nakon što se antigen veže za dva protutijela IgE na površini stanice. Kao nespecifični stimulans za oslobađanje histamina nađen je kodein. Histamin se smatra glavnim medijatorom u ranoj fazi alergijske reakcije nakon podražaja alergenom, a zanimljiva je njegova uloga u kasnoj fazi alergijske reakcije kada je njegov izvor većinom iz bazofila. Histamin u nosu djeluje na tri simptoma: sekreciju nosa, nosnu opstrukciju i kihanje. Djeluje vazodilatativno, eksudira plazmu, stvara edeme i podražuje senzoričke živce. Značajna je uloga histamina kao imunomodulatora. Pri upali stvara selektin P i time privlači leukocite, dovodi do ekspresije ICAM-1 i LFA-1 na endotelu krvnih žila i povećava stvaranje IL-6 i IL-8 u endotelnim stanicama (57).

## Metaboliti arahidonske kiseline

Dva su osnovna puta kojima prolaze metaboliti arahidonske kiseline. Prilikom stimulacije oslobađa se arahidonska kiselina iz fosfolipida stanične membrane. Prvi je ciklooksigenazni put kojim nastaju prostaglandini i tromboksan, drugi je lipooksigenazni put čiji su produkti leukotrieni. Postoji još i put preko citokroma P450 čija funkcija u dišnim putovima još nije razjašnjena.

Ciklooksigenazni put prikazan je na slici 1.



Slika 1. Metabolizam prostaglandina

Legenda uz sliku 2. PGD<sub>2</sub> - prostaglandin

D<sub>2</sub>

PGE<sub>2</sub> - prostaglandin

E<sub>2</sub>

PGF<sub>2</sub> - prostaglandin

F<sub>2</sub>

PGG<sub>2</sub> - prostaglandin

G<sub>2</sub>

PGH<sub>2</sub> - prostaglandin

H<sub>2</sub>

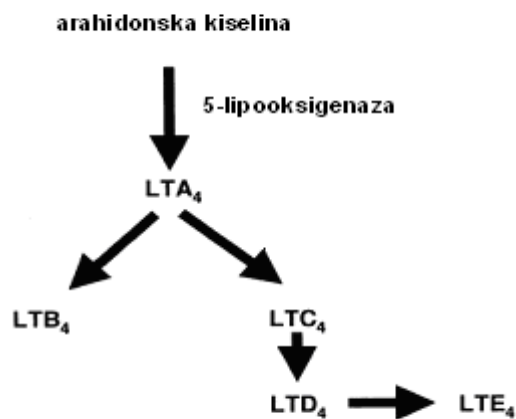
TXA<sub>2</sub> - tromboksan A<sub>2</sub>

PGI<sub>2</sub> - prostaglandin I<sub>2</sub>

Koncentracija PGD<sub>2</sub> povišena je u ranoj fazi alergijskog rinitisa. Studija je pokazala da je PGD<sub>2</sub> deset puta potentniji od histamina kao vazodilatator (58). Svi ovi podaci navode na pretpostavku da blokirajući mehanizam

stvaranja prostaglandina, možemo blokirati alergijsku reakciju. Nesteroidni antireumatici blokiraju ciklooksigenazni put metabolizma arahidonske kiseline, ali ne utječu na alergijsku reakciju tako da se uloga prostaglandina treba još istražiti.

Drugi put metabolizma arahidonske kiseline je lipooksigenazni put koji je prikazan na slici 2.



Slika 2. Metabolizam leukotriena

Legenda uz sliku 1: LTE<sub>4</sub> - leukotrien E 4

LTA<sub>4</sub> - leukotrien A4

LTB<sub>4</sub> - leukotrien B4

LTC<sub>4</sub> - leukotrien C 4

LTD<sub>4</sub> - leukotrien D 4

Leukotrieni imaju značajnu ulogu u alergijskom rinitisu i astmi. Većinom se leukotrieni stvaraju u stanici i nakon toga se otpuštaju iz stanice dalje u ekstracelularnu tekućinu. Moguća je sinteza leukotriena i izvan stanice međusobnom suradnjom neutrofila i trombocita. Leukotrieni povećavaju propusnost krvnih žila u nosu i sudjeluju u stvaranju edema, dok u bronhijima dovode do kontrakcije glatke muskulature (59). Djeluju i na privlačenje eozinofila u dišne putove i vjeruje se da imaju ulogu kao medijatori alergijskog rinitisa (60).



## Kinin

Kinin, kalikrein i bradikinin dijelovi su tzv. kininskog, odnosno kalikreinskog sustava. To je humoralni sustav što ga pokreće aktivacija koagulacijskog faktora XII, konačno dovodeći do stvaranja kalikreina koji djeluje na kininogen pa nastaje bradikinin. Bradikinin je peptid koji uzrokuje sporu i dugotrajnu kontrakciju glatkih mišića, pojačanu vaskularnu propusnost, pojačano lučenje iz mukoznih žlijezda i stimulaciju živčanih završetaka za bol. Tako i bradikinin može uzrokovati simptome peludne hunjavice. Kinin pojačava propusnost krvnih žila i djeluje kao vazodilatator (61,62). Nakon stimulacije nosne sluznice bradikininom luči se tvar P.

## Citokini

Citokini su pojam za grupu proteina koji reguliraju rad stanica u koje pripadaju limfokini, monokini, interleukini i interferoni. Proizvode ih razne stanice u tijelu i imaju značajnu ulogu u fiziološkim i patofiziološkim zbivanjima u organizmu (63). Većina citokina djeluje vrlo blizu mjesta gdje nastaju, a samo neki (TNF, IL-1 i IL-6) mogu djelovati i na udaljenim mjestima. Citokini upravljaju rastom, diferencijacijom, smrti i funkcijom stanica u limfatičkom i hematopoetskom sustavu. Nastanak citokina pod kontrolom je mnogobrojnih putova i predmet je mnogih istraživanja. Značajke su citokina da mogu djelovati 1. sinergistički; 2. antagonistički; 3. imati više od jedne zadaće; 4. različiti citokini imaju preklapajuća djelovanja; 5. pokrenuti kaskadu proizvodnje drugih citokina ili vlastitih antagonista (64).

## Proinflamatorni citokini

IL-1, IL-6, IL-8, IL-18 i TNF pripadaju proinflamatornim citokinima. Za sada se ne zna sa sigurnošću koje stanice proizvode ove citokine. Zna se da su uključeni u ranu i kasnu fazu alergijske reakcije. Poslije stimulacije nosne

sluznice alergenom stvara se IL-1, IL-6 i TNF. Smatra se da su uključeni u poticanje stvaranja adhezijskih molekula na površini endotelnih stanica. IL-1 nađen je kod bolesnika sa sezonskim alergijskim rinitisom i izvan sezone te se smatra da ima ulogu u održavanju minimalne perzistentne upale (65).

Citokini Th2 puta.

Većinom ih luče limfociti Th2, a značajni su za modulaciju Th2 puta imunološkog odgovora organizma. IL-3, IL-4 i IL-5 luče limfociti Th2. GM-CSF nastaje u Th2, ali i u limfocitima Th1. INF gama i IL-12 nastaju u limfocitima Th1. IL-4 značajan je pri nastajanju protutijela IgE, dok IL-3, IL-5 i GM-CSF potiču stvaranje i aktivaciju eozinofila. Pokazano je da kortikosteroidi smanjuju stvaranje IL-5 i da je to jedan od mehanizama kako blokirati upalu (66).

Kemokini

Uloga je kemokina privlačenje različitih tipova leukocita iz krvi na mjesto upale (67). Za sada je opisano preko 30 kemokina. Nastajući u tkivu na mjestu upale djeluju na stanice odgovarajućim receptorima. Pokazalo se da njihova uloga nije samo privlačenje stanica, već da imaju ulogu u sazrijevanju stanica i razvoju limfnog tkiva. IL-8 djeluje na neutrofile, koncentracija mu je visoka tijekom rane i kasne faze upale. RANTES je specifični kemokin koji djeluje na eozinofile i privlači ih na mjesto upale. MCP-1 stimulirajući je čimbenik za monocite i bazofile (56).

Adhezijske molekule

Uloga adhezijskih molekula na endotelnim stanicama krvnih žila ključna je u hvatanju cirkulirajućih leukocita u krvi i njihovu zadržavanju u području upale. Najčešće pripadaju selektinima ili porodici intergina koji pripadaju nadporodici imunoglobulina. Dvije vrste adhezijskih molekula imaju glavnu ulogu u upali. ICAM-1 adhezijska je molekula koja hvata eozinofile, bazofile i neutrofile. VCAM-1 druga je važna adhezijska molekula koja je vjerojatno

glavna molekula za privlačenje eozinofila (68). Zanimljivo je da kortikosteroidi i H1 blokatori smanjuju ekspresiju ICAM-1 na površini endotela krvnih žila za vrijeme rane i kasne faze upale (69).

#### 1.4.2.2. IgE imunološki odgovor

Sama alergijska reakcija uzrokovana je prekomjernom proizvodnjom protutijela IgE na uobičajene antigene iz okoline kao što su kućna prašina, poleni, hrana, dlaka životinje ili gljivice. Povišene vrijednosti serumskih protutijela IgE jedna su od glavnih dijagnostičkih potvrda da se radi o alergiji. Udio je protutijela IgE prema drugim protutijelima malen, ali oni se vežu za receptore koji imaju velik ili mali afinitet za njih tako da njihova aktivnost nije odgovarajuća njihovoj zastupljenosti (56).

#### Regulacija IgE imunološkog odgovora

Osnovna karakteristika sluznice gornjih dišnih putova u alergijskom rinitisu prisutnost je limfocita Th2, bazofila, Langerhansovih stanica, eozinofila i mastocita. Svaka od ovih stanica pridonosi patofiziološkom nastanku upale u alergijskom rinosinuitisu. Prvo antigen prezentirajuće stanice, Langerhansove, i mastociti prerađuju antigen i nakon toga prezentiraju limfocitima T. Daljnja reakcija ovici o citokinima. Ako antigeni prezentiraju Langerhansove stanice najčešće se aktivira Th2 puta imunološkog odgovora. Rezultat može biti kratkotrajan odgovor Th2 koji se brzo suprimira ili prolongirani odgovor Th2 koji rezultira daljnjim razvojem upale i stvaranjem protutijela IgE. Nakon aktivacije stanica Th2 aktiviraju se limfociti B koji proizvode protutijela. Sam postupak aktivacije limfocita B ide složenom kaskadom citokina koji je ključan u razvoju imunološke reakcije. IL-4 potiče sintezu protutijela IgE u pokusima s limfocitima B iz pupčane krvi, slezene i jetre fetusa, čak i koštane srži. Za tako podražene limfocite B karakteristično je da nemaju IgM na površini (70). IL-4 nastaje u limfocitima Th2, mastocitima i u bazofilima. Djelovanjem IL-4, a pokazano je i djelovanjem IL-13, stvara se mRNA u limfocitima B i uz odgovarajući kostimulacijski signal stvaraju se protutijela IgG4 i IgE (71). Osnova spoja između limfocita

Th2 i limfocita B spregnutno je prepoznavanje putem glavnog kompleksa tkivne kompatibilnosti (MHC) na limfocitu B i molekule CD4 na limfocitu Th2. Kostimulacijski je signal spoj dviju molekula, svake na svojoj stanici. Taj je spoj uvjet za daljnju aktivaciju i daljnji razvoj stanice. Spoj molekule CD 40 na površini limfocita B s ligandom CD40 na površini limfocita Th2 pomaže limfocitu B u proizvodnji imunoglobulina i potiče proizvodnju protutijela IgE. Nakon spoja CD40 ligand s molekulom CD40 dolazi do ekspersije molekule CD 80 na površini limfocita B, koji se spaja s molekulom CD 28 na površini limfocita Th2, tako da se može reći da signal putuje i u drugom smjeru. Istraživanja su pokazala da stvaranje protutijela IgE nije nužno povezano s međudjelovanjem limfocita Th2 i B. Mastociti mogu na površini prikazati molekulu CD40 liganda i uz prisutnost IL-4 mogu potaknuti limfocite B na proizvodnju protutijela IgE. Slično djelovanje mogu imati i bazofili, s time da je njihova prednost što oni sami mogu proizvoditi IL-4 tako da ne treba nikakva pomoć sa strane za aktivaciju limfocita B (72).

#### Lokalni odgovor IgE-a

Primjenom alergena u nosu nastaju protutijela IgE. Prije se smatralo da je aktivacija limfocita B i stvaranje protutijela IgE moguća samo u germinativnim centrima limfnih čvorova. Uspoređujući lokalno stvaranje protutijela IgE pokazalo se da je proizvodnja protutijela veća kod nosne provokacije alergenom nego kod sezonske ekspozicije. Nosna provokacija alergenom stvara IL-4, IgE teških lanaca kao i njihovih promotora. Značajno je da lokalna terapija kortikosteroidima prije nosne provokacije dovodi do blokade navedene reakcije (73). Iz navedenog se može zaključiti da do lokalnog odgovora IgE-a dolazi u nosu što govori njemu u prilog. Ovaj način odgovora može biti objašnjenje zašto se kod nekih bolesnika razvija samo alergijski rinitis bez kliničkih simptoma bolesti na drugim dijelovima organizma, kao i razlog zašto kožni alergijski testovi i specifični testovi IgE-a mogu biti negativni kod bolesnika s alergijskim rinosinuitisom.

## Sistemska odgovor IgE-a

Alergijske bolesti mogu zahvatiti pluća, oči, kožu, gastrointestinalni sustav i nos. Atopijski dermatitis i alergije gastrointestinalnog sustava često prethode alergijskim reakcijama respiratornog sustava. Kao primjer povezanost je alergija gornjeg i donjeg dišnog sustava. Tako kod bolesnika s alergijskim rinitisom nalazimo minimalnu upalu u sluznici bronha bez kliničkih simptoma (74). Vjeruje se da GM-CSF koji se oslobađa pri nosnoj provokaciji stvara citokin i kemokin koji eozinofile dovode u sluznicu dišnih putova. Nakon provokacije dišnog puta alergenom dolazi u koštanoj srži do pojačanog stvaranja i otpuštanja upalnih stanica kao što su mastociti, eozinofili i bazofili (75). Ovo istraživanje pokazuje da je alergijska reakcija u ovom slučaju sistemska bolest. Inhalacijski kortikostereoidi smanjuju upale lokalno, ali ne utječu na zbivanja u koštanoj srži. Prema ovim istraživanjima alergijsku reakciju treba gledati kao kombinaciju lokalne i sistemske bolesti.

## Rana faza upalne reakcije

Par minuta nakon izlaganja nosne sluznice alergenu razvijaju se rane faze alergijske upale. Simptomi su nosna opstrukcija, sekrecija iz nosa praćena svrbežom u nosu i šmrcaje. Prvo se oslobađaju vazoaktivni medijatori najprije iz mastocita koji su glavne stanice u ranoj fazi upale. Povišene su koncentracije histamina, prostangladina, leukotriena i triptaze (56). Primjećeno je da se kod različitih bolesnika oslobađaju različite koncentracije svakog medijatora. Kao posljedica djelovanja ovih medijatora dolazi i do eksudacije plazme. Značajnu ulogu ima aktivacija epitelnih stanica koje povećavaju ekspresiju adhezijskih molekula, dovodeći time stanice na mjesto upale. Djelovanjem histamina na živčane završetke dolazi do šmrcaja i svrbeža u nosu.

## Kasna faza upalne reakcije

Nakon podražaja alergenom od 30 do 40 % bolesnika razvija kasnu fazu alergijske reakcije koja počinje nakon 4 do 5 sati, a vrhunac je nakon 6 do 12 sati. Najjači je simptom nosna opstrukcija, dok su sekrecija iz nosa i svrbež u nosu manje izraženi nego u ranoj fazi upale. Značajka je kasne faze upale prisutnost upalnih stanica u području upale. Nalazimo eozinofile kao najvažnije stanice, neutrofile, bazofile i limfocite Th2. Medijatori su histamin, leukotrieni, eozinofilni kationski protein i glavni bazični protein.

### *Priming* efekt

Nakon svakodnevnog izlaganja sluznice malim dozama alergena, za izazivanje alergijske reakcije potrebna je puno manja količina alergena nego kada sluznica nije "pripremljena". Ovaj se efekt naziva *priming*. Za sada nije razjašnjen način nastanka ovog efekta. Pretpostavlja se da jednim dijelom počiva na produkciji citokina koji "pripremaju" stanice.

## 1.5. Stanice u kroničnom rinosinuitisu

### 1.5.1. Mastociti

Od kada je 1879. g. Paul Ehrlich otkrio mastocite i nakon što su Riley i autori opisali prisustvo medijatora histamina u njima, mnogo je istraživano i otkriveno o tim stanicama. Nastaju iz hematopoetskih progenitornih stanica CD34. U većem broju nalaze se u vezivnom tkivu u cijelom tijelu ispod epitela kože i mukoze, uz krvne i limfne žile te uz živčane okončine gdje dolaze u kontakt s antigenima. Uloga je mastocita obrana tijela i u tom procesu razlikujemo proces akutne upale i perzistentne ili čak kronične

upale. Svi ti procesi sami po sebi nisu loši već čuvaju organizam od antigena dokle god ne dođe do neprimjerene reakcije – anafilaktičke reakcije, ili do neusklađene akcije u procesu upale (76,77,78,79,80).

Mastociti su, uz eozinofile, glavni izvor upalnih medijatora. Mastociti u sluznici nosa po svojoj su strukturi slični mastocitima drugih tkiva, premda ovi imaju manje granula nego primjerice mastociti u koži, ali sustavi medijatora i reakcije na podražaje različiti su (80,81).

U dišnim se putovima razlikuju mastociti u nosnoj sluznici i u plućima. U samoj sluznici postoje dvije vrste, i to mukozni mastociti - mMC (triptaza pozitivni) i vezivni mastociti - vMC (triptaza i kimaza pozitivni).

Istraživanja opisuju da je njihova najgušća infiltracija u submukozi i oko krvnih žila, a u bolesnika s alergijskim rinitisom u nosnoj sluznici dokazana je i njihova migracija (82). Degranulacija mastocita najčešće se događa zbog vezivanja kompleksa antigen-IgE za receptor Fc, ali degranulaciju mogu prouzrokovati i brojni kemijski spojevi (npr. oktilamin, polimiksin B i dr.), anafilatoksin C3a i C5a, a i neki lijekovi.

Do aktivacije mastocita dolazi vezivanjem kompleksa antigen-IgE za receptor Fc, pri čemu je ključno premošćivanje antigena između dvaju protutijela. Tada dolazi do degranulacije mastocita i do oslobađanja medijatora upale iz granula kao što su histamin i triptaza, ali i do oslobađanja novosintetiziranih membranskih medijatora, leukotriena i prostaglandina te citokina (IL-4, IL-5, IL-6, IL-13) (83,84,85). Za aktiviranje stanica B, početak sinteze IgE-a, presudan je IL-4, dok IL-3 i IL-4 potiču stvaranje prematurnih mastocita iz progenitornih stanica u koštanoj srži s ciljem diferencijacije za pojedina tkiva.

Degranulacija mastocita ne znači i smrt stanice. Degranulirana se stanica obnavlja, ponovno sintetizira medijatore i nakon obnove opet je spremna za svoju funkciju. Djelovanjem medijatora koji se oslobađaju degranulacijom mastocita nastaju simptomi alergijske reakcije te se dalje modulira imunološki odgovor. Kao što je već navedeno, osim aktivacije mastocita pomoću kompleksa antigen-IgE, aktiviranje mastocita moguće je i na drugi način, a tada aktiviranje uključuje komplement C3a i C5a. Neka su istraživanja pokazala da je moguće stvaranje protutijela IgE bez spregnutog prepoznavanja antigena s limfocitima Th i glavnim kompleksima

histokompatibilnosti tipa II (MHC II), te potom aktivacije limfocita B. Limfociti B aktiviraju se djelovanjem mastocita i to kada se molekule CD 40 aktiviraju na površini mastocita pod utjecajem IL-4, IL-13 i interferonon gama (INF-gama). Osim navedene uloge mastocita u akutnoj fazi upalne reakcije (histamin, prostaglandini, leukotrieni), te u poticanju sinteze IgE-a, mastociti sekrecijom IL-4 potiču Th2 diferencijaciju stanica i djelovanje IL-4, IL-5 i TNF-alfa na kemotaksiju i pojavu adhezivnih molekula na stjenkama krvnih žila što sve vodi u kroničnu fazu upale (86). Značajno je napomenuti da tvar P ne dovodi do degranulacije mastocita pa se tako mastocitima ne pripisuje značajnija uloga u neurogeno posredovanoj upali gornjih dišnih putova.

Oslobađanje mastocitnih medijatora uzrokuje nosne simptome upale (svrbež, kihanje, nosnu opstrukciju i hipersekreciju) zahvaljujući djelovanju na receptore prisutne na krvožilnim i živčanim strukturama u sluznici. Učinci histamina na nosne simptome (svrbež, kihanje i opstrukcija) uvjetovani su njegovim vezivanjem primarno na receptor H1. Blokiranje receptora H2 ima mali i varijabilni učinak na smanjenje curenja i začepljenosti nosa.

Redukcija curenja nosa vjerojatno je više povezana sa smanjenjem krvožilne propusnosti nego sa žljezdanom sekrecijom. S obzirom na slab učinak i antagonista H1 i antagonista H2 na histaminom induciranu nosnu opstrukciju, postoje i hipoteze o umiješanosti trećeg histaminskog receptora - receptora H3 (87.88). Receptori H3 identificirani su na presinaptičkim perivaskularnim živčanim okrajinama gdje reguliraju simpatički tonus (89). Stimulacija receptora H3 smanjit će simpatički tonus i rezultirati neprirodnom kongestijom i nosnom opstrukcijom. Novija istraživanja naglašavaju ulogu leukotriena pri razvoju nosne opstrukcije zato jer 5-lipoksigenezni inhibitori sprečavaju i usporavaju alergenom induciranu nosnu opstrukciju (90). Antagonist receptora za LTD 4 sprečava akutne, alergenom inducirane nosne opstrukcije u sezonskom alergijskom rinitisu (91). Doprinos prostaglandina D2 i kinina u začepljenosti nosa nije još objašnjen specifičnim antagonizmom na receptoru, već istraživanjem učinaka nosnog podražaja korištenjem strukturnih agonista.

Učinak degranulacije mastocita pomaže i eozinofilnoj upali sluznice koja se razvija u alergijskom rinitisu. Mastociti koji se nalaze u sluznici nosa i



pranazalnih sinusa sadržavaju prije formirane citokine, poglavito IL-4, IL-5 i IL-6, te faktor tumorske nekroze (92). IL-4 potencira učinak TNF-alfa na ekspresiju VCAM1 na krvožilni endotel dok IL-5 i TNF-alfa djeluju sinergistički u aktiviranju i regrutaciji eozinofila (93).

Mastociti imaju i značajnu ulogu u održavanju trajne minimalne upale u alergijskom rinitisu (minimal persisting inflammation). Naime, IL-4 ostaje povezan sa stanicama zbog ograničene difuzije proteoglikanskog heparina koji se oslobađa iz mastocita te postoje dokazi da to uvjetuje kontinuiranu citokinsku sekreciju i sintezu IgE-a uz posredovanje mastocita (92,94).

### 1.5.2.Eozinofili

Eozinofile je prvi opisao Paul Erlich 1897. g., a nakon toga vrlo su brzo bili povezani s astmom, kožnim i parazitarim bolestima. Nastaju iz pozitivnih progenitornih stanica CD 34 iz koštane srži iz kojih mogu nastati eozinofili ili bazofili. Veliku ulogu u sazrijevanju eozinofila i otpuštanje eozinofila iz koštane srži ima epotaksin (95).

Eozinofili pripadaju porodici granulocita tako da imaju mogućnost kemotaktičnih odogovora, fagocitnu sposobnost i oksidacijski metabolizam. U većini infekcija eozinofili nemaju značajniju funkciju. Na površini stanice eozinofili imaju receptore za Fc-fragmente imunoglobulina G (CD32) i posjeduju jaki protuparazitski potencijal. Eozinofili nastaju u koštanoj srži i zatim migriraju u cirkulaciju. Karakterizira ih relativno kratko vrijeme života, poluživot im je 8 do 18 sati, ali životni vijek im uz inhibiciju apoptozemogu produljiti (za 10 dana i više) (96). Migracija u tkiva događa se u nekoliko koraka, a olakšavaju je kemoatraktanti koji su pokazani u tablici 1.

Podražaj	Jačina	Stimulans	Jačina
Lipidi		Citokini	
PAF	visoka	IL-3	niska
LTB4	niska	IL-2	visoka
	srednja	IL-4	?
		IL-13	?
LTD4	visoka	TGFbeta	?
ETE, HETE i diHETE	visoka	TNFalpha	niska
LXA4	niska	CC kemokini	
Peptidi		RANTES	visoka
FMLP	niska	Eotaksin	niska
C5a	visoka	Eotaksin-2	srednja
C3a	srednja	MIP-1 $\alpha$	niska
SP	visoka	MCP-2	srednja
Sekretogranin	srednja	MCP-3	visoka
CGRP	?	MCP-4	visoka
CXC kemokini		MCP-5	niska
IL-8	niska		
Lektini			
Ekalektin	visoka		

Tablica 1. Eozinofilni kemoatraktanti (96)

Legenda zu tablicu 2. CGRP - peptid vezan uz kalcitoninski gen

diHETE - *dihydroxyeicosatetraenoic acid*

ETE - *5-hydroperoxyeicosatetraenoic acid*

fMLP - *formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine*

SP - tvar P

MIP-1 $\alpha$  - *macrophage inflammatory protein 1 alfa*

MCP-2 - *monocyte chemoattractant protein 2*

MCP-3 - *monocyte chemoattractant protein 3*

MCP-4 - *monocyte chemoattractant protein 4*

MCP-5 - *monocyte chemoattractant protein 5*

CC - beta kemokin

### CX3C - delta kemokin

Pod utjecajem kemotaktičnih tvari eozinofili se vežu za stijenku krvne žile – za endotelne stanice i potom slijedi migracija stanice kroz endotel u tkivo. U tim procesima sudeluju selektin P, VCAM-1 i kemoatraktanti (97,98). Eozinofilne granule pune su citotoksičnih enzima. Te enzime luče na tri načina: sekrecijom, parcijalnom degranulacijom i citolizom (nekroza stanice).

Eozinofilne granule sadrže kristalične jezgre koje su građene od proteina bogatih argininom (glavni bazični protein –MBP) s histaminaznom aktivnošću koji su značajni u obrani od antigena. Eozinofilna peroksidaza (EPO) nalazi se također u eozinofilnim granulama i katalizira oksidaciju brojnih supstancija s vodikovim peroksidom i može olakšati ubijanje mikroorganizama. Uz MBP i EPO, granule eozinofila sadržavaju eozinofilni kationski protein (ECP), eozinofilom deriviran neurotoksin (EDN) i brojne enzime poput ribonukleaze i histaminaze, kao i IL-5 (92,99,100). Aktiviranjem eozinofila oslobađaju se granularni enzimi i stvaraju nove produkte arahidonske kiseline. Glavni produkt cijepanja lipoksigenaze arahidonske kiseline jest LTC<sub>4</sub> koji dovodi do nosne opstrukcije i rinoreje (100).

Eozinofili se rijetko nalaze u nosnoj sluznici u mirnom stanju. Za razliku od mirnog stanja eozinofile često nalazimo u nosnoj sluznici u bolesnika s alergijskim rinitisom, nealergijskim rinitisom s eozinofilijom i nosnom poliozom osobito kada je udružena s cističnom fibrozom i Kartagenerovim sindromom. Eozinofili su također dominantne upalne stanice i u drugim kroničnim bolestima respiratornog sustava kao što su astma i alergijski rinitis. Njihov udio među svim stanicama u tkivu polipa iznosi 20 %, tako da je svaka peta stanica tog tkiva eozinofil (101,102,103). Eozinofili nakon nekog vremena propadaju, a ta se smrt stanice zove apoptoza. Ovaj proces nije povezan s vanjskim utjecajima kao što je nekroza, već je stanica tako programirana i samo se pokrene aktivacija endogenih biokemijskih procesa. Izgleda da inhibicija apoptoze i produljenje vijeka eozinofila imaju ključnu ulogu u podržavanju upale(104.105). Upalni procesi u sluznici, život i ponašanje eozinofila pod utjecajem su stotine medijatora od kojih su najznačajniji citokini i adhezivne molekule.

Uloga eozinofila u upali u nosnoj sluznici usko je povezano s oslobađanjem medijatora poput ECP-a i MBP-a. Smatra se da ovi medijatori potiču kasnu fazu alergijske reakcije gdje su eozinofili u velikom broju i njihov je utjecaj u toj fazi upale ključan. Svi ti proteini oslobađaju se u ekstracelularnu tekućinu pod utjecajem različitih sekretornih i proupalnih citokina, kao što su IL-5, GM-CSF ili PAF *in vitro*(106). Njihova povišena razina *in vivo* može se dokazati u tjelesnim tekućinama i u tkivu u slučaju raznih bolesti, uz paralelni porast aktivnosti mijeloperoksidaze (MPO) – markera neutrofilnih granulocita (npr. bakterijski meningitis, reumatoidni artritis, psorijaza, respiratorni stresni sindrom odraslih) i u slučaju nekih stanja (npr. trudnoće) (107,108,109). Za razliku od prije navedenih bolesti gdje dolazi do paralelnog porasta MPO-a i iz eozinofila oslobođenih medijatora, u alergijskim bolestima povećana aktivnost ECP-a obično je izoliran nalaz bez jednakomjernosti prema MPO-u. Mjerenjem u različitim tjelesnim tekućinama (npr. u serumu, nosnom, sinusnom i bronhoalveolarnom lavatu, sputumu) ECP-a i EPO pokazao se specifičnim indikatorom eozinofilne aktivnosti. Zapažena je značajna korelacija razine ECP-a u bronhoalveolarnom lavatu prema razini u serumu (110.111). Rezultati mjerenja razine markera u serumu koriste se za praćenje aktivnosti osnovne alergijske bolesti u plućima, kao i terapijski antiastmatski učinak kortikosteroida.

### 1.5.3. Neutrofili

Neutrofili čine prosječno 65 % svih leukocita i pripadaju porodici polimorfonukleara. Njihova je osnovna zadaća borba protiv mikroorganizama, poglavito bakterija. Ovu funkciju neutrofili obavljaju posredstvom fagocitoze. Neutrofili sadrže granule u kojima se nalaze enzimi. Kada neutrofil fagocitira antigen u vakuolu, granule se spoje s vakuolom i njezin se sadržaj uništava (86). Pored uništenja mikroorganizma, sekretorni produkti neutrofila moduliraju upalnu reakciju. Analizirajući aktivnost i broj neutrofila u upalnom području, može se indirektno zaključiti o jačini bakterijske infekcije. Osnovne su dvije vrste

granula azurofilne granule i specifične granule. U azurofilnim granulama nalaze se mijeloperoksidaza (MPO), lizozimi, elastaze, katepsin G, kolagenaze, azurocidin, lipaze te ribonukleaze i deoksiribonukleaze, dok su u specifičnim granulama lizozim, kolagenaze, aktivator plazminogena, laktoferin, histaminaza i membranski receptori za komplement, fibrinogen, fibronektin i laminin (86).

Od sazrijevanja neutrofila u koštanoj srži do njihova nakupljanja u području upale sve je pod kontrolom citokina i kemokina. Pokazano je da značajnu ulogu u kemotaksiji imaju fragmenti fibrina i komplementa (C5a), fragmenti kolagena, citokini, i to osobito IL-8, faktor aktivacije trombocita, te leukotrieni, prostaglandini i kao jedan od najjačih kemotaktičnih čimbenika N-formulirani oligopeptidi koji su specifičan produkt metabolizma bakterija (86). Prilikom djelovanja kemotaktičnih tvari na neutrofile dolazi do ekspresije selektin L molekule na neutrofilima, te do ekspresije adhezijskih molekula na endotelnim stanicama (selektin P, selektin E i ICAM 1). Djelovanje ovih molekula čini prvi dio faze marginalizacije neutrofila u krvnim žilama. U drugoj fazi marginalizacije dolazi do ekspresije integrinskih molekula na površini neutrofila, kao što su Mac 1 i leukocitni funkcionalni antigen tipa 1 (LFA 1) koji se vezuje za intercelularnu adhezijsku molekulu tipa 1 (ICAM 1) te time dolazi do ekstravazacije neutrofila i njihova nakupljanja na mjestu upale (86). Odmah pri dolasku u područje upale, neutrofilni počinju fagocitirati bakterije, stanični otpad i ostala strana tijela. Sam mehanizam prepoznavanja stranog tijela nije do kraja razjašnjen. Smatra se da nekapsulirane bakterije i neke druge tvari neutrofilni prepoznaju po hidrofobnoj površini te pomoću receptora na staničnoj površini. Oponizacija je jedan od moćnih mehanizama kojima neutrofilni prepoznaju strana tijela. Pri opsonizaciji strano tijelo biva obloženo protutijelima ili fragmentima komplementa te ih tada neutrofilni prepoznaju pomoću svojih specifičnih receptora –receptora Fc, nakon čega dolazi do fagocitoze. Nakon što strano tijelo uđe u stanicu, stvori se fagosom u kojem se strano tijelo spoji s granulama iz neutrofila te time dolazi do degranulacije. U slučaju kada neutrofilni ne mogu fagocitirati strano tijelo radi njegove veličine, može doći do ekstracelularne degranulacije neutrofila, a time i do smrti samog makrofaga (86).

#### 1.5.4. Bazofili

Funkcija bazofila nije potpuno jasna. Pretpostavlja se da medijatori iz bazofila povećavaju lokalno nakupljanje antitijela i komplementa povećavajući propusnost krvnih žila. Tako bazofile nalazimo pri alergijskim reakcijama i određenim stanjima kasnije kožne preosjetljivosti. Povećanje propusnosti krvnih žila posredovano bazofilima važno je za nastajanje upalnih oštećenja pri određenim sindromima vaskulitisa. Bazofili imaju površinski receptor velikog afiniteta za IgE-om (FcRI) i unakrižnim spajanjem IgE-a vezanim za bazofile s antigenom izaziva otpuštanje medijatora rane (anafilaktičke) reakcije preosjetljivosti (histamina, eozinofilnog kemotaktičnog faktora anafilaksije i neutralne proteaze). Osim toga, bazofili nose i površinske receptore za aktiviranje komponente komplementa (C3a, C5a) kojima se izravno mogu otpuštati medijatori iz tih stanica. Bazofili sadrže manje većih granula i razlikuju se od mastocita po tome što sadrže manje histamina. Na imunološko aktiviranje bazofil oslobađa samo 20 – 30 % histamina u usporedbi s onom količinom histamina koju oslobađa odgovarajući broj mastocita. Bazofili posjeduju različite proporcije proteoglikana sadržavajući pretežno kondroitin-sulfat A i E, više nego heparin, sadrže samo 1 – 3 % sadržaja mastocitne triptaze, ne generiraju PGD<sub>2</sub> i za razliku od mastocita, akumuliraju malu količinu glavnog bazičnog proteina MBP-a i eozinofilom deriviranog neurotoksina (EDN) (112,113,114). Bazofili, međutim, stvaraju određenu količinu LTC-a<sub>4</sub> koja se može usporediti s onom koju stvaraju mastociti slijedeći imunološko aktiviranje (60 ng/10<sup>6</sup> stanica) (115).

Bazofili koji poput mastocita sadrže visoko privlačne receptore IgE također su derivirani iz CD34+ stanica biološki srodnih predaka u koštanoj srži (progenitorne stanice). Porast bazofila u cirkulaciji opisan je kod rinitisa i izviješteno je da određeni broj citokina kod primarnih bazofila *in vitro*, ima povišen nivo oslobađanja medijatora u reakciji na naknadnu stimulaciju. Ti stimulansi uključuju IL1, IL3, IL5 i GM-CSF (116,117,118). Naknadne su studije također identificirale da su IL1 $\beta$ , IL3, GM-CSF, TNF- $\alpha$  sposobni inducirati oslobađanje medijatora direktno, premda to nije bilo u skladu s

prijašnjim otkrićima(119,120). Još prije toga identificirano je da određen broj drugih citokina može biti od veće važnosti pri aktiviranju bazofila kod rinitisa jer su oni potentniji i nisu kod svojeg djelovanja ograničeni na samo jedan dio donatora. To su *histamine-releasing factors* (HRFs), termin koji se koristi da bi se opisali produkti oslobođeni iz aktiviranih mononuklearnih stanica koji su sposobni inducirati oslobađanje bazofilnog histamina. Faktori HRFs identificirani su u nosnom ispirku (121). Danas se zna za nekoliko članova porodice kemokina koji doprinose proporcijama ove aktivnosti, a tu su uključeni *connective-tissue-activating-peptide III* (CTAP III) i njegov derivat *neutrophil-activating-peptide-2* (NAP-2), MCP-1, *Regulated upon Activation, Normal T cell Expressed and Secreted* (RANTES), MIP-1 $\alpha$  i MIP-1 $\beta$  (122,123). Za RANTES je pokazano da je izražen unutar epitela zračnih puteva i da se oslobađa nakon nazalnog alergenskog podražaja (124), premda su nivoi ovog kemokina ispod nivoa detekcije u tekućini za ispiranje kod većine pacijenata s prirodnom pojavom rinitisa (125).

#### 1.5.5.Limfociti

##### Limfociti T

Limfociti T predstavljaju bitnu nestrukturalnu stanicu nosne sluznice. Porast u određenim populacijama T-stanica opisan je u nazalnim biopstatima uzoraka kod sezonskih i trajnih rinitisa, iako ti nalazi nisu kompatibilni (126,127,128). Tamo gdje postoji porast stanica T, postoji i porast kod populacije stanica CD-4, koji ima potencijal stvaranja proupalnih citokina. Procjena citokinskog profila može tako biti točnija metoda procjenjivanja relevantnog aktiviranja stanica T kod rinitisa jer limfociti T, TH2 podgrupe mogu stvarati IL-3, IL-4, IL-5, GM-CSF i TNF- $\alpha$ , slijedeći nakon nazalnog alergenskog podražaja opisani porast IL4, IL5 i GM-CSF mRNA-pozitivnih stanica u vezi s eozinofilijom sluznice. Klonovi stanica T derivirani iz nazalne sluznice podražene alergenom *in vivo* imaju citokinski profil usporediv s populacijom poput one TH2 (129). Ti su nalazi kompatibilni s

aktiviranjem limfocita T, što je u vezi s alergenom i sekrecijom citokina, te po onome što iz toga proizlazi, odnosno doprinosom te populacije stanica regrutiranju leukocita tkiva. Kod trajnog alergijskog rinitisa postoji porast ekspresije  $\delta \alpha T$  cell-receptor unutar epitela, a te stanice imaju povišen kapacitet stvaranja citokina TH2.

## Limfociti B

U koštanoj srži limfociti B dozrijevaju zajedno sa stromalnim stanicama i međusobno komunicirajući pomoću citokina ili direktnog dodira. Većina stanica propada u koštanoj srži, dok one stanice koje prođu selekciju autorektivnosti sazrijevaju i pokazuju IgM i IgD (130). Tada stanice dalje putuju u sekundarna limfna tkiva (slezenu, tonzile, limfne čvorove) gdje se nakon kontakta s limfocitima T aktiviraju i odlaze u germinativne centre. Selekcija u germinativnim centrima provodi se pod kontrolom folikularnih dendritičkih stanica. Ovaj proces dovodi do razvoja visoko potentnih plazma stanica koje luče protutijela i memorijskih stanica B. Limfocite B možemo naći u lamini propriji nosne sluznice, a u perenijalnom alergijskom rinitisu čine 20 % limfatičke populacije (130). Istraživanje je pokazalo da se u sezonskom alergijskom rinitisu limfociti B mogu promijeniti i početi proizvoditi IgE (131).

### 1.5.6. Makrofagi

U sluznici dišnog puta nalaze se mnogobrojni makrofagi. Makrofagi pripadaju mononuklearnim fagocitima. Razlika je između gornjih i donjih dišnih putova. U donjim dišnim putovima nalazi se puno više makrofaga tako da alveolarni makrofagi čine 90 % stanica u bronhoalveolarnom lavatu (132). Tijekom sezonskog i perinealnog alergijskog rinitisa dolazi do porasta broja makrofaga u sluznici nosa (133). Makrofagi imaju sposobnost proizvoditi faktore rasta i citokine kao što su IL-1, TNF alfa, TGF beta PDGF i interferone što pridonosi modulaciji imunološke reakcije. Poznato je i da aktivirani limfociti T kontroliraju funkciju makrofaga. Makrofagi služe i kao



antigen prezentirajuće stanice, no značajno slabije nego dendritičke stanice (56).

### Dendritičke stanice

Langerhansove stanice čine većinu dendritičkih stanica u nosu i značajka im je ekspresija CD1 i Birbeck granule (134). Funkcija dendritičkih stanica prezentiranje je antigena limfocitima T. Dendritičke stanice formiraju mrežu antigenskih prezentirajućih stanica u respiratornoj mukozii. Najveća je gustoća dendritičkih stanica u mukozii gornjih dišnih putova i pada prema donjim dišnim putovima. Za interakciju između dendritičkih stanica i limfocita T bitno je spregnuto prepoznavanje s molekulama MHC i kostimulativni signal CD28 - B7 ili CD40 ligand – CD 40. Studija pokazuje da (kada dendritička stanica iz dišnog puta prezentira antigen limfocitu T, dolazi do imunološkog odgovora Th2 i to lučenjem odgovarajućih citokina (135). Kortikosteroidi značajno smanjuju broj i aktivnost dendritičkih stanica u mukozii, dok ne djeluju na broj makrofaga (136).

### 1.5.7.Epitelne stanice

Nosni je epitel granica između vanjskog svijeta i našeg tijela. Djelujući stvaranjem mukusa i mukocilijarnim transportom odstranjuje strane čestice i time čuva organizam. Novija istraživanja ukazuju da njihova uloga nije ograničena na već navedeno, već da proizvode i otpuštaju razne endopeptide, citokine i kemokine (137). Epitelne stanice u alergiji i kada su aktivne povećavaju ekspresiju ICAM-1 i VCAM -1 i proizvode IL-6, IL-8 GM-CSF i TNF alfa i time pridonose alergijskoj upali (56). Značajna je i sekrecija RANTES-a koji posjeduje jako kemotaktičko djelovanje na eozinofile. U normalnom stanju sluznice alergenima je teško proći kroz epitelne stanice i doći u dodir s dendritičkim stanicama, mastocitima, makrofagima i eozinofilima. Kod alergičara se povećava propusnost epitela i alergeni puno lakše prolaze kroz epitele. Epitelne stanice aktiviraju i potiču na djelovanje upalni medijatori koji se stvaraju i otpuštaju iz mastocita (histamin, IL-4, IL-

13 ). Zanimljivo je da dio epitelnih stanica može na površini prikazati HLA-DR i CD86 i time može imati ulogu u prezentaciji antigena (138).

#### 1.5.8.Fibroblasti

Značenje fibroblasta u alergijskoj je upali proizvodnja citokina i kemokina kao što su GM-CSF, IL-8, RANTES i eotaksin (139). Djelovanjem navedenih citokina mastociti i eozinofili rastu i preživljavaju i na taj se način razvija i podržava upala. Djelujući na mastocite dolazi do prilagodbe proteoglikanskog sadržaja mastocita koji se razvijaju u tipu mastocita MCTC. Zasad je napravljeno više studija o utjecaju fibroblasta u astmi nego o kroničnom rinosinuitisu.

#### 1.5.9.Biljezi stanične aktivacije

Određivanje aktivacije stanica u upalnoj reakciji danas se radi određivanjem biljega tih stanica. Stupanj jačine aktivacije eozinofila određuje se mjerenjem eozinofilnog kationskog proteina, najčešće putem radioimunoeseja (140). To znači vezivanje eozinofilnog kationskog proteina sa specifičnim protutijelima, te nakon toga određivanje količine samog proteina nekom od metoda.

Stupanj aktivacije eozinofila u astmi vrlo je važan u praćenju bolesti te se, uz ranije praćenje eozinofilije i citologije bronhalnog aspirata, određuje eozinofilni kationski protein kao najznačajni biljeg njihove aktivacije čija vrijednost dobro korelira sa stupnjem bronhalne hiperreaktivnosti (141,142). Prilikom određivanja aktivacije mastocita korišteni su razni biljezi, ali se pokazalo da određivanje triptaze što se tiče gornjih dišnih puteva pruža zadovoljavajuću povezanost sa stupnjem aktivacije mastocita (143). Metoda određivanja triptaze ista je kao kod eozinofilnog kationskog proteina, što znači da se koristi radioimunoesej. Mastociti u svojim granulama sadržavaju nekoliko proteina koji su izolirani, a poznata su im i obilježja, a to su kimaza i triptaza. Triptaza je pronađena jedino u mastocitima pa je dokaz triptaze u bilo kojem biološkom materijalu znak aktivacije mastocitnih stanica (144). U odraslih osoba nije pronađena korelacija između razine triptaze u

bronhoalveolarnom lavatu i astme, što upućuje na zaključak da su mastociti aktivni u astmatskoj upali, ali nisu stanice koje zapravo uzrokuju astmu (145). Ovi rezultati nisu podudarni s istraživanjima u djece, u kojima je pronađena visoka korelacija između razine triptaze i plućne infekcije (147). Normalna krv i krv neprovociranih alergičara ne sadržava mjerljive vrijednosti triptaze, a nakon provokacije alergenom vrijednost triptaze izrazito raste. Najimpresivnija izmjerena vrijednost nađena je u osoba s anafilaksijom i mastocitozom (147).

Aktivacija neutrofila, čija je glavna zadaća obrana od bakterijskih infekcija, određuje se prema produktu koji se oslobađa prilikom aktivacije neutrofila, a to je mijeloperoksidaza (86). U više se studija mijeloperoksidaza pokazala vjerodostojnim biljegom aktivacije neutrofila prilikom procjene značaja bakterijske infekcije u bolesnika s bronhalnom astmom, ali i rinosinuitisom (148). Metoda koja se koristi pri određivanju količine mijeloperoksidaze također je radioimunoesej.

#### 1.6. Dijagnostika kroničnog rinosinuitisa.

Osnovna su četiri glavna lokalna simptoma kroničnog rinosinuitisa nosna opstrukcija, nazalni sekret ili postnazalni slijev, bol ili pritisak u licu praćen glavoboljom i smanjenje ili potpuni gubitak njuha. Pored lokalnih simptoma mogući su i udaljeni simptomi kao što su faringealni laringealni i trahealni simptomi, disfonija kašlja i sistemski znakovi infekcije (povišena tjelesna temperatura, malaksalost i dr). Za dijagnozu kroničnog rinosinuitisa mora biti prisutna 2 ili više simptoma od kojih jedan mora biti glavni lokalni simptom, a tegobe moraju trajati dulje od tri mjeseca. Subjektivna procjena težine bolesti treba biti određivana prema jačini i trajanju simptoma. U zadnje vrijeme sve se više pažnje posvećuje određivanju utjecaja bolesti na kvalitetu života (149,150). Za određivanje jačine simptoma možemo koristiti razne metode. Najjednostavnija je određivanje simptoma teškima, srednje

jakima, blagima ili bez tegoba, dok zahtjevnija traži za svaki simptom određivati jačinu od 0 do 4 i onda ih zajedno obraditi. Postoji i mogućnost određivanja intenziteta simptoma vizualno analognom skalom (VAS) od 0 do 10 cm.

Objektivne procjene nosne opstrukcije pokušane su s više metoda. Koristeći metode koje određuju otpor protoku zraka u nosu, rinomanometriju i vršni nosni protok, pokazana je u više studija dobra korelacija sa subjektivnom ocjenom težine simptoma (151,152), dok neke druge studije pokazuju slabu (153) ili uopće ne pokazuju korelaciju između navedenih pretraga i subjektivne procjene simptoma (154). Novija pretraga kao što je akutička rinometrija koja mjeri volumen u nosnim šupljinama pokazala se slabijom od rinomanometrije u procjeni nosne opstrukcije ako se korelira sa subjektivnom ocjenom (155).

Pokušaji objektivne procjene nosne sekrecije nisu se pokazali uspješnima tako da danas ne postoje objektivne metode koje bi mjerile količinu nosnog sekreta.

Poremećaj osjeta mirisa može nastati radi otoka sluznice, čime dolazi do "provodnih" smetnji njuha, ili kao posljedica kirurgije nosa. Za objektivnu procjenu gubitka njuha koristi se oflaktometrija čiji rezultati dobro koreliraju sa subjektivnim procjenama gubitka njuha.

Jednostrana bol u licu ili zubobolja ukazuju na moguću upalu u čeljusnom sinusu praćena tekućinom u sinusu. RTG sinusa objektivizirat će nalaz u sinusima kod izljeva sinusa i jako uznapredovale bolesti. Nažalost pokazana je slaba korelacija između radioloških pretraga (patološkog nalaza u sinusima) i lokalizacije bola u licu (156).

## Pretrage

Prednja rinoskopija i endoskopija nosa predstavljaju osnovu pregleda nosa. S navedenim pregledima s dekongestijom i bez nje možemo procijeniti sluznicu, sekret, anatomske strukture u nosu i prisutnost polipa u nosu.

Bris nosa jeftina je i jednostavna pretraga i u slučaju pozitivnog nalaza ukazuje na mogućeg uzročnika upale dok negativni nalaz ne isključuje bakterijsku etiologiju bolesti. Isto se odnosi i na citološki obrisak nosa. Nalaz eozinofila u brisu ukazuje na etiologiju bolesti, dok negativni nalaz nije siguran znak odsutnosti alergije kao etiološkog čimbenika bolesti. Biopsija sluznice koristi se radi isključivanja tumora ili vaskulitisa.

Radiološke su pretrage koje se koriste u dijagnostici kroničnog rinosinuitisa RTG sinusa, kompjuterizirana tomografija sinusa, magnetska rezonanca sinusa i ultrazvuk sinusa. Klasični RTG sinusa po Watersu omogućuje nam procjenu stanja u čeljusnim i čeonim sinusima dok je za druge sinuse nedostatna pretraga. Danas se CT sinusa pokazao kao standard za procjenu stanja u svim paranazalnim sinusima i preporučuje se prije funkcionalne endoskopske sinusne kirurgije. Danas se najčešće za objektiviziranje nalaza CT-a koristi Lund-Mackay sistem koji svaki sinus i ostiometalni kompleks ocjenjuje od 0 do 2 (0 - bez bolesti, 1 - djelomično zasjenjen, 2 - skroz zasjenjen) tako da ukupni zbroj za svaku stranu može biti od 0 do 12. Magnetska se rezonanca koristi kod sumnje na tumor ili neke komplikacije kroničnog rinosinuitisa. Ultrazvuk sinusa samo je orijentacijska pretraga koji se koristi većinom kod djece i može pokazati izljev u čeljusnim i čeonim sinusima te jako zadebljanje sluznice prednje stjenke navedenih sinusa.

Procjena funkcije mukocilijarnog transporta najlakša je pomoću saharinskog testa koji nam daje procjenu funkcije, ali nam ništa ne govori o razlozima poremećaja. Etiologiju poremećaja možemo istraživati faznim kontrastnim mikroskopom ili elektronskim mikroskopom. Mjerenjem nitričnog oksida može se također procijeniti cilijarna disfunkcija, ali i prisutnost infekcije. Nitrični oksid nastaje u gornjim i donjim dišnim putovima, a najveći dio nastaje u paranazalnim sinusima.

Određivanje težine bolesti i praćenje objektivnim testovima ponekad je teško tako da su razvijeni razni uputnici koji procjenjuju kvalitetu života bolesnika s kroničnim rinosinuitisom. Pomoću tih upitnika procjenjujemo jačinu bolesti, ali i možemo pratiti učinkovitost terapije. Postoje dvije vrste ispitivanja kvalitete života.

Jedna su ispitivanja koje procjenjuju opći zdravstveni status i uspoređuju ga s drugim grupama bolesnika i sa zdravom populacijom. Primjer je takvog upitnika *Medical Outcomes Study Short Form (SF 36)* (157). U istraživanju se pokazalo da bolesnici s kroničnim rinosinuitisom imaju više bolova u tijelu i lošije socijalno funkcioniranje od bolesnika s opstruktivnom bolesti pluća, zastojnom srčanom greškom ili bolom u leđima (158).

Druga su vrsta upitnici posebno napravljeni za kronični rinosinitis u kojem su pitanja specifična za simptome bolesti kao što su nosna opstrukcija, sekret iz nosa, bol u licu i glavobolja i poremećaj mirisa. Jedan je od najčešće korištenih testova *Sinonasal Outcome test 20 (SNOT 20)* koji je prilično lagan za ispunjavanje i korišten je u više istraživanja (159). U upotrebi su još *Chronic Sinusitis Survey (CSS)*, *Rhinosinusitis Disability Indeks (RSDI)* i *Rhinitis Symptom Utility Indeks (RSUI)*. Primjer uporabe navedenih testova randomizirana je studija pacijenata s kroničnim rinosinuitisom (160). U studiji se uspoređuju rezultati liječenja dvije grupe pacijenata s kroničnim rinosinuitisom. Jedni su liječeni endoskopskom sinusnom kirurgijom, a drugi uzimanjem makrolidnih antibiotika tri mjeseca. Pacijenti su praćeni nakon 3, 6, 9 i 12 mjeseci ispunjavanjem vizualno-analogne skale, testom SNOT 20, SF 36, i mjerenjem nitričnog oksida, akustičnom rinometrijom, saharinskim testom i nosnom endoskopijom. Studija je pokazala poboljšanje u obje skupine bolesnika bez statistički značajne razlike između grupa, osim u većem volumenu nosnih šupljina kod operiranih bolesnika što je mjereno akustičkom rinometrijom.

## 1.7. Terapija kroničnog rinosinuitisa

Osnovna je podjela terapije kroničnog rinosinuitisa na terapiju lijekovima (konzervativnu) i kiruršku terapiju. Današnji je stav da treba započeti s konzervativnom terapijom te u slučaju neuspjeha konzervativne terapije treba, ovisno o indikaciji, primijeniti kiruršku terapiju. U slučaju komplikacija kroničnog rinosinuitisa često je odmah indicirano kirurško liječenje.

### 1.7.1. Konzervativno liječenje

#### Lokalni kortikosteroidi

Uvođenje lokalnih kortikosteroida značajno je unaprijedilo liječenje bolesti gornjih (rinosinitis i polipi) i donjih dišnih putova (astma). Njihovo djelovanje počiva na sposobnosti smanjenja nakupljanja i aktivacije eozinofila u sluznici dišnih putova. Značajno je uvođenje lokalnih kortikosteroida jer oni imaju manji sistemski učinak, uz isti učinak na lokalnoj razini tako da se mogu dulje i sigurnije uzimati. Zanimljiv je i protuupalni učinak kortikosteroida koji se javlja i kod nealergijske (infektivne) upale, a također je i tkivna infiltracija eozinofilima nađene i u kroničnom rinosinuitisu koji nema alergijsku podlogu (161).

Nova multicentrična dvostruko slijepa placebo kontrolirana studija kod koje su pacijenti s kroničnim rinosinuitisom bez nosne polipoze dobivali topički budezonid tijekom 20 tjedana pokazala je značajno poboljšanje zbroja simptoma i vršnog nosnog protoka (162).

U više studija ispitalo se intrasinusno davanje lokalnih kortikosteroida. U dvostruko slijepoj placebo kontroliranoj studiji bolesnici s kroničnim rinosinuitisom koji su alergični na kućnu prašinu i koji su nedavno bili neuspješno operirani, dobivali su u čeljusne sinuse budezonid jednom na

dan tijekom tri tjedna kroz cjevčicu. Smanjenje nosnih simptoma za 50 % primijećeno je u 11 od 13 bolesnika u skupini koja je dobivala budezonid, dok je u skupini koja je dobivala placebo poboljšanje primijećeno samo u 4 od 13 bolesnika što je statistički značajna razlika među grupama (163). Daljnje promatranje ovih dviju skupina bolesnika pokazalo je da je učinak u grupi koja je dobivala budezonid bio statistički značajno duži nego u grupi koja je primala placebo gdje se učinak izgubio kada su se odstranile cjevčice. U grupi koja je primala budezonid nakon tri tjedna terapije primijećeno je značajno smanjenje infiltracije eozinofila i koncentracije IL-4 i IL-5.

U sljedećoj je dvostruko slijepoj placebo kontroliranoj studiji kod bolesnika s kroničnim rinosinuitisom u čeljusne sinuse 11 dana davan *tixocortol pivalate* zajedno s antibiotikom (neomycinom) (164). Nosna opstrukcija statistički se značajno smanjila u skupini koja je dobivala terapiju intrasinusno.

Lokalni kortikosteroidni sprejevi primjenjuju se u terapiji nosne polipoze i nakon kirurškog zahvata, kako bi se spriječilo njezino ponovno javljanje. Profilaktička upotreba intranazalnih lokalnih kortikosteroida u akutnom sinuitisu radi spriječavanja razvoja kroničnog sinuitisa nije dokazana u studijama (165).

Sistemske se steroidi koriste većinom u terapiji nosne polipoze kada lokalna terapija nije učinkovita, a uporaba u kroničnom rinosinuitisu bez nosne polipoze nije pokazala učinkovitost tako da se ne koriste u terapiji.

## Antibiotici

Procjena učinkovitosti primjene antibiotika u kroničnom rinosinuitisu teža je nego u akutnom rinosinuitisu jer su pod pojmom kroničnog rinosinuitisa često različite kliničke slike bolesti različitih etioloških čimbenika. Nažalost još ne postoje placebo kontrolirane studije koje bi objektivizirale učinak antibiotika u liječenju kroničnog rinosinuitisa. Za sada postoje samo studije koje uspoređuju djelovanje različitih antibiotika, a značajnije su dalje u tekstu i navedene.



U retrospektivnoj studiji na 200 bolesnika koji su 4 tjedna liječeni oralnim antibiotikom i lokalnim kortikosteroidom pokazano je poboljšanje kod svih pacijenata (166).

Prospektivna dvostruko slijepa studija na 251 pacijentu uspoređivala je djelovanje ciprofloksacina u jednoj skupini prema djelovanju amoksicilina s klavulonskom kiselinom u drugoj skupini bolesnika (167). Od 251 bolesnika u studiji, samo je 141 imao bakteriološki pozitivan bris iz srednjeg nosnog hodnika. Na kraju je terapije u prvoj skupini bolesnika koja je primala ciprofloksacin sekrecija iz nosa nestala u 60 % dok je u skupini koja je primala amoksicilin i klavulonsku kiselinu nestala u 56%. U prvoj skupini kliničko izlječenje i eradikacija bakterije postignuta je u 59 %, odnosno u 89 % bolesnika, a drugoj skupini kod 51 % odnosno 91 % bolesnika. Statistički uspoređujući ove dvije grupe ne nalaze se statistički značajne razlike među njima. Jedina razlika između ove dvije skupine uočena je 40 dana od prestanka liječenja kada je skupina koja je liječena ciprofloksacinom imala statistički značajno bolju stopu izlječenja.

Slično multicentrično otvoreno slučajno istraživanje provedeno je uspoređujući učinkovitost amoksicilina s klavulonskom kiselinom u jednoj skupini i cefuroksim-aksetilom u drugoj skupini (168). 206 je odraslih ispitanika dobivalo terapiju 14 dana. Nakon statističke obrade podataka nije se pronašla razlika između ove dvije grupe, osim veće učestalosti povratka bolesti u grupi bolesnika koji su dobivali cefuroksim aksetilat.

#### Dugotrajna upotreba antibiotika

Uspjeh dugotrajne upotrebe antibiotika u liječenju bronholitisa kod kojega nije jasna etiologija kronične progresivne upale potakla je istraživanja moguće koristi takve terapije u kroničnom rinosinuitisu. Primjena niskih doza makrolida u bolesnika s kroničnim rinosinuitisom kod kojih kirurgija i upotreba lokalnih kortikosteroida nije dovela do poboljšanja pokazala je značajno poboljšanje simptoma u 60 do 80 % bolesnika (169,170).

Pokazalo se da makrolidi primijenjeni u malim dozama smanjuju sekreciju globlet stanica, ubrzavaju apoptozu neutrofila i poboljšavaju mukocilijarni transport što smanjuje i kronične upale (171). *In vitro* studije pokazale su da makrolidi smanjuju stvaranje IL-6, IL-8 i ekspresiju adhezijskih molekula te

time smanjuju kroničnu upalu (172). *In vitro* i klinička opažanja pokazala su da makrolidi smanjuju virulenciju i oštećenje tkiva uzrokovanom kolonizacijom bakterija na površini sluznice, a bez eradikacije bakterija (172). Sva ova istraživanja ukazuju na učinkovitost makrolida korištenih dugotrajno u manjim dozama u liječenju kroničnog rinosinuitisa. Točan mehanizam djelovanja nije još dokraja jasan, no vjerojatno smanjuje lokalni imunološki odgovor tkiva i smanjuje virulenciju koloniziranih bakterija.

Upotreba antibiotika u akutnoj egzacerbaciji kroničnog rinosinuitisa. Većinom se koriste oralni antibiotici u terapiji akutne egzacerbacije kroničnog rinosinuitisa unatoč činjenici što još nema dvostruko slijepe placebo kontrolirane studije. Ponekad se koriste lokalni antibiotici u terapiji akutne egzacerbacije kroničnog rinosinuitisa. Postoji studija iz 2002. godine s 41 bolesnikom koji su prošli sinusnu kirurgiju i terapiju oralnim antibiotikom bez poboljšanja. Nakon toga dobivali su lokalni antibiotik putem aerosola. Nakon 3 do 6 tjedana terapije 82,9 % bolesnika imalo je odličan ili dobar odgovor na terapiju bez značajnih neželjenih djelovanja terapije (173).

#### Dekongestivi i mukolitici

Upotreba dekonjestiva u kroničnom rinosinuitisu nije indicirana jer nije dokazano dulje djelovanje od ispiranja nosa fiziološkom otopinom (174). Djelovanje mukolitika može biti korisnim u nekim slučajevima kroničnog rinosinuitisa, ali samo kao nadopuna standardnoj terapiji.

#### Antimikotici

Terapija antimikoticima kod kroničnog rinosinuitisa počiva na fungალnoj teoriji koja zbog neadekvatnog imunološkog odgovora na gljivice u paranazalnim sinusima dovodi do kroničnog rinosinuitisa s infiltracijom eozinofila i stvaranju nosnih polipa (175). Velika učestalost gljivica u bolesnika s kroničnim rinosinuitisom ukazala je na moguću etiologiju, no studije su pokazale i sličnu učestalost u zdravoj populaciji tako da je ovaj

etiološki čimbenik upitan (176). U dvostruko slijepoj placebo kontroliranoj studiji u 60 bolesnika s kroničnim rinosinuitisom lokalni tretman amfotericinom B nije se pokazao boljim od fiziološke otopine. Rezultati su praćeni subjektivnim zbrojevima i kompjuteriziranom tomografijom (177).

#### Ispiranje nosa i paranazalnih sinusa

Fiziološka otopina i hipertonična otopina najčešće se koriste za ispiranje nosa. U više studija kao što je već navedeno korištene su u kontrolnim grupama. Nađena je njihova učinkovitost i koja se sada u istraživanjima pokušava utvrditi. Hipertoničnu otopina pred izotočnom preporučuju neki autori iz SAD-a zbog naznaka da bi hipertonična otopina mogla značajno poboljšati mukocilijarni transport mjeren saharinskim testom (178).

#### Furosemid i inhibitori protonske pumpe

Primjenu inhalacija furosemida potakla su istraživanja koja su pokazala smanjenje hiperreaktivnosti u bolesnika s astmom. Učinak primjene furosemida u liječenju kroničnog rinosinuitisa nije potvrđen i danas se koristi kao postoperativna terapija nakon operacije nosne polipoze radi sprečavanja ponavljanja bolesti. Primjena inhibitora protonske pumpe pokazala se učinkovitom samo kod pacijenata koji pored kroničnog rinosinuitisa imaju i laringofaringealni refluks. Povezanost kroničnog rinosinuitisa i laringofaringealnog refluksa istraživana je i prikazna u metaanalizi i predmet je daljnjih istraživanja (179).

#### Antileukotrieni

Uloga leukotriena u patofiziologiji astme dobro je istražena te je terapija antileukotrienom našla svoje mjesto. Povišene vrijednosti leukotriena nađene su i u sezonskom alergijskom rinitisu. Uloga antileukotriena u liječenju kroničnog rinosinuitisa nije se pokazala boljom od placebo skupine praćene zbrojem simptoma a pokazali su se statistički lošiji od lokalnih kortikosteroidnih sprejeva (180). U kroničnom rinosinuitisu studija je

pokazala na 36 bolesnika koji su uz standardnu terapiju za kronični rinosinuitis dobivali i antileukotriene značajno poboljšanje simptoma (180). Ovi rezultati ukazuju samo na potrebu kontroliranih studija koje će odrediti pravo mjesto antileukotriena u liječenju kroničnog rinosinuitisa.

### 1.7.2. Kirurški zahvati

Kirurški zahvati na paranazalnim sinusima primjenjuje se kada konzervativna terapija nije bila učinkovita ili kada se javi komplikacije rinosinuitisa. Danas se koristi funkcionalni endoskopski kirurški zahvat sinusa koju je promovirao Messerklinger a dalje proširili Kennedy i Stammberger. Ovaj zahvat počiva na teoriji koja kaže „odstrani patologiju i otvori“ prirodna ušća sinusa s minimalnom destrukcijom radi očuvanja mukocilijarnog transporta koji će pri otvorenim ušćima uredno raditi ono što mu je funkcija. Uspoređujući otvaranje čeljusnih sinusa pomoću antrotomije kroz donji nosni hodnik s otvaranjem kroz prirodno ušće u srednjem nosnom hodniku nije nađena statistički značajna razlika (181). Istraživanja su pokazala da je funkcionalna sinusna kirurgija uspješnija u terapiji nosne polipoze nego u liječenju kroničnog rinosinuitisa. Usporedba kirurgije sinusa i terapije antibiotikom prikazana je u studiji iz 2004. godine u kojoj se na 90 pacijenata pokazala ista učinkovitost kirurškog liječenja i liječenja antibiotikom bolesnika s kroničnim rinosinuitisom (160).

### Komplikacije rinosinuitisa

U vrijeme prije otkrića antibiotika komplikacije rinosinuitisa bile su česte i vrlo opasne. Otkrićem antibiotika značajno se smanjila učestalost komplikacija rinosinuitisa, a moderne su dijagnostičke pretrage (CT, MR) olakšale dijagnostiku komplikacija, a samim time i liječenje. Većina komplikacija javlja se kao posljedica akutnog rinosinuitisa. Komplikacije se dijele na orbitalne, endokranijale i koštane komplikacije. Orbitalne se komplikacije dijele po progresiji bolesti od blažih prema težim, periorbitalni celulitis, orbitalni celulitis, subperiostalni apsces, orbitalni apsces ili flegmona i tromboza kavernoznog sinusa. Endokranijale su komplikacije

meningitis (najčešće), epiduralni i subduralni apsces, apsces mozga i cerebritis. Najčešća je koštana komplikacija osteomijelitis čeljusne i čeonke kosti. Liječenje komplikacija rinosinuitisa kombinirano je i najčešće uključuje kirurško i antibiotsko liječenje.

#### 1.8. Mehanizam djelovanja kortikosteroida

Kortikosteroidi se već dulje koriste u liječenju upalnih bolesti. Kod upalnih, a osobito u alergijskim bolestima dišnih putova u obliku aerosola te sistemskom primjenom (*per os* ili parenteralno). Danas se najčešće koriste kortikosteroidi u obliku aerosola pri čijoj primjeni dolazi samo do minimalne apsorpcije kortikosteroida u ostala tkiva. Sukladno činjenici da se ne resorbiraju i ne djeluju sistemski kortikosteroidi u obliku aerosola postali su jedan od osnovnih lijekova za liječenje bronhalne astme i alergijskog rinitisa i sinuitisa. Pokazano je da liječenje nazalnim steroidima bez antibakterijske terapije u alergijskoj astmi i rinitisu dovodi do značajne supresije bronhalne hiperreaktivnosti (182). Istraživanja su pokazala dobar utjecaj intranazalnih kortikosteroida i u liječenju kroničnog rinosinuitisa tako da oni čine jedan od oslonaca u terapiji EPOS.

Sam je mehanizam djelovanja kortikosteroida da apsorpcije prolaze kroz staničnu membranu te se vezuju za receptore u citoplazmi. Nakon toga kompleks receptor-kortikosteroid ulazi u staničnu jezgru te tamo utječe na stvaranje mRNA i to potičući stvaranje nekih mRNA suprimirajući stvaranje drugih. Na taj se način ostvaruje većina učinaka kortikosteroida (183). Uzimanjem kortikosteroida intranazalno smanjuju se sekrecije žlijezdi i permeabilnosti kapilara. Utječu i na metabolizam arahidonske kiseline, čime smanjuju stvaranje medijatora, smanjuju otpuštanje medijatora i stvaranje citokina iz limfocita Th2, te smanjuju dolazak eozinofila i bazofila u nosni epitel (184). Kortikosteroidi djeluju na alergijsku upalu blokirajući stvaranje citokina i aktivaciju limfocita T, te smanjenjem broja eozinofila i mastocita u sluznici što najvećim dijelom utječe na kasnu fazu alergijske upale. Sa supresijom mRNA smanjuje se stvaranje proinflammatoryh citokina, i to IL-1, IL-6, TNF-alfa i, što je posebno značajno, stvaranje citokina izravno povezanih s alergijskom upalom, a to su IL-3, IL-4 i GM-CSF (185).

Proinflamatorni citokini imaju velik utjecaj na ekspresiju adhezijskih molekula, kao što su selektin E, VCAM i ICAM, te sukladno tome primjena kortikosteroida dovodi do manje ekspresije navedenih molekula i time do supresije dalje alergijske reakcije (186).

## 2.Cilj

Svrha istraživanja je utvrditi povezanost infiltracije upalnim stanicama u sinusnoj sluznici, s razinama njihove aktivacije, kao i povezanost upale s lokalnim razinama IgE, prisutnošću bakterijskog rasta, senzibilizacije na inhalacijske alergene i kliničkim implikacijama na simptome bolesti, uspoređujući bolesnike s kroničnim rinosinuitisom, koji predstavljaju model lokalizirane upale u gornjim dišnim putovima, te s kroničnim rinosinuitisom i astmom, kao modelom upale jedinstvenih dišnih putova. Hipoteza je da je razina aktivacije i koncentracija IgE u sinusnoj mukozu u astmatičara značajno viša od one u bolesnika kod kojih je upala samo u gornjim dišnim putovima. Da bi se postigla svrha istraživanja i dokazala ili opovrgnula hipoteza, postavljeni su ciljevi istraživanja. Cilj je i istražiti razine biljega aktivacije eozinofila, mastocita i neutrofila u sinusnom ispirku, kao i lokalne aktivnosti IgE u sistemno dokazanoj alergijskoj bolesti dišnog sustava u odnosu na njenu odsutnost (u svjetlu tzv. lokalizirane alergijske bolesti bez sustavnih manifestacija – prick test, serumski IgE), uspoređujući celularnu infiltraciju eozinofilima, limfocitima i plazma stanicama te IgE aktivnost imunohistokemijski u tkivu sa staničnim biljezima aktivacije istih stanica, te IgE u sinusnom ispirku u dvije naveden skupine bolesnika. Isto tako je cilj utvrditi odnose razina tih parametara sa subjektivnom ocjenom bolesnika u procjeni intenziteta zbroja simptoma, tj. u različitim stupnjevima zajedničke bolesti gornjih i donjih dišnih putova (united airways disease), kroničnog rinosinuitisa bez pridružene bolesti, odnosno KRS s bronhijalnom astmom, a u svrhu određivanja parametara koji najbolje koreliraju sa tijekom bolesti.

Ciljevi rada su:

1. Usporediti vrijednosti ECP-a, MPO-a, triptaze i IgE protutijela u ispirku sinusa u ispitanika s kroničnim rinosinuitisom i kroničnim rinosinuitisom s astmom
2. Usporediti infiltraciju sluznice čeljusnih sinusa eozinofilima, plazma stanicama, limfocitima i IgE pozitivnim stanicama u ispitanika s kroničnim rinosinuitisom i kroničnim rinosinuitisom s astmom
3. Usporediti vrijednosti IgE protutijela u ispirku i tkivu sinusa

4. Istražiti prisutnost bakterija u sinusu i njezin utjecaj na aktivaciju upale
5. Istražiti značaj senzibilizacije na inhalacijske alergene za aktivaciju navedenih upalnih stanica
6. Usporediti povezanost vrijednosti biljega stanične aktivacije s koncentracijom IgE protutijela iz ispirka, i koncentracijulgE protutijela s brojem upalnih stanica.
7. Usporediti vrijednosti zbroja subjektivnih simptoma prije i poslije liječenja i njihov odnos prema biljezima upale.



### **3. Ispitanici i metode**

#### **3.1 Ispitanici**

U istraživanju je bilo uključeno 59 ispitanika s kroničnim maksilarnim sinusitisom dobi od 18 do 65 godina, uz prehodni informirani pristanik i odobrenje Etičkog povjerenstva Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Ispitanici su uključeni na temelju anamneze rinosinusnih simptoma koji traju dulje od 3 mjeseca, imaju na konvencionalnom radiogramu po Watersu obostrano više od 1 cm zadebljanje sluznice u maksilarnim sinusima i nalazom endoskopije nosa. Treba naglasiti da je kod svih ispitanika potvrđen kronični rinosinitis i patohistološki. Uključeni su samo ispitanici bez adekvatnog odgovora na konzervativni tretman peroralnim makrolidima i nazalnim steroidom topički, prema algoritmu liječenja KRS smjernice Ministarstva zdravstva Republike Hrvatske. U istraživanje su uključeni ispitanici samo s blagom i srednje jakom astmom, a dijagnoza je postavljena u skladu s uputama Globalne Inicijative za Astmu (GINA)(187) Iz istraživanja su isključeni ispitanici koji su bili na sistemskoj kortikosteroidnoj terapiji mjesec dana prije ulaska u istraživanje, bolesnici s akutnom respiratornom upalom ili bilo kojom sistemskom bolesti koja utječe na protokol istraživanja. 8 bolesnika s astmom nije uključeno u istraživanje radi nemogućnosti praćenja (nalaza simptoma nakon 6 mjeseci). Svi ispitanici su prestali uzimati intranazalne topičke kortikosteroide 1 tjedan prije sinusoskopije ali su nastavili ispirati nos fiziološkom otopinom. Osjetljivost na uobičajene inhalacijske alergene određivanja je standardnim kožnim prick testom

Ispitanici su podjeljeni u dvije skupine, jedna sa KRS-om bez astme – 36 ispitanika ( 19 ženskih i 17 muških, 18 do 65 godina, srednja dob 38 godina), te druga sa KRS-om i bronhijalnom astmom – 23 ispitanika (11 ženskih i 12 muških, 18 do 65 godina, srednja dob 36 godina).

### 3.2 Metode

Nakon što je ispitanicima objašnjeno istraživanje i postupci, potpisali su informirani pristanak i ispunili upitnik subjektivnih simptoma. Prvo se učinila sinusokopija maksilarnih sinusa endonazalno kroz donji nosni hodnik, uzet je bakteriološki obrisak i ispirak sinusa, te biopsija sluznice. Bakteriološki obrisak poslat je u mikrobiološki laboratorij i obrađen standardnom procedurom. Ispirak se radio sa 5 ccm fiziološke otopine te se poslao u endokrinološki laboratorij. Uzorci su se čuvali na sobnoj temperaturi dva sata te se potom centrifugirali na 1000 okretaja 10 minuta i spremili u hladnjak na  $-20^{\circ}\text{C}$ . Triptaze i eozinofilni kationski protein (ECP) određivali su se flouorenzimoimunoesejom (UniCAP, Pharmacia&Upjohn, Uppsala, Sweden) dok se IgE i mijeloperoksidaza (MPO) određuju radioimunoesejom (Pharmacia, Sweden). Bioptat sluznice se poslao u Zavod za patologiju gdje je određen broj i vrsta stanica te se imunohistokemijski odredio IgE. Operativni materijal priređen je za patohistološku analizu standardnom, rutinskom patohistološkom metodom koja se sastoji od fiksacije u puferiranom 10% formalinu, uklapanja u parafinske blokove te rezanja preparata debljine 3 - 5 mikrometara i bojanja metodom hemalaun - eozin (HE) i po Giemsi. Brojali su se eozinofili, plazma stanice i limfociti. Brojanje se vrši u osam vidnih polja pod povećanjem 400x te se uzimaju dva najveća zbroja i računa se srednja vrijednost. Imunohistokemijska analiza prisutnosti IgE antitijela radila se monoklonalnim mišjim antitijelima Clone E1 (Dako Epos, Danska). U određivanju prisutnosti IgE antitijela koristila se metoda MSIP (engl. Microwave Streptavidin Immuno-Peroxidase) na aparatu DAKO TechMate™ Horizon automated immunostainer prema preporuci proizvođača. Prije imunohistokemijskog bojenja metodom MSIP preparati su deparafinizirani i stavljani u držač u parovima na predmetnim staklima koja omogućuju kapilarnu reakciju, tako da su u svakom paru prerezi okrenuti jedan prema drugom. Nakon toga su se uzorci inkubirali u ChemMate™ inkubatoru u 200 ml ChemMate™ pufera za mikrovalnu pećnicu u razrjeđenju 1:10. Inkubacija preparata obavljena je u mikrovalnoj pećnici pri 800W u trajanju od tri puta po pet minuta uz nadomještanje deionizirane vode. Vizualizacija reakcijskih produkata te stvorenih

kompleksa proteina u uzorku i korištenih protutijela za imunohistokemijsko bojanje učinjena je s diaminobenzidinom (DAB) koji daje smeđe obojenje točno na mjestu reakcije stvorenih kompleksa u uzorku. Brojale su se sve stanice na koje se veže IgE (plazma stanice, mastociti, eozinofili) te se preko toga procjenjivala IgE prisutnost u sluznici. Brojanje se vrši isto u osam vidnih polja pod povećanjem 400x te se uzimaju dva najveća zbroja i računa se srednja vrijednost. U ispitanika je provedena endosinusna terapija prema protokolu, a sukladno smjernicama Ministarstva zdravstva Republike Hrvatske za liječenje kroničnog rinosinuitisa. Ispitanici su ponovili upitnik simptoma 6 mjeseci nakon zahvata.

Statistička obrada podataka.

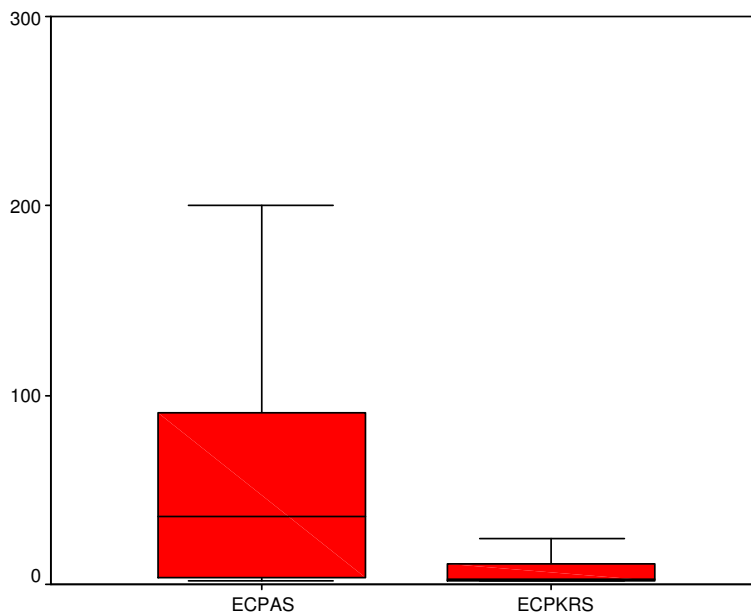
Distribucija podataka računala se Kolmogorov-Smirnovljevim testom. Statistička analiza rađena je Kruskal-Wallis i Mann-Whitney U two-tailed testom za neuparenu usporedbu. Mann-Whitney U test je korišten za usporedbu među grupama a korelacije su računane Spearman rank korelacijskim testom. Svi zaključci rađeni su na osnovu toga da je  $p < 0,05$  statistički znatno.

#### 4.Rezultati

Iako se distribucija podataka izračunata Kolmogorov-Smirnov testom pokazala normalnom, distribucijske krivulje sugeriraju nenormalnu distribuciju nekih podataka ( ECP i MPO astmatičara pokazuju bimodalnu krivulju većina drugih podataka pokazuju razvučenu krivulju) tako je da je statističar sugerirao koristiti ne parametrijske testove za obradu podataka.

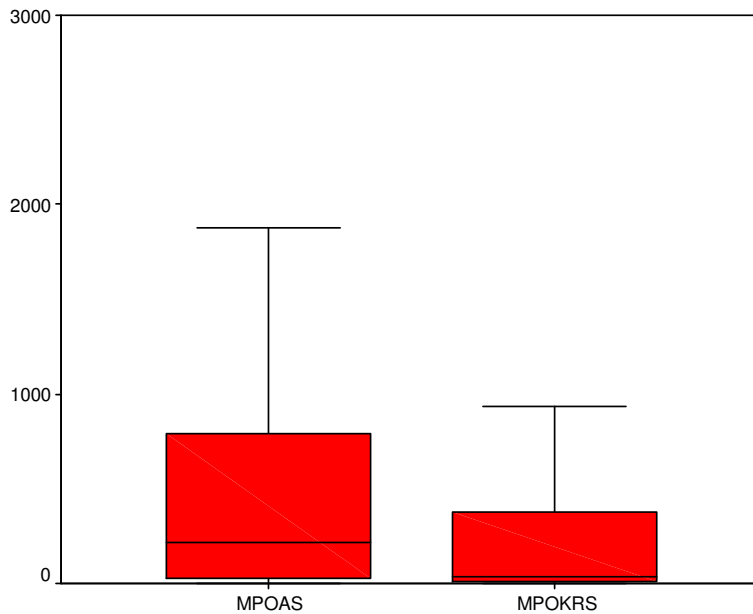
Kožni prick test pokazao je senzibilizaciju na uobičajene inhalacijske alergene u grupi astmatičara u 16 ispitanika od 23 dok je u grupi s kroničnim rinosinuitisom u 19 ispitanika od 36.

Srednja vrijednost ECP u lavatu kod astmatičara je 63,87  $\mu\text{g/L}$  (SD 72,74) dok je u skupini s kroničnim rinosinuitisom 19,48  $\mu\text{g/L}$  (SD46,89). Razlika između ove dvije skupine je statistički značajna  $p < 0,001$ ,



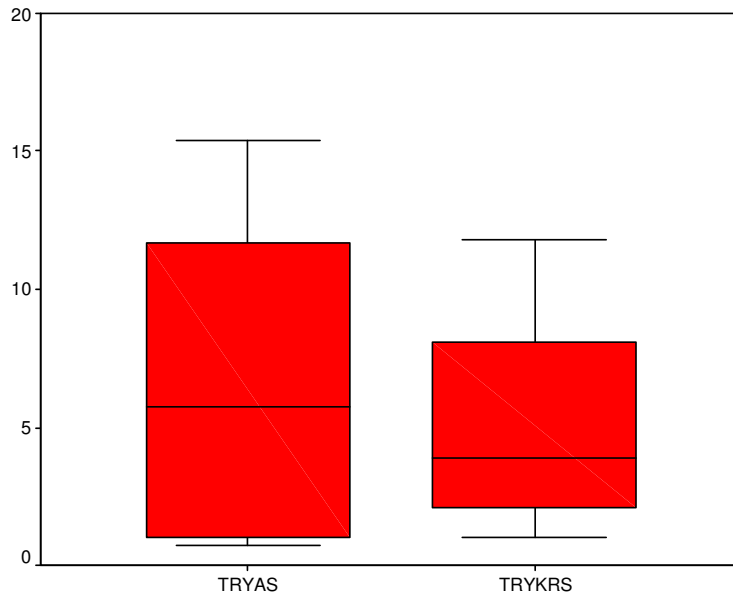
Graf 1. Vrijednosti ECP-a u lavatu u astmatičara i ispitanika s KRS-om, prikaz box plot distribucije 25-75%, horizontalna crta pokazuje medijan.

Srednja vrijednost MPO u lavatu kod astmatičara je 456,68  $\mu\text{g/L}$  (SD 488,67) dok je kod kroničnog rinosinuitisa 342,68  $\mu\text{g/L}$  (SD 676,80). Razlika između ove dvije skupine je statistički značajna,  $p=0,027$



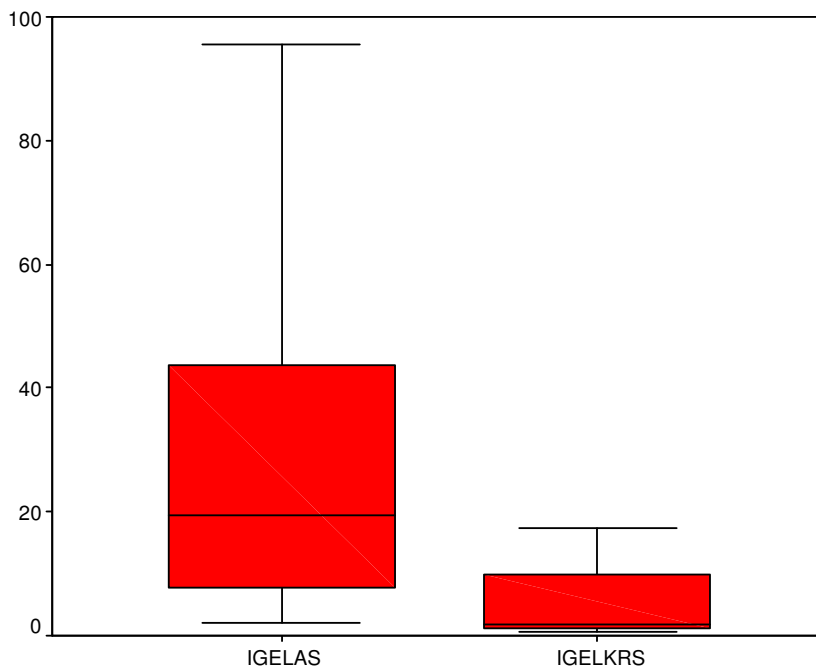
Graf 2. Vrijednosti MPO-a u lavatu u astmatičara i ispitanika s KRS-om. prikaz box plot distribucije 25-75%, horizontalna crta pokazuje medijan.

Srednja vrijednost triptaze u lavatu kod astmatičara je 15,63  $\mu\text{g/L}$  (SD 30,90) dok je u ispitanika s kroničnim rinosinuitisom 9,98  $\mu\text{g/L}$  (SD19,25). Razlika između skupina nije statistički značajna  $p=0,714$ .



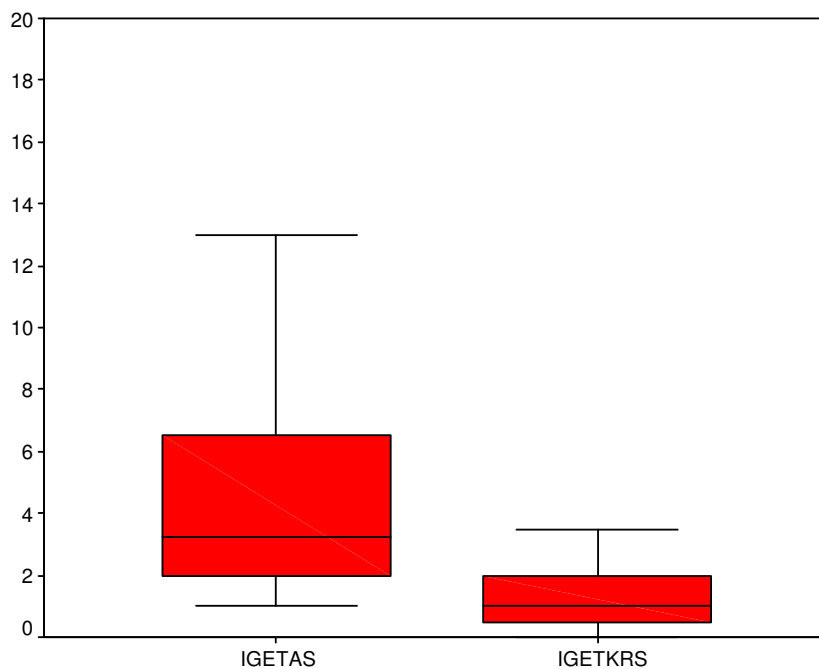
Graf 3. Vrijednosti triptaze u lavatu u astmatičara i ispitanika s KRS-om. prikaz box plot distribucije 25-75%, horizontalna crta pokazuje medijan.

Koncentracija IgE protutijela u lavatu kod astmatičara je bila 44,25 kU/L (SD 76,80) dok je u ispitanika s kroničnim rinosinuitisom bila 7,34 kU/L (SD12,75) Razlika između skupina je statistički značajna  $p < 0,01$



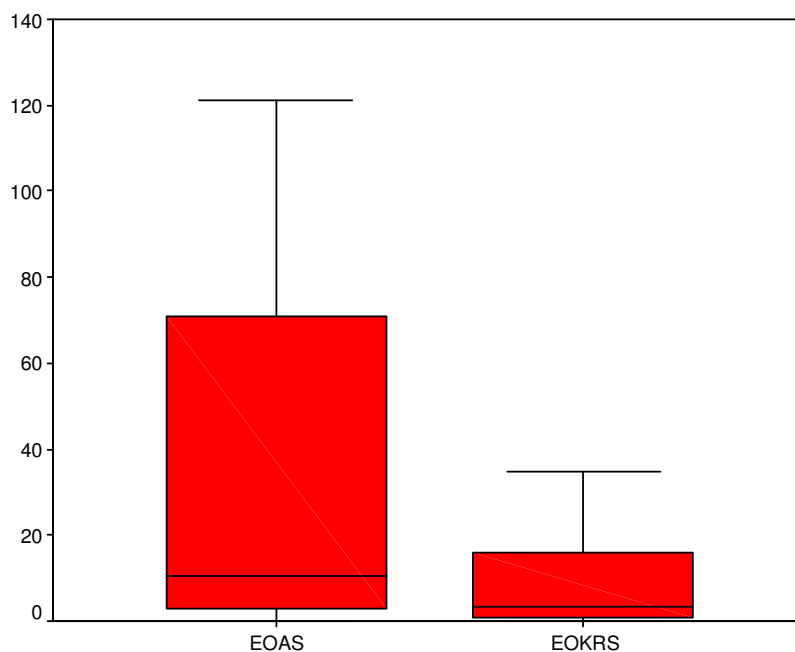
Graf 4. Koncentracija IgE protutijela u lavatu sinusa kod astmatičara i ispitanika s KRS-om. prikaz box plot distribucije 25-75%, horizontalna crta pokazuje medijan.

Srednja vrijednost broja IgE pozitivnih stanica u bioptatu sluznice sinusa u astmatičara je bila 4,75 (SD4,12) dok je u ispitanika s kroničnim rinosinuitisom srednji broj stanica bio 1,5 (SD 1,85). Razlika između skupina je statistički značajna  $p < 0,01$



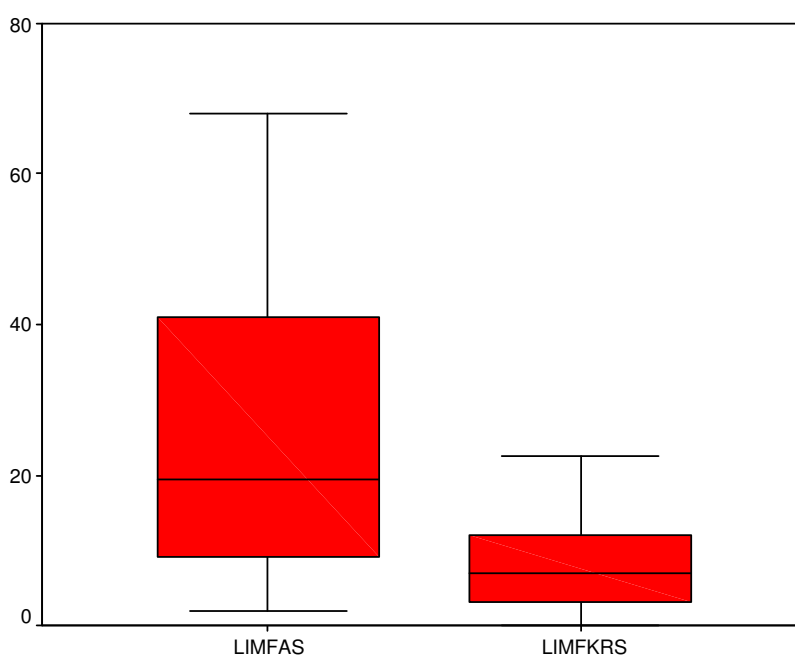
Graf 5. Broj IgE pozitivnih stanica u biotatu sluznice kod astmatičara i ispitanika s KRS-om, prikaz box plot distribucije 25-75%, horizontalna crta pokazuje medijan..

Srednja vrijednost broja eozinofila u bioptatu sluznice kod ispitanika s astmom bila je 33,61 (SD 41,89) dok je u ispitanika s kroničnim rinosinuitisom bila 11,92 (SD 20.47). Razlika između skupina je statistički značajna  $p = 0,004$



Graf 6. Pokazuje broj eozinofila u sluznici ispitanika s astmom i KRS-om. prikaz box plot distribucije 25-75%, horizontalna crta pokazuje medijan.

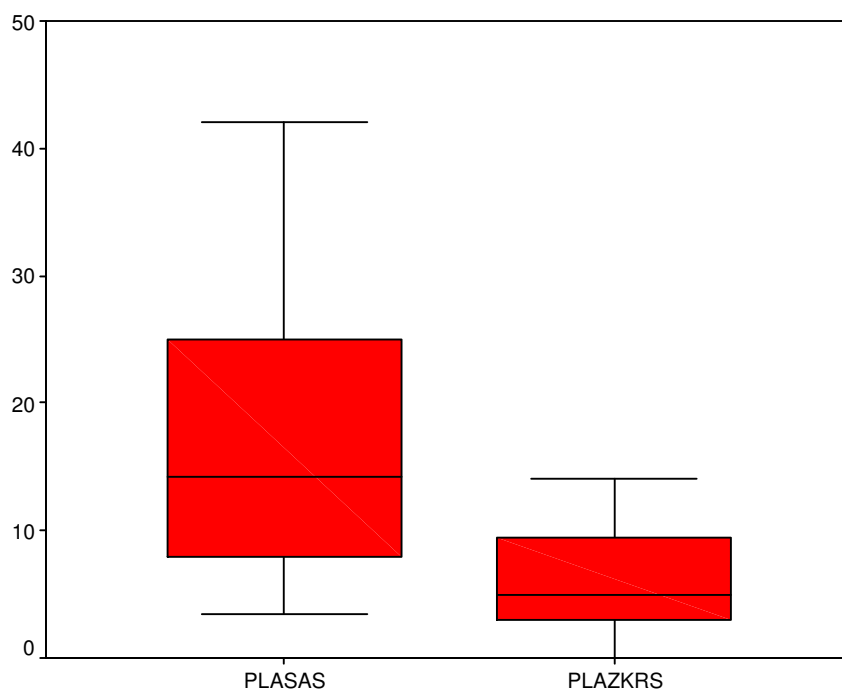
Srednja vrijednost broja limfocita u biopatu sluznice kod ispitanika s astmom bila je 25,26 (SD 19,86) dok je u ispitanika s kroničnim rinosinitisom bio 9,06 (SD 8,78). Razlika između skupina je statistički značajna  $p < 0,01$ .





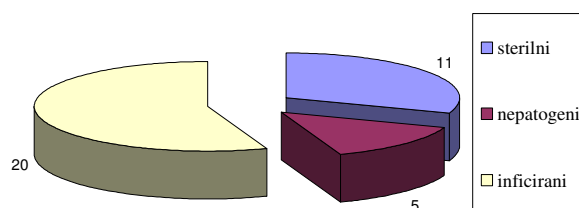
Graf 7. Pokazuje broj limfocita u sluznici ispitanika s astmom i KRS-om. prikaz box plot distribucije 25-75%, horizontalna crta pokazuje medijan.

Srednja vrijednost broja plazma stanica u bioptatu sluznice kod ispitanika s astmom bila je 20,97 (SD 18,92) dok je u ispitanika s kroničnim rinosinitisom bila 11,10 (SD 27,60). Razlika između skupina je statistički značajna  $p < 0,01$



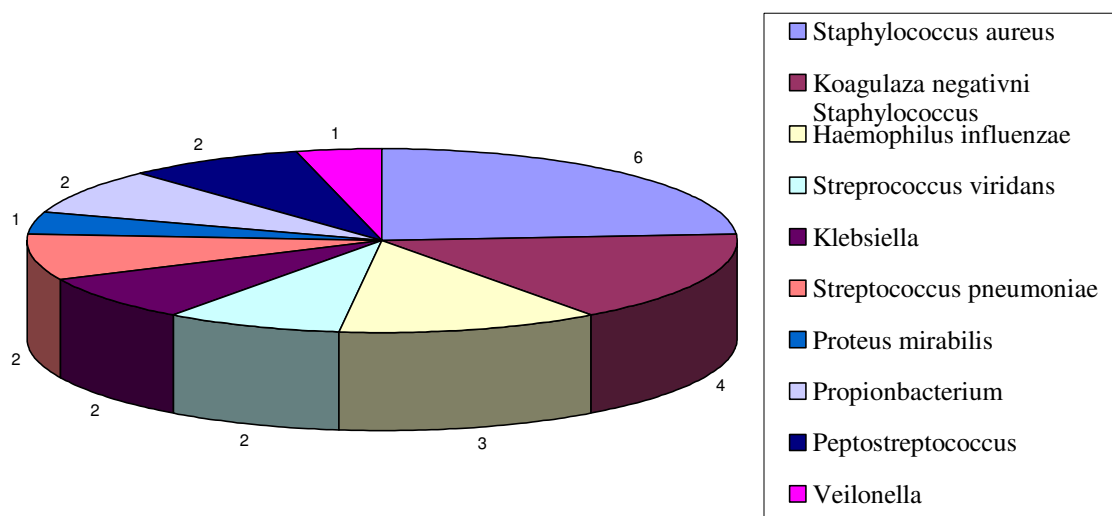
Graf 8. Pokazuje broj plazma stanica u sluznici ispitanika s astmom i KRS-om. prikaz box plot distribucije 25-75%, horizontalna crta pokazuje medijan.

U 25 ispitanika samo s kroničnim rinosinitisom izolirane su bakterije iz brisa uzetog iz sinusa. U 5 ispitanika nađenu su nepatogene bakterije dok su u 20 ispitanika nađene patogene bakterije što je prikazano u grafu 9. U grupi s astmom najčešći gram negativni štapić je bio *Pseudomonas aeruginosa*



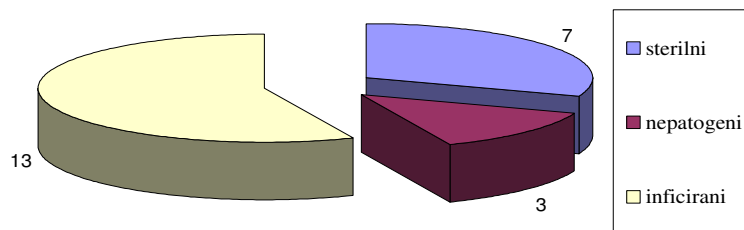
Graf 9 prikazuje ispitanike s kroničnim rinosinitisom sukladno nalazu mikrobioloških briseva

Od toga 20 aerobnih i 5 anaerobne bakterije. Mješana flora nađena je u 8 ispitanika. *Staphylococcus aureus* je bio najčešća bakterija u obe grupe ispitanika. Najčešći gram negativni štapići su u ispitanika s kroničnim rinosinitisom bili *Haemophilus influenzae* a drugi po učestalosti *Klebsiella*, koja nije izolirana u grupi s astmom.

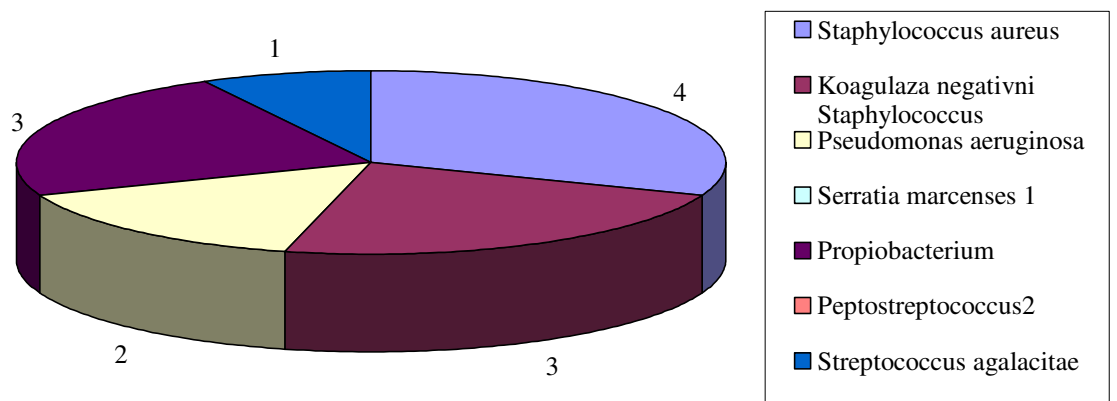


Graf 10 prikazuje broj i vrstu bakterija izoliranih iz sinusa u ispitanika s kroničnim rinosinitisom

U 16 ispitanika s astmom izolirana je bakterija iz brisa uzetom iz sinusa. U 3 ispitanika nađenu su nepatogene dok su u 13 ispitanika izolirane patogene bakterije ( graf 11 ). U 3 ispitanika izolirana je mješana flora.



Graf 11 prikazuje ispitanike s astmom sukladno nalazu mikrobioloških briseva



Graf 12 prikazuje broj i vrstu bakterija izoliranih iz sinusa u ispitanika s astmom

Rezistencija na gentamicin nađena je u grupi ispitanika s astmom kod anaerobnih bakterija i *Streptococcus agalactiae* dok kod ispitanika s kroničnim rinosinuitisom je rezistencija nađena kod *Streptococcus vitidans*, *S pneumoniae* i anaerobnih bakterija. Rezistencija na amoxicilin nađena je u 8 bakterija, na klindamicin u 2 anaeroba dok je multirezistenta nađena samo jedna bakterija ( *Klebsiella* ). Hipermutirane baktreije nisu nađene u ovom istraživanju.

Tablica 1 pokazuje korelacije računane Spearman  $\rho$  korelacijskim testom između biljega stanične aktivacije i koncentracije IgE protutijela iz ispirka, i koncentracije broja stanica s IgE protutijelima. Značajnost korelacije računana je s  $p < 0,05$  i označena je zvjezdicom. Značajna je korelacija između broja upalnih stanica ( eozinofila, limfocita i plazma stanica ) za obje grupe ispitanika

Tablica 1

parametri	astma Spearman $\rho$	p	KRS Spearman $\rho$	p
ECP-MPO	0,607*	0,0001	0,644*	0,0001
ECP-triptaza	0,418*	0,014	-0,22	0,88
ECP-IgE lavat	0,699*	0,0001	0,49*	0,0001
ECP-eozinofili	0,358*	0,038	0,506*	0,0001
ECP-IgE+ stanice	0,502*	0,02	0,276*	0,05
MPO-triptaza	0,173	0,329	-0,027	0,854
MPO-IgE lavat	0,293	0,093	0,581*	0,0001
MPO-IgE+stanice	0,293	0,093	0,358*	0,011
triptaza-IgE lavat	0,451*	0,007	-0,037	0,802
triptaza – IgE+stanice	0,537*	0,001	0,151	0,664
IgE – IgE+stanice	0,771*	0,0001	0,664*	0,0001
IgE - eozinofili	0,557*	0,001	0,447*	0,0001
IgE- limfociti	0,448*	0,008	0,644*	0,0001
IgE – plasma stanice	0,447*	0,008	0,604*	0,001

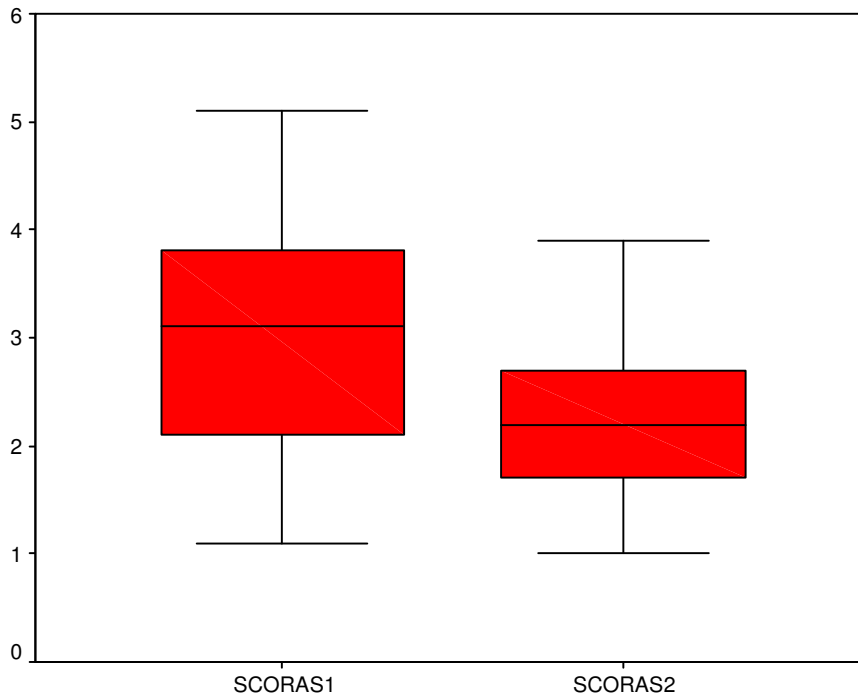
Tablica 2 pokazuje biljege aktivacije upalnih stanica i koncentracije IgE protutijela u lavatu sinusa u podgrupama inficiranih i sterilnih te podgrupama alergičnih (SPT+) i nealergičnih (SPT-) ispitanika. Zvezdica označava ( \* )- p<0,05 uspoređujući podgrupe ( inficirani prema sterilni i alergični prema nealergični).

Tablica 2.

podgrupa	ECP (mcg/L) median. (raspon)	MPO (mcg/L) median. (raspon)	triptaza (mcg/L) median. (raspon)	IgE (kU/L) median. (raspon)
Astma infekt	38,4 (2-273)	460,1 (2,7-1879)*	5,48 (1-62,9)	13,85 (2,1-420,7)
Astma steril	32,7 (3,5-254,1)	134,3 (6,8-812,4)	8,55 (1-166)	35,95 (7,8-95,4)
Asthma SPT+	21,5 (2-254,1)	129,2 (6,8-1200)	4,03 (1-166)	14,5 (2,1-420,7)
Asthma SPT-	42,2 (3,46-273)	392,3 (2,7-1879)	7,39 (1-62,9)	24,05 (6,8-180)
KRS infekt	2,8 (2-231)	36,4 (1,1-3800)	3,28 (1-68,9)	2,1 (0,9-66,9)
KRS steril	3,7 (2-207,2)	41,7 (4,4-931)	3,34 (1-112)	3,3 (0,6-52,5)
KRS SPT+	3,3 (2-231)	36,4 (7,7-1308)	3,9 (1-23,4)	1,3 (0,8-66,9)
KRS SPT-	2,4 (2-214)	24,5 (8-3800)	4,48 (1-112)	1,4 (0,6-52,5)

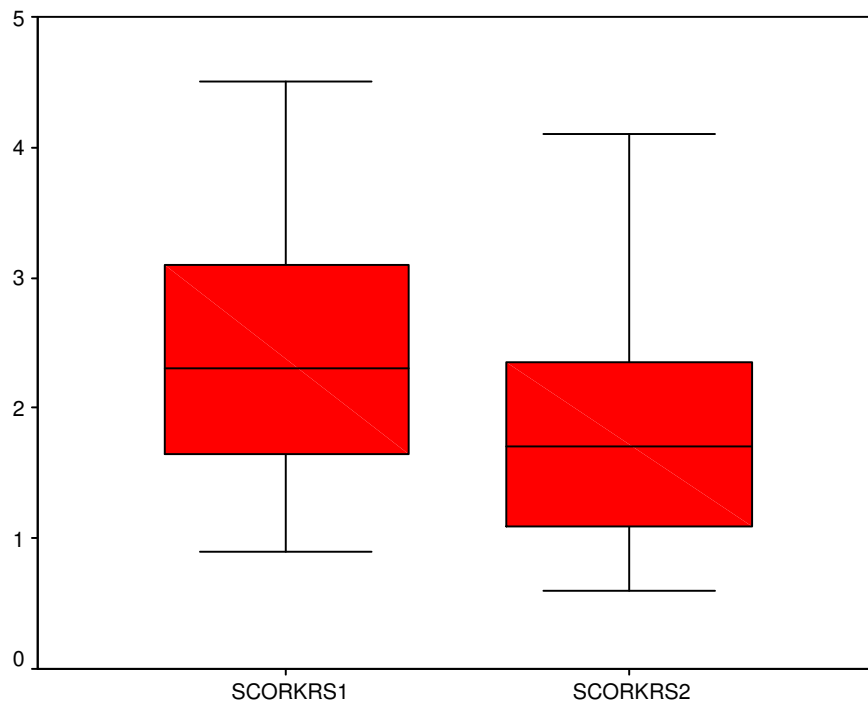
Zbroj subjektivnih simptoma u ispitanika s astmom na početku liječenja je bio 3,06 (SD1,17) dok je nakon 6 mjeseci zbroj bio 2,39 (SD 0,78) . Statistički je značajna razlika zbroja subjektivnih simptoma prije i nakon liječenja  $p < 0,05$

p



Graf 13,. Pokazuje zbroj subjektivnih simptoma ispitanika s astmom na početku liječenja i nakon 6 mjeseci. Prikaz box plot distribucije 25-75%, horizontalna crta pokazuje medijan.

Zbroj subjektivnih simptoma u ispitanika s kroničnim rinosinitisom na početku liječenja je bio 2,38 (SD 0,99) dok je nakon 6 mjeseci zbroj bio 2,05 (SD 0,1,12) . Statistički je značajana razlika zbroja subjektivnih simptoma prije i nakon liječenja  $p = 0,013$



Graf 14,. Pokazuje zbroj subjektivnih simptoma ispitanika s kroničnim rinosinitisom na početku liječenja i nakon 6 mjeseci. Prikaz box plot distribucije 25-75%, horizontalna crta pokazuje medijan.



## 5. Rasprava

Posljednjih godina u literaturi se susreće kontroverzija je li nosna polipoza izdvojena bolest ili se radi o bolesti koja spada u spektar kroničnog rinosinuitisa.(188) Iako postoji razlika u intenzitetu pojedinih nazalnih simptoma između bolesnika s kroničnim rinosinuitisom bez nosne polipoze i onih s nosnom polipozom (jača glavobolja u kroničnom rinosinuitisu, jača opstrukcija i hiposmija u polipozi), čini se da postoji određeno preklapanje između tih dviju skupina, pogotovo uzevši u obzir da gotovo svi bolesnici s nosnom polipozom imaju i kronični rinosinuitis, odnosno upalu paranazalnih sinusa s karakterističnim simptomima u trajanju duljem od 12 tjedana (189). Što se tiče objektivnih znakova bolesti, stupanj intenziteta bolesti prema ocjeni na temelju snimaka CT-om lošiji je u bolesnika s nosnom polipozom uz isti intenzitet subjektivnih smetnji (189), a i rinoskopski, odnosno endoskopski, nalaz bitno se razlikuju. Ipak, najznačajniji se doprinosi istraživanju razlika ovih dvaju fenotipova upalnih bolesti nosa i sinusa očituju u dokazima različitosti imunoloških regulacijskih mehanizama koje susrećemo u bolesnika s kroničnim rinosinuitisom i nosnom polipozom.

Više novih studija pokazuje različite intenzitete upale i Th1/Th2 ravnotežu u regulaciji upale u ispitanika s nosnom polipozom i s kroničnim rinosinuitisom bez nosne polipoze (189,190). Značajno više vrijednosti IL-5, ECP-a, IgE-a i eozinofila nisu nađene u tkivu nosnih polipa nego u sluznici kod ispitanika s kroničnim rinosinuitisom, dok su IFN gamma i IL 8 značajno viši u bolesnika s kroničnim rinosinuitisom (189). Visoke vrijednosti infiltracije tkiva nosnih polipa eozinofilima i upalnim stanicama nađene su i u vrlo ranom stupnju razvoja nosnih polipa (191). Zanimljivo je da broj pozitivnih upalnih stanica IgE i mastocita općenito u ispitanika s nosnom polipozom nije bio veći nego u sluznici ispitanika s kroničnim rinosinuitisom (191). Pitanje na koje je ova studija željela odgovoriti jest dominira li i u bolesnika s bronhijalnom astmom s kroničnim rinosinuitisom bez nosne polipoze eozinofilna upala karakteristična za upalu u bolesnika s nosnom polipozom. Poznato je da u bolesnika s bronhijalnom astmom postoji regulacija upale u kojoj dominira

regulacija Th2 profilom citokina (Il-4, Il-5, Il-10), što dovodi do infiltracije respiratorne sluznice aktiviranim eozinofilima. Vrijednosti biljega aktivnosti upalnih stanica u ispirku sinusa i histomorfometrija sluznice čeljusnih sinusa u ovom istraživanju ukazuju da je u ispitanika s kroničnim rinosinuitisom i astmom značajno jače izražena eozinofilna upala nego u bolesnika s kroničnim rinosinuitisom bez bronhijalne astme. Statistički značajna razlika između ispitanika s kroničnim rinosinuitisom s astmom i bez astme u broju je eozinofila, limfocita plazma stanica i pozitivnih stanica IgE-a u bioptatu sluznice sinusa, i vrijednosti IgE-a i ECP-a u ispirku čeljusnih sinusa. Ovi rezultati ukazuju na viši stupanj upale u ispitanika s astmom, što sugerira Th2 regulaciju upale, s tim da bi za konačnu potvrdu da je Th2 put odgovoran za ovu upalu trebalo učiniti i analizu citokina. Statistički je kod ispitanika s astmom značajna korelacija između koncentracija triptaze i IgE-a i triptaze i ECP-a u ispirku čeljusnih sinusa, dok kod ispitanika samo s kroničnim rinosinuitisom ta korelacija nije statistički značajna što upućuje na različit put upale. Kako je triptaza biljeg aktivacije mastocita, očito je da je razlika između ove dvije skupine i u aktivaciji mastocita. Razlika je između skupina i u dokazanoj alergiji na inhalacijske alergene. U skupini ispitanika s astmom i kroničnim rinosinuitisom veći je broj ispitanika s dokazanom alergijom, nego u skupini samo s kroničnim rinosinuitisom, ali je zanimljivo da ni u jednoj grupi nije nađena statistički značajna razlika između ispitanika s dokazanom alergijom i bez dokazane alergije. Statistički značajna korelacija između ECP-a i MPO-a u ispirku sinusa nađena je u obje grupe ispitanika, s astmom i bez astme, a posebno je zanimljiva jer ne govori u prilog regulaciji Th2. Taj nalaz govori u prilog istodobnoj aktivaciji eozinofilnih i neutrofilnih granulocita, za što mogu biti odgovorni GM-CSF i Il-8, a ne Il-4 i Il-5. Slični rezultati nađeni su u bronhoalveolarnom lavatu kod ispitanika s kroničnim bronhitisom koji nisu dobivali steroide, ali i u serumu bolesnika s bronhijalnom astmom. Kod prvih ispitanika nađena je značajna korelacija između IL-8 i ECP-a i MPO-a (192). Aktivacija neutrofila i povišena koncentracija MPO-a mogu biti povezani s protutijelima IgE jer su istraživanja pokazala da neutrofili na površini stanice imaju receptore za protutijela IgE velikog i malog afiniteta. Aktivacija neutrofila protutijelima IgE potvrđena je u *in vitro* pokusima (193). Zanimljivost je u ovom radu nađena

statistički značajna korelacija između MPO-a i IgE-a samo u grupi s kroničnim rinosinitisom bez astme. Ova je korelacija značajna i podgrupi grupe astmatičara kad su bili pozitivni mikrobiološki brisevi iz sinusa ( $p = 0,006$ ), dok za cijelu grupu astmatičara korelacija nije statistički značajna ( $p=0,093$ ). Razlika u odnosu IgE-a i MPO-a u infektivnim i neinfektivnim uzorcima, s višim vrijednostima MPO-a i nižim vrijednostima IgE-a u infektivnim uzorcima, može se objasniti supresivnim efektom citokina Th1 puta i prisutnosti bakterijskih oligodeoksinukleoida (194). Uloga bakterijskih antigena i superantigena u stvaranju lokalnog odgovora IgE-a opisana je u literaturi (195). Istraživanja su pokazala da kod većine ispitanika s nosnom polipozom i/ili kroničnim rinosinitisom nalazimo specifična protutijela IgE na bakterije u serumu dok kod ispitanika samo s alergijskim rinitisom ne nalazimo navedena protutijela (196). Specifična protutijela IgE na egzotoksin *Staphylococcus aureus* nađena su u nosnim polipima i pretpostavljeno je lokalno nastajanje protutijela IgE. Dokazane su više razine protutijela IgE-a u tkivu polipa u usporedbi s albuminima u polipima, odnosno serumu (197). Protutijela IgE na inhalacijske alergene nađena su također u nosnim polipima ispitanika koji imaju negativne kožne testove na inhalacijske alergene. Th-2 regulacija upale dokazana je i u sluznici kroničnog rinosinitisa kod atopičara (108,199,200). Ipak još uvijek nije jasna uloga alergijskog rinitisa i same senzibilizacije na inhalacijske alergene u nastanku kroničnog rinosinitisa. Malo je vjerojatno da do reakcije antigen antitijelo dolazi u sluznici paranazalnih sinusa jer inhalacijski alergeni udisanjem ne mogu ući u paranazalne sinuse. Zanimljivo je istraživanje koje je pokazalo zadebljanje sluznice na snimanju CT-om obostrano u paranazalnim sinusima u 75 % ispitanika nakon jednostrane izloženosti nosne sluznice alergenu na koji je ispitanik alergičan (201). Sam mehanizam promjene u sluznici paranazalnih sinusa kod alergijskog rinitisa može se objasniti zadebljanjem nosnih školjki i ostiomeatalnog kompleksa kao posljedica alergijske reakcije. Promjene na sluznici u paranazalnim sinusima na strani koja nije bila izložena alergenu mogu se objasniti neurogenom upalom ili aktivacijom koštane srži nakon izloženosti alergenu. Koncentracija protutijela IgE u ispirku sinusa u ovom radu nije bila povezana s alergijom na inhalacijske alergene ili rastom

bakterija. Analizirajući pojedinačne vrijednosti u ispitanika s alergijom i astmom koncentracija protutijela IgE u ispirku sinusa bila je veća u ispitanika s peludnom alergijom kada je uzorak uzet neposredno nakon kraja alergijske sezone, nažalost broj je ovakvih uzoraka mali pa tako ne možemo zaključiti da je taj podatak i statistički značajan. Ipak, valja naglasiti da se danas smatra da alergijska upala može biti samo lokalizirana u nosnoj sluznici, i može se registrirati i bez sistemskih dokaza alergijske reakcije u kožnom testu ili prema vrijednostima serumskog IgE-a, ukupnog niti specifičnog. Čini se da je to osobito značajno za posredovanu upalu IgE-om u nosnim polipima, gdje su razine IgE-a vrlo visoke, osobito u bolesnika s bronhijalnom astmom, čak i u odsustvu dokaza atopije, na temelju kožnog testa na inhalacijske alergene i cirkulirajućih protutijela IgE. Bez obzira što su u tih bolesnika visoke razine specifičnih protutijela na bakterijske antigene, odnosno superantigene, u tkivu su polipa visoke razine i protutijela IgE na inhalacijske alergene, polene i perenijalne alergene (189).

Koncentracija protutijela IgE u ispirku sinusa statistički značajno korelira s brojem IgE pozitivnih stanica i upalnih stanica u obje grupe ispitanika. Kako jačina upale mjerena histomorfometrijom (brojanjem upalnih stanica, eozinofila, limfocita i plazma stanica) značajno korelira s koncentracijom protutijela IgE u sinusnom ispirku u obje grupe ispitanika koncentracija protutijela IgE može biti dobar biljeg koji nam može ukazivati na intenzitet upale u sinusu.

Gledajući rezultate ovog istraživanja može se zaključiti da je grupa astmatičara posebna podgrupa među ispitanicima s kroničnim rinosinuitisom. Koncentracija biljega aktivacije upalnih stanica i IgE-a u ispirku sinusa statistički je značajno viša u ispitanika s astmom nego u grupi samo s kroničnim rinosinuitisom. Uspoređujući grupu s astmom i grupu samo s kroničnim rinosinuitisom najveća je razlika u mnogo većoj infiltraciji i aktivaciji eozinofila kod astmatičara. Kao što je već navedeno, značajna je i korelacija između protutijela IgE i triptaze u sinusnom ispirku kod astmatičara što ukazuje na IgE-om uzrokovanu aktivaciju mastocita u ovoj grupi ispitanika, ali ne i u onih s kroničnim rinosinuitisom. Zanimljivo je da

razina aktivacije mastocita nije različita u astmatičara i neastmatičara, što govori u prilog i postojanje neovisnih mehanizama aktivacije o IgE-u, posebno u neastmatičara. Uloga bakterijske infekcije u aktivaciji mastocita nije dovoljno istražena, ali je poznata prisutnost *toll-like* receptora na membrani mastocita (202), kao i sposobnost mastocita da fagocitiraju bakterije, osobito gram negativne (203).

Utjecaj bakterija na patogenezu i trajanje upale u kroničnom rinosinuitisu još nije jasna. Podaci iz literature navode rast bakterija u 50 do 80 % uzoraka uzetih iz čeljusnih sinusa kod ispitanika s kroničnim čeljusnim sinuitisom. Izolirane su različite bakterije iz više studija ovisno o mjestu uzimanja uzorka (čeljusni sinusi, etmoidni, čeoni, godištu ispitanika, zemljopisnoj lokaciji, prijašnjoj kirurgiji ili korištenju raznih osjetljivih metoda detekcije (PCR) (204,205,206,207,208).

Uloga je gljivica u kroničnoj patogenezi kroničnog rinosinuitisa dvojbena. Pokazalo se da gljivice možemo naći u nosu i paranazalnim sinusima kod gotovo svih ispitanika, s kroničnim rinosinuitisom i bez kroničnog rinosinuitisa. Poremećaj imunološkog odgovora (eozinofilni gljivični sinuitis) na gljivice može biti zaslužan za razvoj kroničnog rinosinuitisa (209). Pretpostavlja se da gljivice u nekih ispitanika dovode do eozinofilne infiltracije u sluznici paranazalnih sinusa s time da ta infiltracija nije povezana sa stvaranjem protutijela IgE. Tada eozinofili napadaju gljivice i dolazi do oslobađanja MBP-a (glavni bazični protein) koji uništava gljivice, ali i oštećuje sluznicu paranazalnih sinusa. Tim oštećenjem sluznica postaje prijemčljiva za dalja oštećenja koja rade bakterije (210).

U zadnjih par godina u istraživanju etiologije kroničnog rinosinuitisa, posebice kod kojega nema terapijskog odgovora na konzervativno i kirurško liječenje, sve više se govori o mogućem utjecaju bakterijskog biofilma na sluznici sinusa. Biofilm je trodimenzionalna agregacija bakterija koja je otporna na primjenu antibiotika, i to stvaranjem fizičke membrane koja onemogućuje pristup antibiotiku (211). Kod 157 ispitanika s kroničnim rinosinuitisom i purulentim sekretom učinjen je endoskopski bris sinusa i analiziran s *Calgary Biofilm Detectio Assay*. Kod 45 (28,6 %) ispitanika nađen je biofilm, s time da je u ispitanika koji su prije već imali rinokirurški

zahvat nađen biofilm u 30,7 % (212). *Pseudomonas aeruginosa* i *Staphylococcus aureus* nađeni su u 71 % navedenih biofilmova. Nađena je statistički značajna povezanost između prisutnosti biofilma i broja prethodnih rinokirurških zahvata. Ova se povezanost može objasniti i činjenicom da su to ispitanici koji su bili bez odgovora na konzervativnu terapiju te su radi toga i više puta operirani što bi odgovaralo teoriji da je biofilm odgovoran za patogenezu jednog dijela rinosinitisa koji ne odgovara na terapiju.

U većini studija koje proučavaju kronični rinosinitis najčešće bakterije su koagulaza negativni stafiloko (do 40 %), *Staphylococcus aureus* (10–20 %) i *Haemophilus influenzae* (15 do 25 %) (199,213). Različite bakterije koje su izolirane iz čeljusnih sinusa u različitim studijama koristeći iste metode ukazuju na više čimbenika koji utječu na rezultate ovih istraživanja. U usporedbi s drugim istraživanjima ovo istraživanje pokazuje veći broj izoliranih gram negativnih bakterija osobito u grupi s astmom što se može objasniti dugotrajnom upotrebom antibiotika koji većinom djeluju na gram pozitivne bakterije. U drugim se istraživanjima pokazalo da je u ispitanika kod kojih su prije učinjeni kirurški zahvati na paranazalnim sinusima veća učestalost gram negativnih bakterija. *Pseudomonas aeruginosa* izoliran je u 30 % ispitanika, a gram negativni štapići u 50 %, dok je kod ispitanika koji prije nisu bili operirani *Pseudomonas* izoliran u 0,5 % dok su gram negativni štapići izolirani u 9 % (214).

Suprotno našoj hipotezi o učinku dugotrajne upotrebe antibiotika neka su istraživanja pokazala da takva terapija nema učinka na porast rezistentnih bakterija i gram negativnih bakterija u sinusima (215). Potvrdu negativnog učinka prisutnosti bakterija u sinusima nalazimo u činjenici da nakon eradikacije bakterija upotrebom ciljanih parenteralnih antibiotika dolazi do poboljšanja simptoma kroničnog rinosinitisa. Preliminirani rezultati kod pacijenata kod kojih nakon kirurškog liječenja kroničnog rinosinitisa nije došlo do poboljšanja te su dugotrajno primijenjeni intravenski antibiotici sukladno antibiogramu pokazuju poboljšanje subjektivnih simptoma, ali treba naglasiti da nisu učinjena mjerenja lokalnih upalnih parametra (216). S druge strane, u većine bolesnika s izoliranim bakterijama u sinusnim

šupljinama nije dokazana aktivacija granulocita, štoviše, ona je dokazana samo u jednoj desetini ispitanika (217). U ovom je istraživanju aktivacija neutrofila bila značajno viša uz bakterijski rast samo u astmatičara, ali ne i u ispitanika s kroničnim rinosinuitisom bez astme.

Bakterijski suprantigeni i njihov utjecaj na aktivaciju citokina i upalni stanični odgovor, a samim time i na patogenezu kroničnog rinosinuitisa, proučavani su u više istraživanja s time da utjecaj prisutnosti bakterija na upalne stanice u mukozi paranazalnih sinusa nije proučavana. Više studija kod ispitanika s egzacerbacijom i u mirnoj fazi kronične obstruktivne bolesti pluća pokazalo je da prisutnost bakterija u sputumu ne dovodi uvijek do porasta svih upalnih parametara (proinflamatornih citokina i neutrofilije). Kod ispitanika s egzacerbacijom kronične obstruktivne bolesti pluća nakon eradikacije bakterije dolazi do smanjenja biljega aktivacije upale u sputumu za razliku od grupe u kojoj nije došlo do eradikacije bakterije (218).

Kao što je rečeno u istraživanju koje je predmet ovog rada korelacija između ECP-a i MPO-a u lavatu sinusa nađena je u obje grupe ispitanika s astmom i bez astme. Slično ovom rezultatu nađena je i korelacija između ECP-a i MPO-a u bronhoalveolarnom lavatu u ispitanika s alergijskom i nealergijskom astmom (219) i ispitanika s kroničnim bronhitisom i opstrukcijom donjih dišnih putova (220). Značajna je korelacija nađana između vrijednosti MPO-a, ECP-a i interleukina 8 u lavatima bronha kod ispitanika s kroničnim bronhitisom, dok su najviše vrijednosti biljega nađene u ispitanika s pneumokoknom infekcijom (221). Zanimljivo je da je ista korelacija nađena i nakon istovremene infekcije rinovirusom i provokacije antigenom (222) dok nije nađena korelacija između ECP-a i interleukina 8 nakon provokacije samo antigenom (223).

Navedeni rezultati ovog istraživanja ukazuju na istovremenu aktivaciju neutrofila i eozinofila u paranazalnim sinusima astmatičara u kojima je izolirana bakterija što se pored utjecaja interleukina 8 može objasniti i djelovanjem GM-CSF-a. U većini ispitanika samo s kroničnim rinosinuitisom nazočnost bakterija u sinusu ne aktivira upalne stanice, i median ECP-a i MPO-a značajno je manji nego u grupi astmatičara. Median ECP-a u grupi astmatičara s pozitivnim bakteriološkim brisom i bez pozitivnog bakteriološkog brisa gotovo je ista, s time da je zanimljivo da u 30 %

ispitanika s pozitivnim brisom nalazimo pet puta veće vrijednosti ECP-a u lavatu, dok je u ispitanicima s negativnim brisom samo 10 % takvih ispitanika. Ovaj rezultat može upućivati na to da utjecaj na aktivaciju eozinofila imaju samo neki bakterijski antigeni dok je za aktivaciju neutrofila dovoljna samo prisutnost bakterije što ne dovodi istovremeno i do aktivacije eozinofila.

S druge strane, iako je srednja vrijednost MPO-a u ispitanika s kroničnim rinosinuitisom bez astme znatno viša u lavatima sinusa u kojima je izolirana bakterija, median je gotovo isti u lavatima s bakterijom i bez bakterije. Četiri ispitanika s pozitivnim bakteriološkim brisom imalo je pedeset puta manji median MPO-a, dok je troje ispitanika sa sterilnim sinusima imalo dvadeset puta manji median što upućuje na zaključak da je uloga bakterija u ispitanika samo s kroničnim rinosinuitisom na aktivaciju leukocita manje značajna.

Razlike između najviše i najniže vrijednosti biljega aktivacije stanica upale u sinusima koji su imali pozivni bakteriološki bris ukazuje da je stanični odgovor uzrokovan brojem i jačinom bakterija s jedne strane, a s druge strane podležećom patologijom (astma ili alergija).

Zanimljivo je i pozitivna korelacija vrijednosti ECP-a u kontralateralnim sinusima u ispitanika s kroničnim rinosinuitisom dok je za MPO nađena pozitivna korelacija između kontralateralnih sinusa samo u grupi ispitanika s astmom. Ovi podaci upućuju na zaključak da aktivacija eozinofila u ispitanika s kroničnim rinosinuitisom nije ovisna o prisutnosti bakterija, već o imunološkom stanju domaćina (alergija ili jači odgovor citokina Th-2 puta). Kod astmatičara je bila drugačija situacija. Možemo i postaviti hipotezu da je kod astmatičara aktivacija neutrofila dio jedinstvenog odgovora dišnog puta na bakterijsku infekciju bez obzira što je samo jedna strana zahvaćena.

Endosinusno liječenje *dexamethasonom* i antibiotikom u ispitanika s astmom značajno smanjuje vrijednosti ECP-a u serumu i sinusnom lavatu i MPO u sinusnom lavatu te poboljšava subjektivne simptome rinosinuitisa i astme (4).

Rezultati ovog istraživanja ne pokazuju da je došlo do selekcije otpornijih bakterija nakon liječenja antibiotikom, ali broj pozitivnih briseva kao i jačina



antibiotske terapije ne dozvoljavaju izvođenje zaključaka. Nađen je samo jedan mutiran štapić od 10 gram negativnih bakterija koje su istraživane što odgovara učestalosti u istraživanjima koja su vođena na izoliranim brisevima opće populacije. Ovaj podatak razlikuje se od istraživanja kod ispitanika s cističnom fibrozom kod kojih se, nakon dugotrajne upotrebe antibiotika radi liječenja rezistentnog *Pseudomonasa aeruginosa* u biofilmu, stvara 36 % mutatora, iako je prisutnost biofilma pokazana na sluznici u ispitanika s kroničnom rinosinuitisom (224). Sam način uzimanja uzorka brisom u ovom istraživanju nije odgovarajući za procjenu prisutnosti svih bakterija tako da je moguće da su kod nekih ispitanika bile prisutne mutatorne bakterije ali nisu dokazane.

Istraživanje potvrđuje hipotezu da prisutnost bakterija potiče lokalnu aktivaciju neutrofila u ispitanika s astmom i kroničnim rinosinuitisom. Zbog malog broja ispitanika i širokih inkluzionih kriterija nije moguće iz rezultata ovog istraživanja odrediti utjecaj određenih bakterijskih antigena na aktivaciju eozinofila u ispitanika s astmom. Nije nađen statistički značajan utjecaj bakterija na aktivaciju leukocita u ispitanika samo s kroničnim rinosinuitisom, s time da razlika između podgrupe alergičara i nealergičara nije određivana radi premalih uzoraka. Statistički značajna korelacija između ECP-a i MPO-a u ispicima sinusa ispitanika s astmom i kroničnim rinosinuitisom kod kojih je izolirana bakterija u sinusima, kao i aktivacija leukocita pri prisutnosti bakterija, upućuje na mogući zaključak da eradikacija bakterija kod ispitanika s kroničnim rinosinuitisom čak i bez egzacerbacije smanjuje upalu u sinusima. Iako, kao što je već navedeno, uzorak nije primjeren za izvođenje zaključka za ispitanike s kroničnim rinosinuitisom bez astme, čini se da prisutnost bakterija ne aktivira leukocite u većini slučajeva.

Odnos subjektivnih mjera težine bolesti (zbroj intenziteta ocjene pojedinačnih simptoma , zbroj ocjena upitnika kvalitete života), te objektivne procjene težine bolesti (stupanj rinosinuitisa ocjenom prema CT snimkama, intenzitet upale brojanjem upalnih stanica u histomorfometriji, upalni markeri u sekretu ili homogenizatu tkiva ) u kroničnom rinosinuitisu ne korelira značajno, a i govori u prilog hipotezi da rinosinuitis i nosna polipoza

predstavljaju dvije različite bolesti, usprkos sličnim simptomima, te da se unutar oba entiteta nalaze različite podgrupe, npr. u nosnoj polipozi podgrupe eozinofilnih nosnih polipa kod alergijskih, astmatičnih i bolesnika s aspirinskom intolerancijom, u mikotičnom rinosinuitisu, neutrofilnih kod cistične fibroze, u Azijata, te sa malom upalnom infiltracijom i jakim edemom, npr. antrokoanalni polipi, polipi nađeni na obdukcijama kao nusnalaz. Takvo grupiranje koje se u literaturi naziva fenotipizacija može pomoći određivanju specifičnije terapije, a iz tih smo pobuda i mi prepostavili različitost upale u astmatičara i kod bolesnika s kroničnim rinosinuitisom bez astme. Naše istraživanje nije pokazalo značajnu razliku između skupina u subjektivnom intenzitetu bolesti, za razliku od usporedbe intenziteta pojedinih simptoma kod kroničnog rinosinuitisa i nosne polipoze (Van Zele). Slično istraživanje u bolesnika s rinitisom i astmom uspjelo je dokazati, na mnogo većem broju ispitanika, različit intenzitet subjektivnih simptoma u astmatičara sa i bez alergijskog rinitisa. Proučavajući subjektivne ocjene simptoma bolesti kod ispitanika s astmom, nađene su lošije vrijednosti zbroja simptoma kod ispitanika koji su imali i alergijski rinitis. Pokazalo se da lošiji zbrojevi simptoma astme su statistički povezani s lošijim zbrojevima simptoma alergijskog rinitisa (225). Kod ispitanika u dizertaciji nije nađena povezanost vrijednosti subjektivnih simptoma s vrijednostima biljega upalnih stanica ili broja upalnih stanica. Ovi rezultati odgovaraju i istraživanju koje je uspoređivalo intenzitet upale u sluznici sinusa, nalaz kompjuterizirane tomografije sinusa i zbroj subjektivne ocjene simptoma. Nije nađena statistički značajna korelacija između subjektivnih simptoma i ostala dva objektivna nalaza upale sluznice sinusa dok je nađena statistički značajna povezanost histološki procjenjene upale u sluznici i jačine upale procjenjene kompjuteriziranom tomografijom (226). Uspoređujući različite metode ocjenjivanja jačine upale u drugom radu pomoću kompjuterizirane tomografije (Lund-Mackay, Kennedy i Harvard sistem) s subjektivnom ocjenom simptoma nađena je povezanost samo s nosnim simptomima (nosna opstrukcija, curenje nosa i poremećaj mirisa) dok kada se uključe svi simptomi ne nalazi se značajna povezanost (227). Analizirajući pojedinačno simptome vizualno analognom skalom (VAS) s nalazom kompjuterizirane tomografije nije također dobivena statistički

značajna povezanost(228). Istraživana je i povezanost vrijednosti periferne eozinofilije, broj eozinofila u tkivu i polimorfizam gena za leukotrien C4 sintetazu sa subjektivnom ocjenom simptoma i nije također nađena statistički značajna povezanost (229). Vrijednosti subjektivne ocjene simptoma nakon provedene terapije statistički značajno se poboljšavaju što i odgovara našem očekivanju ali treba naglasiti i da je vrijeme između prvog i drugog mjerenja bilo 6 mjeseci tako da to otežava objektivnu ocjenu samog liječenja.

Konačno, potrebno je reći da je bez obzira na odsutnost korelacije između subjektivnih i objektivnih pokazatelja koji bi određivali stupanj težine bolesti, ne možemo se odreći niti subjektivne procjene intenziteta, ocjenom simptoma i kvalitete života, niti objektivne procjene upale i uznapređovalosti bolesti, jer se praćenjem oba parametra prije i poslije terapije može adekvatno objektivno procijeniti odgovor na terapiju i u kliničkim studijama. Takav način procjene povećava stupanj dokaza učinkovitosti terapije i bez primjene placebo kontrolirane i randomizirane studije.

## 6. Zaključci

1. Kod ispitanika s astmom vrijednosti ECP-a, MPO i IgE protutijela u ispirku čeljusnih sinusa značajno su više nego u ispitanika samo s kroničnim rinosinuitisom, dok se vrijednosti triptaze MPO se ne razlikuju između ove dvije skupine. Ovi rezultati ukazuju da je aktivacija granulocita, neutrofilnih i eozinofilnih, izraženija u bolesnika s jedinstvenom bolešću dišnih putova, dok to ne vrijedi za aktivaciju mastocita.
2. Značajna je korelacija između ECP-a MPO-a, te IgE i ECP obje skupine ispitanika, dok je korelacija između MPO i IgE značajna samo u skupini s kroničnim rinosinuitisom, a unutar astmatične skupine, samo u ispitanika s bakterijskim rastom u maksilarnom sinusu. S druge strane, u astmatičara je korelacija triptaze i IgE značajna, ali ne i u ispitanika s kroničnim rinosinuitisom, što ukazuje da je aktivacija mastocita u astmatičara vjerojatno dominantno IgE ovisnog mehanizma, a u kroničnom rinosinuitisu aktivacija neovisna o IgE.
3. Infiltracija eozinofila, plazma stanica, limfocita i IgE pozitivnih stanica u sluznici sinusa značajno je viša u ispitanika s astmom nego u ispitanika s kroničnim rinosinuitisom, što potvrđuje višu razinu intenziteta upale u astmatičara nego u neastmatičara s kroničnim rinosinuitisom..
4. Značajno su više vrijednosti IgE protutijela u lavatu nego u bioptatu sluznice, a njihove vrijednosti međusobno signifikantno koreliraju. Isto tako razine IgE u sinusnom lavatu signifikatno koreliraju sa brojem upalnih stanica koje infiltriraju sinusnu sluznicu, i to za obje skupine ispitanika. Time se može zaključiti da je IgE u sinusnom lavatu dobar parametar ocjene objektivnog intenziteta upale u sinusnim šupljinama.
5. Aktivacija neutrofilnih granulocita u čeljusnim sinusima značajno je povezana s prisutnošću bakterijskog rasta u sinusnom lavatui samo u astmatičara

6. Senzibilizacija na inhalacijske alergene nije se pokazala statistički značajno povezanom s biljezima upale, niti sa razinama lokalnog IgE
  
7. Nakon provedene terapije zbroj subjektivnih simptoma značajno se smanjuje dok nije nađena statistički značajna povezanost između zbroja subjektivnih simptoma i objektivnih biljega upale, bilo u broju stanica izmjerenih histomorfometrijski ili koncentracijama biljega aktivacije upalnih stanica u sinusnom ispirku.

## 7.Sažetak

Istraživanje je proučavalo različite putove upalne reakcije kod ispitanika s kroničnim rinosinuitisom s i bez astme. U istraživanje je bilo uključeno 36 ispitanika s kroničnim rinosinuitisom i 23 ispitanika s kroničnim rinosinuitisom i astmom. Kod svih ispitanika učinjena je sinusoskopija čeljusnih sinusa, ispirak sinusa, biopsija sluznice i mikrobiološki bris. Iz ispirka se određivala koncentracija eozinofilnog kationskog proteina (ECP), mijeloperoksidaze (MPO), triptaze i IgE protutijela. Iz bioptata sluznice brojali su se IgE pozitivne stanice, eozinofili, plazma stanice i limfociti. Upitnik simptoma kroničnog rinosinuitisa ispitanici su ispunjavali na početku istraživanja i nakon 6 mjeseci. ECP, MPO, koncentracija IgE protutijela u ispirku, broj upalnih stanica i IgE pozitivnih stanica značajno su viši u astmatičara. Koncentracija triptaze povezana je samo u astmatičara s koncentracijom IgE protutijela i brojem IgE pozitivnih stanica. U 25 ispitanika s kroničnim rinosinuitisom izolirana je bakterija u sinusu dok je u astmatičara izolirana u 16 ispitanika. Značajna je povezanost ECP-a i MPO-a u bakteriološki pozitivnim sinusima astmatičara. U obje grupe ispitanika zbroj subjektivnih simptoma značajno se smanjuje nakon terapije bez korelacije s objektivnim parametrima upale. Sukladno navedenim rezultatima zaključak je da grupa astmatičara predstavlja posebnu grupu među ispitanicima s kroničnim rinosinuitisom

## 8. Abstract

Relation between cellular infiltration and markers in patients with chronic rhinosinusitis

**Objectives** The aim of the study was to show the difference in the pattern of inflammation (and Th1/Th2 polarization) between asthmatic and non-asthmatic patients with CRS, specifically eosinophil activation, local IgE levels in the sinus fluid and tissue, and the severity of inflammation were measured.

**Methods.** The maxillary sinus lavages, mucosal biopsies and bacteriological swabs were taken in 23 asthmatic and 36 non-asthmatic adult patients with CRS. The concentrations of IgE, eosinophil cationic protein (ECP), myeloperoxidase (MPO), and tryptase were analyzed and IgE+ cells, eosinophils, lymphocytes and plasma cells counted.

**Results.** The granulocyte activation markers and IgE in sinus lavages, and the inflammatory and IgE + cells counts were significantly higher in the asthmatics with the greatest difference in ECP and IgE concentrations. The tryptase concentrations did not differ, but only in the asthmatics they correlated significantly with the IgE concentrations and IgE+ cells count. Subjective scores were decreased after therapy in both groups of patients and without correlation with objective parameters of inflammation.

**Conclusion.** Asthmatic patients present a distinct subgroup among the patients with chronic rhino sinusitis (CRS). The levels of the cellular markers and Age in the sinus fluid differ from those of non-asthmatic patients with CRS. The activation of granulocytes (especially eosinophils), local IgE concentrations and the inflammatory cells infiltration are significantly higher in the asthmatics.

## 9.Literatura

1. Sibbald B, Rink E. Epidemiology of seasonal and perennial rhinitis:clinical presentation and medical history. *Torax* 1991;46:895-901.
2. Gliklich RE, Metson R. Effect of sinus surgery on quality of life. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1997;117(1):12-7.
3. Suzuki M, Watanabe T, Suko T, Mogi G. Comparison of sinusitis with and without allergic rhinitis: characteristics of paranasal sinus effusion and mucosa. *Am J Otolaryngol* 1999;20(3):143-50.
4. Kalogjera L, Vagic D, Baudoin T. Effect of endosinus treatment on cellular markers in mild and moderate asthmatics. *Acta Otolaryngol* 2003;123(2):310-3.
5. Benson M, Strannegard IL, Wennergren G, Strannegard O. Interleukin-5 and interleukin-8 in relation to eosinophils and neutrophils in nasal fluids from school children with seasonal allergic rhinitis. *Pediatr Allergy Immunol* 1999;10:178-85.
6. Demoly P, Crampette L, Mondain M, Campbell AM, Lequeux N, Enander I, Schwartz LB, Guerrier B, Michel FB, Bousquet J. Assessment of inflammation in noninfectious chronic maxillary sinusitis. *J Allergy Clin Immunol* 1994;94(1):95-108.
7. Klimek L, Rasp G. Cell activation markers in rhinitis and rhinosinitis. *Laryngo Rhino Otologie* 1996;75;665-70.
8. Demoly P, Crampette L, Mondain M, Enander I, Jones I, Bousquet J. Myeloperoxidase and interleukin-8 levels in chronic sinusitis. *Clin Exp Allergy* 1997;27(6):672-5.
9. Loesel LS. Immunopathologic study of chronic sinusitis: a proposal for atopic and non-atopic IgE-activated mast cell allergic inflammation. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2001;110:447-52
10. Ponikau JU, Sherris DA, Kita H, Kern EB. Intranasal antifungal treatment in 51 patients with chronic rhinosinusitis. *J Allergy Clin Immunol*. 2002;110(6):862-6



11. Lavigne F, Nguyen CT, Cameron L, Qutayba H, Renzi M. Prognosis and prediction of response to surgery in allergic patients with chronic sinusitis. *J Allergy Clin Immunol* 2000;105:746-51.
12. Qvarnberg Y, Kantola O, Salo J, Toivanen M, Valtonen H, Vuori E. Influence of topical steroid treatment on maxillary sinusitis. *Rhinology* 1992;30(2):103-12.
13. Adachi M, Furuta S, Suzuki S, Maeda T. Bacterial examination of sinusitis using antral puncture and irrigation. *Nippon Jibiinkoka Gakkai Kaiho* 2002;105(9):925-30.
14. Ohki M, Naito K, Cole P. Dimensions and resistances of the human nose: racial differences. *Laryngoscope* 1991;101:276-278.
15. Padovan I. Otorinolaringologija 2 Kirurgija paranazalnih šupljina i lica. Zagreb: Školska knjiga; 1984.
16. Donald JP, Gluckman JL, Rice DH. *The Sinuses*. New York: Raven Press; 1995.
17. Pawankar R, Okuda M. A comparative study of characteristics of intraepithelial and lamina propria lymphocytes of human nasal mucosa. *Eur J Allergy Clin Immunol* 1993;48:99-105.
18. Munzel M. The permeability of intracellular spaces of the nasal mucosae. *J Laryngol Rhinol Otol* 1974;51:784.
19. Widdicombe J. Microvascular anatomy of the nose. *Eur Allergy and Clin Immunol* 1997;52(Suppl 40):7-11.
20. Lund VJ. Nasal physiology, neurochemical receptors, nasal cycle and ciliary action. *Allergy Asthma Proc* 1996;17:179-184.
21. Ballenger JJ, Snow JB, editors. *Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery*. Philadelphia: Williams & Wilkins; 1996.
22. Andersson M, Greff L, Ohman H, Svensson C, Wollmer P, Persson CGA. Permeation of polysaccharide 15000 across the human nasal mucosa *in vivo*. *Allergy* 1997; 52:1229-1232.
23. Šercer A. *Otorinolaringologija*. Zagreb: Jugoslavenski leksikografski zavod; 1966.
24. Becquemin RF, Swift DL, Bouchikhi A, Roy M, Teillac A. Particle deposition and resistance in the nose of adults and children. *Eur Respir J* 1991;4:694-702.

25. Lundberg JO, Farkas-Szallasi T, Weitzberg E. High nitric oxid production in human paranasal sinuses. *Nat Med* 1995;1: 370-373.
26. Corren J, Adinoff A, Irvin C. Changes in bronchial responsiveness following nasal provocation with allergen. *J Allergy Clin Immunol* 1992;89:611-8.
27. Sperelakis N, Banks R, editors. *Essentials of physiology*. 2<sup>nd</sup>ed. New York: Little, Brown and Company; 1996.
28. Brugman S, Larsen G, Henson P, Honor J, Irvin C. Increased lower airways responsiveness associated with sinusitis in a rabbit model. *Am Rev Respir Dis* 1993;147:314-20.
29. Poole MD, Portugal LG. Treatment of rhinosinusitis in the outpatient setting. *Am J Med*. 2005 Jul;118 Suppl 7A:45S-50S
30. Bachert C, Zhang N, Patou J, van Zele T, Gevaert P. Role of staphylococcal superantigens in upper airway disease. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2008 Feb;8(1):34-8
31. Zinreich SJ, Mattox, D.E., Kennedy, D.W., Chisholm, H.L., Diffley, D.M., Rosenbaum, A.E. Concha bullosa: CT evaluation. *J Comput Assist Tomogr*. 1988;12:788-4.
32. Willner A, Choi SS, Vezina LG, Lazar RH. Intranasal anatomic variations in pediatric sinusitis. *Am J Rhinol*. 1997;11(5):355-60.
33. Calhoun KH, Waggenspack GA, Simpson CB, Hokanson JA, Bailey BJ. CT evaluation of the paranasal sinuses in symptomatic and asymptomatic populations. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 1991;104(4):480-3.
34. Al-Rawi MM, Edelstein DR, Erlandson RAI. Changes in nasal epithelium in patients with severe chronic sinusitis: a clinicopathologic and electron microscopic study. *Laryngoscope*. 1998;108(12):1816-23.
35. Lanza DC, Kennedy DW. Adult rhinosinusitis defined. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 1997;117(3 Pt 2):S1-7.
36. Beninger M. Rhinitis, sinusitis and their relationship to allergies. *Am J Rhinol*. 1992;6:37-43.

37. Grove R, Farrow J. Chronic hyperplastic sinusitis in allergic patients: a bacteriologic study of 200 operative cases. *J Allergy Clin Immunol.* 1990;11:271-6.
38. Emanuel IA, Shah SB. Chronic rhinosinusitis: allergy and sinus computed tomography relationships. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2000;123(6):687-91.
39. Karlsson G, Holmberg K. Does allergic rhinitis predispose to sinusitis? *Acta Otolaryngol Suppl.* 1994;515:26-8; discussion 29.
40. Chee L, Graham SM, Carothers DG, Ballas ZK. Immune dysfunction in refractory sinusitis in a tertiary care setting. *Laryngoscope.* 2001;111(2):233-5.
41. Porter JP, Patel AA, Dewey CM, Stewart MG. Prevalence of sinonasal symptoms in patients with HIV infection. *Am J Rhinol.* 1999 May-Jun;13(3):203-8.
42. Garcia-Rodriguez JF, Corominas M, Fernandez-Viladrich P, Monfort JL, Dicenta M. Rhinosinusitis and atopy in patients infected with HIV. *Laryngoscope.* 1999 Jun;109(6):939-44.
43. Riordan JR, Rommens JM, Kerem B, Alon N, Rozmahel R, Grzelczak Z, et al. Identification of the cystic fibrosis gene: cloning and characterization of complementary DNA. *Science.* 1989 Sep 8;245(4922):1066-73.
44. Kerrebijn JD, Poublon RM, Overbeek SE. Nasal and paranasal disease in adult cystic fibrosis patients. *Eur Respir J.* 1992;5(10):1239-42.
45. Ellegard EK. The etiology and management of pregnancy rhinitis. *Am J Respir Med.* 2003;2(6):469-75.
46. Stierna P, Carlsoo B. Histopathological observations in chronic maxillary sinusitis. *Acta Otolaryngol.* 1990;110(5-6):450-8.
47. Georgitis JW, Matthews BL, Stone B. Chronic sinusitis: characterization of cellular influx and inflammatory mediators in sinus lavage fluid. *Int Arch Allergy Immunol.* 1995;106(4):416-21.
48. Jankowski R, Bouchoua F, Coffinet L, Vignaud JM. Clinical factors influencing the eosinophil infiltration of nasal polyps. *Rhinology.* 2002;40(4):173-8.

49. Nonoyama T, Harada T, Shinogi J, Yoshimura E, Sakakura Y. Immunohistochemical localization of cytokines and cell adhesion molecules in maxillary sinus mucosa in chronic sinusitis. *Auris Nasus Larynx*. 2000;27(1):51-8.
50. Takeuchi K, Yuta A, Sakakura Y. Interleukin-8 gene expression in chronic sinusitis. *Am J Otolaryngol*. 1995;16(2):98-102.
51. Suzuki H, Takahashi Y, Wataya H, Ikeda K, Nakabayashi S, Shimomura A, et al. Mechanism of neutrophil recruitment induced by IL-8 in chronic sinusitis. *J Allergy Clin Immunol*. 1996;98(3):659-70.
52. Bachert C, Wagenmann M, Rudack C, Hopken K, Hillebrandt M, Wang D, et al. The role of cytokines in infectious sinusitis and nasal polyposis. *Allergy*. 1998;53(1):2-13.
53. Persson CGA EJ, Andersson M, et al. Epithelium, microcirculation and eosinophils - new aspects of the allergic airway in vivo. *Allergy*. 1997;52:241.
54. Baraniuk JN. Sensory, parasympathetic, and sympathetic neural influences in the nasal mucosa. *J Allergy Clin Immunol* 1992 Dec;90(6 Pt 2):1045-50.
55. Baraniuk JN, Kaliner M. Neuropeptides and nasal secretion. *Am J Physiol* 1991 Oct;261(4 Pt 1):L223-35.
56. Bousquet J, Khaltaev N, Cruz AA, Denburg J, Fokkens WJ, Togias A, Zuberbier T, Baena-Cagnani CE, Canonica GW, van Weel C, Agache I, Ait-Khaled N, Bachert C, Blaiss MS, Bonini S, Boulet LP, Bousquet PJ, Camargos P, Carlsen KH, Chen Y, Custovic A, Dahl R, Demoly P, Douagui H, Durham SR, van Wijk RG, Kalayci O, Kaliner MA, Kim YY, Kowalski ML, Kuna P, Le LT, Lemiere C, Li J, Lockey RF, Mavale-Manuel S, Meltzer EO, Mohammad Y, Mullol J, Naclerio R, O'Hehir RE, Ohta K, Ouedraogo S, Palkonen S, Papadopoulos N, Passalacqua G, Pawankar R, Popov TA, Rabe KF, Rosado-Pinto J, Scadding GK, Simons FE, Toskala E, Valovirta E, van Cauwenberge P, Wang DY, Wickman M, Yawn BP, Yorgancioglu A, Yusuf OM, Zar H, Annesi-Maesano I, Bateman ED, Ben Kheder A, Boakye DA, Bouchard J, Burney P, Busse WW, Chan-Yeung M, Chavannes NH, Chuchalin A, Dolen WK, Emuzyte R, Grouse L, Humbert M, Jackson

- C, Johnston SL, Keith PK, Kemp JP, Klossek JM, Larenas-Linnemann D, Lipworth B, Malo JL, Marshall GD, Naspitz C, Nekam K, Niggemann B, Nizankowska-Mogilnicka E, Okamoto Y, Orru MP, Potter P, Price D, Stoloff SW, Vandenplas O, Viegi G, Williams D; World Health Organization; GA(2)LEN; AllerGen. Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) 2008 update (in collaboration with the World Health Organization, GA(2)LEN and AllerGen). *Allergy*. 2008;63 Suppl 86:8-160. Review.
57. Miki I, Kusano A, Ohta S, Hanai N, Otsushi M, Masaki S, et al. Histamin enhanced the TNF-alpha-induced expression of E-selectin and ICAM-1 on vascular endothelial cells. *Cell Immunol* 1996;171:285-8.
58. Howarth PH. Mediators of nasal blockage in allergic rhinitis. *Allergy* 1997;52(40 Suppl):12-8.
59. Barnes NC, Smith LJ. Biochemistry and physiology of the leukotrienes. *Clin Rev Allergy Immunol* 1999;17:27-42.
60. Simon RA. The role of leukotrienes and antileukotriene agents in the pathogenesis and treatment of allergic rhinitis. *Clin Rev Allergy Immunol* 1999;17:271-5.
61. Turner P, Dear J, Scadding G, Foreman JC. Role of kinins in seasonal allergic rhinitis: icatibant, a bradykinin B2 receptor antagonist, abolishes the hyperresponsiveness and nasal eosinophilia induced by antigen. *J Allergy Clin Immunol* 2001;107(1):105-13.
62. Baraniuk JN, Silver PB, Kaliner MA, Barnes PJ. Perennial rhinitis subjects have altered vascular, glandular, and neural responses to bradykinin nasal provocation. *Int Arch Allergy Immunol* 1994;103(2):202-8.
63. Balkwill FR, Burke F. The cytokine network. *Immunol Today* 1989;10:299-304.
64. Hirano T. Molecular basis underlying functional pleiotropy of cytokines and growth factors. *Biochem Biophys Res Commun* 1999;260:303-8.

65. Ciprandi G, Pronzato C, Ricca V, Bagnasco M, Canonica GW. Evidence of intercellular adhesion molecule-1 expression on nasal epithelial cells in acute rhinoconjunctivitis caused by pollen exposure. *J Allergy Clin Immunol* 1994;94:738-46.
66. Ghaffar O, Laberge S, Jacobson MR, Lowhagen O, Rak S, Durham SR, et al. IL-13 mRNA and immunoreactivity in allergen-induced rhinitis: comparison with IL-4 expression and modulation by topical glucocorticoid therapy. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1997;17:17-24.
67. Kunkel SL. Through the looking glass: the diverse in vivo activities of chemokines. *J Clin Invest* 1999;104:1333-4.
68. Vestweber D, Blanks JE. Mechanisms that regulate the function of the selectins and their ligands. *Physiol Rev* 1999;79:181-213.
69. Vignola AM, Crampette L, Mondain M, Sauvere G, Czarlewski W, Bousquet J, et al. Inhibitory activity of loratadine and descarboethoxyloratadine on expression of ICAM-1 and HLA-DR by nasal epithelial cells. *Allergy* 1995;50:200-3.
70. Punnonen J, Aversa G, Cocks BG, McKenzie AN, Menon S, Zurawski G, et al. Interleukin 13 induces interleukin 4-independent IgG4 and IgE synthesis and CD23 expression by human B cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1993;90:3730-4.
71. Gascan H, Gauchat JF, Roncarolo MG, Yssel H, Spits H, de-Vries JE. Human B cell clones can be induced to proliferate and to switch to IgE and IgG4 synthesis by interleukin 4 and a signal provided by activated CD4+ T cell clones. *J Exp Med* 1991;173:747-50.
72. Gauchat JF, Henchoz S, Mazzei G, Aubry JP, Brunner T, Blasey H, et al. Induction of human IgE synthesis in B cells by mast cells and basophils. *Nature* 1993;365:340-3.
73. Cameron LA, Durham SR, Jacobson MR, Masuyama K, Juliusson S, Gould HJ, et al. Expression of IL-4, Cepsilon RNA, and Iepsilon RNA in the nasal mucosa of patients with seasonal rhinitis: effect of topical corticosteroids. *J Allergy Clin Immunol* 1998;101:330-6.
74. Djukanovic R, Lai CK, Wilson JW, Britten KM, Wilson SJ, Roche WR, et al. Bronchial mucosal manifestations of atopy: a comparison

- of markers of inflammation between atopic asthmatics, atopic nonasthmatics and healthy controls. *Eur Respir J* 1992;5:538-44.
75. Denburg JA. Bone marrow in atopy and asthma: hematopoietic mechanisms in allergic inflammation. *Immunol Today* 1999;20:111-3.
  76. Jordana M, Dolovich J, Ohno I, et al. Nasal polyposis: a model for chronic inflammation. In: Busse WW, Holgate ST, eds. *Asthma and rhinitis*. Boston: Blackwell, 1995;156-164.
  77. Bachert C. Comparison between polyp tissue, diseased sinus mucosa and normal nasal tissue. In: Mygind N, Lildholdt T, eds. *Nasal polyposis: an inflammatory disease and its treatment*. Copenhagen: Munksgaard, 1997;98-104.
  78. Bachert C, Wagenman M, Hauser U, et al. IL-5 synthesis is upregulated in human nasal polyp tissue. *J Allergy Clin Immunol* 1997;99:837-842.
  79. Denburg J. Nasal polyposis: cytokines and inflammatory cells. In: Mygind N, Lildholdt T, eds. *Nasal polyposis: an inflammatory disease and its treatment*. Copenhagen: Munksgaard, 1997;78-87.
  80. Galli, Stephen J. New Concepts about the Mast Cell. *N Engl J Med* 1993 328: 257- 265.
  81. Lowman MA, Rees PH, Benyon RC, Church MK. Human mast cell heterogeneity: histamine release from mast cells dispersed from skin, lung, adenoids, tonsils, and colon in response to IgE-dependent and nonimmunologic stimuli. *J Allergy Clin Immunol* 1988;81(3):590-7.
  82. Kawabori S, Okuda M, Unno T, Nakamura A. Dynamics of mast cell degranulation in human allergic nasal epithelium after provocation with allergen. *Clin Allergy* 1985;15(6):509-15.
  83. Trotter CM, Orr TSC. A fine structure of some cellular components in allergic reaction. 1. Degranulation of human mast cells in allergic asthma and perennial rhinitis. *Clin Allergy* 1973;3:411-425.
  84. Rasp G, Hochstrasser K. Tryptase in nasal fluid is a unique marker of allergic rhinitis. *Allergy* 1993;48:71-74.
  85. Wilson SJ, Lau LCK, Howarth PH. Mediator and cellular events in naturally occurring seasonal allergic rhinitis. *Clin Exp Allergy* 1994;24:977A.

86. Stites DP, Terr AI, Parslow TG. Basic & Clinical Immunology. 8th. Connecticut: Appleton & Lange; 1994.
87. Secher C, Kirkegaard J, Borum P, Maanson A, Osterhammel P, Mygind N. Significance of H1 and H2 receptors in the human nose: rationale for topical use of combined antihistamine preparations. *J Allergy Clin Immunol* 1982;70:211-8.
88. Howarth PH, Harrison K, Smith S. The influence of terfenadine and pseudoephedrine alone and in combination on allergen-induced rhinitis. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1993;107:318-321.
89. Howarth PH. Lipid mediators and allergic rhinitis. In: Robinson C, ed. *Lipid Mediators in Allergic Diseases of the Respiratory Tract*. Fort Lauderdale, FL: CRC Press, 1993;109-119.
90. Knapp HR. Reduced allergen-induced nasal congestion and leukotriene synthesis with an orally active 5-lipoxygenase inhibitor. *N Engl J Med* 1990;327:1745-8.
91. Donnelly A, Glass M, Muller B, Smart S, Hutson J, Minkwitz MC, Casale R. Leukotriene D4 (LTD4) antagonist ICI 204,219 relieves ragweed allergic rhinitis symptoms. *J Allergy Clin Immunol* 1993;91:259.
92. Bradding P, Feather IH, Wilson S, Bardin P, Holgate ST, Howarth PH. Immunolocalisation of cytokines in the nasal mucosa of normal and perennial rhinitis subjects: the mast cell as a source of IL-4, IL-5 and IL-6 in human allergic inflammation. *J Immunol* 1993; 151: 3853-3865.
93. Howarth PH, Bradding P, Quint D, Redington AE, Holgate ST. Cytokines and airway inflammation. In: Chignard M, Pretolani M, Prenesto P, Vargaftig B, eds. *Cells and cytokines in lung inflammation* 1993. *Ann NY Acad Sci* 1994;725:69-82.
94. Bradding P, Feather IH, Wilson S, Holgate ST, Howarth PH. The effects of seasonal exposure to allergic nasal cytokine immunoreactivity and its modulation by fluticasone propionate. *Thorax* 1993;48:1059.
95. Linden M, Svensson C, Andersson M, Greiff L, Andersson E, Denburg JA, et al. Circulating eosinophil/basophil progenitors and



- nasal mucosal cytokines in seasonal allergic rhinitis. *Allergy* 1999;54:212-9.
96. Giembycz MA, Lindsay MA. Pharmacology of the eosinophil. *Pharmacol Rev* 1999;51(2):213-340.
  97. Jahnsen FL, Haraldsen G, Haye R, et al. Adhesion molecules and recruitment of eosinophils. In: Mygind N, Lildholdt T, eds. *Nasal polyposis: an inflammatory disease and its treatment*. Copenhagen: Munksgaard, 1997;88-97.
  98. Beck L, Stellato C, Beall D, et al. Detection of chemokine RANTES and endothelial adhesion molecules in nasal polyps. *J Allergy Clin Immunol* 1996;98:766-780.
  99. Peters MS, Rodriguez M, Gleich GJ. Localisation of human eosinophil granule major basic protein, eosinophil cationic protein and eosinophil derived neurotoxin by immunoelectron microscopy. *Lab Invest* 1986;54:656-62.
  100. Bainton DF, Farquhar MG. Segregation and packaging of granule enzymes in eosinophilic leucocytes. *J Cell Biol* 1970;45:54-73.
  101. Tos M, Mogensen C. Mucous glands in nasal polyps. *Arch Otolaryngol* 1977;103:407-413.
  102. Stoop AE, van der Heijden HA, Biewenga J, van der Baan S. Eosinophils in nasal polyps and nasal mucosa: An immunohistochemical study. *J Allergy Clin Immunol* 1993;91:616-622.
  103. Stoop AE, Hameleers DMH, van Run PEM, Biewenga J, van der Baan S. Lymphocytes and nonlymphoid cells in the nasal mucosa of patients with nasal polyps and of healthy persons. *J Allergy Clin Immunol* 1989; 84:734-741.
  104. Yamaguchi Y, Suda T, Ohta S, Tominaga K, Miura Y and Kasahara T (1991) Analysis of the survival of mature human eosinophils: Interleukin-5 prevents apoptosis in mature human eosinophils. *Blood* 78: 2542-2547.
  105. Tai PC, Sun L, Spry CJ. Effects of IL-5, granulocyte/macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) and

- IL-3 on the survival of human blood eosinophils in vitro. *Clin Exp Immunol* 1991; 85(2): 312-6.
106. Kroegel C, Yukawa T, Dent G, Chanez P, Chung KF, Barnes PJ. Platelet-activating factor induces eosinophil peroxidase release from purified human eosinophils. *Immunology* 1988;64:559-62.
107. Maddox DE, Butterfield JH, Ackerman SJ, Coulam CB, Gleich GJ. Elevated serum levels in human pregnancy of molecule immunochemically similar to eosinophil granule major basic protein. *J Exp Med* 1983;158:1211-26.
108. Hallgren R, Bjelle A, Venge P. Eosinophil cationic protein in inflammatory synovial effusions as evidence of eosinophil involvement. *Ann Rheum Dis* 1984;43:556-62.
109. Hallgren R, Borg T, Venge P, Modig J. Signs of neutrophil and eosinophil activation in adult respiratory distress syndrome. *Crit Care Med* 1984;12:14-8.
110. Adelroth E, Rosenhall L, Johansson S-A, Linden M, Venge P. Inflammatory cells and eosinophilic activity in asthmatics investigated by bronchoalveolar lavage: the effect of antiasthmatic treatment with budesonide or terbutaline. *Am Rev Resp Dis* 1990;142:91-9.
111. Rak S, Bjornson A, Hakansson L, Sorenson, Venge P. The effect of immunotherapy on eosinophil accumulation and production of eosinophil chemotactic activity in the lung of subjects with asthma during natural pollen exposure. *J Allergy Clin Immunol* 1991;88:878-88.
112. Metcalfe DD, Bland CE, Wasserman SI. Biochemical and functional characterization of proteoglycans isolated from basophils of patients with chronic myelogenous leukaemia. *J Immunol* 1984; 132: 1943-1950.
113. Cantells MC, Irani AM, Schwartz LB. Evaluation of human peripheral blood leucocytes for mast cell tryptase. *J Immunol* 1987; 138: 2184-2191.
114. Wilde CG. Identification of eosinophil derived neurotoxin as the major protein constituent of human basophil granules. *Fed Am Soc Exp Biol J* 1992; 6: A1722.

115. Wilson S, Lau L, Howarth PH. Inflammatory mediators in naturally occurring rhinitis: nasal lavage analysis and its relationship to eosinophil recruitment. *Clin Exp Allergy* 1998; 28: 220-227.
116. Massey WA, Randall J, Kagey-Sobotka A, Warner JA, MacDonald SM, Gillis S, Lichtenstein LM. Recombinant human IL-1 alfa and IL-1 beta protentiate IgE dependent basophil histamine release. *J Immunol* 1989; 143: 1875-1880.
117. Bischoff SC, De Weck AL, Dahinden CA. Interleukin-3 and granulocyte/macrophage-colony-stimulating factor render human basophils responsive to low concentrations of complement component C3a. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 6813-6817.
118. Bischoff SC, Brunner T, De Weck AL, Dahinden CA. Interleukin 5 modifies histamine release and leukotriene generation by human basophils in response to diverse agonists. *J Exp Med* 1990; 172: 1577-1582.
119. MacDonald SM, Schleimer RP, Kagey-Sobotka A, Gillis S, Lichtenstein LM. Recombinant IL-3 induces histamine release from human basophils. *J Immunol* 1989; 142: 3527-3532.
120. Haak-Frendscho M, Dinarell C, Kaplan AP. Recombinant human interleukin-1 beta causes histamine release from human basophils. *J Allergy Clin Immunol* 1988; 82: 218-223.
121. Sim TC, Hilsmeier KA, Alam R, Allan RK, Lett-Brown MA, Grant JA. Effect of topical corticosteroids on the recovery of histamine releasing factors in nasal washings of patients with allergic rhinitis. *Am Rev Respir Dis* 1992; 145: 1316-1320.
122. Kuna P, Reddigari SR, Schall TJ, Rucinski D, Viksman MY, Kaplan AP. RANTES, a monocyte and T-lymphocyte chemotactic cytokine, releases histamine from human basophils, *J Immunol* 1992; 149: 636-642.
123. Kuna P, Reddigari SR, Schall TJ, Rucinski D, Sadick M, Kaplan AP. Characterization of the human basophil response to cytokines, growth factors, and histamine releasing factors for the intercrine/chemokine family. *J Immunol* 1993; 150: 1932-1943.

124. Rajakulasingam K, Hamid Q, O'Brien M, et al. Increases in RANTES messenger RNA and protein in the nasal mucosa and nasal secretions in hayfever patients after allergen challenge. *J Allergy Clin Immunol* 1996; 97: 43.
125. Kuna P, Lazarovich M, Kaplan AP. Chemokines in seasonal allergic rhinitis. *J Allergy Clin Immunol* 1996; 97: 104-112.
126. Calderon MA, Lozewicz S, Prior A, Jordan S, Trigg CJ, Davies RJ. Lymphocyte infiltration and thickness of the nasal mucus membrane in perennial and seasonal allergic rhinitis. *J Allergy Clin Immunol* 1994; 93: 635-643.
127. Karlsson MG, Davidsson A, Hellquist HB. Increase in CD4<sup>+</sup> and CD45RO<sup>+</sup> memory T-cells in the nasal mucosa of allergic patients. *APMIS* 1994; 102: 753-758.
128. A95. Fokkens WJ, Holm AF, Rijntes E, Mulder PS, Vroom TM. Characterisation and quantification of cellular infiltrates in nasal mucosa of patients with grass pollen allergy, nonallergic patients and controls. *Int Arch Allergy Immunol* 1990; 93: 66-72.
129. Del-Prete GF, De Carli M, D'Elia MM, Maestrelli P, Ricci M, Fabbri L, Romagnani S. Allergen exposure induces the activation of allergen-specific Th 2 cells in the airway mucosa of patients with allergic respiratory disorders. *Eur J Immunol* 1993; 23: 1445-1449.
130. Burrows PD, Cooper MD. B cell development and differentiation. *Curr Opin Immunol* 1997;9:239-44.
131. Durham SR, Gould HJ, Hamid QA. Local IgE production in nasal allergy. *Int Arch Allergy Immunol* 1997;113:128-30.
132. Bousquet J, Chanez P, Arnoux B, Vignola M, Damon M, Michel F, et al. Monocytes and macrophages in asthma. In: Townley R, Agrawal D, editors. *Immunopharmacology of allergic diseases*. NY: Marcel Dekker Inc; 1996. p. 263-86.
133. Juliusson S, Bachert C, Klementsson H, Karlsson G, Pipkorn U. Macrophages on the nasal mucosal surface in provoked and naturally occurring allergic rhinitis. *Acta Otolaryngol Stockh* 1991;111:946-53.

134. Fokkens WJ, Vroom TM, Rijntjes E, Mulder PG. CD-1 (T6), HLA-DRexpressing cells, presumably Langerhans cells, in nasal mucosa. *Allergy* 1989;44:167-72.
135. Kapsenberg ML, Hilkens CM, Wierenga EA, Kalinski P. The paradigm of type 1 and type 2 antigen-presenting cells. Implications for atopic allergy. *Clin Exp Allergy* 1999;2:33-6.
136. Nelson DJ, McWilliam AS, Haining S, Holt PG. Modulation of airway intraepithelial dendritic cells following exposure to steroids. *Am J Respir Crit Care Med* 1995;151:475-81.
137. Luts A, Uddman R, Alm P, Basterra J, Sundler F. Peptide-containing nerve fibers in human airways: distribution and coexistence pattern. *Int Arch Allergy Immunol* 1993;101:52-60.
138. Nonaka M, Nonaka R, Jordana M, Dolovich J. GM-CSF, IL-8, IL-1R, TNF-alpha R, and HLA-DR in nasal epithelial cells in allergic rhinitis. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;153:1675-81.
139. Nonaka M, Pawankar R, Saji F, Yagi T. Distinct Expression of RANTES and GM-CSF by Lipopolysaccharide in Human Nasal Fibroblasts but Not in Other Airway Fibroblasts. *Int Arch Allergy Immunol* 1999;119:314-21.
140. Venge P. Serum measurements of eosinophil cationic protein (ECP) in bronchial asthma. *Clin Exp Allergy* 1993;23(Suppl 2):3-7.
141. Bjornsson E, Janson C, Hakanson L, Enander I, Venge P, Boman G. Serum eosinophil cationic protein in relation to bronchial asthma in a young Swedish population. *Allergy* 1994;49:730-6.
142. Ferguson AC, Vaughan R, Brown, Curtis C. Evaluation of serum eosinophilic protein as a marker of disease activity in chronic asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1995;95:23-8.
143. Juliusson S, Holmberg K, Baumgartner R, Olsson M, Enander I, Pipkorn U. Tryptase nasal lavavage fluid after local allergen challenge. *Allergy* 1991;46: 459-65.
144. Howarth PH, Bradding P, Quint D, Redington AE, Holgate ST. Cytokines and airway inflammation. In: Chignard M, Pretolani M, Prenesto P, Vargaftig B, eds. *Cells and cytokines in lung inflammation* 1993. *Ann NY Acad Sci* 1994;725:69-82.

145. Bousquet J, Chanaz P, Lacoste JY, et al. Indirect evidence of bronchial inflammation assessed by titration of inflammatory mediators in BAL fluid of patients with asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1991;88:649-60.
146. Ferguson AC, Whitelaw MM, Brown H. Correlation of bronchial eosinophil and mast cell activation with bronchial hyperresponsiveness in children with asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1992;90:609-13.
147. Schwartz Lb, Yunginger JW, Miller J, Bokhari R, Dull D. Time course of appearance and disappearance of human mast cell tryptase in the circulation after anaphylaxis. *J Clin Invest* 1989;83:1551-5.
148. Klimek L, Rasp G. Cell activation markers in rhinitis and rhinosinuitis. *Laryngo Rhino Otologie* 1996;75:665-70.
149. Benninger MS, Senior BA. The development of the Rhinosinusitis Disability Index. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 1997;123(11):1175-9.
150. Metson RB, Gliklich RE. Clinical outcomes in patients with chronic sinusitis. *Laryngoscope.* 2000;110(3 Pt 3):24-8.
151. Fairley JW, Durham LH, Ell SR. Correlation of subjective sensation of nasal patency with nasal inspiratory peak flow rate. *Clin Otolaryngol.* 1993;18(1):19-22.
152. Sipila J, Suonpaa J, Laippala P. Sensation of nasal obstruction compared to rhinomanometric results in patients referred for septoplasty. *Rhinology.* 1994;32(3):141-4.
153. Eccles R, Jones AS. The effect of menthol on nasal resistance to air flow. *J Laryngol Otol.* 1983 Aug;97(8):705-9.
154. Jones AS, Willatt DJ, Durham LM. Nasal airflow: resistance and sensation. *J Laryngol Otol.* 1989;103(10):909-11.
155. Numminen J, Ahtinen M, Huhtala H, Rautiainen M. Comparison of rhinometric measurements methods in intranasal pathology. *Rhinology.* 2003;41(2):65-8.
156. Mudgil SP, Wise SW, Hopper KD, Kasales CJ, Mauger D, Fornadley JA. Correlation between presumed sinusitis-induced pain

and paranasal sinus computed tomographic findings. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2002 Feb;88(2):223-6.

157. Ware JE, Jr., Sherbourne CD. The MOS 36-item short-form health survey (SF-36). I. Conceptual framework and item selection. *Med Care.* 1992;30(6):473-83.
158. Gliklich RE, Metson R. The health impact of chronic sinusitis in patients seeking otolaryngologic care. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1995;113(1):104-9.
159. Piccirillo JF, Merritt MG, Jr., Richards ML. Psychometric and clinimetric validity of the 20-Item Sino-Nasal Outcome Test (SNOT-20). *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2002;126(1):41-7.
160. Ragab SM, Lund VJ, Scadding G. Evaluation of the medical and surgical treatment of chronic rhinosinusitis: a prospective, randomised, controlled trial. *Laryngoscope.* 2004 May;114(5):923-30.
161. Qvarnberg Y, Kantola O, Salo J, Toivanen M, Valtonen H, Vuori E. Influence of topical steroid treatment on maxillary sinusitis. *Rhinology.* 1992;30(2):103-12.
162. Lund VJ, Black JH, Szabo LZ, Schrewelius C, Akerlund A. Efficacy and tolerability of budesonide aqueous nasal spray in chronic rhinosinusitis patients. *Rhinology.* 2004 Jun;42(2):57-62.
163. Lavigne F, Cameron L, Renzi PM, Planet JF, Christodoulopoulos P, Lamkioued B, et al. Intranasal administration of topical budesonide to allergic patients with chronic rhinosinusitis following surgery. *Laryngoscope.* 2002;112(5):858-64.
164. Cuenant G, Stipon JP, Plante-Longchamp G, Baudoin C, Guerrier Y. Efficacy of endonasal neomycin-tixocortol pivalate irrigation in the treatment of chronic allergic and bacterial sinusitis. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec.* 1986;48(4):226-32.
165. Puhakka T, Makela MJ, Malmstrom K, Uhari M, Savolainen J, Terho EO, et al. The common cold: effect of intranasal fluticasone propionate treatment. *J Allergy Clin Immunol* 1998;101(6 Pt1):726-31.

166. McNally PA, White MV, Kaliner MA. Sinusitis in an allergist's office: analysis of 200 consecutive cases. *Allergy Asthma Proc.* 1997;18(3):169-75.
167. Legent F, Bordure P, Beauvillain C, Berche P. A double-blind comparison of ciprofloxacin and amoxicillin/clavulanic acid in the treatment of chronic sinusitis. *Chemotherapy.* 1994;40(Suppl 1):8-15.
168. Namyslowski G, Misiolek M, Czecior E, Malafiej E, Orecka B, Namyslowski P, et al. Comparison of the efficacy and tolerability of amoxicillin/clavulanic acid 875 mg b.i.d. with cefuroxime 500 mg b.i.d. in the treatment of chronic and acute exacerbation of chronic sinusitis in adults. *J Chemother.* 2002;14(5):508-17.
169. Hashiba M, Baba S. Efficacy of long-term administration of clarithromycin in the treatment of intractable chronic sinusitis. *Acta Otolaryngol Suppl.* 1996;525:73-8.
170. Gandhi A, Brodsky L, Ballow M. Benefits of antibiotic prophylaxis in children with chronic sinusitis: assessment of outcome predictors. *Allergy Proc.* 1993;14(1):37-43.
171. Kohyama T, Takizawa H, Kawasaki S, Akiyama N, Sato M, Ito K. Fourteen-member macrolides inhibit interleukin-8 release by human eosinophils from atopic donors. *Antimicrob Agents Chemother.* 1999;43(4):907-11.
172. Miyanohara T, Ushikai M, Matsune S, Ueno K, Katahira S, Kurono Y. Effects of clarithromycin on cultured human nasal epithelial cells and fibroblasts. *Laryngoscope.* 2000;110(1):126-31.
173. Scheinberg PA, Otsuji A. Nebulized antibiotics for the treatment of acute exacerbations of chronic rhinosinusitis. *Ear Nose Throat J.* 2002;81(9):648-52.
174. Otten FW. Conservative treatment of chronic maxillary sinusitis in children. Long-term follow-up. *Acta Otorhinolaryngol Belg.* 1997;51(3):173-5.
175. Ponikau JU, Sherris DA, Kern EB, Homburger HA, Frigas E, Gaffey TA, et al. The diagnosis and incidence of allergic fungal sinusitis. *Mayo Clin Proc.* 1999;74(9):877-84.



176. Braun H, Buzina W, Freudenschuss K, Beham A, Stammberger H. 'Eosinophilic fungal rhinosinusitis': a common disorder in Europe? *Laryngoscope*. 2003;113(2):264-9.
177. Weschta M, Rimek D, Formanek M, Polzehl D, Podbielski A, Riechelmann H. Topical antifungal treatment of chronic rhinosinusitis with nasal polyps: a randomized, double-blind clinical trial. *J Allergy Clin Immunol*. 2004 Jun;113(6):1122-8.
178. Talbot AR, Herr TM, Parsons DS. Mucociliary clearance and buffered hypertonic saline solution. *Laryngoscope*. 1997;107(4):500-3.
179. Weaver EM. Association between gastroesophageal reflux and sinusitis, otitis media, and laryngeal malignancy: a systematic review of the evidence. *Am J Med*. 2003;115(Suppl 3A):81S-9S.
180. Parnes SM, Chuma AV. Acute effects of antileukotrienes on sinonasal polyposis and sinusitis. *Ear Nose Throat J*.
181. Arnes E, Anke IM, Mair IWI. A comparison between middle and inferior meatal antrostomy in the treatment of chronic maxillary sinus infection. *Rhinology*. 1985;23(1):65-9.
182. Watson WTA, Becker AB, Simons FER. Treatment of allergic rhinitis with intranasal corticosteroids in patient with mild asthma: Effect on lower airway responsiveness. *J Allergy Clin Immunol* 1993;91:97-101.
183. Barnes PJ, Adcock I. Anti-inflammatory actions of steroids: molecular mechanisms. *Trends Pharmacol Sci* 1993;14:436-441.
184. Meltzer EO. Nasal cytological changes following pharmacological intervention. *Eur J Allergy Clin Immunol* 1995;50:15-20.
185. Sweibert LA, Beck LA, Stellato C. Glucocorticosteroid inhibition of cytokine production: relevance to antiallergic actions. *J Allergy Clin Immunol* 1996;97:143-152.
186. Van de Slope A, Caldenhoven E, Raaijmakers JAM. Glucocorticosteroid-mediated repression of Intercellular Adhesion

Molecule-1 expression in human monocytic and bronchial epithelial cell lines. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1993;8:340-47.

187. Bousquet J, Clark TJ, Hurd S, Khaltaev N, Lenfant C, O'byrne P. GINA guidelines on asthma and beyond. *Allergy* 2007; 62:102-12.
188. Fokkens W, Lund V, Mullol J; European Position Paper on Rhinosinusitis and Nasal Polyps group. European position paper on rhinosinusitis and nasal polyps 2007. *Rhinol Suppl.* 2007;(20):1-136.
189. Van Zele T, Claeys S, Gevaert P, Van Maele G, Holtappels G, Van Cauwenberge P, Bachert C. Differentiation of chronic sinus diseases by measurement of inflammatory mediators. *Allergy* 2006;61:1280-9.
190. Riechelmann H, Deutschle T, Rozsasi A, Keck T, Polzehl D, Bürner H. Nasal biomarker profiles in acute and chronic rhinosinusitis. *Clin Exp Allergy* 2005;35:1186-91.
191. Polzehl D, Moeller P, Riechelmann H, Perner S (2006) Distinct features of chronic rhinosinusitis with and without nasal polyps. *Allergy* 2006;61:1275-9.
192. Riise GC, Andersson B, Ahlstedt S, Enander I, Söderberg M, Löwhagen O. Bronchial brush biopsies for studies of epithelial inflammation in stable asthma and nonobstructive chronic bronchitis. *Eur Respir J* 1996;9:1665-71.
193. Monteseirín J, Chacón P, Vega A, El Bekay R, Alvarez M, Alba G, Conde M. Human neutrophils synthesize IL-8 in an IgE-mediated activation. *J Leukoc Biol* 2004;76:692-700.
194. Hussain I, Jain VV, Kitagaki K, Businga TR, O'Shaughnessy P, Kline JN. Modulation of murine allergic rhinosinusitis by CpG oligodeoxynucleotides. *Laryngoscope* 2002;112:1819-26
195. Conley DB, Tripathi A, Ditto AM, Reid K, Grammer LC, Kern RC. Chronic sinusitis with nasal polyps: staphylococcal exotoxin immunoglobulin E and cellular inflammation. *Am J Rhinol* 2004;18:273-8.

196. Calenoff E, McMahan JT, Herzon GD, Kern RC, Ghadge GD, Hanson DG Bacterial allergy in nasal polyposis. A new method for quantifying specific IgE. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1993;119:830-6.
197. Gevaert P, Holtappels G, Johansson SG, Cuvelier C, Cauwenberge P, Bachert C Organization of secondary lymphoid tissue and local IgE formation to *Staphylococcus aureus* enterotoxins in nasal polyp tissue. *Allergy* 2005;60:71-9.
198. Ogata N, Masuyama K, Yoshida M, Samejima Y, Eura M, Ishikawa T. Preferential infiltration by activated eosinophils in allergic sinusitis. *Auris Nasus Larynx* 1997;24:279-87.
199. Jyonouchi H, Sun S, Rimell FL. Cytokine production by sinus lavage, bronchial lavage, and blood mononuclear cells in chronic rhinosinusitis with or without atopy. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2000;126:522-8.
200. Suzuki M, Watanabe T, Suko T, Mogi G. Comparison of sinusitis with and without allergic rhinitis: characteristics of paranasal sinus effusion and mucosa. *Am J Otolaryngol* 1999;20:143-50.
201. Piette V, Bousquet C, Kvedariene V, Dhivert-Donnadieu H. Sinus CT scans and mediator release in nasal secretions after nasal challenge with cypress pollens. *Allergy* 2004;59(8):863-8
202. Rocha-de-Souza CM, Berent-Maoz B, Mankuta D, Moses AE, Levi-Schaffer F. Human mast cell activation by *Staphylococcus aureus*: IL-8 and TNF- $\alpha$  release and the role of Toll-Like receptor 2 and CD48 molecules. *Infect Immun*. 2008 Jul 21 [Epub ahead of print]
203. Lin TJ, Garduno R, Boudreau RT, Issekutz AC. *Pseudomonas aeruginosa* activates human mast cells to induce neutrophil transendothelial migration via mast cell-derived IL-1  $\alpha$  and  $\beta$ . *J Immunol*. 2002;169(8):4522-30.
204. Brook I, Thompson DH, Frazier EH. Microbiology and management of chronic maxillary sinusitis. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1994;120(12):1317-20.

205. Rombaux P, Gigi J, Hamoir M, Eloy P, Bertrand B.  
Bacteriology of chronic sinusitis: the bulla ethmoidalis content.  
Rhinology 2002;40(1):18-23.
206. Schlosser RJ, London SD, Gwaltney JM Jr, Gross CW.  
Microbiology of chronic frontal sinusitis. Laryngoscope  
2001;111(8):1330-2.
207. Brook I, Frazier EH. Correlation between microbiology and  
previous sinus surgery in patients with chronic maxillary sinusitis.  
Ann Otol Rhinol Laryngol 2001;110(2):148-51.
208. Keech DR, Ramadan H, Mathers P. Analysis of aerobic  
bacterial strains found in chronic rhinosinusitis using the polymerase  
chain reaction. Otolaryngol Head Neck Surg 2000;123(4):363-7.
209. Ebbens FA, Fokkens WJ. The mold conundrum in chronic  
rhinosinusitis: where do we stand today? Curr Allergy Asthma Rep.  
2008;8(2):93-101.
210. Kern EB, Sherris D, Stergiou AM, Katz LM, Rosenblatt LC,  
Ponikau J. Diagnosis and treatment of chronic rhinosinusitis: focus on  
intranasal Amphotericin B. Ther Clin Risk Manag. 2007;3(2):319-25.
211. Woodworth BA, Tamashiro E, Bhargava G, Cohen NA,  
Palmer JN. An in vitro model of Pseudomonas aeruginosa biofilms on  
viable airway epithelial cell monolayers. Am J Rhinol.  
2008;22(3):235-8
212. Prince AA, Steiger JD, Khalid AN, Dogrhamji L, Reger C, Eau  
Claire S, Chiu AG, Kennedy DW, Palmer JN, Cohen NA. Prevalence  
of biofilm-forming bacteria in chronic rhinosinusitis. Am J Rhinol.  
2008;22(3):239-45.
213. Hartog B, Degener JE, Van Benthem PP, Hordijk GJ.  
Microbiology of chronic maxillary sinusitis in adults: isolated aerobic  
and anaerobic bacteria and their susceptibility to twenty antibiotics.  
Acta Otolaryngol 1995;115(5):672-7.

214. Dudley S, Ashe K, Winther B, Hendley JO. Bacterial pathogens of otitis media and sinusitis: detection in the nasopharynx with selective agar media. *J Lab Clin Med* 2001;138:338-42
215. Bhattacharyya N, Kepnes LJ. The risk of development of antimicrobial resistance in individual patients with chronic rhinosinusitis. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2004;130(10):1201-4.
216. Anand V, Levine H, Friedman M, Krespi Y, Panje W, Schettino R, Stankiewicz J, Tichenor W, Kacker A, Horn C. Intravenous antibiotics for refractory rhinosinusitis in nonsurgical patients: preliminary findings of a prospective study. *Am J Rhinol* 2003;17(6):363-8.
217. Robinson S, Der-Haroutian V, Grove D, Rees G, Wormald PJ. Prevalence of pus in radiologically diseased sinuses in patients undergoing surgery for chronic rhinosinusitis. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2005;133(2):181-4.
218. Bresser P, Out TA, van Alphen L, Jansen HM, Lutter R. Airway inflammation in nonobstructive and obstructive chronic bronchitis with chronic haemophilus influenzae airway infection. Comparison with noninfected patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;162(3 Pt 1):947-52.
219. Frangova V, Sacco O, Silvestri M, Oddera S, Balbo A, Crimi E, Rossi GA. BAL neutrophilia in asthmatic patients – a by-product of eosinophil recruitment. *Chest* 1996;110:1236-42
220. Fiorini G, Crespi S, Rinaldi M, Oberti E, Vigorelli R, Palmieri G. Serum ECP and MPO are increased during exacerbations of chronic bronchitis with airway obstruction. *Biomed Pharmacother* 2000;54(5):274-8
221. White AJ, Gompertz S, Bayley DL, Hill SL, O'Brien C, Unsal I, Stockley RA. Resolution of bronchial inflammation is related to

bacterial eradication following treatment of exacerbations of chronic bronchitis. *Thorax* 2003;58(8):680-5.

222. Greiff L, Andersson M, Svensson C, Linden M, Myint S, Persson CG.  
Allergen challenge-induced acute exudation of IL-8, ECP and alpha2-macroglobulin in human rhinovirus-induced common colds. *Eur Respir J* 1999;13(1):41-7.
223. Jacobi HH, Poulsen LK, Reimert CM, Skov PS, Ulfgren AK, Jones I, Elfman LB, Malling HJ, Mygind N. IL-8 and the activation of eosinophils and neutrophils following nasal allergen challenge. *Int Arch Allergy Immunol* 1998;116(1):53-9.
224. Ramadan HH, Sanclement JA, Thomas JG. Chronic rhinosinusitis and biofilms. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2005;132(3):414-7.
225. Magnan A, Meunier JP, Saugnac C, Gasteau J, Neukirch F. Frequency and impact of allergic rhinitis in asthma patients in everyday general medical practice: a French observational cross-sectional study. *Allergy*. 2008;63(3):292-8.
226. Bhattacharyya N. Relationship between mucosal inflammation, computed tomography, and symptomatology in chronic rhinosinusitis without polyposis. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 2008 ;117(7):517-22
227. Bhattacharyya N. A comparison of symptom scores and radiographic staging systems in chronic rhinosinusitis. *Am J Rhinol*. 2005 ;19(2):175-9.
228. Wabnitz DA, Nair S, Wormald PJ. Correlation between preoperative symptom scores, quality-of-life questionnaires, and staging with computed tomography in patients with chronic rhinosinusitis. *Am J Rhinol*. 2005;19(1):91-6.
229. Kountakis SE, Arango P, Bradley D, Wade ZK, Borish L. Molecular and cellular staging for the severity of chronic rhinosinusitis. *Laryngoscope*. 2004;114(11):1895-905.

## 10. Životopis

Rođen sam 5. ožujka 1970. godine u Zagrebu. Osnovnu i srednju školu završio sam u Zagrebu. Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu upisao sam 1988. godine, a diplomirao u ožujku 1994. godine s prosjekom ocjena 4,81. Za vrijeme studija tijekom tri godine bio sam demonstrator na Katedri za anatomiju, te demonstrator, a potom i voditelj vježbi na Katedri za anesteziologiju i reanimatologiju Medicinskog fakulteta. Kao student bio sam na studentskoj praksi u Finskoj i Njemačkoj. Poslijediplomski studij iz Kliničke imunologije na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu upisao sam u školskoj godini 1994./95. te položio sve ispite. Liječnički pripravnički staž obavio sam u OB «Sveti duh». Državni ispit položio sam 14. lipnja 1996. godine.

1997. godine započeo sam specijalizaciju otorinolaringologije na Klinici za otorinolaringologiju i kirurgiju glave i vrata KB »Sestre milosrdnice«. Tijekom specijalizacije završio sam obvezni poslijediplomski studij iz otorinolaringologije i maksilofacijalne kirurgije. Također sam završio i poslijediplomski tečaj iz ultrazvuka štitnjače i površinskih organa pri Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Stručno sam se usavršavao na Klinici Grosshadern u Munchenu koja pripada Ludvig Maximilians Sveučilištu u Munchenu. 19. ožujka 2002.g. položio sam specijalistički ispit i od tada radim kao specijalist na Klinici za otorinolaringologiju i kirurgiju glave i vrata KB „Sestre milosrdnice“

13. veljače 2003. godine stekao sam titulu magistra znanosti obranom znanstvenog magistarskog rada pod imenom «Odnos razine leukocitnih biljega u ispirku čeljusnih sinusa i stupnja bronhijalne hiperreaktivnosti u bolesnika s kroničnim sinuitisom» pred povjerenstvom Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Autor i koautor sam više radova i izlaganja na međunarodnim kongresima što je u prilogu pojedinačno navedeno. Od toga su dva rada u cijelosti objavljena u CC časopisu, kao i jedan CC sažetak. Aktivno sudjelujem u poslijediplomskoj nastavi iz Otorinolaringologije i kirurgije glave i vrata, Onkologije, Školske medicine i Zaštite majke i djeteta pri Medicinskom fakultetu.