



**МИНИСТАРСТВО ОДБРАНЕ
УНИВЕРЗИТЕТ ОДБРАНЕ
ВОЈНОМЕДИЦИНСКА АКАДЕМИЈА
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ**



Слободан Аћимовић

**Процена повезаности клиничког стања, вредности параметара
механике дисања, варијабилности плућне вентилације,
инфламације и хиперсензитивности у интермитентној астми**

Докторска дисертација

Београд, 2016. год.

„Рад посвећујем успомени на мајку Веру и оца Љубомира“

Захвалница:

Велику захвалност дугујем свом ментору, проф. др Зорици Лазић, на помоћи и сугестијама које су помогле да се започети рад успешно приведе крају.

Захваљујем се и проф. др Данилу Војводићу за избор и помоћ у извођењу имунолошких тестова за процену инфламације која карактерише алергијску бронхијалну астму. Такође се захваљујем и проф. др Душану Стефановићу на сугестијама, помоћи и мотивисању у изради овог рада.

Посебну захвалност дугујем др сц. мед. Немањи Ранчићу, на помоћи и истрајности коју је показао током израде комплетне статистичке анализе студијских података и који је проналазећи релевантну и актуелну литературу допринео изради финалне верзије докторске дисертације.

Велику захвалност за помоћ током израде овог рада дугујем и колегицима пулмологима др Оливери Лончаревић и др Јелени Вуковић. Захваљујем и лекарима на специјализацији Милић Гордани, Миливојевић Ивани, Игњић Гордани и Павловић Драгану за помоћ у раду са испитаницима и у изради базе података.

Захваљујем се др Весни Шкулетић која је извршила цитолошки преглед индукованог спутума и бриса носа.

Захваљујем се сарадницима из Одељења за функцијску дијагностику Клинике за пулмологију, вишим медицинским техничарима Кавалић Мирјани, Маријановић Љиљани, Мићић Мирјани и Давидоски Сузани, које су изводиле функцијске тестове и фармакодинамско тестирање.

Захваљујем се сарадницима, лаборантима из Института за медицинску биохемију, као и доц. др Јанку Пејовићу, на помоћи око прикупљања узорака крви од испитаника. Захваљујем се Медицинском факултету ВМА као и свим осталим организационим деловима Војномедицинске академије који су ми, свако у свом домену, омогућили да реализујем овај рад.

Захваљујем се свим запосленима у Клиници за пулмологију на сарадњи која је у одређеном степену помогла у изради овога рада.

Захваљујем се својој супрузи Светлани и деци Стефану и Луки на подршци и љубави.

Садржај:

1. Увод	5
1.1. Бронхијална астма	5
1.2. Бронхијална хиперреактивност	8
1.3. Бронхопровокацијско тестирање	11
1.4. Проблем истраживања	14
2. Хипотезе	15
3. Циљеви истраживања	16
4. Испитаници и методе	17
4.1. Испитаници	17
4.2. Методе	17
4.3. Подела испитаника на групе	20
4.4. Статистичка обрада података	21
5. Резултати	22
5.1. Демографске карактеристике пацијената	22
5.2. Тренутни физички налаз на плућима, раније присутне тегобе и биохемијски параметри	23
5.3. Кожене пробе са инхалационим алергенима	25
5.4. Иницијални налаз тестова плућне вентилације	26
5.5. Налаз тестова плућне вентилације након тестирања хистамином односно бета-2 адренергичким агонистом, као и биохемијских налаза од интереса	27
5.6. Налази телесне плетизмографије	32
5.7. Налази импулсне осцилометрије (IOS)	40
5.8. Индукована хиперреактивност бронха хистамином у првој групи испитаника: хистамин позитивни и хистамин негативни испитаници	45
5.9. Налази цитологије у брису носа и спутуму у обе испитиване групе	66
6. Дискусија	70
7. Закључак	81
8. Литература	83

1. Увод

1.1. Бронхијална астма

Бронхијална астма јесте хронична хетерогена инфламаторна болест дисајних путева која се клинички испољава епизодама напада отежаног дисања, посебно у фази експиријума, кратким дахом, праћеним звиждањем у грудима и кашљем са искашљавањем густог жилавог и лепљивог секрета ^{1, 2}. Патогенетски, бронхијална астма се одликује хроничном инфламацијом бронхијалне слузнице и бронхијалном хиперсензитивношћу, које скупа резултирају појавом варијабилних, претежно опструкцијских, поремећаја плућне вентилације, односно лимитирањем протока ваздуха при дисању ³⁻⁷. Присутна је код 1-18% популације, у зависности од земаља и региона ¹. Током 2004. године процењено је да од астме болује око 300 милиона људи широм света свих старосних структура, а процена је да ће до 2025. године оболети још око 100 милиона људи ^{8,9}.

За настанак симптома астме одговорна је бронхоопструкција коју уз бронхоспазам узрокују и појачана мукозна секреција и едем слузнице дисајних путева ¹. Основни патофизиолошки механизам астме јесте упала дисајних путева, а повремена и варијабилна опструкција дисајних путева и бронхална хиперреактивност њене су значајне манифестације. Као што је већ речено, за настанак симптома одговорна је бронхоопструкција коју уз бронхоспазам узрокују појачана мукозна секреција и едем слузнице дисајних путева. Инфламација дисајних путева укључује садејство великог броја механизма: хиперреактивност, едем слузнице дисајних путева, хиперсекреција бронхијалних жлезда и повећана продукција слузи, хипертрофија глатких мишића и ремоделирање дисајних путева.

У развоју и одржавању хроничне упале у дисајним путевима учествују инфламацијске и структурне ћелије, неурорегулаторне супстанце и медијатори (хистамин и хемотактички фактори, леукотријени и бројни цитокини: фактор стимулације гранулоцита и макрофага, фактор туморске некрозе, интерлеукини (IL)- 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 11, 13, 17 и други) ^{6, 10-18}.

За инфламацију у астми најзначајније ћелије су активисани мастоцити, активисани Т-лимфоцити и еозинофилни леукоцити. У раној астматској реакцији, код сензибилисаних особа, након излагања алергену и његовог везивања за специфична антитела, активисани

мастоцити излучују медијаторе акутне фазе (који укључују леукотријене и инфламаторне цитокине), који имају улогу да одрже упалну фазу¹⁸. Они ослобађају и IL-5, који доводи до диференцијације TH2 лимфоцита, хемотаксе и диференцијације еозинофилних леукоцита, модификације активности базофила и активације ензима триптазе, што све доводи до даљег развоја инфламације у дисајним путевима^{15, 16}. Мобилисани и активисани еозинофилни леукоцити имају централну ефекторну улогу у развоју и одржавању инфламације у астми продукујући бројне медијаторе, између осталих и главни базни протеин, еозинофилни катјонски протеин (ЕСР), еозинофилни неуротоксин и еозинофилну пероксидазу^{13, 14}. Рибонуклеаза, ЕСР, делује на респираторни епител и пнеумоците тако да доводи до оштећења епителне баријере и активације адхезивних молекула, мобилизације других инфламацијских ћелија и стимулације фибробласта¹⁹⁻²¹.

Дијагноза астме се поставља на основу клиничког прегледа (комплетан физикални налаз, анамнеза о тегобама при дисању и комплетна историја болести, при чему је најзначајнији патолошки физички налаз на плућима), тестова плућне функције (спирометрија, вршни експиријумски проток, бронходилататорни тестови и специфичне и неспецифичне бронихајне промене) који могу потврдити постојање астме и постојање варијабилног ограничења протока ваздуха кроз дисајне путеве и алерголошких тестова (одређивање специфичних IgE антитела и кожни прик тестови) који могу идентификовати атопијску конституцију и фактор који је узрок настанка напада бронхијалне астме. Код неких пацијената користи се и радиолошка дијагностика и мерење појединих маркера инфламације (у узорку спутума, биоптату или након бронхо-алвеоларне лаваже одређују се инфламаторне ћелије и цитокини, мерење медијатора и њихових метаболита у крви и урину и мерење концентрације азот-моноксида у издахнутом ваздуху)^{1, 22, 23}. Варијабилност поремећаја плућне вентилације утврђује се на основу спонтане еволуције, бронходилататорних тестова и доказивања хиперсензитивности¹.

За испитивање плућне функције у болесника са астмом најчешће се користи спирометријски тест којим се одређују вредности параметара плућне вентилације: форсирани витални капацитет (FVC), форсирани експиријумски волумен у првој секунди (FEV1) и однос FEV1/FVC%. У испољеној астми региструју се најчешће опструкцијски поремећаји вентилације (смањење FEV1) и у таквим случајевима се рутински изводи бронходилатацијски тест ради провере варијабилности поремећаја²⁴. У дијагностици и праћењу астме могу се

користити и друге методе као што су кривуља проток-волумен, мерење вршног експиријумског протока (peak expiratory flow- PEF), телесна плетизмографија, плућна комплијанса, одређивање вредности трансфер фактора плућа, гасне анализе артеријске крви са ацидо-базним статусом и импулсна осцилометрија (IOS) ^{1, 22, 25-29}.

У дијагностици астме, у истраживачке сврхе, а данас у многим центрима и током рутинских анализа, многе анализе, које смо већ побројали, се могу користити: анализа цитолошког састава и различитих цитокина у спутуму/индукованом спутуму, брису носа и садржају добијеног бронхоалвеоларном лаважом у току бронхоскопије, патохистолошки преглед биопсије слузнице бронха и одређивање концентрације азот-моноксика (NO) у издахнутом ваздуху ³⁰⁻⁴².

Астма је хронична, неизлечива болест, у чијој основи постоји трајна инфламација у дисајним путевима, која варира у свом интензитету и клиничким манифестацијама, било спонтано или услед примењеног лечења. Стога се клиничарима, препоручује класификација астме према степену контроле болести, на благу, умерену, тешку и врло тешку, у зависности од вредности FEV1 и FEV1/FVC ⁴³.

У научно-истраживачке сврхе и даље је од користи подела астме према учесталости тегоба. Према учесталости тегоба бронхијална астма се класификује на интермитентну и перзистентну. У интермитентној астми тегобе болесника су повремене, спирометријски тест ван епизода напада не показује поремећаје и бронхопровокацијски тестови најчешће су негативни ^{6, 24, 35}. Тегобе се јављају ређе од једном седмично, погоршања су краткотраја, а вредности FEV1 и PEF су веће од 80% предвиђене вредности са варијабилношћу мањом од 20% ⁶. Перзистентна астма може бити блага, средње тешка и тешка. Блага перзистентна астма се карактерише јављањем симптома више од једанпутa недељно, ноћни напади више од два пута месечно, вредности FEV1 и PEF су веће од 80%, а варијабилност је од 20-30%. Код тешког стадијума, симптоми су стално присутни, честе су егзацербације и ноћни напади, ограничена је физичка активност, док су вредности FEV1 и PEF су мање или једнако 60%, док је варијабилност већа од 30%.

1.2.Бронхијална хиперреактивност

Бронхијална хиперреактивност је значајна патофизиолошка карактеристика астме која може да објасни многе њене особине ⁴⁴. Она се карактерише значајним абнормалним смањењем у протоку ваздуха након излагања одговарајућем провоцирајућем стимулусу ⁴⁵.

Бронхијална хиперреактивност подразумева појачани одговор бронха на уобичајене физиолошке стимулусе, а може се презентовати кашљем, пароксизмом кашља, све до тусигене синкопе и бронхоспазма ⁴⁶. Бронхијална хиперреактивност се класификује према присуству респираторних симптома као пролазна и трајна. Пролазна бронхијална хиперреактивност појављује се код акутних упала горњих и доњих дисајних путева и презентује се сувим наддражајним кашљем који може потрајати и до два месеца. Насупрот њему, трајни облик се обично дијагностикује код особа са алергијским ринитисом (10-50% испитаника показују бронхијалну хиперреактивност), хроничним бронхитисом (50% испитаника) и бронхијалном астмом (100% испитаника); међутим, може се дијагностиковати и у 10-20% здравих особа ⁴⁷.

Бронхијална хиперреактивност може бити наслеђена или стечена. Хромозомски локус 5к31-К33 који је одговоран за атопије, одговоран је и за бронхијалну хиперреактивност. Ово место је критично за настанак и развој инфламације дисајних путева и патогенезу бронхијалне астме. Стечени облик бронхијалне хиперреактивности обично нема ову генетску позадину и последица је других узрока ⁴⁸.

Улога IgE пута у патогенези бронхијалне хиперреактивности дефинише да ли је специфичан или неспецифичан облик овог обољења ⁴⁷. Специфична хиперреактивност на одређене алергене посредована је углавном IgE-ом и зависи од мастоцита. Неспецифични облик бронхијалне хиперреактивности је IgE независна реакција на метахолин или овде постоји тенденција глатке мускулатуре дисајних путева за контракцију након излагања одређеном стимулусу, као што је нпр. дим цигарете.

Епителне и имунолошке ћелије, неурони и глатке мишићне ћелије дисајних путева имају значајно место у патофизиологији бронхијалне хиперсензитивности. Такође значајно место имају и стварање и ослобађање различитих инфламаторних медијатора, а најзначајнији су

хистамин, леукотриени, простагландини, аденозин, ацетилхолин, неурокинин А и азот моноксид⁴⁹.

Код неких пацијената постоји дисфункција у неурогеној контроли глатке мускулатуре дисајних путева, где постоји значајна клацкалица између адренергичког и холинергичког система. Главни бронхоконстрикторни пут посредован је холинергичком трансмисијом. У случају дисфункције мускаринских рецептора M_2 и повећаног ослобађања ацетилхолина, базални тонус глатких мишића може бити већи. Такве промене на нивоу ових рецептора могу бити изазване IgE-ом, вирусним инфекцијама, алергенима, великим базним протеином, цитокинима итд⁴⁹.

Улога инфламације у патогенези бронхијалне хиперсензитивности је веома значајна⁴⁷. Међутим, како постоји више врста запаљења, постоји и више различитих путева настанка бронхијалне хиперсензитивности. Еозинофилно запаљење је доминантно код особа са алергијским ринитисом и астмом, док је неутрофилна инфламација типична за субјекте са хроничним обструктивним болестима плућа. Улога инфламаторних ћелија и медијатора који су укључени у патогенези бронхијалне хиперсензитивности је веома комплексна. Епител дисајних путева има веома важно место у овој патогенези. Он може да синтетише неке проинфламаторне цитокине (IL-1, 6, 8, TNF- α , GM-CSF), који могу да контролишу раст, диференцијацију, пролиферацију и активацију ћелија имуног система. Епителних ћелија су такође и извор неких бронхоконстрикторних или бронходилататорних фактора.

Најзначајнију улогу у патогенези бронхијалне хиперсензитивности има IgE⁴⁷. IgE има висок афинитет везивања за рецептор Fc ϵ RI, која се налази на површини базофила и мастоцита. Реакција између IgE и рецептора покреће инфламаторне каскаде са отпуштањем проинфламаторних медијатора (хистамин, IL-4, 5 и 13, леукотриени, простагландини), доприносећи акутним и хроничним манифестацијама на почетку развоја бронхијалне хиперсензитивности. Значајно место у патогенези имају и Th2 лимфоцити и њихови медијатори, углавном IL-4, 5 и 13, који доприносе патогенези и активирају кључне ефекторске ћелије алергијске инфламације. Производња IL-13 значајно је повећана код атопијске и неатопијске астме и код алергијског ринитиса. IL-13 посредује у повећању IgE производње, мукуса, повећању настанка и преживљавања еозинофила, експресији ћелијског адхезивног молекула, хемокина итд. IL-4 делује слично као и IL-13. IL-9 као производ Т

лимфоцита, еозинофила и маст ћелија стимулише такође пролиферацију Т лимфоцита, повећава производњу IgE и подстиче пролиферацију и диференцијацију мастоцита, тиме изазива инфламацију, продукцију слузи и значајно повећава реактивност дисајних путева.

Значајно место има и фактора некрозе тумора- α , који се ослобађа из различитих врста имунских ћелија и самог епитела, а једно од његових дејстава јесте и повећана продукција еозинофила ⁴⁷. И многи други молекули доприносе патогенези бронхијалне хиперсензитивности, као што су GM-CSF, macrophages released inflammatory protein (MIP-1 α) и monocytes released chemotactic proteins (MCP-1, MCP-2, MCP-5).

Улога нуклеарних фактора у патогенези ових инфламаторних процеса може бити значајна ⁴⁷. Фактор NF- κ B активира се различитим цитокинима (TNF- α , IL-1 β , IL-17), активаторима протеинкиназе Ц, водоник пероксидом, озоном, вирусима (цитомегаловирус, вирус инфлуенце), анти-ЦД-3 антителима, липополисахаридима, итд. Активација овог нуклеарног фактора затим утиче на транскрипцију различитих гена, који су важни током имуног и инфламаторног одговора. То су гени који кодирају проинфламаторне цитокине (TNF- α , IL-1 β , IL-2, IL-6 IL-8; GM-CSF, MC-SF, GC-CSF, хемокини), ензима важних у синтези упалних процеса (индуцибилна НО-синтетаза, циклооксигеназа 2, 5-липоксигеназа, фосфолипаза А2), рецептора укључених у имуни одговор (рецептори за IL-2) или ћелијски адхезивни молекули (ICAM-1, VCAM-1 и Е-селектин).

Сви ови процеси утичу на ремоделовање дисајних процеса, које доводи до трајних промена у дисајним путевима ⁴⁷. Ове промене укључују задебљање зида дисајних путева, хиперпластичне и хипертрофичне промене глатке мускулатуре дисајних путева, фибробласта и пехерастих ћелија ⁵⁰.

Постоје директни и индиректни стимулуси који доводе до настанка смањења протока ваздуха. Директни стимулуси то чине одмах преко ефекторских ћелија бронхијалног стабла, док индиректни стимулуси то чине преко инфламаторних и неуроналних ћелија, које онда делују на ефекторске ћелије, а резултат је смањење у протоку ваздуха ⁴⁴.

1.3.Бронхопровокацијско тестирање

Што се тиче критеријума за постављања дијагнозе бронхијалне хиперреактивности, постоје два типа тестова, који се заснивају на претходној подели стимулуса: индиректни и директни тестови.

Директни тестови се заснивају на провокацији фармаколошким агенсима, као што су хистамин и метахолин, који делују директно на рецепторе глатких мишића бронхија и изазивају контракцију, односно бронхоконстрикцију⁵¹.

Индиректне тестови укључују физичке (као што су физичке вежбе, хипервентилација, хладан ваздух, хипертонични физиолошки раствор и дестилована вода) и хемијске стимулусе (као што су манитол и аденозин монофосфат) који могу да изазову бронхоконстрикцију⁴⁵. Ови стимулуси изазивају индиректно бронхоконстрикцију отпуштањем разних посредника инфламације преко инфламаторних ћелија (нпр. маст ћелије) у оквиру дисајног пута и/или стимулишући нервне путеве. Ови медијатори затим делују на своје специфичне рецепторе на глатких мишићима бронхија и изазивају контракцију и сужење дисајних путева⁵¹.

Апликација бронхоконстрикторних супстанци се врши довођењем аеросола у дисајне путеве путем такозваних инхалатора који раде на ултразвучном принципу или уз помоћ компримованог гаса. Најчешће се то чини методом континуираног удисања растућих концентрација хистамина или метахолина, с тим што се после сваке дозе мери реакција дисајних путева. Концентрације са којима се изводи бронхопровокацијско тестирање са хистамином крећу се од 0,03-8,00 mg/ml а за метахолин од 0,1-0,8 mg/ml. Поред методе удисања растућих концентрација у појединим лабораторијама тестирање се изводи и такозваним скраћеном методом која се састоји од удисања једне концентрације агенса за који се сматра да ће у болесника са астмом довести до значајног одговора, док са друге стране у здравих испитаника неће изазвати реакцију бронха. *Cockcroft* и сарадници су дали препоруку да то буде доза од 8 mg/ml хистамина и 0,8 mg/ml метахолина^{51, 52}.

Бронхосензитивност и бронхореактивност, односно степен сужења бронха, након инхалације провоцирајућег агенса процењујемо најчешће на основу степена ограничења протока ваздуха. Од свих тестова плућне вентилације и механике дисања у бронхопровокацијском тестирању најпоузданији је тест одређивања форсираног

експиријумског волумена у првој секунди (FEV1) и најчешће се и користи у свакодневној клиничкој пракси. Пошто се ради о форсираном издаху сматра се да FEV1 подједнако добро представља одраз ограничења протока и у великим и у малим дисајним путевима, а поред значајног степена осетљивости и специфичности ради се и о поновљивом тесту за који није неопходна компликована и скупа опрема, а сама техника извођења је једноставна. Од осталих тестова плућне функције могу се користити, али не у рутинском раду, и мерење отпора у дисајним путевима и ваздушне проводљивости, мерење вршног протока и максималних експиријумских протока при средњим и мањим плућним волуменима, и то након непотпуног инспиријума⁵¹.

Бронхопровокацијско тестирање се започиње одређивањем базалних вредности параметара плућне вентилације да би се током теста понављаним мерењем FEV1 процењивао степен бронхоконстрикције и да би се утврдило да ли испитаник испуњава услове за извођење теста. Најпре се удише физиолошки раствор и у року од три минута се понавља мерење FEV1. Уколико се не региструје значајно смањење (пад FEV1 од 20%) прелази се на тестирање са бронхоконстрикторним агенсом.

Почетна доза односно концентрација за хистамин је 0,03 mg/ml, а даје се 1 ml раствора стандардном процедуром преко распршивача којим лабораторија располаже. Три минута после инхалације понавља се мерење FEV1. Даље се испитивање наставља такозваном кумулативном техником, која је метода избора, а састоји се у понављању инхалације растућих, двоструких концентрација хистамина (и метахолина) у троминутним временским интервалима.

Тестирање се врши док се не добије пад FEV1 од 20%, или за хистамин закључно са концентрацијом од 8 mg/ml ако нема значајног пада FEV1. По правилу тестирање треба завршити пре него што се достигне пад FEV1 од 40% у односу на почетну вредност или пад ваздушне проводљивости за 60%. На крају испитаницима који имају јак одговор потребно је дати да удахну једну до две дозе бета-2 адренергичког агониста. Некумулативна техника се врло ретко користи, а њена суштина је у томе да се после сваке појединачне дозе која је инхалирана и која је изазвала изванредан одговор бронха сачека да се вредност FEV1 врати на почетну вредност да би се наставило тестирање⁵¹⁻⁵⁴.

За специфично бронхопровокацијаско тестирање користе се такозвани селективни стимулуси, а то могу бити: инхалациони и нутритивни алергени, нутритивни адитиви, лекови и разне хемијске супстанце (најчешће у вези са професионалном астмом).

Бронхопровокацијско тестирање са селективним стимулусима се у рутинској клиничкој пракси изводи једино када треба потврдити дијагнозу професионалне астме.

Пре извођења теста са инхалационим алергенима изврши се интракутано тестирање. За инхалационо тестирање користе се алергени који су изазвали позитивну кожную реакцију.

Поступак извођења теста и мере безбедности су исте као и тестирање са хистамином. Тестирање почиње одређивањем базалних вредности параметара плућне вентилације и затим се преко инхалатора апликује дилуент а даље се у интервалима од 10-15 минута инхалирају двоструко растуће концентрације стандардизованих инхалационих алергена (најчешће су то полен, кућна прашина, гриње, буђ, перје и др.). Почетна концентрација за алергене износи 1000 тоталних јединица азота (TNU), а после сваке инхалације се мери FEV1. Осим непосредног мерења FEV1, због могуће касне астматске реакције, неопходно је праћење испитаника током седам сати од почетка теста. Тест се сматра позитивним уколико доведе до пада FEV1 најмање за 20% у односу на базалну вредност. Степен хиперреактивности се процењује на основу дозе која је довела до значајног одговора бронха и на основу укупног пада FEV1 у односу на почетну вредност^{52, 55-58}.

Дијагноза бронхијалне астме се поставља на основу анамнезе о тегобама, патолошког физичког налаза над плућима, тестова плућне функције (спирометрија која потврђује ограничење протока ваздуха којом се најчешће региструју опструкцијски поремећаји вентилације- смањење вредности форсираног експиријумског волумена у првој секунди, FEV1 и односа са виталним капацитетом Tiffeneau индекса - $FEV1/FVC \times 100$), кожных тестова са инхалационим алергенима и основним показатељима имунолошког стања и инфламације у бронхијалном стаблу (број еозинофилних леукоцита у периферној крви, имуноглобулин Е у серуму и еозинофилни леукоцити у спутуму и азот-моноксид у издахнутом ваздуху). Када је спирометријски тест нормалан, а клиничка слика указује на астму, врши се бронхопровокацијско тестирање (неспецифични бронхопровокацијски

тест- хистамин, метахолин и др. или знатно ређе и специфични бронхопровокацијски тест са инхалационим алергенима)^{3, 14, 16}.

1.4.Проблем истраживања

У интермитентној астми пацијент има тегобе које одговарају астми, али нема и позитивне критеријуме на основу којих се утврђује дијагноза болести.

Спирометријски тест представља "златни стандард" за утврђивање функцијских поремећаја у перзистентној астми, али то није случај са интермитентном астмом у којој су вредности параметара плућне вентилације у границама референтних. Такође, варијабилност функцијских поремећаја, која одликује астму, не може се спирометријским тестовима потврдити у интермитентној астми.

Негативан неспецифични бронхопровокацијски тест (нпр. хистамином) искључује постојање перзистентне астме, али не и интермитентну астму^{6, 24, 35}.

У испитаника са тегобама које одговарају интермитентној астми и са нормалном спирометријом је утврђено да постоји негативна корелација између степена неспецифичне хиперсензитивности и апсолутних вредности FEV1⁵⁹.

Импулсна осцилометрија која у одређивању параметара механике дисања користи квантификацију треперења ваздушног стуба у дисајним путевима, у оваквим околностима, пружа више параметара који говоре о стању плућне функције, хиперсензитивности и квалитету дисања уз минималну сарадњу испитаника^{2, 25, 26, 35, 59-77}.

Одређивање повезаности клиничког статуса, вредности маркера инфламације у дисајним путевима и варијабилности функцијских параметара коришћењем спирометријског теста, испитивањем механике дисања, тестирањем хиперсензитивности и одређивањем параметара IOS-а у испитаника са клиничком сумњом на интермитентну астму био је предмет овог истраживања.

2. Хипотезе

1. У интермитентној астми вредности параметара импулсне осцилометрије: импеданса Z_5 , укупни респираторни отпори R_5 , резонантна фреквенција F_{res} и A_X поље су у позитивној корелацији са тегобама, инфламацијом и хиперсензитивношћу дисајних путева.
2. Вредности параметара импулсне осцилометрије: импеданса Z_5 , укупни респираторни отпори R_5 , резонантна фреквенција F_{res} и A_X поље су у негативној корелацији са апсолутним вредностима форсираног експиријумског волумена у првој секунди.

Ради потврде постављених хипотеза задати су следећи:

3. Циљеви истраживања

1. У испитаника са респираторним тегобама које карактеришу интермитентну астму и имају нормалан спирометријски налаз испитати варијабилност плућне вентилације извођењем бронходилататорног и неспецифичног бронхопровокацијског теста, а сва мерења извршити спирометријским тестом, тестом импулсне осцилометрије и тестом телесне плетизмографије.
2. Код истих испитаника верификовати да ли постоје знаци инфламације у дисајним путевима коришћењем специфичних маркера- броја еозинофилних леукоцита у периферној крви, спутуму, индукованом спутуму и брису носа; вредности укупног имуноглобулина IgE у серуму; вредности IL-5 и еозинофилног катјонског протеина у серуму, брису носа, спутуму и индукованом спутуму.
3. Извршити упоређење вредности свих измерених параметара импулсне осцилометрије са аналогним и комплементарним параметрима спирометрије и телесне плетизмографије ради утврђивања повезаности и значајности разлике.
4. Утврдити да ли постоји повезаност симптома, физичког налаза, атопијског статуса, маркера инфламације у дисајним путевима, степена варијабилности и бронхијалне хиперсензитивности са појединим параметрима импулсне осцилометрије и одредити статистичку значајност.
5. Одредити сензитивност, специфичност и предиктивну вредност појединих параметара импулсне осцилометрије у односу на симптоме, физички налаз, степен варијабилности плућне вентилације и степен хиперсензитивности.

4. Испитаници и методе

4.1. Испитаници

Спроведена је проспективна клиничка студија којом је обухваћено 58 испитаника у којих на основу анамнезе постоји сумња да се ради о интермитентној астми.

Критеријуми за укључење у студију:

1. Испитаници имају понављане епизоде респираторних тегоба као што су отежано дисање, недостатак ваздуха, гушење, свирање у грудима и кашаљ или само кашаљ;
2. У спирометријском налазу вредност FEV1 је $\geq 80\%$ у односу на предвиђену вредност;
3. Радиографија грудног коша високог квалитета показује нормалан налаз;
4. Није било респираторне инфекције у претходна два месеца (на основу анамнезе уз вредности седиментације (SE), це-реактивног протеина (CRP), леукоцита (Le) и прокалцитонина које су у границама референтних);
5. Није било локалне ни системске кортикостероидне нити друге имуномодулаторне терапије претходна два месеца;
6. Не постоје друга хронична обољења плућа нити других система и органа;
7. Испитаници су старији од 18 година и
8. Испитаници су непушачи.

Селекција испитаника је извршена у Клиници за пулмологију Војномедицинске академије (ВМА), на Кабинету за плућне болести Дијагностичко-поликлиничког центра ВМА и у Одељењу за функцијску дијагностику Клинике за пулмологију ВМА.

4.2. Методе

Код свих испитаника је су извршена следећа испитивања:

- анамнеза;
- физички преглед свих органа;
- стандардна ПА радиографију грудног коша високог квалитета;
- ЕКГ
- лабораторијске анализе крви:
 - седиментација еритроцита, CRP, прокалцитонин
 - комплетна и диференцијална крвна слика,
 - број еозинофилних леукоцита у mm^3 периферне крви,
 - укупни имуноглобулин IgE у серуму,
 - IL-5 у серуму,
 - еозинофилни катјонски протеин (ECP) у серуму
- тестови плућне функције: импулсна осцилометрија, спирометрија и телесна плетизмографија;
- кожне пробе са инхалационим алергенима;
- цитолошки преглед размаза спутума/индукованог спутума и бриса носа;
- одређивање присуства IL-5 и ECP у спутуму и брису носа;
- бронхопровокацијско тестирање са хистамином и
- бронходилататорни тест.

Испитивање плућне функције- импулсна осцилометрија и спирометрија, извођене су на експирографу фирме Jaeger-MS Pneumo; тест телесне плетизмографије је рађен на апарату Master Lab Pro-Jaegger.

Бронхопровокацијски тест је дијагностички поступак којим се доказује хиперсензитивност бронха. У Одељењу за функцијску дијагностику Клинике за пулмологију ВМА стандардизовано је и рутински се изводи неспецифично бронхопровокацијско тестирање хистамином³². Тестирање се врши инхалирањем растућим концентрацијама раствора хистамина почев од 0,03 mg/ml и закључно са 8 mg/ml. Пре теста се одређује вредност FEV1, а да би се тест сматрао позитивним услов је да дође до пада вредности FEV1 за 20%. Концентрација хистамина која је изазвала значајан пад FEV1 означава се као PC₂₀. Степен хиперсензитивности се одређује у односу на концентрацију PC₂₀. Тест је негативан

када ни са концентрацијом од 8 mg/ml није добијен значајан пад FEV1. Хистамински тест се врши на електричном апарату за инхалацију Inhalog 2 “Dragerwerk AG Luback”.

Импулсна осцилометрија представља методу у испитивању механике дисања која је комплементарна стандардним методама (спирометрија и плетизмографија), а основу за мерење представља треперење ваздушног стуба у дисајним путевима ⁷. То је неинвазивна метода која се изводи при мирном дисању уз минималну неопходну сарадњу испитаника.

Најзначајнији параметри импулсне осцилометрије су: импеданса Z (kPa/l/s)- приказује комплексне респираторне отпоре; резистанса R (kPa/l/s)- представља отпоре које савлађује ваздух у току кретања кроз дисајне путеве и то укупне респираторне отпоре R_5 и проксималне респираторне отпоре R_{20} ; реактанса X (kPa/l/s)- се састоји се од две компоненте, инертансе и капацитансе (X при 5 Hz - X_5 или дистална капацитативна реактанса и F при којој је $X=0$ - F_{res} -резонантна фреквенција); импеданса Z_5 , амплитуда респираторне импедансе при фреквенцији од 5 Hz је први параметар који се мери импулсном осцилометријом, а њена вредност је резултат интеракције резистансе и реактансе и поље реактансе AX (AX reaktance area 5 Hz- F_{res}) је изведена величина која представља графичку интерпретацију измерених параметара.

Нормалне вредности параметара импулсне осцилометрије су: Z_{rs} - комплексни респираторни отпори (kPa/l/s) < 150% Z пр.; R_5 - укупни респираторни отпори (kPa/l/s) < 150% R_5 пр.; R_{20} - Централни респираторни отпори (kPa/l/s) < 150% R_{20} пр.; X_5 - Дистална капацитативна реактанса > (X_5 пр-0,15 kPa/l/s); R_c - Централни респираторни отпори и R_p - Периферни респираторни отпори (за тумачење налаза важан је однос између R_c и R_p а не њихове апсолутне вредности); фармакодинамски тестови / R_5 - Укупни респираторни отпори ($\uparrow 50\% = \downarrow FEV_1 20\%$) и F_{res} - Резонантна фреквенца (1/s) ($\uparrow 40\% = \downarrow FEV_1 20\%$).

Индуковани спутум се добија искашљавањем након инхалације 10 ml физиолошког 10% раствора загрејаног до 36°C у току 5 минута ⁶². Од добијеног спутума прави се размаз који се боји по May-Grünwald-Giemsa методи. Идентификацијаи ћелија се врши на светлосном микроскопу уз одређивање апсолутног и релативног броја на основу на основу прегледа 10 видних поља. Број еозинофилних леукоцита у спутуму, у здравој популацији је $\leq 2\%$.

Кожне пробе са инхалационим алергенима се извођене коришћењем prick методе и контроле са хистамином- стандардизована метода у Одељењу за функцијску дијагностику Клинике за пулмологију ВМА.

Укупни имуноглобулин IgE у серуму су одређивани нефелометријском методом са референтним вредностима од 0-100 IU/ml.

Прокалцитонин у серуму је одређиван TRACE методом са референтном вредношћу < 0,05 µg/L.

Еозинофилни катјонски протеин- ЕСР, у серуму се одређује методом хемилуминисценције на чврстом носачу и са референтном вредношћу < 24 ηg/ml.

Вредности IL-5 у серуму, спутуму и брису носа и вредности еозинофилног катјонског протеина (ЕСР) у спутуму и брису носа одређиване су методом ELISA тест.

4.3.Подела испитаника на групе

На основу претходних клиничких знакова и симптома извршена је подела испитаника у две групе:

I група испитаника- нису имали тренутно никакве симптоме и знакове за бронхијалну астму, али су постојали историјски подаци о претходним знацима и симптомима који карактеришу ово обољење и

II група испитаника- су они који су имали тренутно симптоме и знакове за бронхијалну астму.

У првој групи испитаника извршени су неспецифични бронхопровокацијски тестови са хистамином а степен сензитивности бронха верификован је тестом импулсне осцилометрије, спирометријским тестом као стандардом и тестом телесне плетизмографије

У другој групи болесника извршени су бронходилататорни тестови инхалацијом два удаха бета-2 агонисте салбутамола. Након 25 минута од удисања салбутамола урађени су поновни тестови импулсне осцилометрије, затим спирометријски тест и тест телесне плетизмографије.

Након 24 сата од извршеног тестирања, код свих испитаника, поновљена су мерења, цитолошки преглед спутума и бриса носа и преглед присуства IL-5 и ЕСР у истом биолошком материјалу као и одређивање броја еозинофилних леукоцита у mm^3 периферне крви.

4.4. Статистичка обрада података

Комплетна статистичка анализа података урађена је у компјутерском статистичком програму PASW Statistics version 18. Све категоријске варијабле су приказане у облику апсолутних и релативних бројева, док су непрекидне варијабле приказане у облику средње вредности (СВ) \pm стандардна девијација (СД) и распона [најмања вредност (Мин) - највећа вредност (Макс)]. Повезаност је процењивана уз помоћ корелације, док је значајност разлике испитивана одговарајућим статистичким тестовима, у зависности да ли се ради о нормалној расподели или расподели која није испунила услове за нормалност, што је процењено уз помоћ Kolmogorov-Smirnov теста. За категориске варијабле је коришћен Chi-square тест, а ако се радило о таблицама контингенције два пута два онда је коришћен тест за корекцију, док је код непрекидних варијабли коришћен Student's t тест или Mann-Whitney тест, ако имамо две групе података, док ако има више од три категорије података онда је рађена АНОВА или Kruskal-Wallis тест, зависно од тога да ли подаци испуњавају критеријуме за нормалну расподелу података. Урађена је и корелација између варијабли од интереса (непрекидних и дихотомних варијабли), при чему је коришћен Spearman's rho коефицијент корелације ранга (Spearman's rank-order correlation), док је за корелацију непрекидних варијабли коришћена Pearson's корелација, а величина корелације је процењена према Кохеновим критеријумима где се коефицијент корелације већи од 0,50 сматра изузетно јаком корелацијом, од 0,30-0,49 средње јаком корелацијом, док је мањи од 0,29 слаба корелација. Све статистичке анализе рађене су на ниво статистичке значајности $p < 0,05$. Након урађене анализе, сви резултати су приказани табеларно и графички.

5. Резултати

5.1. Демографске карактеристике пацијената

У нашој студији укупно је анализирано 58 пацијената (24 или 41,4% мушкараца; 34 или 58,6% жена), просечне старости $34,84 \pm 12,28$ година (опсег година старости од 18-70). Између мушкараца и жена није нађена статистички значајна разлика у старости пацијената (Mann-Whitney тест; $p=0,146$). Жене су биле у просеку старе $37,53 \pm 14,57$ (опсега од 18-70) година, док су мушкарци имали $31,04 \pm 6,58$ (опсега од 19-43) година.

Сви пацијенти су подељени у две група на основу тренутног или ранијег присуства симптома и знакова који карактеришу бронхијалну астму. У првој групи је било 25 пацијената или 43,1% од укупно 58 пацијената, док је у другој групи било 33 или 56,9% пацијената. Испитаници из прве групе су подвргнути бронхопровокацијском тестирању хистамином, док је друга група испитаника подвргнута бронходилататорном тестирању бета-2 адренергичким агонистом.

Између испитиваних група није нађена статистички значајна разлика у старости пацијената, нити је нађена значајна разлика у полној дистрибуцији (Табела 1). У групи два, која је подвргнута бронходилататорном тестирању, било је нешто више жена, а испитаници из ове групе су били у просеку млађи око годину дана у односу на испитанике из групе која је тестирана хистамином.

Табела 1. Демографске карактеристике пацијената у односу на анализирану групу (I група тестирана хистамином; II група тестирана бета-2 адренергичким агонистом)

	I група	II група	p вредност
Пол; број (%)			
Мушкарци	11 (44,0)	13 (39,4)	p = 0,933*
Жене	14 (56,0)	20 (60,6)	
Старост; године живота			
СВ±СД	$35,36 \pm 11,45$	$34,45 \pm 13,03$	p = 0,671**

* Chi-square тест; ** Mann-Whitney тест

5.2. Тренутни физички налаз на плућима, раније присутне тегобе и биохемијски параметри

Тегобе пацијената су трајале у просеку $7,92 \pm 6,60$ година, односно од 6 месеци до 25 година. Између испитиваних група није нађена статистички значајна разлика (Mann-Whitney тест; $p=0,852$), при чему су испитаници из прве групе која је тестирана хистамином имали тегобе у просеку $7,72 \pm 5,88$ година, док су испитаници из друге групе тестиране бета-2 адренергичким агонистом имали тегобе у просеку $8,10 \pm 7,24$ године.

Ако се погледају тегобе које су биле присутне код пацијената, онда се види да углавном нема разлика у учесталости између испитиваних група, осим у присутности сувог или продуктивног кашља, кијавици и сврабу по кожи, при чему су суви кашаљ и кијавица чешћи у првој групи, док су продуктиван кашаљ и свраб по кожи чешћи у другој групи (Табела 2). У првој групи је најчешће присутан суви кашаљ, док је у другој групи најчешће присутно отежано дисање.

Што се тиче физичког налаза на плућима, нису нађене значајне разлике између испитиваних група (Табела 3). И у првој и у другој групи испитаника, налаз је најчешће био уредан. Међутим, ако се погледа само патолошки налаз, онда у првој групи доминира ослабљено дисање и продужен експиријум, док су у другој групи најчешће присутни високотонски звиждуци и пооштрено дисање.

Што се тиче других прегледа и анализа, урађен је и РТГ снимак плућа и ЕКГ снимак код свих пацијената, при чему ни код једног није нађен патолошки налаз.

Поред тога урађена је и крвна слика и показатељи акутне фазе запаљења, седиментација, Ц-реактивни протеин и прокалцитонин, код свих пацијената. У табели 4 су дате просечне вредности ових биохемијских налаза у односу на испитивану групу. У свим налазима није нађена значајна разлика између испитиваних група. Међутим, вредности прокалцитонина су значајно изнад референтне вредности у првој групи ($< 0,10$ ng/ml), док су вредности IgE значајно изнад референтних вредности (0-100 IU/ml) у обе групе, при чему су у другој групи веће у односу на прву групу. Такође је повећан и ЕСР вредности у обе групе у односу на референтне вредности (0-24 ng/ml), али више у првој него ли у другој групи.

Табела 2. Тегобе пацијената у односу на анализирану групу приказане у облику кумулативне учесталости пацијената са присутним тегобама (I група тестирана хистамином; II група тестирана бета-2 адренергичким агонистом)

Тегобе пацијената (да)	I група; број (% од 25)	II група; број (% од 33)	p вредност*
Гушење	16 (64,0)	19 (57,6)	p = 0,823
Суви кашаљ	24 (96,0)	24 (72,7)	p = 0,049
Продуктивни кашаљ	7 (28,0)	19 (57,6)	p = 0,048
Свирање у грудима	18 (72,0)	20 (60,6)	p = 0,532
Отежано дисање	20 (80,0)	30 (90,9)	p = 0,419
Замарање	19 (76,0)	24 (72,7)	p = 1,000
Стезање у грудима	13 (52,0)	15 (45,5)	p = 0,819
Цурење носа	21 (84,0)	29 (87,9)	p = 0,968
Кијавица	23 (92,0)	22 (66,7)	p = 0,048
Ноћно гушење	13 (52,0)	17 (51,5)	p = 1,000
Сузење очију	13 (52,0)	19 (57,6)	p = 0,876
Црвенило очију	13 (52,0)	17 (51,5)	p = 1,000
Свраб по кожи	5 (20,0)	17 (51,5)	p = 0,030
Уртикарија	2 (8,0)	1 (3,0)	p = 0,804

* Chi-square тест

Табела 3. Дистрибуција пацијената у односу на физички налаз на плућима према анализираној групи као кумулативна учесталост пацијената са присутним налазом (I група тестирана хистамином; II група тестирана бета-2 адрен. агонистом)

Присутан физички налаз на плућима	I група; број (% од 24)	II група; број (% од 33)	p вредност*
Уредан налаз	14 (58,3)	19 (57,6)	p = 1,000
Ослабљено дисање	7 (29,2)	3 (9,1)	p = 0,106
Продужен експиријум	8 (33,3)	6 (18,2)	p = 0,317
Високотонски визинг	5 (20,8)	7 (21,2)	p = 1,000
Нисокотонски визинг	2 (8,3)	1 (3,0)	p = 0,776
Полифони визинг	5 (20,8)	1 (3,0)	p = 0,084
Пооштрено дисање	2 (8,3)	8 (24,2)	p = 0,228
Инспиријумски пукоти	4 (16,7)	2 (6,1)	p = 0,395

* Chi-square тест

Табела 4. Просечне вредности биохемијских налаза у односу на анализирану групу (I гр. тестирана хистамином; II гр. тестирана β -2 адрен. агонистом – MannWhitney тест)

Биохемијски налази; СВ \pm СД	I група	II група	p вредност*
Седиментација; mm/1h	15,00 \pm 12,39	9,88 \pm 6,01	p = 0,508
Ц-реактивни протеин; mg/l	3,61 \pm 4,12	1,50 \pm 1,82	p = 0,297
Прокалцитонин; ng/ml	0,61 \pm 0,03	0,05 \pm 0,02	p = 0,204
Еритроцити; $\times 10^{12}/l$	4,88 \pm 0,61	4,89 \pm 0,48	p = 0,993
Тромбоцити; $\times 10^9/l$	245,48 \pm 64,29	237,31 \pm 48,58	p = 0,658
Хемоглобин; g/l	138,48 \pm 18,82	139,31 \pm 12,73	p = 0,768
Хематокрит; l/l	0,42 \pm 0,06	0,42 \pm 0,03	p = 0,841
Леукоцити; $\times 10^9/l$	7,07 \pm 1,96	6,69 \pm 1,76	p = 0,400
Неутрофили; $\times 10^9/l$	6,55 \pm 11,51	3,95 \pm 1,56	p = 0,322
Еозинофили; $\times 10^9/l$	0,35 \pm 0,32	0,24 \pm 0,21	p = 0,110
IgE; IU/ml	230,33 \pm 238,32	345,07 \pm 536,20	p = 0,792
Еозинофили/mm ³ ; /UI	288,19 \pm 224,58	252,22 \pm 207,78	p = 0,467
ЕСР; ng/ml	30,39 \pm 28,30	25,98 \pm 19,93	p = 0,748

5.3.Кожне пробе са инхалационим алергенима

Кожни тестови са инхалационим алергенима извршени prick методом били су позитивни код 29 испитаника, док је негативна анализа била код 23 од укупно тестирано 52 испитаника (Табела 5). Највише позитивних реакција је било на грињу *Dermatophagoides pteronissinus*, полен траве и полен корова у првој групи, док је највише позитивних у другој групи било на полен траве, полен корова, *Dermatophagoides pteronissinus* и полен дрвећа. Међутим, статистички значајне разлике између испитиваних група нису нађене.

Табела 5. Дистрибуција пацијената према налазу кожне пробе са инхалационим алергенима у односу на анализирану групу (I група тестирана хистамином; II група тестирана бета-2 адренергичким агонистом)

	I група; број (% од 24)	II група; број (% од 28)	p вредност*
<i>Dermatophagoides pteronissinus</i>	11 (45,8)	8 (28,6)	p = 0,317
Кућна прашина	1 (4,2)	3 (10,7)	p = 0,718
Полен траве	8 (33,3)	11 (39,3)	p = 0,876
Полен корова	8 (33,3)	9 (32,1)	p = 1,000
Полен дрвећа	5 (20,8)	8 (28,6)	p = 0,748
Буђ	-	1 (3,6)	-
Дуван	3 (12,5)	2 (7,1)	p = 0,856
Бактерије	-	1 (3,6)	-
<i>Aspergillus fumigatus</i>	-	-	-
Перје	7 (29,2)	5 (17,9)	p = 0,526
Постељина	3 (12,5)	3 (10,7)	p = 1,000
Хистамин	9 (40,9)	10 (35,7)	p = 0,935

* Chi-square тест

5.4. Иницијални налаз тестова плућне вентилације

Пре самог почетка тестирања хистамином или бета-2 адренергичким агонистом, код свих испитаника су урађене спирометријске анализе за процену плућне функције. Просечна вредност форсираног виталног капацитета, FVC, износила је $4,37 \pm 1,12$ литара или $99,70 \pm 11,54\%$ у односу на табличне референтне вредности. Вредност форсираног експиријумског волумена у првој секунди, FEV1, је била $3,62 \pm 0,92$ литара или $98,64 \pm 13,73\%$ у односу на табличне вредности. Просечна вредност Tiffeneau индекса је била $83,26 \pm 9,40\%$, или $101,61 \pm 10,90\%$ од референтних табличних вредности. Просечна вредност вршног експиријумског протока, PEF, је била $7,78 \pm 2,17$ литара у секунди, односно $92,88 \pm 16,34\%$ од референтних табличних вредности.

У табели 6 су приказане вредности ових показатеља плућне функције у односу на припадност анализираној групи. Између ове две групе пацијената није нађена статистички значајна разлика у овим показатељима плућне функције, мада је група тестирана

хистамином имала просечан FEV1 103% у односу на норму, док је FEV1 у другој групи тестираној бета-2 адренергичким агонистом био 95% у односу на норму.

Табела 6. Показатељи плућне вентилације у односу на анализирану групу (I група тестирана хистамином; II група тестирана бета-2 адренергичким агонистом)

	I група (CB ± СД)	% од норму	II група (CB ± СД)	% од норму	p вредност
FVC (l)	4,67 ± 1,31	102,23 ± 9,96	4,13 ± 0,91	97,79 ± 12,40	p = 0,128
FEV1(l)	3,92 ± 0,99	103,44 ± 8,73	3,40 ± 0,80	95,00 ± 15,72	p = 0,060
Tiffneau индекс (%)	84,48 ± 5,67	103,51 ± 7,83	82,34 ± 11,46	100,17 ± 12,68	p = 0,396
PEF (l/s)	8,30 ± 2,20	96,90 ± 14,80	7,39 ± 2,10	89,84 ± 17,01	p = 0,177

FVC - форсирани витални капацитет; FEV1- форсирани експиријумски волумен у првој секунди; Tiffneau индекс- однос FEV1/FVC изражен у процентима; PEF - вршни експиријумски проток

5.5. Налаз тестова плућне вентилације након тестирања хистамином односно бета-2 адренергичким агонистом, као и биохемијских налаза од интереса

У табели 7 су приказане вредности показатеља плућне функције у односу на припадност анализираној групи, али након тестирања испитаника из прве групе хистамином, односно испитаника из друге групе бета-2 адренергичким агонистом. Између ове две групе пацијената није нађена статистички значајна разлика у овим показатељима плућне функције. Међутим, ако се погледа промена вредности FEV1 пре и након тестирања хистамином односно бета-2 адренергичким агонистом, онда се види да је у првој групи тестираној хистамином дошло до смањења протока у односу на иницијалну вредност за $17,79 \pm 13,51\%$, док је у другој групи тестираној бета-2 адренергичким агонистом ово смањење било $6,98 \pm 6,17\%$ у односу на иницијалну вредност. С друге стране, након тестирања хистамином у првој групи, Tiffneau индекс се смањило, а слично су се понашали и пацијенти из друге групе. У првој групи је дошло и до пада PEF, док је он у другој групи благо порастао.

Табела 7. Показатељи плућне вентилације у односу на анализирану групу (I група тестирана хистамином; II група тестирана бета-2 адренергичким агонистом)

	I група (СВ ± СД)	% од нормe	II група (СВ ± СД)	% од нормe	p вредност
FVC (l)	4,38 ± 1,29	94,64 ± 14,71	4,10 ± 0,91	94,95 ± 20,72	p = 0,508
FEV1(l)	3,48 ± 1,07	90,81 ± 18,45	3,34 ± 0,77	94,84 ± 14,26	p = 0,974
Tiffneau индекс (%)	79,72 ± 7,50	97,64 ± 10,52	78,77 ± 16,14	99,53 ± 11,37	p = 0,691
PEF (l/s)	7,56 ± 2,12	87,62 ± 19,64	7,41 ± 2,03	90,71 ± 14,54	p = 0,810

FVC - форсирани витални капацитет; FEV1- форсирани експиријумски волумен у првој секунди; Tiffneau индекс- однос FEV1/FVC изражен у процентима; PEF - вршни експиријумски проток

Након 24 сата од тестирања, испитаници су опет подвргнути мерењу показатеља плућне функције, односно урађене су спирометријске анализе (Табела 8). Међутим, нису нађене статистички значајне разлике између ове две групе пацијената, али су испитаници из прве групе имали клинички значајно веће вредности % од нормe за FEV1 и PEF у односу на другу групу (FEV1: I група 101,00%, II група 94,43%; PEF: I група 96,59%, II група 90,64%).

Табела 8. Показатељи плућне вентилације у односу на анализирану групу 24 сата након тестирања хистамином, односно бета-2 адренергичким агонистом (I група тестирана хистамином; II група тестирана бета-2 адренергичким агонистом)

	I група (СВ ± СД)	% од нормe	II група (СВ ± СД)	% од нормe	p вредност
FVC (l)	4,65 ± 1,31	101,44 ± 10,60	4,19 ± 0,94	99,51 ± 13,49	p = 0,203
FEV1(l)	3,81 ± 0,99	101,00 ± 11,00	3,40 ± 0,84	94,43 ± 16,53	p = 0,130
Tiffneau индекс (%)	83,46 ± 6,21	102,59 ± 8,49	81,47 ± 11,23	99,23 ± 12,41	p = 0,623
PEF (l/s)	8,25 ± 2,03	96,59 ± 15,67	7,49 ± 2,28	90,64 ± 18,86	p = 0,206

FVC - форсирани витални капацитет; FEV1- форсирани експиријумски волумен у првој секунди; Tiffneau индекс- однос FEV1/FVC изражен у процентима; PEF - вршни експиријумски проток

Такође су урађене и биохемијске анализе од интереса након 24 сата од тестирања, (Табела 9). Просечне вредности еозинофила у комори су се значајно разликовале у другој

групи, тако што су биле значајно веће 24 сата након тестирања бета-2 адренергичким агонистом у односу на иницијалне вредности, док разлика између самих група није нађена. Међутим, вредности еозинофила у серуму изражене као % нису се значајно разликовале између посматраних група, али у оквиру прве групе која је тестирана хистамином нађена је значајна разлика између вредности првог и другог дана тестирања (први дан $3,90 \pm 2,72\%$, други дан $4,23 \pm 2,79\%$). Вредности ЕСР и интерлеукина-6 нису се значајно разликовале како између анализираних група, тако и у оквиру групе пре и 24 сата након тестирања.

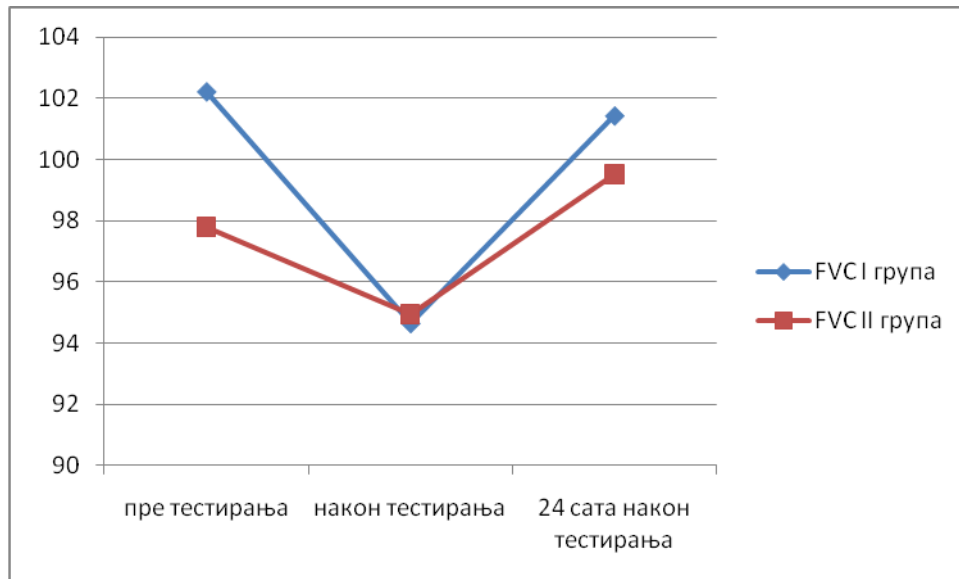
Табела 9. Просечне вредности биохемијских налаза у односу на анализирану групу иницијално пре почетка тестирања и другог дана, односно 24 сата након тестирања (I група тестирана хистамином; II група тестирана бета-2 адренергичким агонистом)

Биохемијски налази; СВ \pm СД	I група	II група	p вредност*
Еозинофили /mm ³ 1. дан; /UI	288,19 \pm 224,58	252,22 \pm 207,78	p = 0,467
Еозинофили /mm ³ 2. дан; /UI	288,64 \pm 167,43	282,96 \pm 166,56	p = 0,740
p вредност**	p = 0,078	p = 0,047	
ЕСР 1. дан; ng/ml	30,39 \pm 28,30	25,98 \pm 19,93	p = 0,748
ЕСР 2. дан; ng/ml	28,16 \pm 19,66	26,36 \pm 16,54	p = 0,833
p вредност**	p = 0,577	p = 0,882	
Еозинофили серум 1. дан; %	3,90 \pm 2,72	3,84 \pm 2,85	p = 0,955
Еозинофили серум 2. дан; %	4,23 \pm 2,79	4,00 \pm 2,11	p = 0,944
p вредност**	p = 0,027	p = 0,319	
Интерлеукин-6 1. дан; pg/ml	4,60 \pm 10,38	2,07 \pm 0,22	p = 0,807
Интерлеукин-6 2. дан; pg/ml	2,65 \pm 1,49	2,27 \pm 0,90	p = 0,197
p вредност**	p = 0,393	p = 0,175	

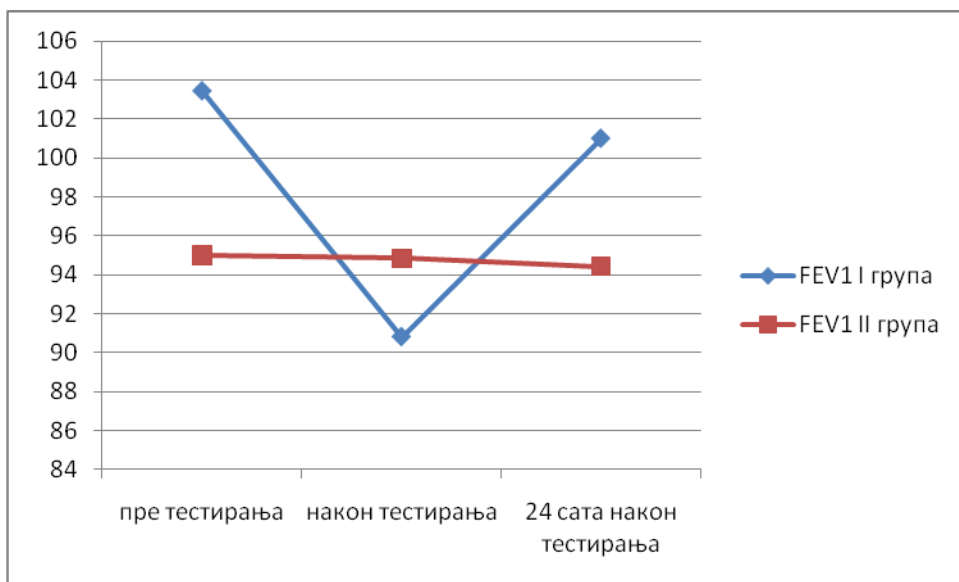
* Mann-Whitney тест; ** Student's t paired тест

Ако вредности плућних тестова представимо графички за сва три временска пресека, онда се види да у обе групе долази до пада просечних вредности FVC након тестирања хистамином односно бета-2 адренергичким агонистом (Графикон 1), али тај пад није био статистички значајан (I група: Kruskal Wallis тест, p = 0,731; II група Kruskal Wallis тест, p = 0,988). Ако се пак погледају вредности FEV1 изражене као % од норме, онда се види да до клиничког, али не и статистички значајног пада вредности долази у првој групи (I

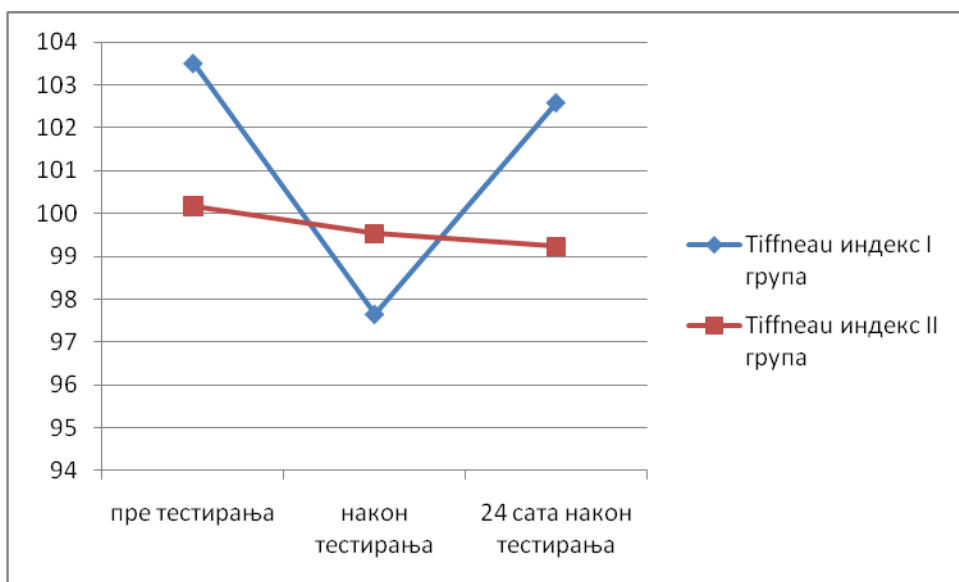
група: Kruskal Wallis тест, $p = 0,220$), док се тај пад не бележи у другој групи након тестирања (II група Kruskal Wallis тест, $p = 0,946$) (Графикон 2). Сличан пад у првој групи се бележи и за Tiffneau индекс (I група: Kruskal Wallis тест, $p = 0,024$; II група Kruskal Wallis тест, $p = 0,794$) и за PEF (I група: Kruskal Wallis тест, $p = 0,493$; II група Kruskal Wallis тест, $p = 0,974$), док, као и код FEV1, нема значајне промене у другој групи за оба показатеља (Графикон 3 и Графикон 4).



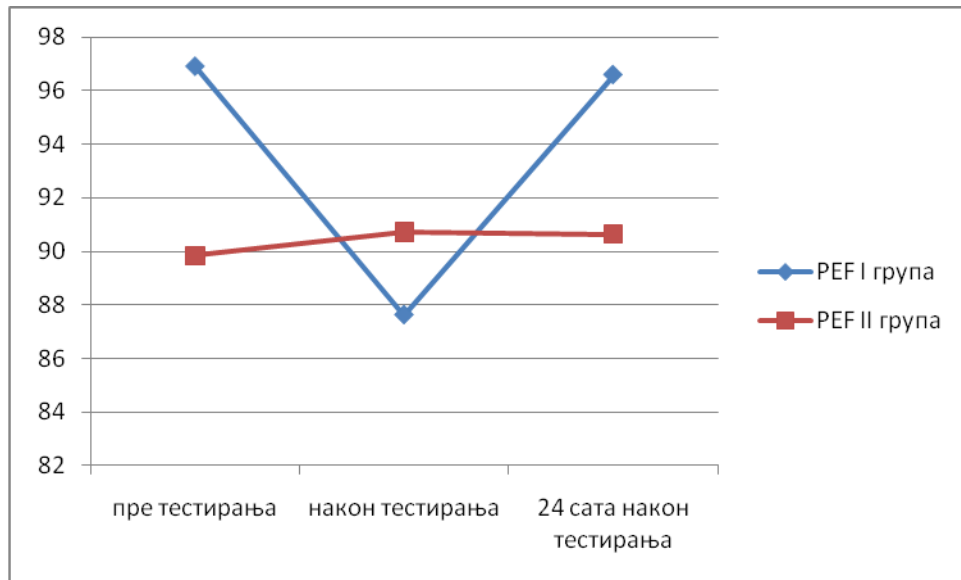
Графикон 1. Просечне вредности FVC изражене као % од норме у односу на анализирану групу (I група тестирана хистамином; II група тестирана бета-2 адренергичким агонистом)



Графикон 2. Просечне вредности FEV1 изражене као % од норме у односу на анализирану групу (I група тестирана хистамином; II група тестирана бета-2 адренергичким агонистом)



Графикон 3. Просечне вредности Tiffneau индекса изражене као % од норме у односу на анализирану групу (I група тестирана хистамином; II група тестирана бета-2 адренергичким агонистом)



Графикон 4. Просечне вредности PEF изражене као % од норме у односу на анализирану групу (I група тестирана хистамином; II група тестирана бета-2 адренергичким агонистом)

5.6. Налази телесне плетизмографије

У табели 10 су приказане вредности телесне плетизмографије пре тестирања хистамином у првој групи односно бета-2 адренергичким агонистом у другој групи. Између анализираних група у већини параметара није нађена статистички значајна разлика, осим у RV/TLC-в и RV/TLC-в као % од норме, при чему су ове вредности биле веће у другој групи.

Табела 10. Налази телесне плетизмографије пре почетка тестирања хистамином односно бета-2 адренергичким агонистом у односу на анализирану групу (I група тестирана хистамином; II група тестирана бета-2 адренергичким агонистом)

	I група (CB ± CD)	II група (CB ± CD)	p вредност*
RAWin (kPa*s/l)	0,24 ± 0,10	0,26 ± 0,17	p = 0,937
RAWex (kPa*s/l)	0,23 ± 0,12	0,29 ± 0,24	p = 0,499
sRAWtot (kPa*s)	0,98 ± 0,37	1,14 ± 0,89	p = 0,789
sRAWtot % од норме	92,59 ± 36,34	110,67 ± 86,73	p = 0,931
Gtot (l/(kPa*s))	5,03 ± 3,53	4,48 ± 1,95	p = 0,969
Gtot % од норме	111,05 ± 28,34	88,51 ± 36,13	p = 0,180
sGtot (l/(kPa*s))	1,32 ± 1,06	1,23 ± 0,64	p = 0,789
sGtot % од норме	145,02 ± 127,46	126,59 ± 67,06	p = 0,944
TGV-b (l)	3,55 ± 0,97	3,74 ± 0,87	p = 0,239
TGV-b % од норме	112,65 ± 25,12	123,98 ± 29,32	p = 0,192
RV-b (l)	1,97 ± 0,86	2,33 ± 1,03	p = 0,215
RV-b % од норме	110,58 ± 43,11	137,34 ± 52,34	p = 0,058
TLC-b (l)	6,71 ± 1,65	6,55 ± 1,26	p = 0,919
TLC-b % од норме	104,23 ± 13,96	108,89 ± 18,52	p = 0,323
RV/TLC-b (%)	28,97 ± 9,87	34,81 ± 11,21	p = 0,050
RV/TLC-b % од норме	99,93 ± 27,95	119,64 ± 31,94	p = 0,021

* Mann-Whitney тест

У табели 11 су приказане вредности телесне плетизмографије после тестирања хистамином у првој групи односно бета-2 адренергичким агонистом у другој групи. Између анализираних група у већини параметара није нађена статистички значајна разлика, осим у sRAWtot и sGtot, при чему су вредности sRAWtot биле веће у првој групи, а sGtot у другој групи.

Табела 11. Налази телесне плетизмографије након тестирања хистамином односно бета-2 адренергичким агонистом у односу на анализирану групу (I група тестирана хистамином;

II група тестирана бета-2 адренергичким агонистом)

	I група (СВ ± СД)	II група (СВ ± СД)	p вредност*
RAWin (kPa*s/l)	0,42 ± 0,28	0,31 ± 0,19	p = 0,318
RAWex (kPa*s/l)	0,44 ± 0,32	3,40 ± 17,44	p = 0,306
sRAWtot (kPa*s)	1,84 ± 1,28	1,20 ± 0,76	p = 0,046
sRAWtot % од норме	177,83 ± 130,35	117,59 ± 71,96	p = 0,154
Gtot (l/(kPa*s))	3,12 ± 1,54	4,78 ± 4,34	p = 0,159
Gtot % од норме	95,83 ± 43,90	83,66 ± 50,14	p = 0,350
sGtot (l/(kPa*s))	0,78 ± 0,42	1,34 ± 1,44	p = 0,047
sGtot % од норме	85,68 ± 49,53	130,77 ± 108,07	p = 0,132
TGV-b (l)	3,79 ± 1,20	3,64 ± 0,82	p = 0,982
TGV-b % од норме	118,44 ± 31,29	119,46 ± 23,74	p = 0,820
RV-b (l)	2,33 ± 1,03	2,22 ± 0,89	p = 0,722
RV-b % од норме	131,03 ± 55,52	127,92 ± 44,02	p = 0,896
TLC-b (l)	6,82 ± 1,71	6,42 ± 1,34	p = 0,585
TLC-b % од норме	103,69 ± 14,93	105,78 ± 16,04	p = 0,587
RV/TLC-b (%)	33,76 ± 11,45	33,81 ± 10,28	p = 0,882
RV/TLC-b % од норме	118,83 ± 41,98	115,22 ± 28,57	p = 0,820

* Mann-Whitney тест

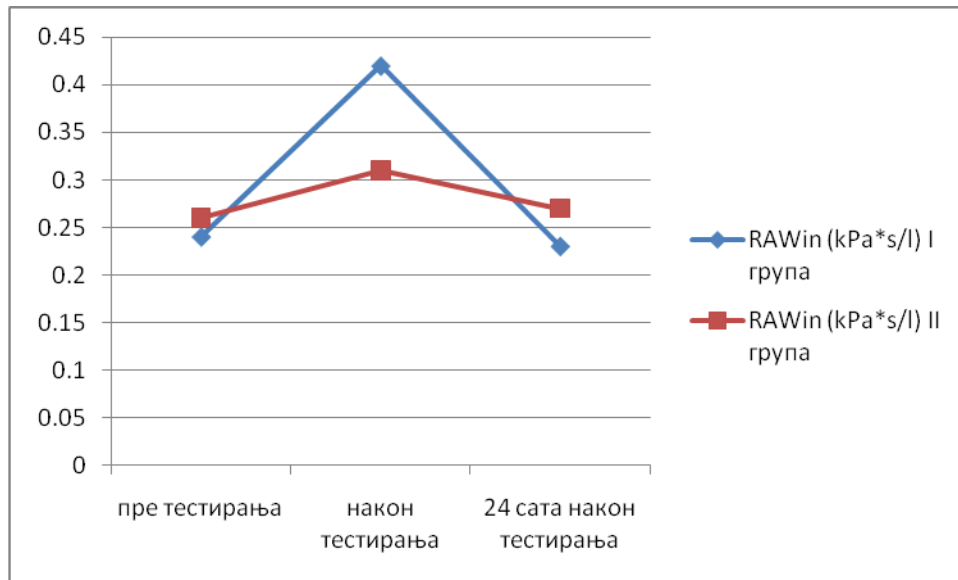
У табели 12 су приказане вредности телесне плетизмографије 24 сата након тестирања хистамином у првој групи односно бета-2 адренергичким агонистом у другој групи. Између анализираних група у већини параметара није нађена статистички значајна разлика, осим у RV/TLC-b као % од норме, при чему су вредности биле веће у другој групи.

Табела 12. Налази телесне плетизмографије 24 сата након тестирања хистамином односно бета-2 адренергичким агонистом у односу на анализирану групу (I група тестирана хистамином; II група тестирана бета-2 адренергичким агонистом)

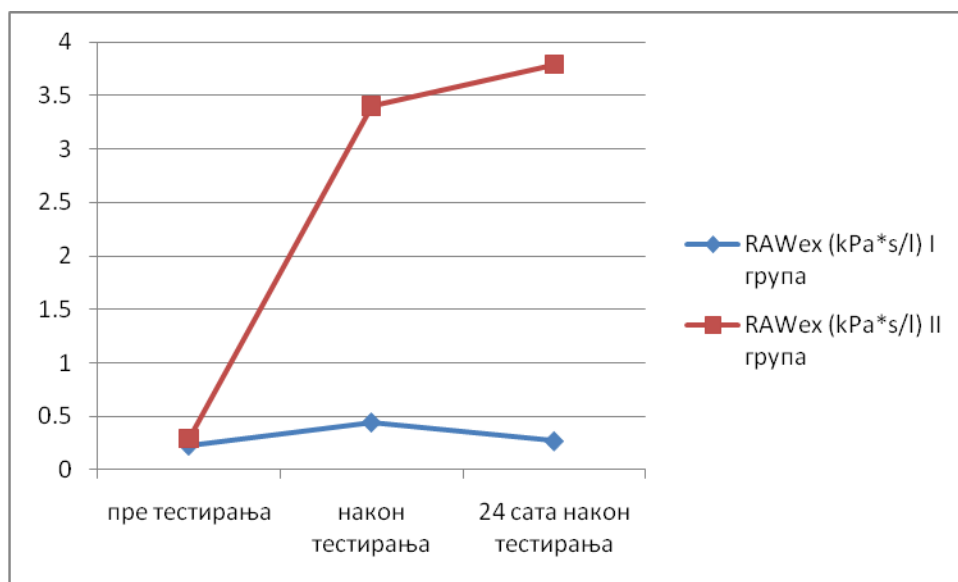
	I група (CB ± CD)	II група (CB ± CD)	p вредност*
RAWin (kPa*s/l)	0,23 ± 0,11	0,27 ± 0,15	p = 0,346
RAWex (kPa*s/l)	0,27 ± 0,25	3,79 ± 20,32	p = 0,934
sRAWtot (kPa*s)	0,97 ± 0,48	0,97 ± 0,60	p = 0,665
sRAWtot % од норме	92,02 ± 49,14	97,61 ± 59,45	p = 0,905
Gtot (l/(kPa*s))	5,40 ± 3,26	4,95 ± 2,47	p = 0,894
Gtot % од норме	116,37 ± 42,09	98,64 ± 44,27	p = 0,285
sGtot (l/(kPa*s))	1,34 ± 0,78	1,28 ± 0,63	p = 0,914
sGtot % од норме	145,57 ± 91,73	132,97 ± 66,96	p = 0,831
TGV-b (l)	3,72 ± 1,07	3,78 ± 0,75	p = 0,577
TGV-b % од норме	117,94 ± 29,44	124,11 ± 21,06	p = 0,495
RV-b (l)	2,15 ± 0,77	2,44 ± 0,87	p = 0,275
RV-b % од норме	123,06 ± 41,32	143,87 ± 44,01	p = 0,110
TLC-b (l)	6,86 ± 1,62	6,63 ± 1,34	p = 0,771
TLC-b % од норме	106,14 ± 16,08	109,30 ± 15,98	p = 0,479
RV/TLC-b (%)	31,67 ± 8,99	36,37 ± 8,85	p = 0,053
RV/TLC-b % од норме	107,76 ± 22,64	126,56 ± 28,53	p = 0,014

* Mann-Whitney тест

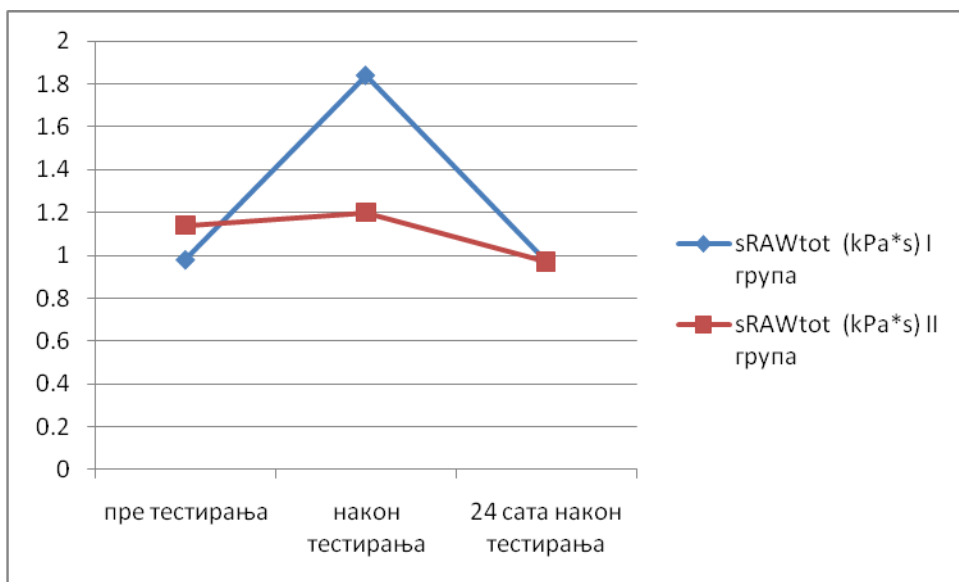
Након тога смо вредности телесне плетизмографије представили графички за сва три временска пресека и урадили Kruskal Wallis тест за сваки од параметара, пошто се свуда радило о варијаблима које нису испуниле критеријуме за нормалну расподелу података (Графикони 5-13). У првој групи статистички значајна промена забележена је код следећих варијабли: RAWin, p = 0,007; RAWex, p = 0,012; sRAWtot, p = 0,007; Gtot, p = 0,009 и sGtot, p = 0,007, док код TGV-b, p = 0,734; RV-b, p = 0,327; TLC-b, p = 0,935 и RV/TLC-b, p = 0,157, ова промена није била статистички значајна. У другој групи статистички значајна промена није забележена ни код једне варијабле: RAWin, p = 0,225; RAWex, p = 0,209; sRAWtot, p = 0,316; Gtot, p = 0,220; sGtot, p = 0,494; TGV-b, p = 0,840; RV-b, p = 0,731; TLC-b, p = 0,921 и RV/TLC-b, p = 0,545.



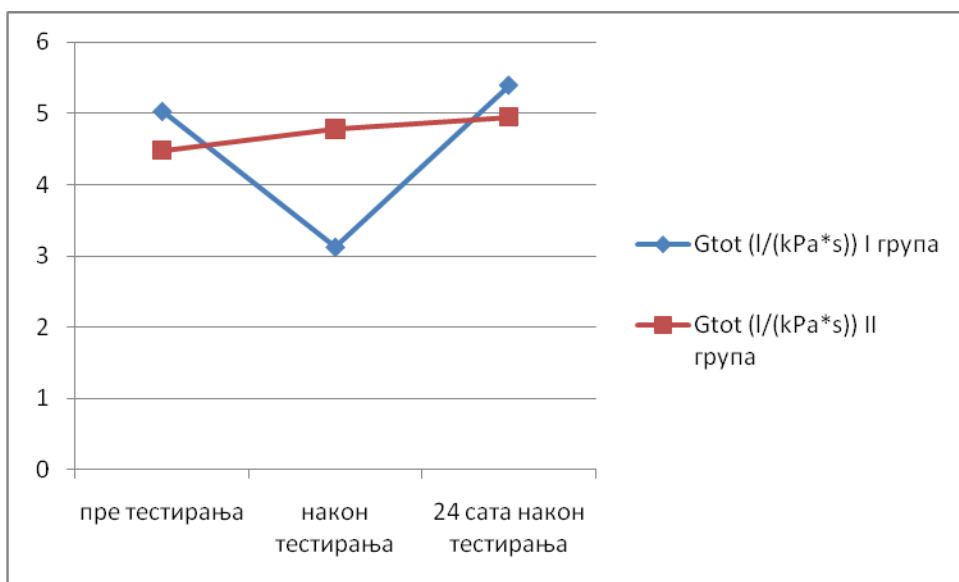
Графикон 5. Просечне вредности RAWin (kPa*s/l) у односу на анализирану групу (I група тестирана хистамином; II група тестирана бета-2 адренергичким агонистом)



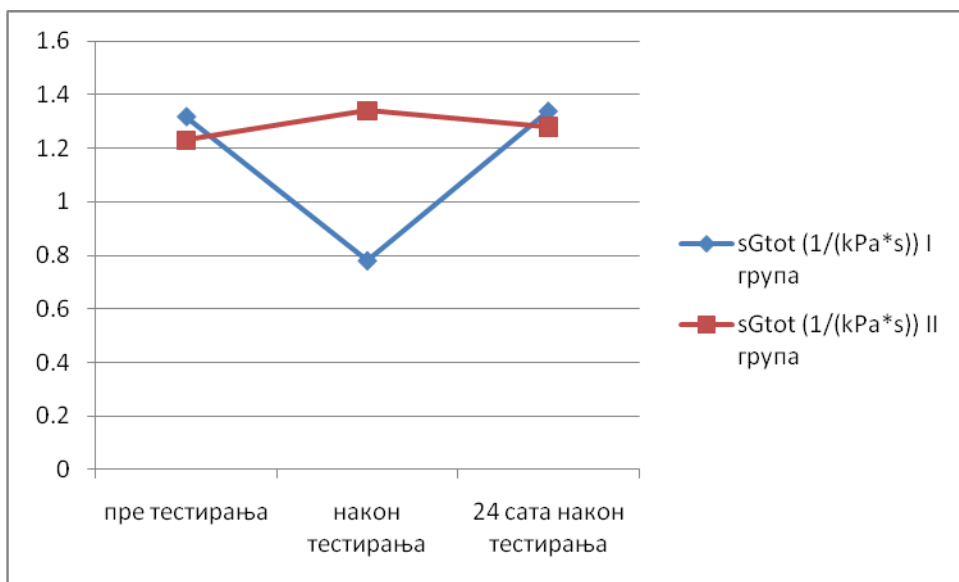
Графикон 6. Просечне вредности RAWex (kPa*s/l) у односу на анализирану групу (I група тестирана хистамином; II група тестирана бета-2 адренергичким агонистом)



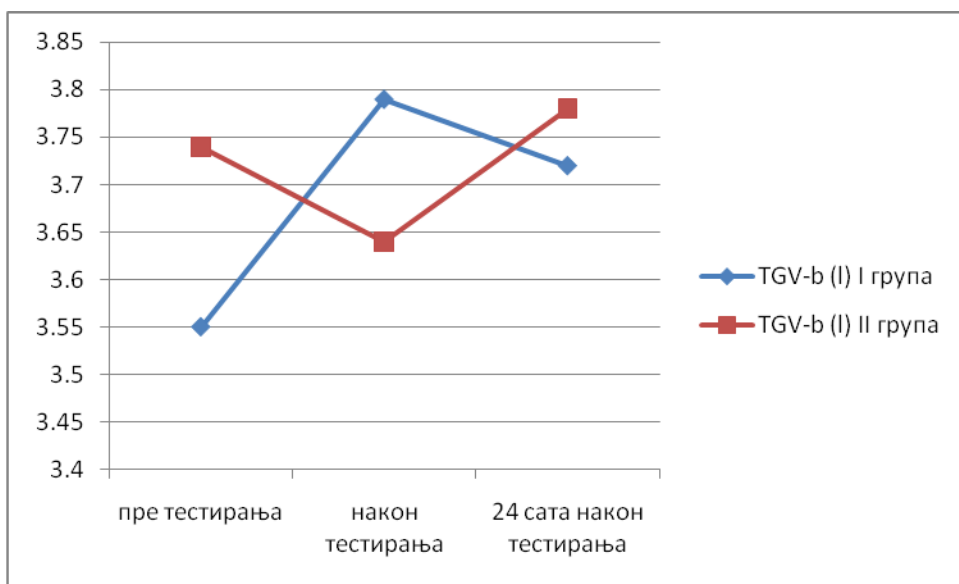
Графикон 7. Просечне вредности sRAWtot (kPa*s) у односу на анализирану групу (I група тестирана хистамином; II група тестирана бета-2 адренергичким агонистом)



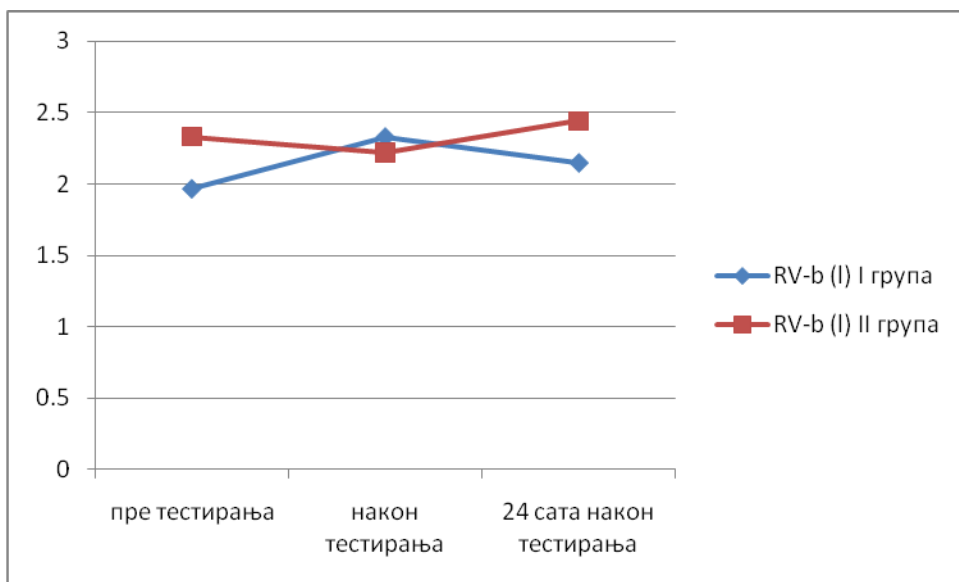
Графикон 8. Просечне вредности Gtot (l/(kPa*s)) у односу на анализирану групу (I група тестирана хистамином; II група тестирана бета-2 адренергичким агонистом)



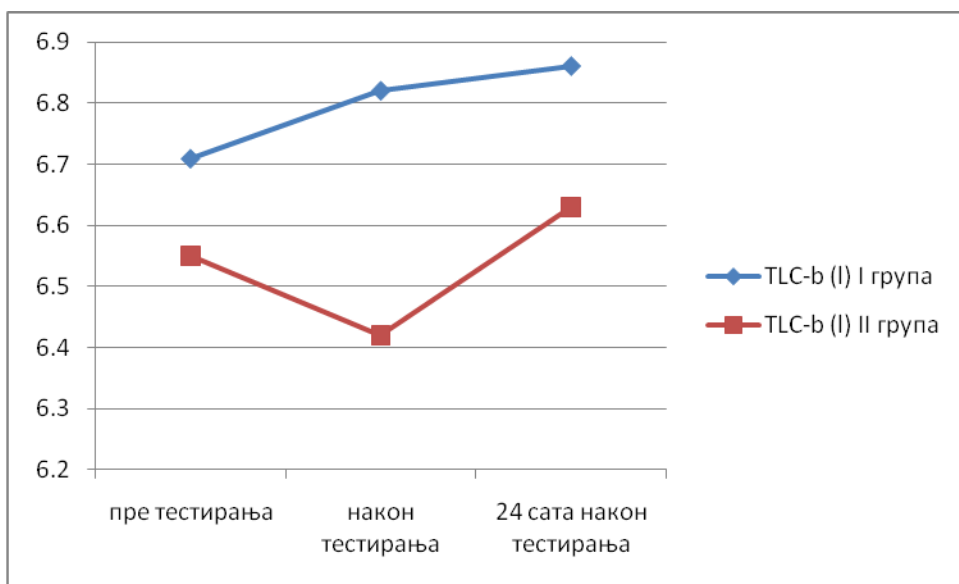
Графикон 9. Просечне вредности sGtot (1/(kPa*s)) у односу на анализирану групу (I група тестирана хистамином; II група тестирана бета-2 адренергичким агонистом)



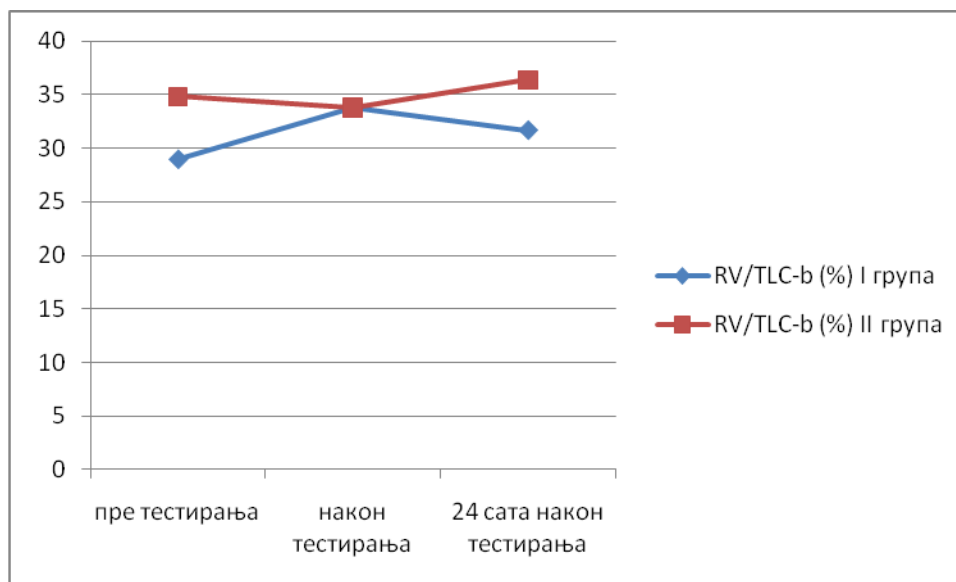
Графикон 10. Просечне вредности TGV-b (l) у односу на анализирану групу (I група тестирана хистамином; II група тестирана бета-2 адренергичким агонистом)



Графикон 11. Просечне вредности RV-b (l) у односу на анализирану групу (I група тестирана хистамином; II група тестирана бета-2 адренергичким агонистом)



Графикон 12. Просечне вредности TLC-b (l) у односу на анализирану групу (I група тестирана хистамином; II група тестирана бета-2 адренергичким агонистом)



Графикон 13. Просечне вредности RV/TLC-b (%) у односу на анализирану групу (I група тестирана хистамином; II група тестирана бета-2 адренергичким агонистом)

5.7. Налази импулсне осцилометрије (IOS)

У табели 13 су приказане вредности импулсне осцилометрије пре самог тестирања хистамином у првој групи односно бета-2 адренергичким агонистом у другој групи. Између анализираних група није нађена статистички значајна разлика ни у једном параметру.

У табели 14 су приказане вредности импулсне осцилометрије након тестирања хистамином у првој групи односно бета-2 адренергичким агонистом у другој групи. Између анализираних група није нађена статистички значајна разлика ни у једном параметру.

Табела 13. Налази импулсне осцилометрије пре самог тестирања хистамином односно бета-2 адренергичким агонистом у односу на анализирану групу (I група тестирана хистамином; II група тестирана бета-2 адренергичким агонистом)

	I група (CB ± CD)	II група (CB ± CD)	p вредност*
Z bei 5Hz (kPa/l/s)	0,31 ± 0,12	0,33 ± 0,21	p = 0,840
Z bei 5Hz % од норме	98,94 ± 34,29	107,56 ± 69,47	p = 0,841
R at 5Hz (kPa/l/s)	0,30 ± 0,11	0,32 ± 0,20	p = 0,889
R at 5Hz % од норме	95,77 ± 31,92	102,46 ± 63,96	p = 0,875
R at 20Hz (kPa/l/s)	0,26 ± 0,09	0,25 ± 0,14	p = 0,861
R at 20Hz % од норме	97,97 ± 35,67	94,14 ± 52,27	p = 0,861
X at 5Hz (kPa/l/s)	-0,12 ± 0,16	-0,93 ± 0,10	p = 0,533
X at 5Hz % од норме	-194,00 ± 834,88	689,56 ± 4616,64	p = 0,630
Resonant frequency (l/s)	11,22 ± 3,07	16,06 ± 8,87	p = 0,102

* Mann-Whitney тест

Табела 14. Налази импулсне осцилометрије након тестирања хистамином односно бета-2 адренергичким агонистом у односу на анализирану групу (I група тестирана хистамином; II група тестирана бета-2 адренергичким агонистом)

	I група (CB ± CD)	II група (CB ± CD)	p вредност*
Z bei 5Hz (kPa/l/s)	0,40 ± 0,25	0,35 ± 0,15	p = 0,636
Z bei 5Hz % од норме	134,71 ± 72,47	110,81 ± 47,90	p = 0,175
R at 5Hz (kPa/l/s)	0,40 ± 0,22	0,34 ± 0,16	p = 0,302
R at 5Hz % од норме	128,89 ± 64,67	106,52 ± 43,37	p = 0,149
R at 20Hz (kPa/l/s)	0,29 ± 0,11	0,27 ± 0,09	p = 0,489
R at 20Hz % од норме	111,53 ± 40,33	100,16 ± 33,27	p = 0,319
X at 5Hz (kPa/l/s)	-0,15 ± 0,12	-0,09 ± 0,07	p = 0,092
X at 5Hz % од норме	-484,99 ± 2624,75	329,04 ± 2922,58	p = 0,746
Resonant frequency (l/s)	17,32 ± 8,79	14,58 ± 6,18	p = 0,345

* Mann-Whitney тест

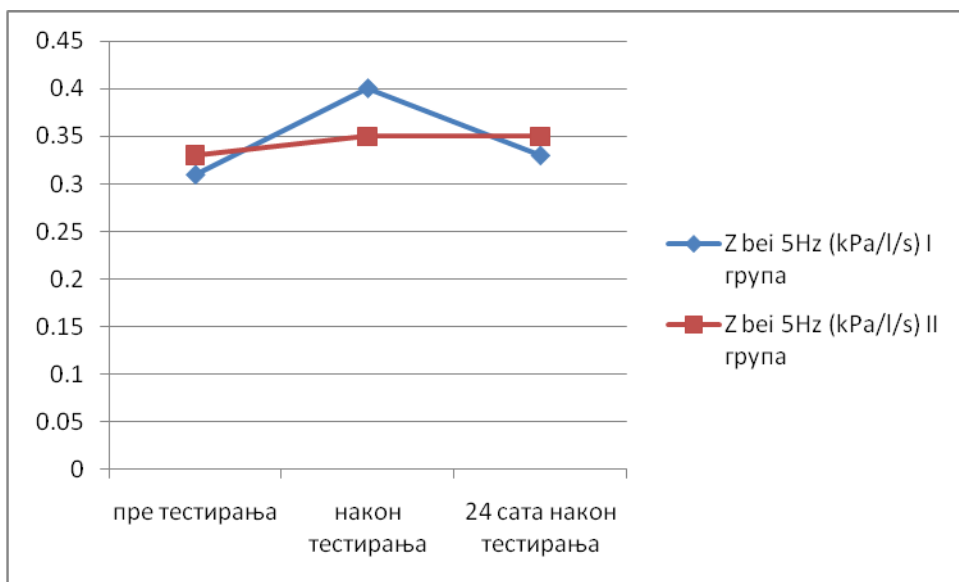
У табели 15 су приказане вредности импулсне осцилометрије 24 сата након тестирања хистамином у првој групи односно бета-2 адренергичким агонистом у другој групи. Између анализираних група није нађена статистички значајна разлика ни у једном параметру и у овом временском пресеку.

Табела 15. Налази импулсне осцилометрије 24 сата након тестирања хистамином односно бета-2 адренергичким агонистом у односу на анализирану групу (I група тестирана хистамином; II група тестирана бета-2 адренергичким агонистом)

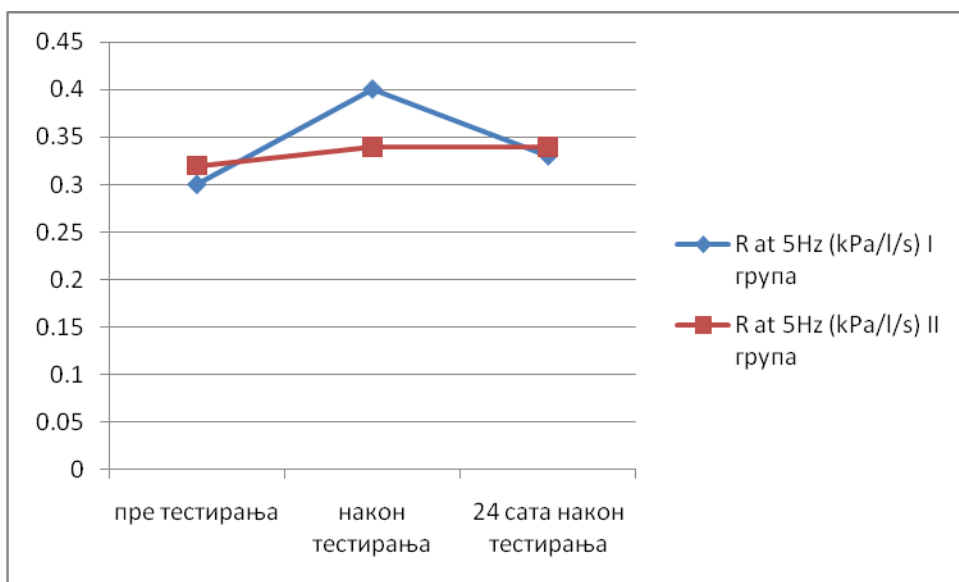
	I група (СВ ± СД)	II група (СВ ± СД)	p вредност*
Z bei 5Hz (kPa/l/s)	0,33 ± 0,20	0,35 ± 0,13	p = 0,154
Z bei 5Hz % од норме	110,19 ± 65,47	111,96 ± 42,50	p = 0,298
R at 5Hz (kPa/l/s)	0,33 ± 0,18	0,34 ± 0,12	p = 0,250
R at 5Hz % од норме	104,96 ± 61,40	107,53 ± 40,52	p = 0,334
R at 20Hz (kPa/l/s)	0,26 ± 0,12	0,28 ± 0,10	p = 0,233
R at 20Hz % од норме	99,95 ± 46,28	104,42 ± 39,16	p = 0,268
X at 5Hz (kPa/l/s)	-0,11 ± 0,08	-0,10 ± 0,04	p = 0,554
X at 5Hz % од норме	-277,52 ± 1097,74	1095,41 ± 5903,02	p = 0,410
Resonant frequency (l/s)	13,39 ± 5,97	15,21 ± 6,03	p = 0,121

* Mann-Whitney тест

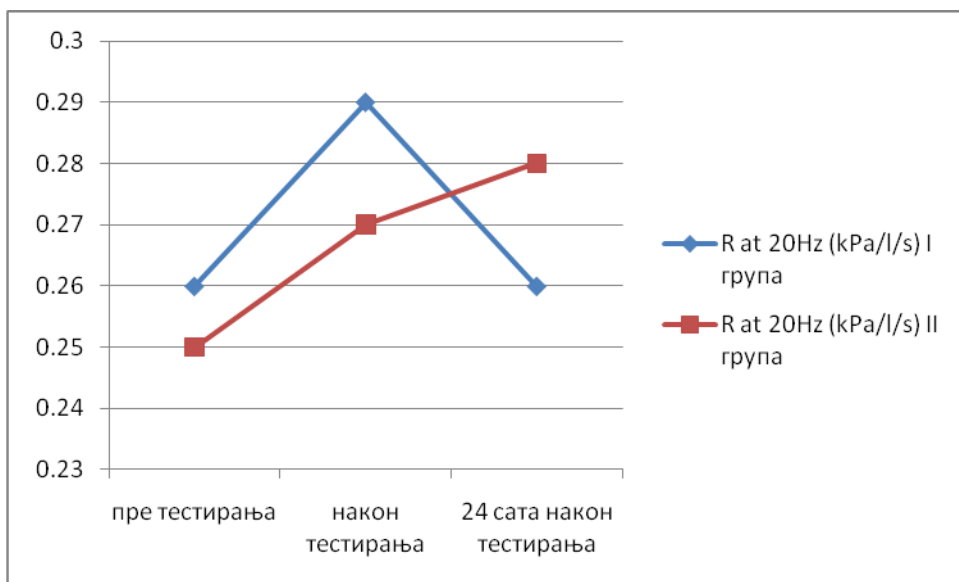
Након тога смо вредности импулсне осцилометрије представили графички за сва три временска пресека и урадили Kruskal Wallis тест за сваки од параметара, пошто се свуда радило о варијаблама које нису испуниле критеријуме за нормалну расподелу података (Графикони 14-18). У првој групи статистички значајна промена забележена је само код Resonant frequency, p = 0,025, док код осталих варијабли разлика није била значајна, Z bei 5Hz, p = 0,379; R at 5Hz, p = 0,153; R at 20Hz, p = 0,414 и X at 5Hz, p = 0,455. У другој групи статистички значајна промена није забележена ни код једне варијабле: Z bei 5Hz, p = 0,551; R at 5Hz, p = 0,502; R at 20Hz, p = 0,408; X at 5Hz, p = 0,339 и Resonant frequency, p = 0,865.



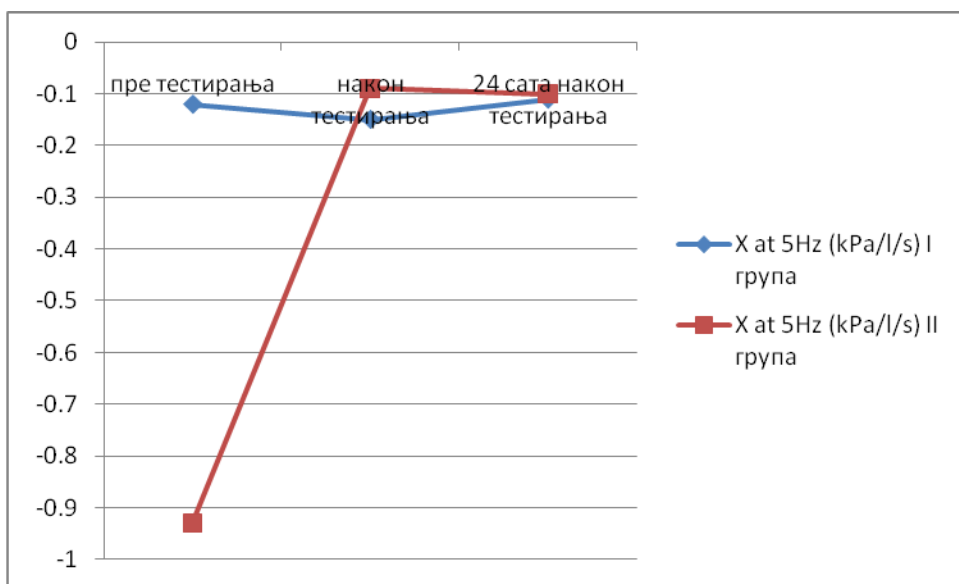
Графикон 14. Просечне вредности Z bei 5Hz (kPa/l/s) у односу на анализирану групу (I група тестирана хистамином; II група тестирана бета-2 адренергичким агонистом)



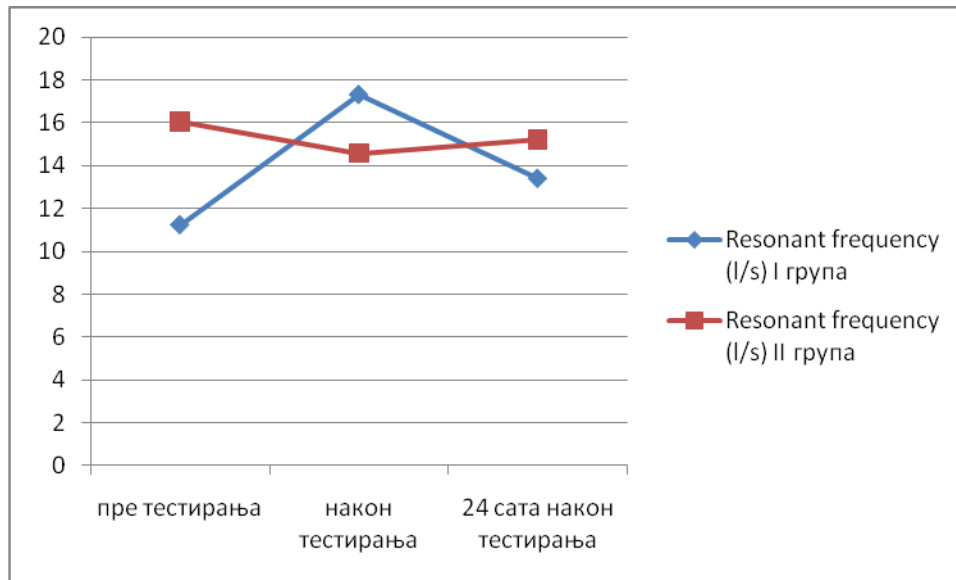
Графикон 15. Просечне вредности R at 5Hz (kPa/l/s) у односу на анализирану групу (I група тестирана хистамином; II група тестирана бета-2 адренергичким агонистом)



Графикон 16. Просечне вредности R at 20Hz (kPa/l/s) у односу на анализирану групу (I група тестирана хистамином; II група тестирана бета-2 адренергичким агонистом)



Графикон 17. Просечне вредности X at 5Hz (kPa/l/s) у односу на анализирану групу (I група тестирана хистамином; II група тестирана бета-2 адренергичким агонистом)



Графикон 18. Просечне вредности Resonant frequency (l/s) у односу на анализирану групу (I група тестирана хистамином; II група тестирана бета-2 адренергичким агонистом)

5.8. Индукована хиперреактивност бронха хистамином у првој групи испитаника: хистамин позитивни и хистамин негативни испитаници

Ако се анализира само група која је тестирана хистамином, њих 25, видимо да у групи код које је дошло до смањења FEV1 за више од 20%, хистамин позитивни, PC₂₀ је био у просеку 1,92 ± 0,85 mg/ml, док у групи која је била хистамин негативна, пад мањи од 20% за FEV1 је био у просеку -0,93 ± 6,37 mg/ml (Табела 16). До значајног пада FEV1 (већи од 20%) дошло је код 10 од 25 испитаника, односно код 40% испитаних. Хистамин позитивних је било укупно 10, док је хистамин негативних било 15 пацијената.

Између хистамин позитивних и хистамин негативних није нађена статистички значајна разлика у полној дистрибуцији (Табела 17), док је хистамин негативна група била значајно старија у поређењу са хистамин негативнима.

Табела 16. Индукована хиперреактивност бронха

	Хистамин позитивни	Хистамин негативни
↓FEV1 (%)	31,11 ± 6,50	-0,93 ± 6,37
PC ₂₀ (mg/ml)	1,92 ± 0,85	-

Табела 17. Демографске карактеристике пацијената тестираних хистамином

	Хистамин позитивни	Хистамин негативни	р вредност
Пол; број (%)			
Мушкарци	5 (50,0)	6 (40,0)	р = 0,934*
Жене	5 (50,0)	9 (60,0)	
Старост; године живота			
СВ±СД	28,60 ± 5,54	39,87 ± 12,28	р = 0,010**

* Chi-square тест; ** Mann-Whitney тест

Тегобе хистамин позитивних пацијената ($8,10 \pm 5,42$ година) су трајале дуже у поређењу са хистамин негативним ($7,47 \pm 6,33$ година), али ова разлика није била статистички значајна (Mann-Whitney тест; $p=0,531$).

Ако се погледају тегобе које су биле присутне код пацијената тестираних хистамином, онда се види да нема разлика у учесталости између испитиваних група (Табела 18). У хистамин позитивној групи је најчешће присутан суви кашаљ и кијавица, док су у хистамин негативној групи најчешће присутни суви кашаљ, цурење носа и кијавица.

Табела 18. Тегобе пацијената тестираних хистамином

Тегобе пацијената (да)	Хистамин позитивни; број (% од 10 пацијената)	Хистамин негативни; број (% од 15 пацијената)	р вредност*
Гушење	9 (90,0)	7 (46,7)	р = 0,074
Суви кашаљ	10 (100,0)	14 (93,3)	р = 1,000
Продуктивни кашаљ	3 (30,0)	4 (26,7)	р = 1,000
Свирање у грудима	8 (80,0)	10 (66,7)	р = 0,785
Отежано дисање	9 (90,0)	11 (73,3)	р = 0,610
Замарање	8 (80,0)	11 (73,3)	р = 1,000
Стезање у грудима	5 (50,0)	8 (53,3)	р = 1,000
Цурење носа	9 (90,0)	12 (80,0)	р = 0,911
Кијавица	10 (100,0)	13 (86,7)	р = 0,652
Ноћно гушење	5 (50,0)	8 (53,3)	р = 1,000
Сузење очију	4 (40,0)	9 (60,0)	р = 0,567
Црвенило очију	5 (50,0)	8 (53,3)	р = 1,000
Свраб по кожи	1 (10,0)	4 (26,7)	р = 0,610
Уртикарија	-	2 (13,3)	-

* Chi-square тест

Што се тиче физичког налаза на плућима, нису нађене значајне разлике између хистамин позитивних и негативних испитаника (Табела 19). И у првој и у другој групи испитаника, налаз је најчешће био уредан, али је чешћи патолошки налаз код хистамин позитивних пацијената. Међутим, ако се погледа само патолошки налаз, онда у хистамин позитивној групи најчешће је присутан продужен експиријум, док су у хистамин негативној групи најчешће присутни ослабљено дисање, продужен експиријум и полифони визинг.

Табела 19. Дистрибуција пацијената тестираних хистамином у односу на физички налаз на плућима

Присутан физички налаз на плућима	Хистамин позитивни; број (% од 10 пацијената)	Хистамин негативни; број (% од 15 пацијената)	р вредност*
Уредан налаз	3 (30,0)	11 (78,6)	р = 0,050
Ослабљено дисање	1 (10,0)	6 (42,9)	р = 0,197
Продужен експиријум	3 (30,0)	5 (35,7)	р = 1,000
Високотонски визинг	2 (20,0)	3 (21,4)	р = 1,000
Нисокотонски визинг	1 (10,0)	1 (7,1)	р = 1,000
Полифони визинг	-	5 (35,7)	р = 0,106
Пооштрено дисање	-	2 (14,3)	р = 0,618
Инспиријумски пукоти	-	4 (28,6)	р = 0,195

* Chi-square тест

Ако се погледају биохемијски налази (Табела 20), није нађена статистички значајна значајна разлика између хистамин позитивних и хистамин негативних пацијената. Међутим, вредности неких параметара су ипак клинички значајно веће у односу на другу групу. Вредности IgE значајно су изнад референтних вредности (0-100 IU/ml) у обе групе, али су у хистамин позитивној групи два пута веће у односу на хистамин негативне пацијенте. Такође је повећана и ЕСР вредност у обе групе у односу на референтне вредности (0-24 ng/ml), али више у хистамин позитивној групи.

Табела 20. Просечне вредности биохемијских налаза пацијената тестираних хистамином

Биохемијски налази; СВ ± СД	Хистамин позитивни	Хистамин негативни	р вредност*
Седиментација; mm/1h	10,00 ± 12,00	18,00 ± 12,00	p = 0,055
Ц-реактивни протеин; mg/l	1,34 ± -	4,75 ± 5,12	p = 1,000
Прокалцитонин; ng/ml	0,06 ± 0,03	0,06 ± 0,02	p = 0,892
Еритроцити; x10 ¹² /l	5,08 ± 0,56	4,74 ± 0,62	p = 0,196
Тромбоцити; x10 ⁹ /l	247,30 ± 60,07	244,27 ± 69,01	p = 0,978
Хемоглобин; g/l	144,90 ± 17,00	134,20 ± 19,30	p = 0,129
Хематокрит; l/l	0,44 ± 0,05	0,41 ± 0,06	p = 0,367
Леукоцити; x10 ⁹ /l	6,85 ± 0,94	7,22 ± 2,45	p = 0,892
Неутрофили; x10 ⁹ /l	3,87 ± 1,01	8,34 ± 14,76	p = 0,238
Еозинофили; x10 ⁹ /l	0,30 ± 0,15	0,38 ± 0,39	p = 0,505
IgE; IU/ml	311,58 ± 291,34	172,28 ± 181,69	p = 0,138
Еозинофили/mm ³ ; /UI	314,44 ± 153,06	268,50 ± 271,44	p = 0,193
ЕСР; ng/ml	32,67 ± 16,41	29,03 ± 34,01	p = 0,123

* Mann-Whitney тест

Кожни тестови са инхалационим алергенима извршени су prick методом (Табела 21). Највише позитивних реакција је било на грињу *Dermatophagoides pteronissinus*, полен траве и перје у хистамин позитивној групи, док је највише позитивних у хистамин негативној групи било на полен траве, полен корова и *Dermatophagoides pteronissinus*. Међутим, статистички значајне разлике између испитиваних група нађена је само у случају учесталости алергије на грињу *Dermatophagoides pteronissinus*, која је чешћа у хистамин позитивној групи (80% од укупно 10 пацијената) у односу на хистамин негативној групи (21,4% у односу на 12 пацијената).

Табела 21. Дистрибуција пацијената тестираних хистамином према налазу кожне пробе са инхалационим алергенима

	Хистамин позитивни; број (% од 10 пацијената)	Хистамин негативни; број (% од 12 пацијената)	р вредност*
<i>Dermatophagoides pteronissinus</i>	8 (80,0)	3 (21,4)	p = 0,015
Кућна прашина	1 (10,0)	-	-
Полен траве	5 (50,0)	3 (21,4)	p = 0,306
Полен корова	3 (30,0)	5 (35,7)	p = 1,000
Полен дрвећа	3 (30,0)	2 (14,3)	p = 0,671
Буђ	-	-	-
Дуван	2 (20,0)	1 (7,1)	p = 0,754
Бактерије	-	-	-
<i>Aspergillus fumigatus</i>	-	-	-
Перје	6 (60,0)	1 (7,1)	p = 0,019
Постељина	3 (30,0)	-	-
Хистамин	4 (40,0)	5 (41,7)	p = 1,000

* Chi-square тест

Табела 22. Показатељи плућне вентилације у пацијената тестираних хистамином пре почетка испитивања хистамином

	Хистамин позитивни	% од норме	Хистамин негативни	% од норме	р вредност
FVC (l)	4,95 ± 1,02	102,39 ± 12,29	4,48 ± 1,47	102,13 ± 8,55	p = 0,428
FEV1(l)	4,17 ± 0,64	103,14 ± 11,09	3,75 ± 1,16	103,65 ± 7,18	p = 0,338
Tiffneau индекс (%)	85,10 ± 5,96	102,62 ± 7,26	84,06 ± 5,64	104,11 ± 8,38	p = 0,338
PEF (l/s)	8,73 ± 2,08	97,09 ± 18,02	8,01 ± 2,30	96,78 ± 12,89	p = 0,338

FVC - форсирани витални капацитет; FEV1- форсирани експиријумски волумен у првој секунди; Tiffneau индекс- однос FEV1/FVC изражен у процентима; PEF - вршни експиријумски проток

Пре самог почетка тестирања хистамином код свих испитаника су урађене спирометријске анализе за процену плућне функције: форсирани витални капацитет, форсирани експиријумски волумен у првој секунди, Tiffneau индекс и вршни експиријумски проток. У табели 22 су приказане вредности ових показатеља плућне

функције у односу на припадност анализираној групи. Између ове две групе пацијената није нађена статистички значајна разлика у овим показатељима плуће функције.

У табели 23 су приказане вредности показатеља плућне функције код пацијената тестираних хистамином након тестирања хистамином. Између групе пацијената нађена је статистички значајна разлика у вредностима Tiffneau индекса, који је значајно мањи код хистамин позитивних, док код осталих показатеља није било значајне разлике.

Табела 23. Показатељи плућне вентилације у пацијената тестираних хистамином након тестирања хистамином

	Хистамин позитивни	% од норме	Хистамин негативни	% од норме	р вредност
FVC (l)	4,00 ± 0,97	82,59 ± 13,06	4,65 ± 1,46	103,25 ± 8,54	р = 0,341
FEV1(l)	2,92 ± 0,56	72,03 ± 10,10	3,88 ± 1,17	104,23 ± 8,15	р = 0,056
Tiffneau индекс (%)	73,93 ± 6,12	89,31 ± 7,53	83,87 ± 5,42	103,59 ± 8,08	р = 0,001
PEF (l/s)	6,79 ± 1,87	74,97 ± 14,95	8,11 ± 2,19	96,66 ± 17,80	р = 0,138

FVC - форсирани витални капацитет; FEV1- форсирани експиријумски волумен у првој секунди; Tiffneau индекс- однос FEV1/FVC изражен у процентима; PEF - вршни експиријумски проток

Након 24 сата од тестирања, испитаници су опет подвргнути мерењу показатеља плућне функције, односно урађене су спирометријске анализе (Табела 24). Међутим, нису нађене статистички значајне разлике између ове две групе пацијената ни у једном показатељу.

Такође су урађене и биохемијске анализе од интереса након 24 сата од тестирања, (Табела 25). Просечне вредности еозинофила у комори су се значајно разликовале између хистамин позитивних и негативних пацијената, тако што су биле значајно веће 24 сата након тестирања хистамином у групи хистамин позитивних у односу на хистамин негативне. Слично су се понашали и еозинофили у серуму изражени као % где бележимо значајно веће вредности код хистамин позитивних 24 сата након тестирања. Вредности

ЕСР и интерлеукина-6 нису се значајно разликовале како између анализираних група, тако и у оквиру групе пре и 24 сата након тестирања.

Табела 24. Показатељи плућне вентилације у пацијената тестираних хистамином 24 сата након тестирања хистамином

	Хистамин позитивни	% од норме	Хистамин негативни	% од норме	р вредност
FVC (l)	5,03 ± 1,05	101,87 ± 15,57	4,45 ± 1,42	101,21 ± 7,43	p = 0,392
FEV1(l)	4,13 ± 0,71	100,00 ± 13,33	3,65 ± 1,09	101,53 ± 10,03	p = 0,428
Tiffneau индекс (%)	82,86 ± 6,38	100,26 ± 7,80	83,78 ± 6,32	103,83 ± 8,83	p = 0,636
PEF (l/s)	8,81 ± 2,17	95,62 ± 15,30	7,95 ± 1,97	97,11 ± 16,37	p = 0,591

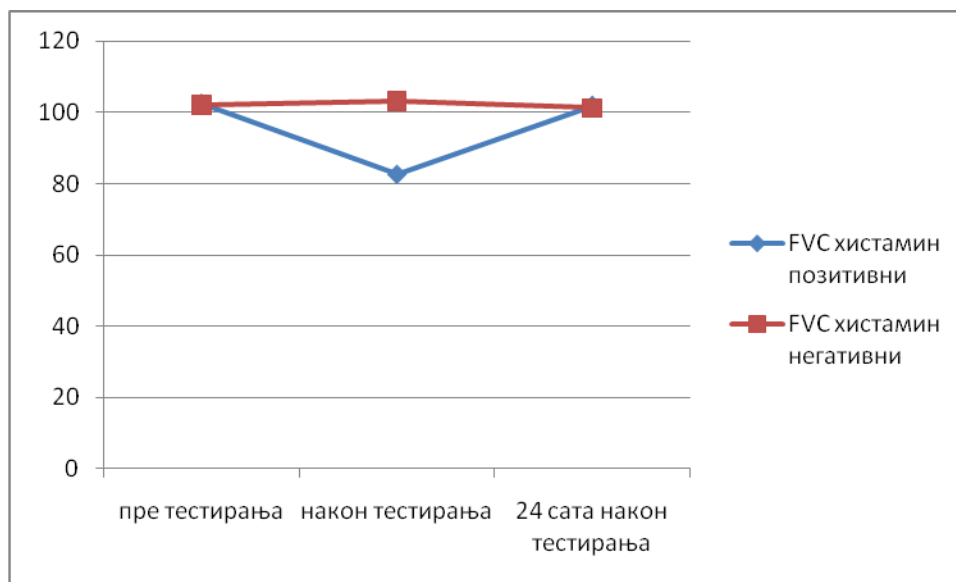
FVC - форсирани витални капацитет; FEV1- форсирани експиријумски волумен у првој секунди; Tiffneau индекс- однос FEV1/FVC изражен у процентима; PEF - вршни експиријумски проток

Табела 25. Просечне вредности биохемијских налаза у пацијената тестираних хистамином иницијално пре почетка тестирања и другог дана, односно 24 сата након тестирања

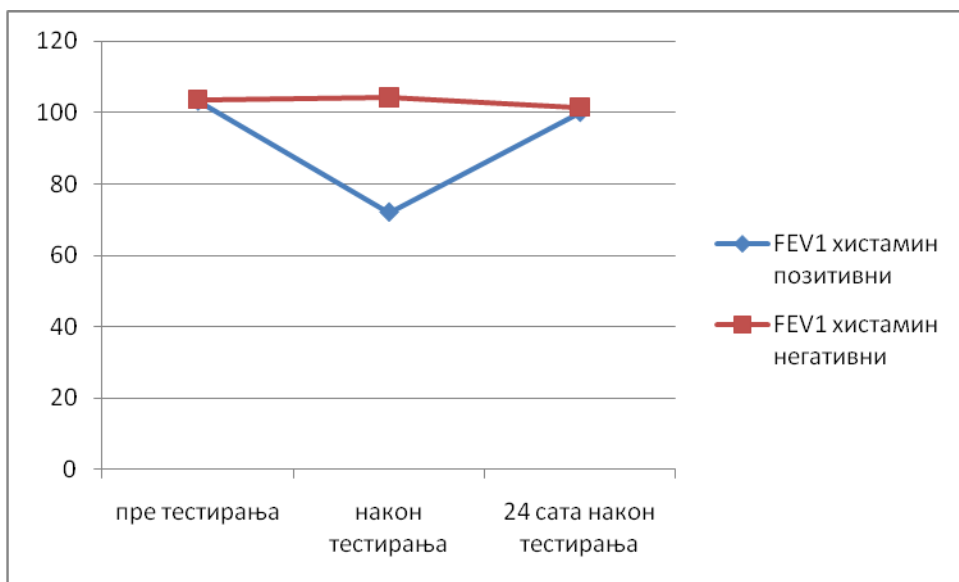
Биохемијски налази; СВ ± СД	Хистамин позитивни	Хистамин негативни	р вредност*
Еозинофили /mm ³ 1. дан; /Уl	314,44 ± 153,06	268,50 ± 271,44	p = 0,193
Еозинофили /mm ³ 2. дан; /Уl	362,00 ± 134,06	227,50 ± 172,74	p = 0,030
р вредност*	p = 0,447	p = 0,977	
ЕСР 1. дан; ng/ml	32,67 ± 16,41	29,03 ± 34,01	p = 0,123
ЕСР 2. дан; ng/ml	32,18 ± 14,43	25,48 ± 22,57	p = 0,071
р вредност*	p = 0,842	p = 1,000	
Еозинофили серум 1. дан; %	4,53 ± 2,33	3,44 ± 2,96	p = 0,084
Еозинофили серум 2. дан; %	5,62 ± 2,64	3,17 ± 2,49	p = 0,015
р вредност*	p = 0,353	p = 0,867	
Интерлеукин-6 1. дан; pg/ml	8,14 ± 16,51	2,33 ± 0,65	p = 0,926
Интерлеукин-6 2. дан; pg/ml	2,47 ± 1,38	2,78 ± 1,60	p = 0,212
р вредност*	p = 0,400	p = 0,910	

* Mann-Whitney тест

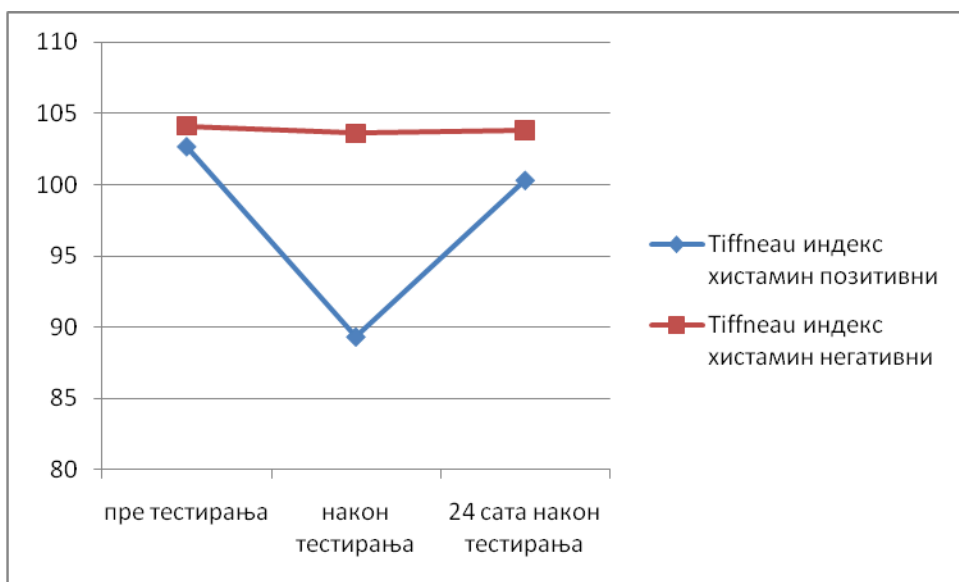
Ако пак анализирамо вредности плућних тестова у односу на временски период, онда се види да у хистамин негативној групи не долази до значајне промене ових плућних тестова. Међутим, у хистамин позитивној групи бележимо значајну разлику вредности пре и након тестирања хистамином. Након тестирања долази до пада свих параметара одмах након тестирања хистамином, док се 24 сата касније вредности враћају слично као и пре тестирања: FVC (Графикон 19) (Kruskal Wallis тест, $p = 0,015$); (Графикон 20) FEV1 (Kruskal Wallis тест, $p < 0,001$); Tiffneau индекс (Графикон 21) (Kruskal Wallis тест, $p = 0,003$) и PEF (Kruskal Wallis тест, $p = 0,027$) (Графикон 22). У хистамин негативној групи та разлика није била значајна: FVC (Графикон 19) (Kruskal Wallis тест, $p = 0,895$); (Графикон 20) FEV1 (Kruskal Wallis тест, $p = 0,743$); Tiffneau индекс (Графикон 21) (Kruskal Wallis тест, $p = 0,631$) и PEF (Kruskal Wallis тест, $p = 0,998$) (Графикон 22).



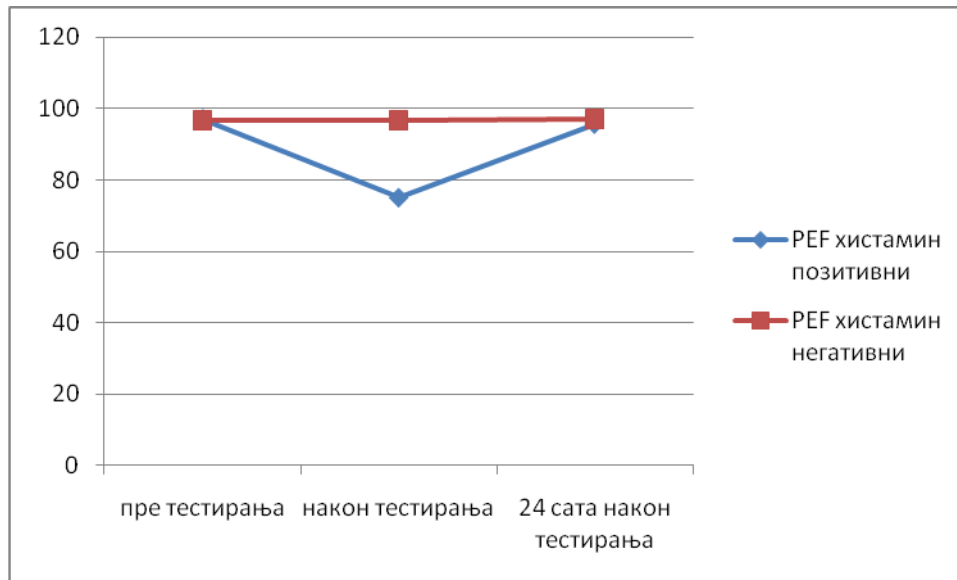
Графикон 19. Просечне вредности FVC изражене као % од норме у пацијената тестираних хистамином



Графикон 20. Просечне вредности FEV1 изражене као % од норме у пацијената тестираних хистамином



Графикон 21. Просечне вредности Tiffneau индекса изражене као % од норме у пацијената тестираних хистамином



Графикон 22. Просечне вредности PEF изражене као % од норме у пацијената тестираних хистамином

У табели 26 су приказане вредности телесне плетизмографије пре тестирања хистамином. Између хистамин позитивних и негативних пацијената није нађена статистички значајна разлика у вредности ових параметара.

У табели 27 су приказане вредности телесне плетизмографије после тестирања хистамином. Између анализираних група у већини параметара нађена је статистички значајна разлика: RAWin, RAWex, sRAWtot, Gtot и sGtot, као и RV-b % и RV/TLC-b % од норме, при чему су све побројане вредности осим Gtot и sGtot веће у хистамин позитивној групи, а ове преостале две у хистамин негативној групи испитаника.

Табела 26. Налази телесне плетизмографије у пацијената тестираних хистамином пре почетка тестирања

Параметри; СВ ± СД	Хистамин позитивни	Хистамин негативни	р вредност*
RAWin (kPa*s/l)	0,23 ± 0,08	0,25 ± 0,11	p = 0,935
RAWex (kPa*s/l)	0,18 ± 0,10	0,26 ± 0,13	p = 0,160
sRAWtot (kPa*s)	0,88 ± 0,46	1,05 ± 0,30	p = 0,285
sRAWtot % од норме	80,84 ± 40,07	100,43 ± 32,66	p = 0,238
Gtot (l/(kPa*s))	6,28 ± 5,01	4,20 ± 1,83	p = 0,261
Gtot % од норме	117,65 ± 29,74	108,65 ± 28,90	p = 1,000
sGtot (l/(kPa*s))	1,75 ± 1,58	1,04 ± 0,32	p = 0,285
sGtot % од норме	195,16 ± 189,47	111,60 ± 42,17	p = 0,238
TGV-b (l)	3,69 ± 0,79	3,45 ± 1,09	p = 0,397
TGV-b % од норме	115,92 ± 21,88	110,47 ± 27,60	p = 0,643
RV-b (l)	1,71 ± 0,68	2,14 ± 0,94	p = 0,261
RV-b % од норме	100,73 ± 36,02	117,14 ± 47,29	p = 0,367
TLC-b (l)	6,72 ± 1,54	6,71 ± 1,77	p = 0,723
TLC-b % од норме	101,07 ± 14,43	106,33 ± 13,73	p = 0,397
RV/TLC-b (%)	24,72 ± 5,56	31,80 ± 11,21	p = 0,115
RV/TLC-b % од норме	95,38 ± 24,70	102,96 ± 30,37	p = 0,367

* Mann-Whitney тест

Табела 27. Налази телесне плетизмографије у пацијената тестираних хистамином после тестирања хистамином

Параметри; СВ ± СД	Хистамин позитивни	Хистамин негативни	р вредност*
RAWin (kPa*s/l)	0,63 ± 0,29	0,26 ± 0,10	p = 0,001
RAWex (kPa*s/l)	0,65 ± 0,39	0,27 ± 0,10	p = 0,004
sRAWtot (kPa*s)	2,83 ± 1,41	1,08 ± 0,29	p = 0,003
sRAWtot % од норме	269,14 ± 146,10	101,73 ± 32,78	p = 0,007
Gtot (l/(kPa*s))	2,05 ± 1,38	3,94 ± 1,12	p = 0,001
Gtot % од норме	51,20 ± 28,14	113,69 ± 35,77	p = 0,008
sGtot (l/(kPa*s))	0,51 ± 0,40	1,00 ± 0,31	p = 0,003
sGtot % од норме	57,61 ± 48,12	109,07 ± 38,42	p = 0,007
TGV-b (l)	4,15 ± 1,27	3,54 ± 1,12	p = 0,212
TGV-b % од норме	129,28 ± 32,82	110,10 ± 28,53	p = 0,376
RV-b (l)	2,71 ± 1,08	2,07 ± 0,94	p = 0,172
RV-b % од норме	159,88 ± 54,05	108,85 ± 47,29	p = 0,042
TLC-b (l)	6,88 ± 1,56	6,77 ± 1,87	p = 0,886
TLC-b % од норме	103,71 ± 14,99	103,67 ± 15,50	p = 0,879
RV/TLC-b (%)	38,56 ± 10,14	30,33 ± 11,43	p = 0,108
RV/TLC-b % од норме	147,52 ± 33,89	96,76 ± 34,01	p = 0,003

* Mann-Whitney тест

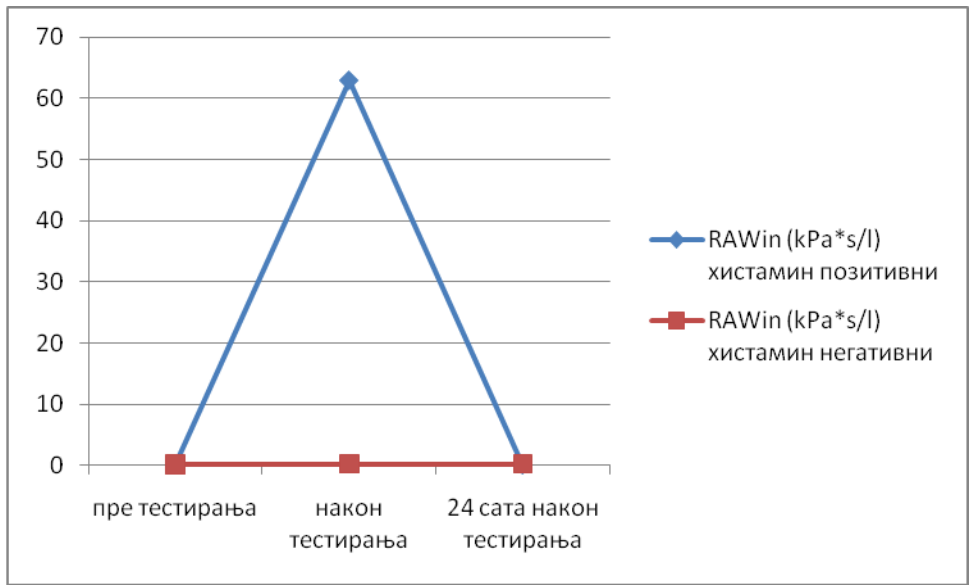
У табели 28 су приказане вредности телесне плетизмографије 24 сата након тестирања хистамином. Између анализираних група у свим параметрима, осим у Gtot, није нађена статистички значајна разлика.

Табела 28. Налази телесне плетизмографије у пацијената тестираних хистамином 24 сата
 после тестирања хистамином

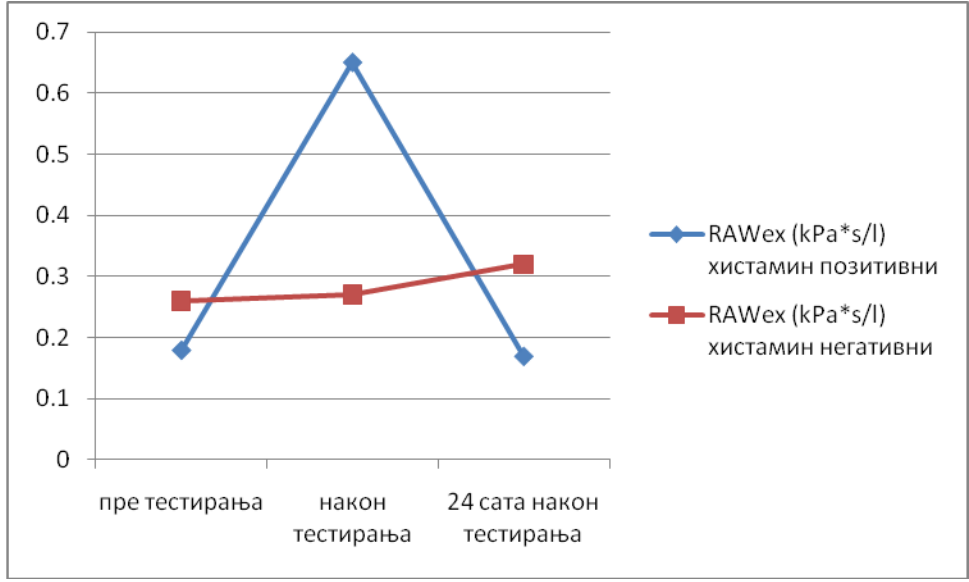
Параметри; СВ ± СД	Хистамин позитивни	Хистамин негативни	р вредност*
RAWin (kPa*s/l)	0,18 ± 0,07	0,26 ± 0,13	p = 0,149
RAWex (kPa*s/l)	0,17 ± 0,08	0,32 ± 0,29	p = 0,065
sRAWtot (kPa*s)	0,74 ± 0,37	1,09 ± 0,50	p = 0,087
sRAWtot % од норме	68,02 ± 33,81	104,82 ± 52,14	p = 0,065
Gtot (l/(kPa*s))	6,85 ± 3,34	4,63 ± 3,06	p = 0,034
Gtot % од норме	140,17 ± 32,29	109,88 ± 43,34	p = 0,291
sGtot (l/(kPa*s))	1,78 ± 1,02	1,10 ± 0,52	p = 0,087
sGtot % од норме	195,34 ± 118,04	119,03 ± 63,92	p = 0,065
TGV-b (l)	3,91 ± 0,91	3,62 ± 1,16	p = 0,506
TGV-b % од норме	121,86 ± 31,53	115,85 ± 29,18	p = 0,548
RV-b (l)	2,14 ± 0,70	2,16 ± 0,83	p = 0,681
RV-b % од норме	125,80 ± 43,81	121,37 ± 41,45	p = 0,595
TLC-b (l)	7,19 ± 1,50	6,69 ± 1,71	p = 0,506
TLC-b % од норме	106,77 ± 22,45	105,80 ± 12,40	p = 0,925
RV/TLC-b (%)	29,52 ± 7,11	32,81 ± 9,89	p = 0,776
RV/TLC-b % од норме	111,21 ± 23,40	105,93 ± 22,83	p = 0,294

* Mann-Whitney тест

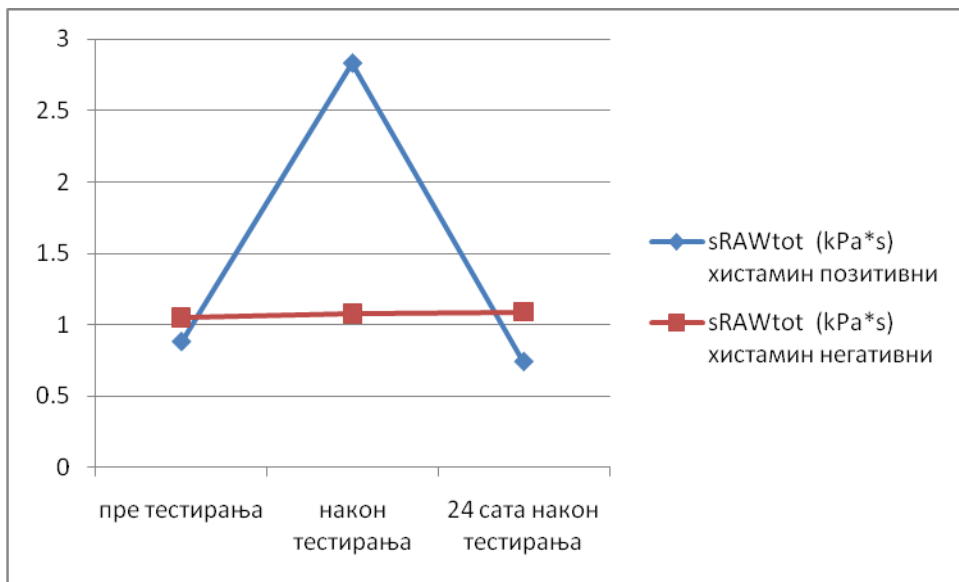
Након тога смо вредности телесне плетизмографије представили графички за сва три временска пресека и урадили Kruskal Wallis тест за сваки од параметара, пошто се свуда радило о варијаблама које нису испуниле критеријуме за нормалну расподелу података (Графикони 23-31). У хистамин позитивној групи имамо статистички значајан скок код следећих варијабли: RAWin, p = 0,001; RAWex, p = 0,002; sRAWtot, p = 0,001; RV/TLC-b, p = 0,005; односно статистички значајан пад након тестирања хистамином код Gtot, p = 0,001 и sGtot, p = 0,001, док код TGV-b, p = 0,774; RV-b, p = 0,054 и TLC-b, p = 0,722 ова промена није била статистички значајна. У хистамин негативној групи све промене су биле статистички незначајне: RAWin, p = 0,739; RAWex, p = 0,969; sRAWtot, p = 0,833; Gtot, p = 0,982; sGtot, p = 0,826; TGV-b, p = 0,846; RV-b, p = 0,996; TLC-b, p = 0,992 и RV/TLC-b, p = 0,915.



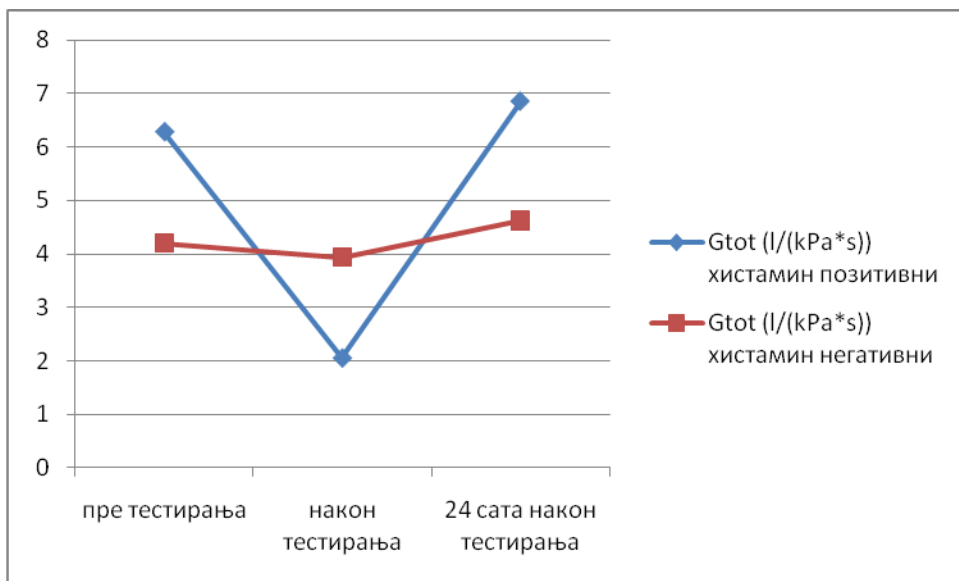
Графикон 23. Просечне вредности RAWin (kPa*s/l) у пацијената тестираних хистамином



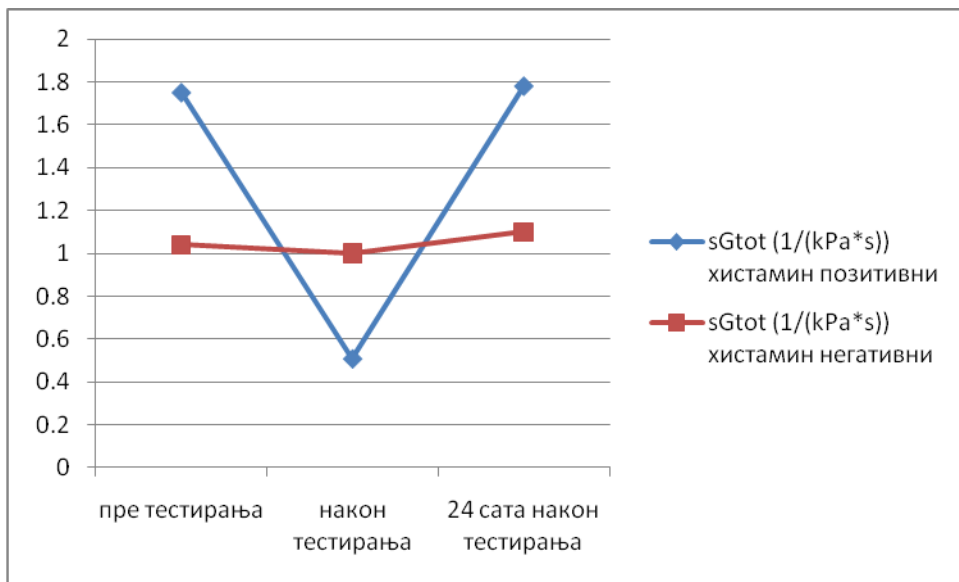
Графикон 24. Просечне вредности RAWex (kPa*s/l) у пацијената тестираних хистамином



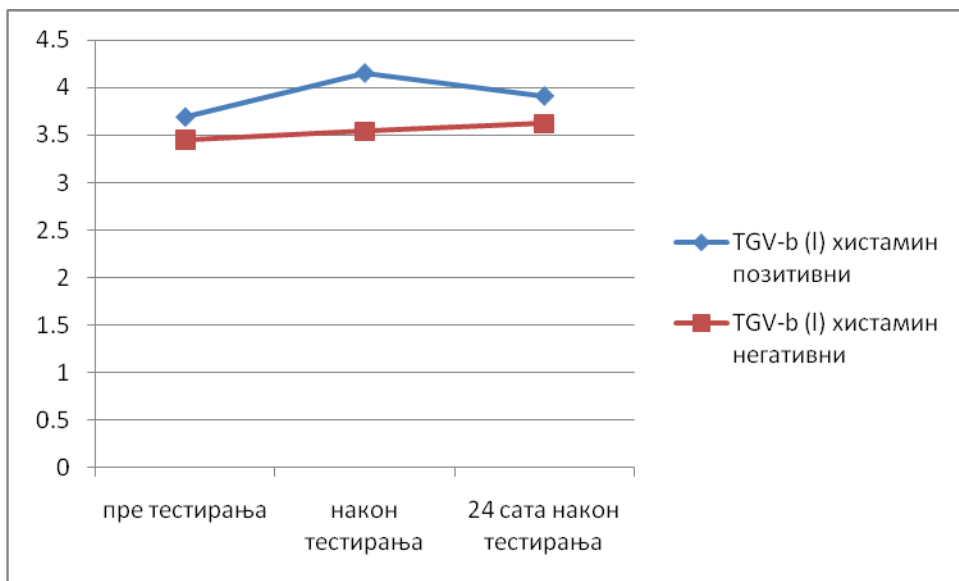
Графикон 25. Просечне вредности sRAWtot (kPa*s) у пацијената тестираних хистамином



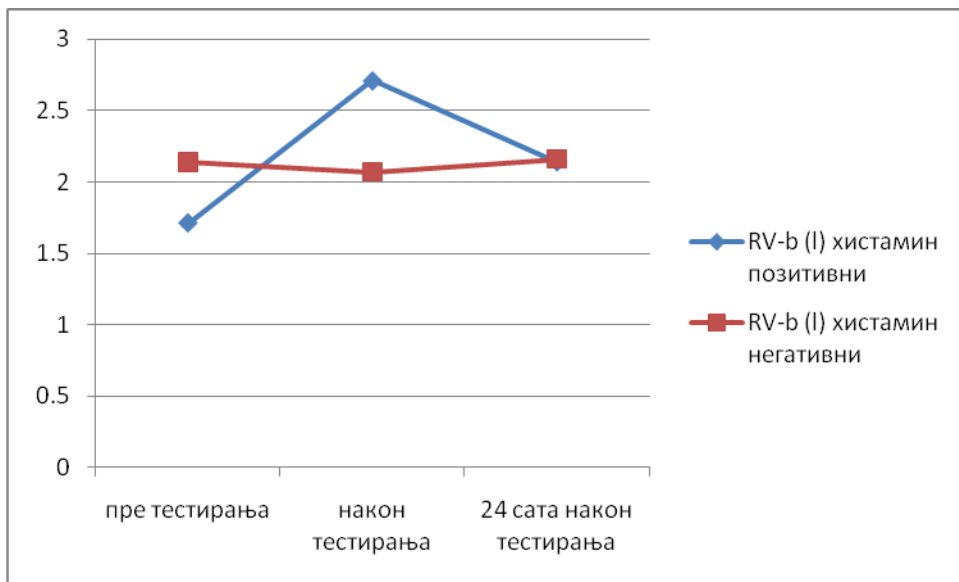
Графикон 26. Просечне вредности Gtot (l/(kPa*s)) у пацијената тестираних хистамином



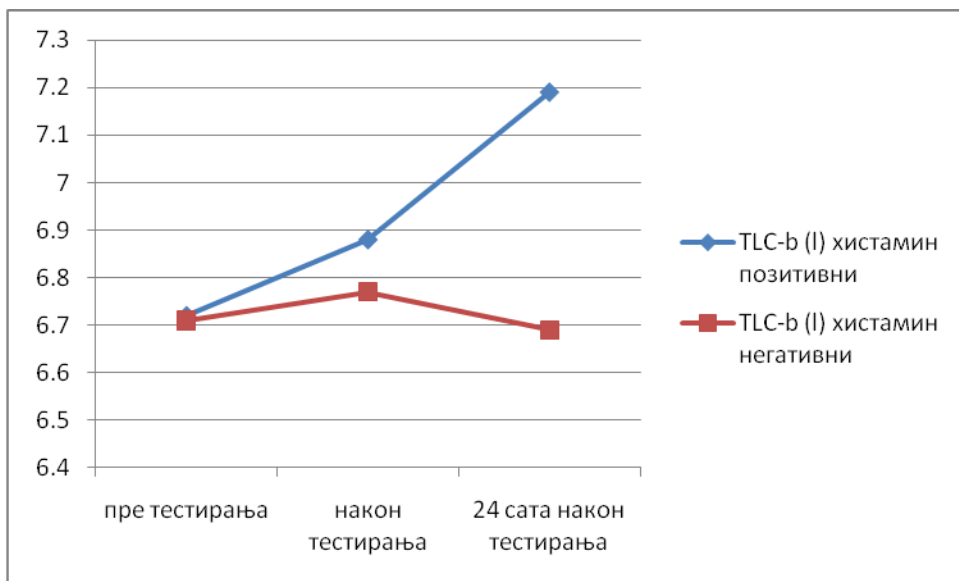
Графикон 27. Просечне вредности sGtot (1/(kPa*s)) у пацијената тестираних хистамином



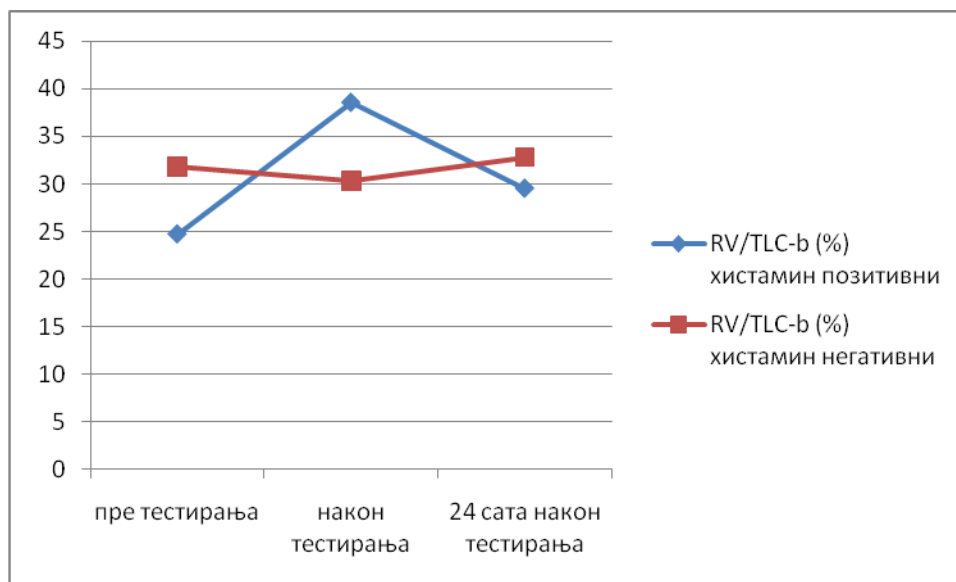
Графикон 28. Просечне вредности TGV-b (l) у пацијената тестираних хистамином



Графикон 29. Просечне вредности RV-b (l) у пацијената тестираних хистамином



Графикон 30. Просечне вредности TLC-b (l) у пацијената тестираних хистамином



Графикон 31. Просечне вредности RV/TLC-b (%) у пацијената тестираних хистамином

Након тога су урађена и тестирања импулсне осцилометрије пре почетка тестирања хистамином и налази су приказани у табели 29. Између анализираних група није нађена статистички значајна разлика ни у једном параметру.

Табела 29. Налази импулсне осцилометрије пре самог тестирања хистамином

Параметри; СВ ± СД	Хистамин позитивни	Хистамин негативни	р вредност*
Z bei 5Hz (kPa/l/s)	0,29 ± 0,11	0,32 ± 0,12	p = 0,265
Z bei 5Hz % од норме	98,95 ± 26,01	98,93 ± 38,85	p = 0,728
R at 5Hz (kPa/l/s)	0,29 ± 0,10	0,30 ± 0,11	p = 0,506
R at 5Hz % од норме	95,17 ± 26,00	96,09 ± 35,54	p = 1,000
R at 20Hz (kPa/l/s)	0,25 ± 0,10	0,26 ± 0,09	p = 0,506
R at 20Hz % од норме	97,69 ± 31,32	98,12 ± 38,84	p = 0,776
X at 5Hz (kPa/l/s)	-0,08 ± 0,04	-0,14 ± 0,19	p = 0,925
X at 5Hz % од норме	-186,57 ± 1253,74	-197,96 ± 556,19	p = 0,636
Resonant frequency (l/s)	10,60 ± 3,19	11,56 ± 3,07	p = 0,548

* Mann-Whitney тест

У табели 30 су приказане вредности импулсне осцилометрије након тестирања хистамином. Између анализираних група није нађена статистички значајна разлика ни у

једном параметру, осим у R at 5Hz % од нормe, који је био већи код хистамин позитивне групе.

У табели 31 су приказане вредности импулсне осцилометрије 24 сата након тестирања хистамином. Између анализираних група није нађена статистички значајна разлика ни у једном параметру и у овом временском пресеку.

Табела 30. Налази импулсне осцилометрије након тестирања хистамином

Параметри; СВ ± СД	Хистамин позитивни	Хистамин негативни	р вредност*
Z bei 5Hz (kPa/l/s)	0,47 ± 0,35	0,36 ± 0,16	p = 0,829
Z bei 5Hz % од нормe	176,44 ± 93,47	107,88 ± 39,13	p = 0,062
R at 5Hz (kPa/l/s)	0,49 ± 0,27	0,34 ± 0,15	p = 0,159
R at 5Hz % од нормe	164,30 ± 81,44	106,13 ± 39,61	p = 0,046
R at 20Hz (kPa/l/s)	0,32 ± 0,13	0,27 ± 0,10	p = 0,516
R at 20Hz % од нормe	128,01 ± 45,79	100,93 ± 33,96	p = 0,179
X at 5Hz (kPa/l/s)	-0,22 ± 0,15	-0,10 ± 0,06	p = 0,053
X at 5Hz % од нормe	-1214,09 ± 4199,95	-16,28 ± 446,17	p = 0,369
Resonant frequency (l/s)	22,33 ± 10,59	14,10 ± 5,74	p = 0,072

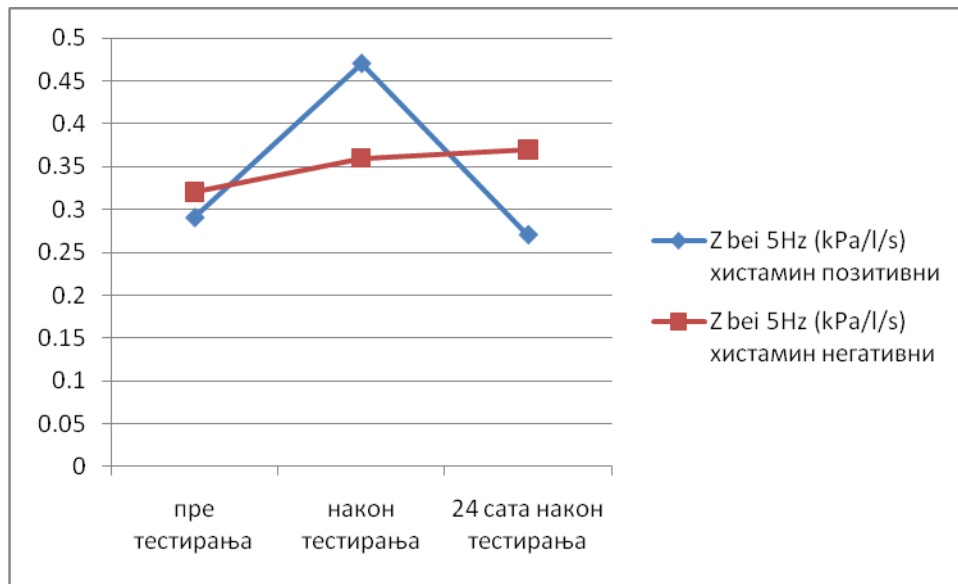
* Mann-Whitney тест

Табела 31. Налази импулсне осцилометрије 24 сата након тестирања хистамином

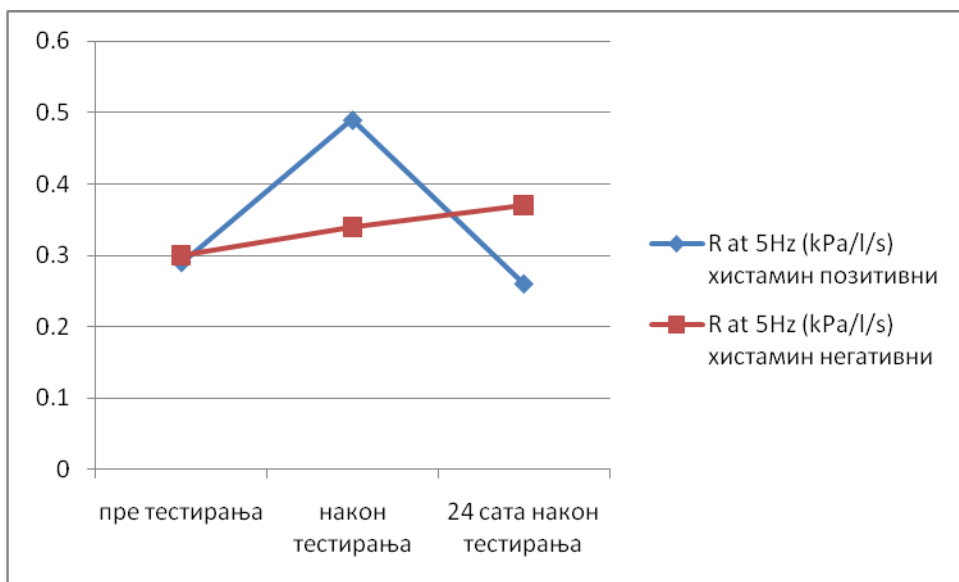
Параметри; СВ ± СД	Хистамин позитивни	Хистамин негативни	р вредност*
Z bei 5Hz (kPa/l/s)	0,27 ± 0,13	0,37 ± 0,23	p = 0,336
Z bei 5Hz % од нормe	91,60 ± 35,29	122,15 ± 78,06	p = 0,403
R at 5Hz (kPa/l/s)	0,26 ± 0,12	0,37 ± 0,21	p = 0,224
R at 5Hz % од нормe	88,24 ± 32,89	115,71 ± 73,47	p = 0,439
R at 20Hz (kPa/l/s)	0,22 ± 0,10	0,29 ± 0,13	p = 0,250
R at 20Hz % од нормe	89,93 ± 36,60	106,39 ± 51,83	p = 0,516
X at 5Hz (kPa/l/s)	-0,07 ± 0,05	-0,13 ± 0,08	p = 0,062
X at 5Hz % од нормe	-525,00 ± 1544,51	-118,42 ± 708,26	p = 0,600
Resonant frequency (l/s)	10,70 ± 2,29	15,12 ± 6,99	p = 0,062

* Mann-Whitney тест

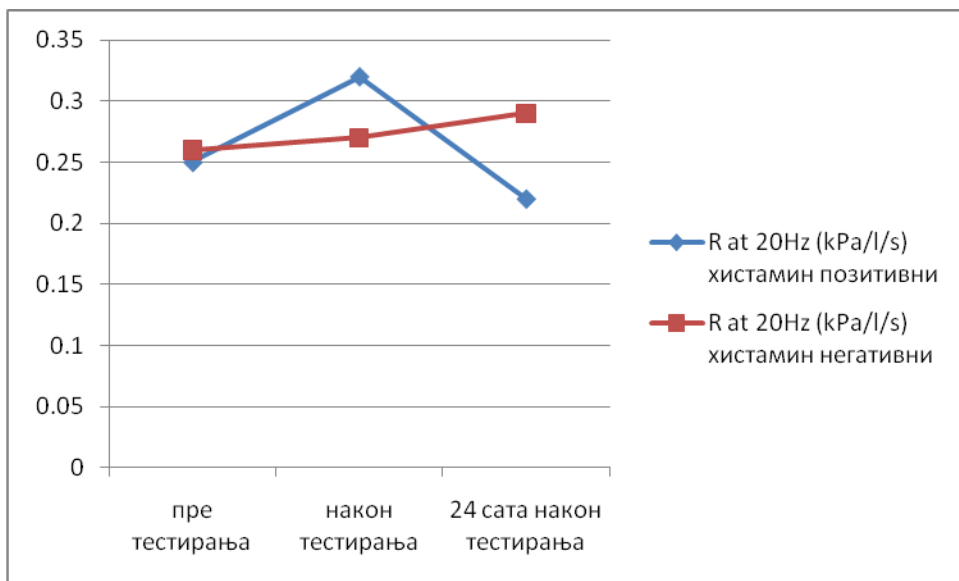
Након тога смо вредности импулсне осцилометрије представили графички за сва три временска пресека и урадили Kruskal Wallis тест за сваки од параметара, пошто се свуда радило о варијаблима које нису испуниле критеријуме за нормалну расподелу података (Графикони 32-36). У првој групи статистички значајна промена забележена је код R at 5Hz, $p = 0,030$; X at 5Hz, $p = 0,029$ и Resonant frequency $p = 0,007$, док код осталих варијабли разлика није била значајна, Z bei 5Hz, $p = 0,413$ и R at 20Hz, $p = 0,154$. У другој групи статистички значајна промена није забележена ни код једне варијабле: Z bei 5Hz, $p = 0,813$; R at 5Hz, $p = 0,879$; R at 20Hz, $p = 0,950$; X at 5Hz, $p = 0,356$ и Resonant frequency, $p = 0,249$.



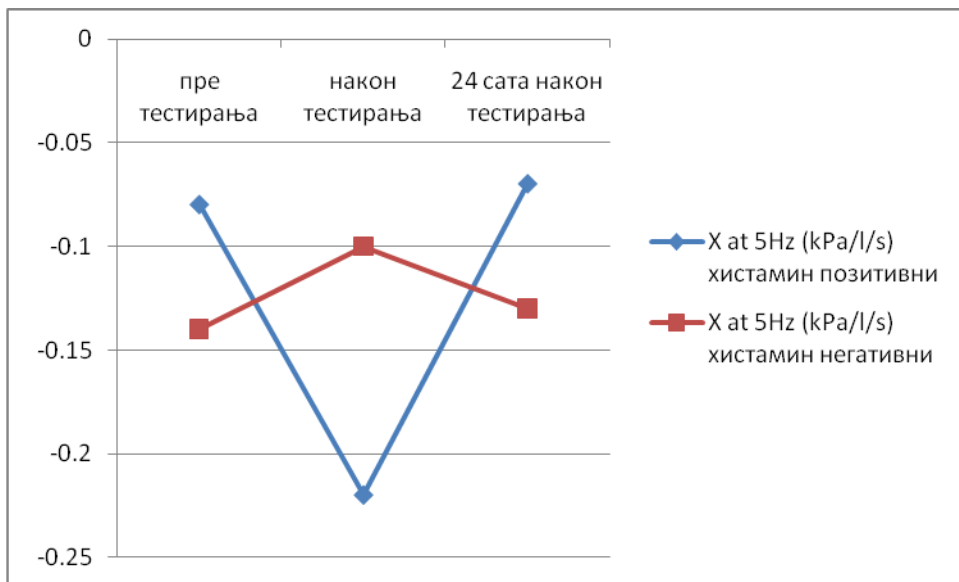
Графикон 32. Просечне вредности Z bei 5Hz (кПа/л/с) у пацијената тестираних хистамином



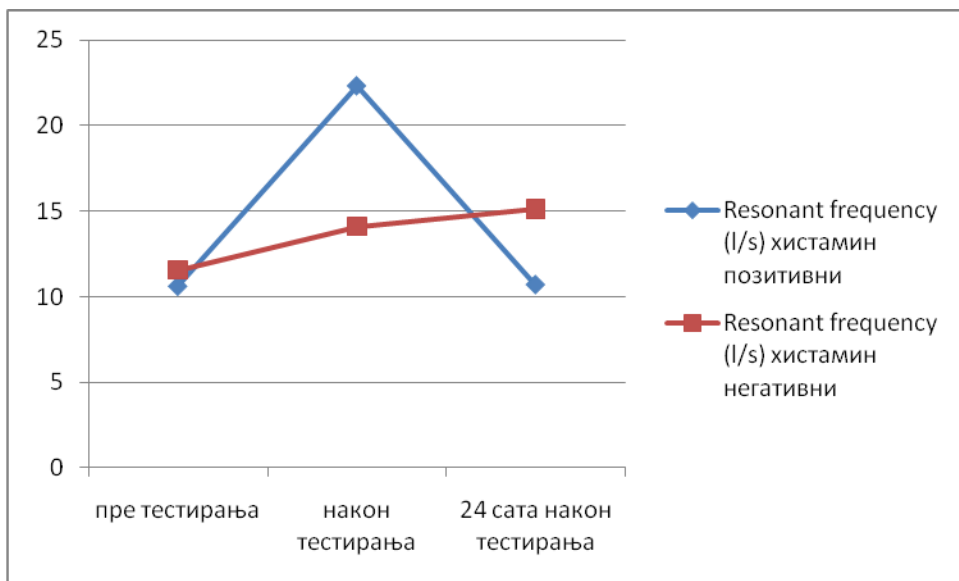
Графикон 33. Просечне вредности R at 5Hz (кПа/л/с) у пацијената тестираних хистамином



Графикон 34. Просечне вредности R at 20Hz (кПа/л/с) у пацијената тестираних хистамином



Графикон 35. Просечне вредности X at 5Hz (kPa/l/s) у пацијената тестираних хистамином



Графикон 36. Просечне вредности Resonant frequency (l/s) у пацијената тестираних хистамином

5.9. Налази цитологије у брису носа и спутуму у обе испитиване групе

У табели 32 приказани су налази цитологије из бриса носа у обе испитиване групе. Нису нађене статистички значајне разлике међу групама у броју нађених леукоцита,

неутрофила, лимфоцита и еозинофила. Еозинофилни леукоцити су били присутни у 24% код прве групе испитаника у којих је рађен неспецифични бронхопровокацијски тест са хистамином и код 26,8% у групи испитаника која је тестирана инхалацијом бронходилататора, бета-2 адренергичког агонисте.

Табела 32. Налази цитологије у брису носа у односу на анализирану групу (I група тестирана хистамином; II група тестирана бета-2 адренергичким агонистом)

Број (%)		I група	II група	р вредност*
Леукоцити	нема	8 (32,0)	17 (51,5)	р = 0,226
	мало	10 (40,0)	7 (21,2)	
	пуно	7 (28,0)	9 (27,3)	
Лимфоцити	нема	23 (92,0)	33 (100,0)	р = 0,354
	мало	2 (8,5)	-	
	пуно	-	-	
Неутрофили	нема	12 (48,0)	22 (66,7)	р = 0,350
	мало	10 (40,0)	8 (24,2)	
	пуно	3 (12,0)	3 (9,1)	
Еозинофили	нема	19 (76,0)	24 (72,7)	р = 0,878
	мало	4 (16,0)	5 (15,5)	
	пуно	2 (8,0)	4 (10,3)	

* Chi-square тест

У табели 33 приказани су налази цитологије индукованог спутума у обе групе испитаника. Није било статистички значајне разлике у заступљености леукоцита, лимфоцита и еозинофила. Лимфоцити су виђени у 40% испитаника у којих је рађен бронхопровокацијски тест са хистамином и у 54,6% са бронходилататорним тестом. Еозинофилни леукоцити су у првој групи присутни у 36% а у другој код 30,3% испитаника.

Табела 33. Налази цитологије у спутума у односу на анализирану групу (I група тестирана хистамином; II група тестирана бета-2 адренергичким агонистом)

Број (%)		I група	II група	p вредност*
Леукоцити	нема	5 (20,0)	5 (15,2)	p = 0,820
	мало	16 (64,0)	21 (63,6)	
	пуно	4 (16,0)	7 (21,2)	
Лимфоцити	нема	15 (60,0)	15 (45,5)	p = 0,535
	мало	8 (32,0)	15 (45,5)	
	пуно	2 (8,0)	3 (9,1)	
Еозинофили	нема	16 (64,0)	23 (69,7)	p = 0,780
	мало	8 (32,0)	8 (24,2)	
	пуно	1 (4,0)	2 (6,1)	

* Chi-square тест

У табели 34 приказани су налази цитологије из бриса носа у првој групи која је тестирана са хистамином. Статистички значајна разлика између групе са позитивним и групе са негативним хистаминским тестом добијена је једино за заступљеност неутрофилних леукоцита којих је било више у групи са негативним тестом.

Табела 34. Налази цитологије у брису носа у групи која је тестирана хистамином

Број (%)		Хистамин позитивни	Хистамин негативни	p вредност*
Леукоцити	нема	4 (40,0)	4 (26,7)	p = 0,679
	мало	3 (30,0)	7 (46,7)	
	пуно	3 (30,0)	4 (26,7)	
Лимфоцити	нема	9 (90,0)	14 (93,3)	p = 1,000
	мало	1 (10,0)	1 (6,7)	
	пуно	-	-	
Неутрофили	нема	7 (70,0)	5 (33,0)	p = 0,042
	мало	1 (10,0)	9 (60,0)	
	пуно	2 (20,0)	1 (6,7)	
Еозинофили	нема	7 (70,0)	12 (80,0)	p = 0,848
	мало	2 (20,0)	2 (13,3)	
	пуно	1 (10,0)	1 (6,7)	

* Chi-square тест

У табели 35 приказани су налази цитологије индукованог спутума у групи испитаника са хистаминским тестом. Статистички значајна разлика је добијена једино у заступљености лимфоцита којих је било више у групи са позитивним хистаминским тестом.

Табела 35. Налази цитологије у спутуму у групи која је тестирана хистамином

Број (%)		Хистамин позитивни	Хистамин негативни	р вредност*
Леукоцити	нема	3 (30,0)	2 (13,3)	р = 0,470
	мало	5 (50,0)	11 (73,3)	
	пуно	2 (20,0)	2 (13,3)	
Лимфоцити	нема	4 (40,0)	11 (73,3)	р = 0,038
	мало	6 (60,0)	2 (13,3)	
	пуно	-	2 (13,3)	
Еозинофили	нема	8 (80,0)	8 (53,3)	р = 0,096
	мало	1 (10,0)	7 (46,7)	
	пуно	1 (10,0)	0 (6,1)	

* Chi-square тест

6. Дискусија

Бронхијална астма је по дефиницији хетерогена болест чију основу чини хронична инфламација дисајних путева са следственом хиперсезитивношћу и хиперреактивношћу^{1, 2}. На таквој патогенетској основи у клиничком и функцијском испољавању астма је карактерисана израженом варијабилношћу свих нивоа патофизиолошких догађања почев од унутарћелијских процеса све до појаве отежаног дисања и недостатка ваздуха услед смањеног протока ваздуха кроз дисајне путеве^{78, 79}. У овом раду се дискутује заступљеност и повезаност параметара клиничког стања, инфламације у дисајним путевима, бронхијалне хиперсезитивности и варијабилности плућне вентилације у пацијената са тегобама које одговарају интермитентној астми.

Хиперсезитивност и хиперреактивност бронха је основна одлика бронхијалне астме и представља појачан одговор бронха сужавањем лумена или бронхоконстрикцијом на различите ендogene и екзогене стимулусе. Хиперсезитивност представља и један од основних појмова у дефиницији бронхијалне астме уз инфламацију и варијабилност^{1, 80, 81}.

Испитивање је извршено на две групе испитаника са укупно 58 одраслих људи са вишегодишњом еволуцијом тегоба (у просеку $7,92 \pm 6,60$ година). Испитаници су подељени на две групе на основу тренутног или ранијег присуства симптома и знакова који карактеришу бронхијалну астму. У првој групи је било 25 пацијената, док је у другој групи било 33 пацијената. Испитаници из прве групе су подвргнути бронхопровокацијском тестирању хистамином, док је друга група испитаника подвргнута бронходилататорном тестирању бета-2 адренергичким агонистом. Статистички значајна разлика на основу демографских карактеристика није нађена између ове две групе.

На основу резултата почетног неспецифичног бронхопровокацијског теста са хистамином и доказаног степена хиперсезитивности бронха прва група испитаника је подељена још на две подгрупе: испитаници са позитивним тестом хиперсезитивности и испитаници са негативним неспецифичним бронхопровокацијским тестом са хистамином. Анализом учесталости најчешћих симптома које су болесници наводили као што су отежано дисање, суви кашаљ и други, нису утврђене статистички значајне разлике у већини симптома у зависности од тога којој групи су испитаници припадали: она која је

тестирана хистамином (I група) или она која је тестирана бета-2 адренергичким агонистом (II група). За ноћно гушење као важан показатељ тежине астме добијен је податак о сличној заступљености у обе групе испитаника. Најчешћи симптом који су наводили испитаници из групе са нижим апсолутним вредностима параметара вентилације (II група) је било отежано дисање а објашњење за тај податак може се наћи у чињеници да исти пацијенти уз ниже вредности параметара вентилације имају више вредности параметара хиперинфлације измерене телесном плетизмографијом иако статистичком анализом нумеричких показатеља није добијена значајност.

У обе групе испитаника патолошки налаз на плућима је био заступљен у око 40% случајева. Може се закључити да не постоји удруженост између степена неспецифичне хиперсензитивности бронха и заступљености патолошког аускултаторног налаза над плућима. Међутим, и даље се сматра да је аускултаторни физички налаз над плућима објективнији параметар од субјективног осећаја болесника који резултира истицањем појединих симптома болести.

Због могућег утицаја инфламације у дисајним путевима, нарочито вирусне етиологије, на хиперрактивност бронха један од критеријума за укључење у студију било је одсуство инфекције у последња два месеца. Вредност седиментације еритроцита у обе групе је била мања од 15 у првом сату и не постоји статистички значајна разлика у просечној вредности између ове две групе испитаника што је клинички веома значајно. Број леукоцита код свих испитаника је био у границама референтних вредности и није било значајне разлике по групама. На основу анамнезе и вредности седиментације еритроцита као и броја леукоцита у периферној крви наведени критеријуми за укључење и искључење били су испуњени код свих испитаника.

Ниво укупног имуноглобулина IgE као неселективни показатељ атопијског статуса и могући знак активности астматске упале био је повишен у обе групе а статистички значајна разлика није постојала између ове две групе испитаника. Повишене вредности IgE у серуму иду у прилог атопијској конституцији болесника⁸²⁻⁸⁵ и у складу су са подацима о претходној еволуцији болести. С друге стране, дистрибуција вредности IgE у серуму по групама не потврђује везу између степена његовог повишења и нивоа неспецифичне хиперсензитивности бронха.

Активисани еозинофилни леукоцити мобилисани из периферне крви су главна ефекторна ћелија која је одговорна за развој и одржавање хроничне упале у дисајним путевима у бронхијалној астми. Еозинофилна инфилтрација слузнице бронха у астми је потврђена у бројним испитивањима објављеним у литератури ^{5, 11, 25, 65, 85-87}. Број еозинофилних леукоцита у периферној крви може бити повишен зависно од еволуције болести односно степена инфламације и као такав може посредно послужити као један од маркера активности астматске упале. У обе групе испитаника број еозинофилних леукоцита није био повишен и није нађена статистички значајна разлика између испитиваних група. То нам не може потврдити да постоји усклађеност између степена неспецифичне хиперсензитивности бронха и броја еозинофилних леукоцита у крви. С друге стране када се посматрају еозинофилни леукоцити који се изражавају кроз број/ mm^3 у обе групе испитаника се налази вредност виша од 250 а у подгрупи са позитивним хистаминским тестом и знатно више уз индуковани пораст у року од 24 часа од тестирања. Тај податак сведочи о потенцијалу који су испитаници имали за диференцијацију и мобилизацију активисаних еозинофилних леукоцита.

Пробе кожно преосетљивости на стандардне инхалационе алергене као један од знакова атопијске конституције извршене су у свих болесника при првом прегледу. Заступљеност најчешћих позитивних налаза појединих алергена била је приближна у обе групе испитаника тако да статистичком анализом није нађена значајна разлика међу групама ни по једном од најчешће заступљених алергена (гриња, полен траве, полен корова, перје, дуван, полен дрвећа и постељина). У обе групе је најчешће заступљени алерген била гриња *Dermatophagoides pteronyssinus*, 45,8% у првој групи и 28,6% у другој а у подгрупи са позитивним хистаминским тестом износила је 80%.

Параметри плућне вентилације су одређени спирометријским тестом у свих болесника на почетку испитивања и то у преподневним сатима (од 8 до 10 сати) а бронхопровокацијско тестирање је извршено у истом временском интервалу. Спирометријски налаз је у свих болесника био нормалан пре почетка испитивања чиме је испуњен један од стандарда за извођење бронхопровокацијског тестирања а то је да нема или да постоје лакши поремећаји плућне вентилације. Форсирани витални капацитет (FVC) је у обе групе био у границама нормалних вредности и није било значајне разлике

међу групама. Што се тиче вредности форсираног експиријумског волумена у првој секунди (FEV1) и Tiffeneau индекса све вредности су биле у границама нормалних вредности (више од 80% у односу на предиктивне вредности). Између ове две групе пацијената није нађена статистички значајна разлика у овим показатељима плућне функције, мада је група тестирана хистамином имала просечан FEV1 103% у односу на норму, док је FEV1 у другој групи тестираној бета-2 адренергичким агонистом био 95% у односу на норму. Што показује да је ипак прва група имала барем клинички већу вредност FEV1, што може бити значајно.

Изостанак значајне неспецифичне хиперсензитивности бронха која је утврђена хистаминским или метахолинским тестом (најчешће) у важећим стандардима и дијагностичким алгоритмима искључује постојање бронхијалне астме^{3, 14, 20, 51-54, 65, 66, 88-90}.

У критеријумима за стандардизацију неспецифичног бронхопровокацијског теста са хистамином праг сензитивности бронха је одређен вредношћу PC₂₀ односно оном концентрацијом хистамина (mg/ml) која доводи до пада FEV1 за 20%^{51, 53, 54, 91-94}. Када је PC₂₀ мања од 2 mg/ml хистамина ради се о јачем степену неспецифичне хиперсензитивности бронха што је најчешће присутно у болесника са умереним и тежим клиничким формама болести. Умерена неспецифична хиперсензитивност постоји када је вредност PC₂₀ у подручју између 2 и 3,9 mg/ml хистамина. Лакши степен сензитивности бронха постоји када је PC₂₀ између 4 и 7,9 mg/ml хистамина. Неспецифични бронхопровокацијски тест са хистамином је негативан када се ни са концентрацијом хистамина од 8 mg/ml не добија значајан одговор бронха.

У групи хистамин позитивних пацијената (њих 10), дошло је до пада ↓FEV1 за 31,11% у просеку, а PC₂₀ је био 1,92 ± 0,85 mg/ml, што показује да је код ових пацијената био присутан јачи степен неспецифичне хиперсензитивности бронха. Овај податак има значај једино као нумерички показатељ односа међу групама али није релевантан за разматрање стања хиперсензитивности бронха. Наиме, степен хиперсензитивности односно подручје није у линеарној зависности од прага сензитивности већ је одређено консенсусом на основу бројних студија неспецифичне хиперсензитивности и хиперреактивности бронха у корелацији са клиничким и функцијским статусом.

Cockroft и сарадници ⁹⁵ су испитивали, на групи од 25 болесника са астмом, повезаност специфичне хиперсензитивности бронха, кожане преосетљивости и неспецифичне хиперсензитивности бронха на хистамин. Закључили су да специфична хиперсензитивност на инхалационе алергене је у позитивној корелацији са степеном неспецифичне хиперсензитивности на хистамин.

Из сопствених резултата раније објављених није утврђено да постоји директна повезаност степена специфичне реактивности бронха и степена претходно утврђене неспецифичне хиперсензитивности бронха на хистамин ⁶⁰.

Анализирајући динамику коју доноси бронхопровокацијски тест са хистамином у I групи испитаника налазимо да се у року од 24 сата вредности свих параметара вентилације до чијег је пада дошло током тестирања враћају на нормалу. То нам доказује изражену реверзибилност и укупну варијабилност плућне вентилације. Студирајући специфичну и неспецифичну бронхијалну хиперсензитивност *Cartier* и сарадници ⁹⁶ приказују на 12 болесника са астмом однос касног одговора бронха на инхалацију алергена и пораста хиперсензитивности бронха на хистамин добијен при поновљеном неспецифичном тесту.

У свом извештају закључују да постоји пораст неспецифичне хиперреактивности бронха који је индукован инхалацијом алергена и да постоји повезаност јачине специфичне реактивности бронха и пораста и трајања неспецифичне хиперреактивности (просечна вредност PC₂₀ је иницијално износила 3 mg/ml а после специфичног бронхопровокацијског теста је била 1 mg/ml хистамина). *Cockroft* и *Murdock* су приказали рад у којем су испитивали промене у неспецифичној хиперсензитивности бронха на хистамин у различитим временским интервалима по извршеном специфичном бронхопровокацијском тестирању са раствором алергена ⁹⁵.

Један од закључака њихове студије на 12 болесника био је да у фази раног алергијског одговора није било значајне промене неспецифичне хиперреактивности на хистамин (два сата после инхалације алергена није било значајне промене вредности PC₂₀ за хистамин). Значајан пораст сензитивности бронха на хистамин постоји у фази касног астматског одговора – 7 сати после алергена забележен је пад вредности PC₂₀ са 0,81 mg/ml на 0,42 mg/ml. На 30 сати после теста са алергеном опада степен неспецифичне

хиперсензитивности односно постоји пораст вредности PC₂₀ са 0,42 mg/ml на 0,70 mg/ml хистамина. Другачије резултате а у слично дизајнираној студији приказују *Durham* и сарадници⁹⁷.

Наиме, у групи од 14 болесника са бронхијалном астмом утврдили су да не постоји повезаност степена иницијално утврђене неспецифичне хиперсензитивности бронха на хистамин и јачине алергеном индукованог касног астматског одговора, такође су приказали да постоји четвороструки пад вредности PC₂₀ за хистамин на 3 сата после алергена и да је степен сензитивности у јакој корелацији са степеном касног астматског одговора. Такође је приказано у раду да се повишена хиперреактивност бронха на хистамин одржава и 48 сати после теста са алергеном а да се ублажава и враћа на базалну вредност после две недеље. Посредно закључују да инфламација у бронху може бити развијена и у асимптомних пацијената са атопијом чинећи подлогу за развој значајног касног астматског одговора.

У студији из 1990. године⁹⁸, на 21 болеснику са астмом, аутори су испитивали повезаност пораста неспецифичне хиперсензитивности индуковане инхалацијом алергена и ћелијског састава у материјалу добијеном бронхоалвеоларном лаважом (BAL). Закључили су да у стабилних асимптомних астматичара базална хиперсензитивност бронха није у корелацији са присуством инфламаторних и имуноефекторних ћелија добијених BAL-ом. Али, с друге стране алергеном индукован пораст хиперсензитивности бронха је удружен са мобилизацијом еозинофилних леукоцита и лимфоцита у лумен бронха. Поред студија које су представљале резултате експеримента Ђукановић и сарадници су 1996. године⁹⁹ објавили резултате испитивања у којем су извршили цитолошку и хистолошку анализу дешавања у бронху пре и након природне експозиције полену траве болесника са алергијском бронхијалном астмом. Потврдили су као и неки од претходно наведених аутора да експозиција алергену доводи до индукције инфламације у бронху са ангажовањем Т лимфоцита, маст ћелија и еозинофилних леукоцита. У следу догађања сезонска експозиција алергену у сензибилисаних особа довешће до појачане секреције проинфламаторног цитокина IL-4 и мобилизације и активације Т лимфоцита и еозинофила.

Имајући у виду наведено одлучили смо се да у овом испитивању по изведеним фармакодинамским тестовима (брохопровокацијски и бронходилататорни) осим непосредне процене ефеката на вентилацију плућа извршимо контролне анализе и после 24 сата од теста.

Један од циљева овог рада био је да се у групи испитаника са присутним актуелним тегобама (II) изведе бронходилататорни тест и процени евентуална варијабилност вредности параметара плућне вентилације, механике дисања и импулсне осцилометрије као што се износи у извештајима различитих аутора⁶⁷⁻⁶⁹. У већине испитаника није изазван значајан одговор бронха у смислу пораста вредности параметара вентилације а поједини од њих су имали и мањи пад. Потенцијално објашњење за овакав ефекат је да је и поред присутних тегоба, атопијске конституције и у извесном броју и патолошког физичког налаз у тренутку инхалације дошло до парадоксалног бронхоспазма.

Од параметара одређених телесном плетизмографијом, међу испитиваним групама, ни за један није нађена статистички а ни клинички значајна разлика у нумеричким показатељима. По извршеном фармакодинамском тестирању између група је нађена статистички значајна разлика у специфичним отпорима $sRAW_{tot}$ који су повишени у I групи и вредности специфичне спроводљивости која је за 45 % боља у II групи. Поновљени тест после 24 сата показао је приближно исти налаз као и почетни, пре извођења фармакодинамских тестова. Када се анализира динамика појединачних параметара статистички значајна разлика је забележена код отпора у дисајним путевима, специфичних отпора, ваздушне и специфичне спроводљивости док за параметре хиперинфлације нумеричке промене нису имале статистичку значајност. Са клиничког и функцијског аспекта тораксни гасни волумен - TGV је једини параметар који је имао значајну динамику у обе групе испитаника (после хистаминског теста бележи се пораст вредности која се ни после 24 сата не враћа на почетну вредност а у групи са бронходилататорним тестом долази до пада који се после 24 сата достиже нешто вишу вредност од почетне). Слична динамика али са нижим степеном варијабилности забележена је и у вредностима тоталног плућног капацитета – TLC.

Од параметара импулсне осцилометрије у I групи испитаника бележе се нумерички ниже вредности комплексних респираторних отпора, укупних респираторних отпора,

реактансе и резонантне фреквенције али без статистичке значајности. По извршеном фармакодинамском тестирању забележен је пораст вредности већине параметара у обе групе али без статистичке значајности. Поновни тест после 24 сата не показује статистички значајну разлику између група ни за један тестирани параметар. Анализом динамике појединачних параметара импулсне осцилометрије статистички значајне промене забележене су једино за резонантну фреквенцу F_{res} . И са аспекта клиничке валидности параметра F_{res} је једини параметар који је имао значајну варијабилност вредности у обе групе испитаника (пораст вредности у групи са хистаминским тестом и мањи пад вредности у групи са бронходилататорним тестом и затим промене али без достизања почетне вредности у року од 24 сата).

Анализом подгрупа испитаника у којих је рађен хистамински тест налазимо да је патолошки физички налаз заступљен у групи са позитивним тестом код 70% наспрам 22,4% у групи са негативним хистаминским тестом.

У биохемијским налазима није нађена статистички значајна разлика између хистамин позитивних и хистамин негативних пацијената. Ипак, вредности неких параметара су клинички значајно веће у односу на другу групу - IgE је значајно изнад референтних вредности (0-100 IU/ml) у обе групе, али су у хистамин позитивној групи два пута веће у односу на хистамин негативне пацијенте. Такође је повећана и ECP вредност у обе групе у односу на референтне вредности (0-24 ng/ml), али више у хистамин позитивној групи. У функцијским тестовима међу испитиваним подгрупама упечатљива је разлика у динамици параметара плућне вентилације и вредности вршног експиријумског протока PEF што је сасвим разумљиво обзиром да је мерење вредности FEV1 „златни стандард“ за фармакодинамска тестирања. Значајна разлика у динамици бележи се и код већине параметара телесне плетизмографије што је наравно последица нагле промене вредности појединих плућних волумена и капацитета и отпора протоку ваздуха услед вештачки изазваног сужења дисајних путева. Анализом параметара импулсне осцилометрије у овим подгрупама иницијално није било статистички значајне разлике. После хистаминског теста значајна разлика је постојала у вредности укупних респираторних отпора R5 који су били виши у хистамин позитивној групи. Анализом динамике појединачних параметара у првој групи статистички значајна промена забележена је код укупних респираторних

отпора R at 5Hz; реактансе X at 5Hz и Resonant frequency која је и најсензитивнији параметар док код осталих варијабли разлика није била значајна. У другој групи статистички значајна промена није забележена ни код једне варијабле.

Еозинофилни леукоцити су главна имуноефекторна ћелија у развоју и одржавању хроничне упале у дисајним путевима у бронхијалној астми. Инфилтрација слузнице бронха еозинофилним леукоцитима је карактеристична за астму^{5, 11, 25, 65, 86, 100-103}.

Поред извештаја напред наведених објављено је више студија које прате динамику мобилизације еозинофилних леукоцита и других ћелија из периферне крви у корелацији са појединим медијаторима инфламације а која је индукована било спонтано или специфичним бронхопровокацијским тестом са неким од инхалационих алергена.

Beasley и сарадници у студији из 1989. године хистолошком анализом биопсије бронха учињене после бронхопровокације са алергеном у болесника са астмом доказали инфилтрацију слузнице еозинофилним леукоцитима са јасним знацима активације, дегранулацију мастоцита и депозицију колагена испод базалне мембране. Нађени су и еозинофили, моноцити и тромбоцити у контакту са васкуларним ендотелом са видљивом миграцијом еозинофила и моноцита из капилара у ткиво¹⁰⁴.

Gibson и сарадници¹⁰⁵ су утврдили, испитујући алергеном индуковану неспецифичну сензитивност бронха на хистамин, да је пораст сензитивности праћен порастом броја еозинофилних и базофилних леукоцита у крви и порастом броја њиховог прекурсора (“*Eo/B progenitors*”). Та чињеница потврђује став да алерген у бронху болесника са алергијском астмом покреће и амплификује инфламацију доводећи уз помоћ бројних медијатора и цитокина до мобилизације и миграције из периферне крви различитих врста леукоцита и лимфоцита (а најзначајније је ангажовање еозинофила и Т лимфоцита).

Испитујући ефекат инхалације понављаних ниских доза алергена на бронх у астматичара са атопијом *Sulakvelidze* и сарадници¹⁰⁶ извештавају да без обзира на изостанак значајног одговора бронха на алерген (пад FEV1 до 5%) у индукованом спутуму после инхалације алергена бележи се значајан пораст броја еозинофилних леукоцита, пораст нивоа еозинофилног катјонског протеина ЕСР и пораст нивоа цитокина IL-5.

Група кинеских аутора 1998. године објављује резултате студије у којој су испитивали ефекат инхалације цитокина интерлеукина-5 (IL-5) на бронх у астматичара¹⁰⁷. Утврдили

су да није дошло до поремећаја плућне функције, да је дошло до значајног пораста хиперсензитивности бронха на метахолин и да се у индукованом спутуму бележи пораст броја активисаних еозинофилних леукоцита и пораст концентрације еозинофилног катјонског протеина ЕСР.

У овом раду праћен је број еозинофилних леукоцита у mm^3 периферне крви упоредо са извођењем фармакодинамског тестирања и извршена је цитолошка анализа индукованог спутума и бриса носа. Почетне вредности броја еозинофилних леукоцита су биле повишене (> 250) у обе групе испитаника (I и II). У подгрупи са позитивним хистаминским тестом еозинофили у серуму су било значајно виши и забележен је индуковани пораст у року од 24 часа од тестирања. Тај податак сведочи о потенцијалу који су испитаници имали за диференцијацију и мобилизацију активисаних еозинофилних леукоцита активацијом леукоцитно - ендотелне каскаде као последицом бронхопровокационог теста са хистамином¹⁰⁰⁻¹⁰³.

Подлогу за овако промтно изражен пораст броја еозинофила у серуму чини већ постојећа инфламација у дисајним путевима, у болесника са тегобама које упућују на астму а без функцијске потврде болести и са атопијом, о чему сведоче и повишене вредности укупног имуноглобулина IgE у серуму. Праћење динамике еозинофила у крви током спроведених испитивања илуструје само један део врло комплексних имунолошких збивања у дисајним путевима у болесника са алергијском астмом.

Анализа цитолошких прегледа бриса носа показује присуство еозинофилних леукоцита код 25% испитаника у обе групе. У индукованом спутуму није било статистички значајне разлике у заступљености леукоцита, лимфоцита и еозинофила по групама. Лимфоцита је било 40% у групи I - хистамински тест и 54,6% групи II – бронходилататорни тест. Еозинофилни леукоцити су присутни у 36% код I групе и 30,3% код друге групе испитаника. Посматрајући подгрупе I групе налазимо у брису носа статистички значајну већу заступљеност неутрофилних леукоцита у подгрупи са негативним хистаминским тестом. У индукованом спутуму статистички значајна разлика је нађена једино за присуство лимфоцита у групи са позитивним хистаминским тестом 60% и у групи са негативним хистаминским тестом 26,6%.

С обзиром на то да хронична инфламација чини подлогу и предуслов за развој хиперсензитивности бронха и на веома изражену варијабилност обе компоненте што резултира разноликошћу клиничких и функцијских манифестација неопходно је у пацијената који наводе хроничне тегобе трагати за функцијским, цитолошким и биохемијским маркерима који би могли довести до потврде дијагнозе астме. Због врло сложених имунолошких збивања у тзв. “астматској” упали и условно речено слаб клинички и функцијски одговор бронха може индуковати извештан степен неспецифичне хиперсензитивности бронха ^{56, 57} доприносећи тако одржавању хроничне инфламације у дисајним путевима и потом и испољавању болести са јасним функцијским поремећајима.

На основу резултата добијених у овом раду може се закључити да је у пацијената са атопијом и клиничком сликом сумњивом на бронхијалну астму потребно користити могућности за доказивање варијабилности функцијских параметара и хиперсензитивности дисајних путева. А све то изводити користећи осим стандардних и комплементарне методе испитивања плућне функције и других биомаркера који карактеришу алергијску астму ^{1, 107-110}.

7. Закључак

1. Апсолутне вредности појединих параметара плућне вентилације (FEV1 и PEF – које су у опсегу нормалних вредности) су у негативној корелацији са скором симптома испитаника.
2. Вредности IgE у серуму, еозинофилних леукоцита у mm^3 и еозинофилног катјонског протеина су повишени у обе групе испитаника независно од симптома, физичког налаза и вредности параметара плућне вентилације.
3. Фармакодинамским тестирањем значајна варијабилност вредности параметара плућне вентилације (FVC, FEV1, Tiffeneau индекс и PEF) доказана је у групи са нижим скором тегоба и вишим почетним, апсолутним вредностима – I група испитаника.
4. Од параметара механике дисања највећу сензитивност на фармакодинамско тестирање, у обе групе испитаника показује тораксни гасни волумен – TGV.
5. Од параметара импулсне осцилометрије значајан степен сензитивности за бронхопровокацијско тестирање доказан је за резонантну фреквенцију – Fres.
6. У групи испитаника са позитивним бронхопровокацијским тестом са хистамином најчешће потврђена је кожна преосетљивост на грињу *Dermatophagoides pteronissinus*.
7. Еозинофилни леукоцити у серуму су значајно повишени у испитаника са позитивним хистаминским тестом, а сам тест индукује њихов пораст у року од 24 часа.
8. У групи испитаника са позитивним хистаминским тестом најсензитивнији параметар механике дисања је тотални плућни капацитет – TLC.
9. Од параметара импулсне осцилометрије у групи пацијената са позитивним хистаминским тестом сензитивност је доказана за укупне респираторне отпоре – R5, реактансу X at 5 Hz и резонантну фреквенцију Fres као најосетљивији параметар.
10. Цитолошком анализом индукованог спутума у групи са позитивним хистаминским тестом нађена је највећа заступљеност лимфоцита.

11. Отежано дисање је био најчешћи симптом који су наводили испитаници из II групе односно они који су иницијално имали ниже вредности FEV1.

На основу свих изнетих резултата потврђена је радна хипотеза.

8. Литература

1. Global initiative for asthma. 2016 GINA Report, Global Strategy for Asthma Management and Prevention (2016 Update). Dostupno na: <http://ginasthma.org/2016-gina-report-global-strategy-for-asthma-management-and-prevention/> (citirano 09.06.2016.)
2. Badnjevic A, Cifrek M, Koruga D, Osmankovic D. Neuro-fuzzy classification of asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *BMC Med Inform Decis Mak.* 2015;15 Suppl 3:S1. doi: 10.1186/1472-6947-15-S3-S1.
3. Fish JE, Shaver JR, Peters SP. Airway hyperresponsiveness in asthma. Is it unique? *Chest.* 1995 Mar;107(3 Suppl):154S-156S.
4. O'Byrne PM, Inman MD. Airway hyperresponsiveness. *Chest.* 2003 Mar;123(3 Suppl):411S-6S.
5. International consensus report on diagnosis and treatment of asthma. National Heart, Lung, and Blood Institute, National Institutes of Health. Bethesda, Maryland 20892. Publication no. 92-3091, March 1992. *Eur Respir J.* 1992 May;5(5):601-41.
6. Bateman ED, Hurd SS, Barnes PJ, Bousquet J, Drazen JM, FitzGerald M, Gibson P, Ohta K, O'Byrne P, Pedersen SE, Pizzichini E, Sullivan SD, Wenzel SE, Zar HJ. Global strategy for asthma management and prevention: GINA executive summary. *Eur Respir J.* 2008 Jan;31(1):143-78. doi: 10.1183/09031936.00138707.
7. Borak J, Lefkowitz RY. Bronchial hyperresponsiveness. *Occup Med (Lond).* 2016 Mar;66(2):95-105. doi: 10.1093/occmed/kqv158. Epub 2015 Nov 20.
8. Masoli M, Fabian D, Holt S, Beasley R; Global Initiative for Asthma (GINA) Program. The global burden of asthma: executive summary of the GINA Dissemination Committee report. *Allergy.* 2004 May;59(5):469-78.
9. Braman SS. The global burden of asthma. *Chest.* 2006 Jul;130(1 Suppl):4S-12S.
10. Gauvreau GM, Watson RM, O'Byrne PM. Kinetics of allergen-induced airway eosinophilic cytokine production and airway inflammation. *Am J Respir Crit Care Med.* 1999 Aug;160(2):640-7.

11. Pignatti P, Perfetti L, Galdi E, Pozzi V, Bossi A, Biale C, Moscato G. Increased CD69 expression on peripheral blood eosinophils after specific inhalation challenge. *Allergy*. 2002 May;57(5):411-6.
12. Djukanović R, Feather I, Gratziou C, Walls A, Peroni D, Bradding P, Judd M, Howarth PH, Holgate ST. Effect of natural allergen exposure during the grass pollen season on airways inflammatory cells and asthma symptoms. *Thorax*. 1996 Jun;51(6):575-81.
13. Jeffery PK. Bronchial biopsies and airway inflammation. *Eur Respir J*. 1996 Aug;9(8):1583-7.
14. Corrigan CJ, Kay AB. T-cell/eosinophil interactions in the induction of asthma. *Eur Respir J Suppl*. 1996 Aug;22:72s-78s.
15. Corren J. Inhibition of interleukin-5 for the treatment of eosinophilic diseases. *Discov Med*. 2012 Apr;13(71):305-12.
16. Rosenwasser LJ, Rothenberg ME. IL-5 pathway inhibition in the treatment of asthma and Churg-Strauss syndrome. *J Allergy Clin Immunol*. 2010 Jun;125(6):1245-6. doi: 10.1016/j.jaci.2010.04.022.
17. Holgate ST, Polosa R. The mechanisms, diagnosis, and management of severe asthma in adults. *Lancet*. 2006 Aug 26;368(9537):780-93.
18. Barnes PJ. Immunology of asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Nat Rev Immunol*. 2008 Mar;8(3):183-92. doi: 10.1038/nri2254.
19. Walsh ER, August A. Eosinophils and allergic airway disease: there is more to the story. *Trends Immunol*. 2010 Jan;31(1):39-44. doi: 10.1016/j.it.2009.10.001.
20. Bystrom J, Amin K, Bishop-Bailey D. Analysing the eosinophil cationic protein--a clue to the function of the eosinophil granulocyte. *Respir Res*. 2011 Jan 14;12:10. doi: 10.1186/1465-9921-12-10.
21. Martinović M. News in the pathophysiology of asthma. *Vojnosanit Pregl*. 2013 Aug;70(8):768-72.
22. Zvezdin B, Hromis S, Kolarov V, Milutinov S, Zarić B, Jovancević L, Ilić M. Allergic asthma and rhinitis comorbidity. *Vojnosanit Pregl*. 2015 Nov;72(11):1024-31.
23. Lommatzsch M, Virchow JC. Severe asthma: definition, diagnosis and treatment. *Dtsch Arztebl Int*. 2014 Dec 12;111(50):847-55. doi: 10.3238/arztebl.2014.0847.

24. Fruchter O, Hardak E, Yigla M. The response to bronchodilators in adults is not predictive of bronchial-hyperreactivity. *J Asthma*. 2009 Jun;46(5):455-9. doi: 10.1080/02770900802712989.
25. Hira H, Munjal J, Zachariah S, Chauhan M, Singh A. The site of airway obstruction among patients of emphysema: role of impulse oscillometry. *Lung India*. 2008 Jan;25(1):8-13. doi: 10.4103/0970-2113.44130.
26. Larsen GL, Morgan W, Heldt GP, Mauger DT, Boehmer SJ, Chinchilli VM, Lemanske RF Jr, Martinez F, Strunk RC, Szeffler SJ, Zeiger RS, Taussig LM, Bacharier LB, Guilbert TW, Radford S, Sorkness CA; Childhood Asthma Research and Education Network of the National Heart, Lung, and Blood Institute. Impulse oscillometry versus spirometry in a long-term study of controller therapy for pediatric asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2009 Apr;123(4):861-7.e1. doi: 10.1016/j.jaci.2008.10.036.
27. Ghanei M, Darvishzadeh F, Alaeddini F, Adibi I, Aslani J. Accuracy of Impulse Oscillometry in Airway Dysfunction. *Iran J Med Sci* December 2007;32(4):205-10.
28. Komarow HD, Skinner J, Young M, Gaskins D, Nelson C, Gergen PJ, Metcalfe DD. A study of the use of impulse oscillometry in the evaluation of children with asthma: analysis of lung parameters, order effect, and utility compared with spirometry. *Pediatr Pulmonol*. 2012 Jan;47(1):18-26. doi: 10.1002/ppul.21507.
29. Shi Y, Aledia AS, Tatavoosian AV, Vijayalakshmi S, Galant SP, George SC. Relating small airways to asthma control by using impulse oscillometry in children. *J Allergy Clin Immunol*. 2012 Mar;129(3):671-8. doi: 10.1016/j.jaci.2011.11.002.
30. Nair A, Ward J, Lipworth BJ. Comparison of bronchodilator response in patients with asthma and healthy subjects using spirometry and oscillometry. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2011 Oct;107(4):317-22. doi: 10.1016/j.anai.2011.07.011.
31. Wubbel C, Asmus MJ, Stevens G, Chesrown SE, Hendeles L. Methacholine challenge testing: comparison of the two American Thoracic Society-recommended methods. *Chest*. 2004 Feb;125(2):453-8.
32. Stangl B. Nonspecific and specific bronchial provocation tests. *Plucne Bolesti*. 1984 Jan-Jun;36(1-2):7-15. [Article in Croatian]
33. Ninković M, Radojčić M. Standardization of bronchial provocation tests using histamine. *Vojnosanit Pregl*. 1988 Sep-Oct;45(5):350-2. [Article in Serbian]

34. Alberts WM. Getting the most from the "gold standard". *Chest*. 2003 Apr;123(4):987-9.
35. Cockcroft DW, Murdock KY. Changes in bronchial responsiveness to histamine at intervals after allergen challenge. *Thorax*. 1987 Apr;42(4):302-8.
36. Perić A, Vojvodić D, Radulović V, Vukomanović-Đurđević B, Miljanović O. Correlation between cytokine levels in nasal fluid and eosinophil counts in nasal polyp tissue in asthmatic and non-asthmatic patients. *Allergol Immunopathol (Madr)*. 2011 May-Jun;39(3):133-9. doi: 10.1016/j.aller.2010.05.001.
37. Pizzichini E, Pizzichini MM, Efthimiadis A, Hargreave FE, Dolovich J. Measurement of inflammatory indices in induced sputum: effects of selection of sputum to minimize salivary contamination. *Eur Respir J*. 1996 Jun;9(6):1174-80.
38. Green RH, Brightling CE, McKenna S, Hargadon B, Parker D, Bradding P, Wardlaw AJ, Pavord ID. Asthma exacerbations and sputum eosinophil counts: a randomised controlled trial. *Lancet*. 2002 Nov 30;360(9347):1715-21.
39. Jayaram L, Pizzichini MM, Cook RJ, Boulet LP, Lemièrre C, Pizzichini E, Cartier A, Hussack P, Goldsmith CH, Laviolette M, Parameswaran K, Hargreave FE. Determining asthma treatment by monitoring sputum cell counts: effect on exacerbations. *Eur Respir J*. 2006 Mar;27(3):483-94.
40. Prasad A, Langford B, Stradling JR, Ho LP. Exhaled nitric oxide as a screening tool for asthma in school children. *Respir Med*. 2006 Jan;100(1):167-73.
41. Taylor DR, Pijnenburg MW, Smith AD, De Jongste JC. Exhaled nitric oxide measurements: clinical application and interpretation. *Thorax*. 2006 Sep;61(9):817-27.
42. Schafroth Török S, Leuppi JD. Bronchial hyper-responsiveness and exhaled nitric oxide in chronic obstructive pulmonary disease. *Swiss Med Wkly*. 2007 Jul 14;137(27-28):385-91.
43. Moeller A, Carlsen KH, Sly PD, Baraldi E, Piacentini G, Pavord I, Lex C, Saglani S; ERS Task Force Monitoring Asthma in Children. Monitoring asthma in childhood: lung function, bronchial responsiveness and inflammation. *Eur Respir Rev*. 2015 Jun;24(136):204-15. doi: 10.1183/16000617.00003914.
44. Van Schoor J, Joos GF, Pauwels RA. Indirect bronchial hyperresponsiveness in asthma: mechanisms, pharmacology and implications for clinical research. *Eur Respir J*. 2000 Sep;16(3):514-33.

45. Grootendorst DC, Rabe KF. Mechanisms of bronchial hyperreactivity in asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Proc Am Thorac Soc.* 2004;1(2):77-87.
46. Grbac I, Martinac S, Šokčević M, Rončević S, Petric V, Stančić V. The pathogenesis of bronchial hyperreactivity in patients with allergic rhinitis. *Acta Clin Croat.* 2003;42(1):69-74.
47. Antosova M, Strapkova A, Plevkova J. Bronchial hyperreactivity: pathogenesis and treatment options. *Open Journal of Molecular and Integrative Physiology.* 2011;1:43-51.
48. Postma DS, Koppelman GH, Meyers DA. The genetics of atopy and airway hyperresponsiveness. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000 Sep;162(3 Pt 2):S118-23.
49. Joos GF. Bronchial hyperresponsiveness: too complex to be useful? *Curr Opin Pharmacol.* 2003 Jun;3(3):233-8.
50. Boulet LP. Physiopathology of airway hyperresponsiveness. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2003 Mar;3(2):166-71.
51. Wilson JW, Djukanović R, Howarth PH, Holgate ST. Lymphocyte activation in bronchoalveolar lavage and peripheral blood in atopic asthma. *Am Rev Respir Dis.* 1992 Apr;145(4 Pt 1):958-60.
52. Sanderson CJ, Warren DJ, Strath M. Identification of a lymphokine that stimulates eosinophil differentiation in vitro. Its relationship to interleukin 3, and functional properties of eosinophils produced in cultures. *J Exp Med.* 1985 Jul 1;162(1):60-74.
53. Vadas MA, Nicola NA, Metcalf D. Activation of antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity of human neutrophils and eosinophils by separate colony-stimulating factors. *J Immunol.* 1983 Feb;130(2):795-9.
54. Ihle JN, Keller J, Oroszlan S, Henderson LE, Copeland TD, Fitch F, Prystowsky MB, Goldwasser E, Schrader JW, Palaszynski E, Dy M, Lebel B. Biologic properties of homogeneous interleukin 3. I. Demonstration of WEHI-3 growth factor activity, mast cell growth factor activity, p cell-stimulating factor activity, colony-stimulating factor activity, and histamine-producing cell-stimulating factor activity. *J Immunol.* 1983 Jul;131(1):282-7.
55. Gaddy JN, Busse WW. Enhanced IgE-dependent basophil histamine release and airway reactivity in asthma. *Am Rev Respir Dis.* 1986 Nov;134(5):969-74.

56. Djukanović R, Mann M, Rimmer J, Spackman D, Lau L, Church MK, Holgate ST, Howarth PH. The effect of inhaled allergen on circulating basophils in atopic asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 1992 Aug;90(2):175-83.
57. Koshino T, Arai Y, Miyamoto Y, Sano Y, Itami M, Teshima S, Hirai K, Takaishi T, Ito K, Morita Y. Airway basophil and mast cell density in patients with bronchial asthma: relationship to bronchial hyperresponsiveness. *J Asthma.* 1996;33(2):89-95.
58. Kaplan AP, Kuna P, Reddigari SR. Chemokines as allergic mediators--relationship to histamine-releasing factors. *Allergy.* 1994 Aug;49(7):495-501.
59. Global strategy for Asthma Management and Prevention. Scientific Information and recommendations for asthma programs. NIH publication No 02-3659 (Up Date 2011).
60. Aćimović S, Plavec G, Tomić I, Karličić V, Aćimović S, Vuković J, Loncarević O. Symptoms, physical findings and bronchial hypersensitivity in patients with bronchial asthma and normal spirometry. *Vojnosanit Pregl.* 2009 Jan;66(1):39-43. [Article in Serbian]
61. Koh YY, Kang EK, Kang H, Yoo Y, Park Y, Kim CK. Bronchial hyperresponsiveness in adolescents with long-term asthma remission: importance of a Family history of bronchial hyperresponsiveness. *Chest.* 2003 Sep;124(3):819-25.
62. Al-Mutairi SS, Sharma PN, Al-Alawi A, Al-Deen JS. Impulse oscillometry: an alternative modality to the conventional pulmonary function test to categorise obstructive pulmonary disorders. *Clin Exp Med.* 2007 Jun;7(2):56-64.
63. Bacci E, Cianchetti S, Carnevali S, Bartoli ML, Dente FL, Di Franco A, Giannini D, Vagaggini B, Paggiaro PL. Induced sputum is a reproducible method to assess airway inflammation in asthma. *Mediators Inflamm.* 2002 Oct;11(5):293-8.
64. Kopriva F, Szotkowská J, Plocová A, Závodská J, Zápalka M, Smatanová D, Látalová M, Slezáková L, Radová L. The use of oscillometry as a measure of airway responsiveness in asthmatic children after histamine and methacholine bronchoprovocation with dosimeter-MedicAid and DeVilbiss nebulizers. *J Asthma.* 2007 May;44(4):267-71.
65. Yaegashi M, Yalamanchili VA, Kaza V, Weedon J, Heurich AE, Akerman MJ. The utility of the forced oscillation technique in assessing bronchodilator responsiveness in patients with asthma. *Respir Med.* 2007 May;101(5):995-1000.

66. Nair A, Ward J, Lipworth BJ. Comparison of bronchodilator response in patients with asthma and healthy subjects using spirometry and oscillometry. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2011 Oct;107(4):317-22. doi: 10.1016/j.anai.2011.07.011.
67. Shimoda T, Obase Y, Imaoka M, Kishikawa R. and Iwanaga T. Evaluation of Central and Peripheral Airways and Analysis of Airway Inflammation by Impulse Oscillometry in Bronchial Asthma patients. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2011;127(supplII 2):AB8.
68. Larsen GL, Morgan W, Heldt GP, Mauger DT, Boehmer SJ, Chinchilli VM, Lemanske RF Jr, Martinez F, Strunk RC, Szeffler SJ, Zeiger RS, Taussig LM, Bacharier LB, Guilbert TW, Radford S, Sorkness CA; Childhood Asthma Research and Education Network of the National Heart, Lung, and Blood Institute. Impulse oscillometry versus spirometry in a long-term study of controller therapy for pediatric asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2009 Apr;123(4):861-7.e1. doi: 10.1016/j.jaci.2008.10.036.
69. Mansur AH, Manney S, Ayres JG. Methacholine-induced asthma symptoms correlate with impulse oscillometry but not spirometry. *Respir Med.* 2008 Jan;102(1):42-9.
70. Kjellberg S, Houlitz BK, Zetterström O, Robinson PD, Gustafsson PM. Clinical characteristics of adult asthma associated with small airway dysfunction. *Respir Med.* 2016 Aug;117:92-102. doi: 10.1016/j.rmed.2016.05.028.
71. Lauhkonen E, Koponen P, Nuolivirta K, Helminen M, Paasilta M, Toikka J, Korppi M. Following up infant bronchiolitis patients provided new evidence for and against the united airway disease hypothesis. *Acta Paediatr.* 2016 Jul 29. doi: 10.1111/apa.13537.
72. Jabbal S, Manoharan A, Lipworth J, Lipworth B. Utility of impulse oscillometry in patients with moderate to severe persistent asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2016 Aug;138(2):601-3. doi: 10.1016/j.jaci.2015.12.1336.
73. Saadeh C, Saadeh C, Cross B, Gaylor M, Griffith M. Advantage of impulse oscillometry over spirometry to diagnose chronic obstructive pulmonary disease and monitor pulmonary responses to bronchodilators: An observational study. *SAGE Open Med.* 2015 Apr 6;3:2050312115578957. doi: 10.1177/2050312115578957.
74. Guan WJ, Yuan JJ, Gao YH, Li HM, Zheng JP, Chen RC, Zhong NS. Impulse Oscillometry and Spirometry Small-Airway Parameters in Mild to Moderate Bronchiectasis. *Respir Care.* 2016 Aug 2. pii: respcare.04710.

75. Al-Mutairi SS, Sharma PN, Al-Alawi A, Al-Deen JS. Impulse oscillometry: an alternative modality to the conventional pulmonary function test to categorise obstructive pulmonary disorders. *Clin Exp Med*. 2007 Jun;7(2):56-64.
76. Schulze J, Biedebach S, Christmann M, Herrmann E, Voss S, Zielen S. Impulse Oscillometry as a Predictor of Asthma Exacerbations in Young Children. *Respiration*. 2016;91(2):107-14. doi: 10.1159/000442448.
77. Obase Y, Shimoda T, Kishikawa R, Kohno S, Iwanaga T. Trigger of bronchial hyperresponsiveness development may not always need eosinophilic airway inflammation in very early stage of asthma. *Allergy Rhinol (Providence)*. 2016 Jan;7(1):1-7. doi: 10.2500/ar.2016.7.0145.
78. Plantier L, Pradel A, Delclaux C. Mechanisms of non-specific airway hyperresponsiveness: Methacholine-induced alterations in airway architecture. *Rev Mal Respir*. 2016 Feb 22. pii: S0761-8425(15)01112-2. doi: 10.1016/j.rmr.2015.10.742.
79. Attanasi M, Consilvio NP, Rapino D, Nicola MD, Scaparrotta A, Cingolani A, Petrosino MI, Filippo PD, Di Pillo S, Chiarelli F. Bronchial hyperresponsiveness to mannitol, airway inflammation and Asthma Control Test in atopic asthmatic children. *Arch Med Sci*. 2016 Feb 1;12(1):137-44. doi: 10.5114/aoms.2016.57589.
80. Karampatakis N, Karampatakis T, Galli-Tsinopoulou A, Kotanidou EP, Tsergouli K, Eboriadou-Petikopoulou M, Haidopoulou K. Impaired glucose metabolism and bronchial hyperresponsiveness in obese prepubertal asthmatic children. *Pediatr Pulmonol*. 2016 Jun 30. doi: 10.1002/ppul.23516.
81. Lee E, Lee SH, Kwon JW, Kim Y, Cho HJ, Yang SI, Jung YH, Kim HY, Seo JH, Kim BJ, Kim HB, Lee SY, Kwon HJ, Hong SJ. A rhinitis phenotype associated with increased development of bronchial hyperresponsiveness and asthma in children. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2016 Jul;117(1):21-28.e1. doi: 10.1016/j.anai.2016.04.016.
82. Dunnill MS. The pathology of asthma, with special reference to changes in the bronchial mucosa. *J Clin Pathol*. 1960 Jan;13:27-33.
83. Diaz P, Galleguillos FR, Gonzalez MC, Pantin CF, Kay AB. Bronchoalveolar lavage in asthma: the effect of disodium cromoglycate (cromolyn) on leukocyte counts, immunoglobulins, and complement. *J Allergy Clin Immunol*. 1984 Jul;74(1):41-8.

84. Holtzman MJ, Fabbri LM, O'Byrne PM, Gold BD, Aizawa H, Walters EH, Alpert SE, Nadel JA. Importance of airway inflammation for hyperresponsiveness induced by ozone. *Am Rev Respir Dis.* 1983 Jun;127(6):686-90.
85. Byrne PMO, Topson N, editors. *Manual of Asthma Management.* Saunders Ltd.;1995.
86. Stevanović M. Hronične opstruktivske bolesti pluća i bronhijalna astma. U: Hronične opstruktivske bolesti pluća i bronhijalna astma. Stevanović M, urednik. Beograd: Jugoslavijapublik; 1994: 8-13.
87. Pauwels R, Peleman R, Van der Straeten M. Airway inflammation and non allergic bronchial responsiveness. *Eur J Respir Dis Suppl.* 1986;144:137-62.
88. Barnes PJ. Pharmacology of airway smooth muscle. *Am J Respir Crit Care Med.* 1998 Nov;158(5 Pt 3):S123-32.
89. Gratziou C, Carroll M, Montefort S, Teran L, Howarth PH, Holgate ST. Inflammatory and T-cell profile of asthmatic airways 6 hours after local allergen provocation. *Am J Respir Crit Care Med.* 1996 Feb;153(2):515-20.
90. Hamaguchi Y, Kanakura Y, Fujita J, Takeda S, Nakano T, Tarui S, Honjo T, Kitamura Y. Interleukin 4 as an essential factor for in vitro clonal growth of murine connective tissue-type mast cells. *J Exp Med.* 1987 Jan 1;165(1):268-73.
91. Gonzalez MC, Diaz P, Galleguillos FR, Ancic P, Cromwell O, Kay AB. Allergen-induced recruitment of bronchoalveolar helper (OKT4) and suppressor (OKT8) T-cells in asthma. Relative increases in OKT8 cells in single early responders compared with those in late-phase responders. *Am Rev Respir Dis.* 1987 Sep;136(3):600-4.
92. Grant JA, Alam R, Lett-Brown MA. Histamine-releasing factors and inhibitors: historical perspectives and possible implications in human illness. *J Allergy Clin Immunol.* 1991 Nov;88(5):683-93.
93. Wenzel SE, Szeffler SJ, Leung DY, Sloan SI, Rex MD, Martin RJ. Bronchoscopic evaluation of severe asthma. Persistent inflammation associated with high dose glucocorticoids. *Am J Respir Crit Care Med.* 1997 Sep;156(3 Pt 1):737-43.
94. Knauer KA, Fish JE, Adkinson NF Jr, Lichtenstein LM, Peters SP, Newball HH. Platelet activation in antigen-induced bronchoconstriction. *N Engl J Med.* 1981 Oct 8;305(15):892-3.

95. Cockcroft DW, Murdock KY. Changes in bronchial responsiveness to histamine at intervals after allergen challenge. *Thorax*. 1987 Apr;42(4):302-8.
96. Cartier A, Thomson NC, Frith PA, Roberts R, Hargreave FE. Allergen-induced increase in bronchial responsiveness to histamine: relationship to the late asthmatic response and change in airway caliber. *J Allergy Clin Immunol*. 1982 Sep;70(3):170-7.
97. Durham SR, Craddock CF, Cookson WO, Benson MK. Increases in airway responsiveness to histamine precede allergen-induced late asthmatic responses. *J Allergy Clin Immunol*. 1988 Nov;82(5 Pt 1):764-70.
98. McFadden ER Jr. Hypothesis: exercise-induced asthma as a vascular phenomenon. *Lancet*. 1990 Apr 14;335(8694):880-3.
99. Djukanović R, Feather I, Gratziau C, Walls A, Peroni D, Bradding P, Judd M, Howarth PH, Holgate ST. Effect of natural allergen exposure during the grass pollen season on airways inflammatory cells and asthma symptoms. *Thorax*. 1996 Jun;51(6):575-81.
100. Vujović-Zotović N. Agonisti beta-receptora. U: *Inhalaciona terapija u pulmologiji*. Zbornik radova sa edukativnog seminara. Beograd: Institut za plućne bolesti i tuberkulozu UKC – Beograd; 1990: 44-50.
101. Pauwels R, Peleman R, Van der Straeten M. Airway inflammation and non allergic bronchial responsiveness. *Eur J Respir Dis Suppl*. 1986;144:137-62.
102. Drazen JM. Leukotrienes as mediators of airway obstruction. *Am J Respir Crit Care Med*. 1998 Nov;158(5 Pt 3):S193-200.
103. Jones GL, Saroea HG, Watson RM, O'Byrne PM. Effect of an inhaled thromboxane mimetic (U46619) on airway function in human subjects. *Am Rev Respir Dis*. 1992 Jun;145(6):1270-4.
104. Beasley R, Roche WR, Roberts JA, Holgate ST. Cellular events in the bronchi in mild asthma and after bronchial provocation. *Am Rev Respir Dis*. 1989 Mar;139(3):806-17.
105. Gibson PG, Manning PJ, O'Byrne PM, Girgis-Gabardo A, Dolovich J, Denburg JA, Hargreave FE. Allergen-induced asthmatic responses. Relationship between increases in airway responsiveness and increases in circulating eosinophils, basophils, and their progenitors. *Am Rev Respir Dis*. 1991 Feb;143(2):331-5.

106. Sulakvelidze I, Inman MD, Rerecich T, O'Byrne PM. Increases in airway eosinophils and interleukin-5 with minimal bronchoconstriction during repeated low-dose allergen challenge in atopic asthmatics. *Eur Respir J.* 1998 Apr;11(4):821-7.
107. Shi HZ, Xiao CQ, Zhong D, Qin SM, Liu Y, Liang GR, Xu H, Chen YQ, Long XM, Xie ZF. Effect of inhaled interleukin-5 on airway hyperreactivity and eosinophilia in asthmatics. *Am J Respir Crit Care Med.* 1998 Jan;157(1):204-9.
108. Viložni D, Hakim F, Livnat G, Ofek M, Bar-Yoseph R, Bentur L. Assessment of Airway Bronchodilation by Spirometry Compared to Airway Obstruction in Young Children with Asthma. *Can Respir J.* 2016;2016:5394876. doi: 10.1155/2016/5394876.
109. Yang X, Fan G, Li J. Diagnostic value of Der p 1 and Der p 2 specific IgE in *Dermatophagoides pteronyssinus* IgE sensitization. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2016 Apr;116(4):295-301. doi: 10.1016/j.anai.2016.02.010.
110. Rhee H, Belyea MJ, Sterling M, Bocko MF. Evaluating the Validity of an Automated Device for Asthma Monitoring for Adolescents: Correlational Design. *J Med Internet Res.* 2015 Oct 16;17(10):e234. doi: 10.2196/jmir.4975.