



UNIVERZITET U BANJOJ LUCI  
MEDICINSKI FAKULTET



Aleksandra Aleksić

ZNAČAJ LOKALNE PRODUKCIJE  
IMUNOGLOBULINA E NA ENTEROTOKSIN  
*STAPHYLOCOCCUS AUREUS-A* U  
PATOFIZIOLOGIJI HRONIČNOG  
RINOSINUZITISA S NOSNOSINUSNOM  
POLIPOZOM

DOKTORSKA DISERTACIJA

Banjaluka, 2021. godine



UNIVERSITY OF BANJA LUKA  
FACULTY OF MEDICINE



Aleksandra Aleksić

**SIGNIFICANCE OF LOCAL IMMUNOGLOBULIN E  
PRODUCTION AGAINST *STAPHYLOCOCCUS  
AUREUS* ENTEROTOXIN IN PATHOPHYSIOLOGY  
OF CHRONIC RHINOSINUSITIS WITH NASAL  
POLYPS**

DOCTORAL DISSERTATION

Banjaluka, 2021

## Z a h v a l n i c a

Doktorat posvećujem mojoj porodici. Svojim roditeljima čija me ljubav inspirisala i hrabrla, a bezgranični ponos i vjera učinili da istrajem na svom životnom putu. Suprugu i sinovima na ljubavi, razumjevanju i podršci.

Zahvaljujem se svom mentoru prof. dr Tomislavu Baudoin čija je stručnost i posvećenost inspirisala moj profesionalni put kroz rinologiju. Našu saradnju tokom izrade doktorske disertacije smatram posebnom privilegijom, zbog povjerenja koje mi je ukazao pristavši da bude moj mentor, zbog podsticaja da istrajem, zbog njegovih stručnih i konstruktivnih sugestija.

Takođe zahvaljujem prof. dr Radoslavu Gajanin zbog koncipiranja metodologije, korisnih savjeta tokom izrade rada, realizacije patohistološke i imunohistohemijske analize. Njegovo znanje i iskustvo su značajno unaprijedili sve faze izrade doktorske disertacije.

Zahvaljujem se prof. dr Vesni Tomić-Spirić zbog nesebične podrške tokom pisanja rada i korisnih sugestija koji su bili od neprocjenjive vrijednosti. Njena stručnost i istraživački duh su me uveli u izazovni svijet alergologije i kliničke imunologije, a njena toplina i razumjevanje činili sigurnom i počastvovanom.

Zahvalnost dugujem kolektivu Klinike za bolesti uha, grla i nosa, Univerzitetskog kliničkog centra Republike Srpske, na podršci i pomoći koju su mi pružili tokom izrade disertacije.

Izuzetnu zahvalnost dugujem prof. dr Draganu Kostić na nesebičnoj i prijateljskoj podršci tokom moje cijele profesionalne karijere.

**Mentor:** Prof. dr Tomislav Baudoin, vanredni profesor na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu

## ZNAČAJ LOKALNE PRODUKCIJE IMUNOGLOBULINA E NA ENTEROTOKSIN *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*-A U PATOFIZIOLOGIJI HRONIČNOG RINOSINUZITISA S NOSNOSINUSNOM POLIPOZOM

### Rezime

**Uvod:** Hronični rinosinuzitis sa nosnosinusnom polipozom (HRSsNP) predstavlja multifaktorijsko oboljenje nerazjašnjenih etiopatogenetskih mehanizama.

**Cilj:** Studija je imala za cilj da utvrdi prisustvo specifičnog imunoglobulina E na enterotoksin A *Staphylococcus aureus*-a (SEA-IgE) kod pacijenata sa HRSsNP i njegovu povezanost sa Th2 inflamatornim profilom, atopijom, kliničkim, radiološkim, mikrobiološkim karakteristikama pacijenata.

**Metod:** Istraživanjem je obuhvaćeno 120 pacijenata sa HRSsNP i 70 pacijenata kontrolne grupe. Kod svih ispitanika su registrovani osnovni demografski i anamnestički podaci. Subjektivna i objektivna procjena težine oboljenja vršena je na osnovu vizuelno analogue skale, endoskopskog i radiološkog skora. Urađena je mikrobiološka analiza brisa, *prick* test na inhalatorne alergene, te koncentracije ukupnih IgE i SEA-IgE u serumu. Patohistološkom analizom obuhvatili smo morfološku strukturu, stepen inflamacije i imunohistohemijsku analizu u svrhu detektovanja ekspresije interleukina 5 (IL-5) i IgE.

**Rezultati:** Utvrđili smo značajne pozitivne korelacije između subjektivnih tegoba, kliničkog i radiološkog nalaza. Srednje vrijednosti SEA-IgE bile su značajno zastupljenije kod pacijenata eksperimentalne grupe u odnosu na pacijente kontrolne grupe. Ustanovili smo značajne korelacije između SEA-IgE, ukupnog serumskog IgE i CT-skora. Pozitivne imunohistohemijske ekspresije IL-5 i IgE su prediktivni faktori za rast vrijednosti SEA-IgE u serumu. Dominantno je bio zastupljen eozinofilni tip polipa sa značajno izraženim stepenom inflamacije. Dokazali smo značajnu prevagu IL-5 i IgE u tkivu polipa kao i njihovu signifikantnu povezanost sa težim formama oboljenja.

**Zaključak:** Specifični IgE na enterotoksin A *Staphylococcus aureus*-a predstavlja potencijalni imunopatogenetski marker HRSsNP s obzirom na značajniju zastupljenost kod pacijenata sa HRSsNP, prediktivnu povezanost sa težim formama oboljenja i pozitivnu imunohistohemijsku ekspresiju IL-5 i IgE u tkivu polipa. Th2 inflamacija, posredovana značajnom ekspresijom IL-5 i IgE, utiče na klinički i radiološki teže forme oboljenja. Ovi rezultati mogli bi imati kliničku

vrijednost u smislu upotrebe specifičnog IgE na enterotoksin A *Staphylococcus aureus*-a kao prediktornog faktora ishoda liječenja i plana dalnjeg postoperativnog liječenja HRSsNP.

**Ključne riječi:** hronični rinosinuzitis, nosnosinusna polipoza, specifični IgE na enterotoksin *Staphylococcus aureus*-a, IL-5, IgE

**Naučna oblast:** Otorinolaringologija

**Naučno polje:** Medicina

**Klasifikaciona oznaka za naučnu oblast prema CERIF šifrarniku:**

**Tip odabrane licence Kreativne zajednice** (Creative Commons) za način korištenja sadržaja disertacije: autorstvo-nekomercijalno-dijeliti pod istim uslovima

**Mentor:** Prof. Tomislav Baudoin, Professor, Faculty of Medicine, University of Zagreb

**TITLE:** SIGNIFICANCE OF LOCAL IMMUNOGLOBULIN E PRODUCTION AGAINST *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* ENTEROTOXIN IN PATHOPHYSIOLOGY OF CHRONIC RHINOSINUSITIS WITH NASAL POLYPS

### **Summary**

**Introduction:** Chronic Rhinosinusitis with Nasal Polyps (CRSwNP) is a multifactorial disease with unclarified etiopathogenetic mechanisms.

**Goal:** The Study aimed at establishing the presence of specific immunoglobulin E against *Staphylococcus aureus* enterotoxin A (SEA-IgE) in patients with CRSwNP, and its link with Th2 inflammatory profile, atopy, clinical, radiologic and microbiological parameters.

**Method:** The research included 120 patients with CRSwNP and 70 patients in the control group. Basic demographic and anamnestic data of all participants were registered. Subjective and objective assessment of the severity of the disease was performed based on the visual analogue scale, endoscopic and radiological score. Microbiological analysis was done, *prick* test on common inhalatory alergenes and the concentration of total IgE and SEA-IgE in serum. Pathohistological analysis included morphological structure, level of inflammation, and immunohistochemical analysis was used for the purpose of detecting tissue interleukin 5 (IL-5) and IgE expression.

**Results:** We established significant positive correlation between subjective symptoms, clinical and radiological findings. Mean values of specific IgE against *Staphylococcus aureus* enterotoxin A (SEA-IgE) were significantly present in patients of the experimental group compared to patients of control group. We established significant correlation between SEA-IgE, total serum IgE and CT-score. Positive immunohistochemical IL-5 and IgE expressions are predictive factors for the increase of the SEA-IgE level in serum. Eosinophilic nasal polyps were predominantly present, with significantly expressed level of inflammation. We proved significant predominance of IL-5 and IgE in the tissue of polyps, as well as their significant link with severe forms of disease.

**Conclusion:** Specific IgE against *Staphylococcus aureus* enterotoxin A is a potential immunopathogenetic marker of CRSwNP due to significant presence in patients with CRSwNP, predictive association with more severe forms of disease and positive immunohistochemical expression of IL-5 and IgE in polyp tissue. Th2 inflammation mediated by significant expression of IL-5 and IgE affects clinically and radiologically more severe forms of the disease. These results could have clinical value in terms of the use of specific IgE against *Staphylococcus aureus*

enterotoxin A as a predictor of treatment outcome and a plan for further postoperative treatment of CRSwNP.

**Key words:** Chronic Rhinosinusitis, Nasal Polyposis, Specific IgE against *Staphylococcus aureus* enterotoxins, IL-5, IgE

**Scientific area:** Otorhinolaryngology

**Scientific field:** Medicine

**Classification code for the scientific area by CERIF codebook:**

**Type of the selected license** (Creative Commons) how to use the content of the dissertation:  
autorship-non commercial-share like

# S A D R Ž A J

1. UVOD.....	1
1.1. Istorijat.....	1
1.2. Definicija .....	2
1.3. Epidemiologija .....	5
1.3.1. Astma i nosnosinusna polipoza .....	6
1.3.2. Respiratorna bolest pogoršana aspirinom.....	8
1.3.3. Alergija i nosnosinusna polipoza.....	9
1.3.4. Alergijski fungalni rinosinuzitis .....	9
1.3.5. Imunodeficijencije i nosnosinusna polipoza.....	10
1.3.6. Primarna cilijarna diskinezija i nosnosinusna polipoza.....	11
1.3.7. Vaskulitisi i nosnosinusna polipoza .....	12
1.3.8. Cistična fibroza.....	14
1.4. Etiopatogeneza hroničnog rinosinuzitisa sa nosnosinusnom polipozom.....	15
1.4.1. Uloga alergijske preosjetljivosti u nastanku hroničnog rinosinuzitisa sa nosnosinusnom polipozom .....	17
1.4.2. Mikroorganizmi u nastanku hroničnog rinosinuzitisa sa nosnosinusnom polipozom .....	18
1.4.3. Poremećaj u metabolizmu eikozanoïda .....	21
1.4.4. Hipoteza stafilokoknih superantigena.....	22
1.4.4.1. Imunoglobulin E .....	22
1.4.4.2. Stvaranje antigen specifičnih IgE antitijela .....	24
1.4.4.3. Specifični IgE na <i>Staphylococcus aureus</i> enterotoksin .....	27
1.4.4.4. Efektorska uloga IgE .....	28
1.4.4.5. Eozinofilni granulociti .....	29
1.5. Uloga domaćina - imunopatologija hroničnog rinosinuzitisa sa nosnosinusnom polipozom.....	32
1.5.1. Hipoteza poremećene imunološke barijere.....	35
1.5.2. Urođene imune ćelije.....	37
1.5.3. Hemokini .....	37
1.5.4. Citokini .....	38
1.5.5. Remodelovanje .....	41
1.6. Patohistološke karakteristike hroničnog rinosinuzitisa sa nosnosinusnom polipozom .....	43
1.7. Klinička slika.....	44
1.8. Kvalitet života pacijenata sa nosnosinusnom polipozom .....	45
1.9. Dijagnoza nosnosinusne polipoze .....	47
1.10. Terapija hroničnog rinosinuzitisa s nosnosinusnom polipozom.....	52

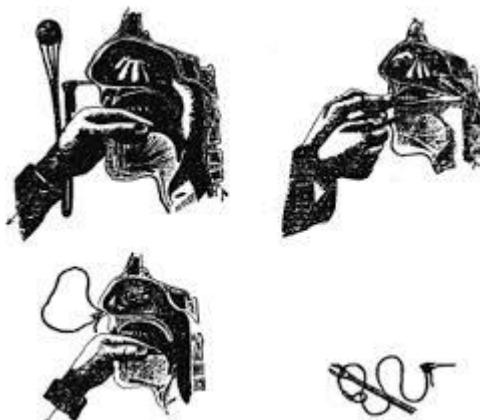
1.10.1.	Konzervativno liječenje nosnosinusne polipoze.....	52
1.10.2.	Hirurško liječenje nosnosinusne polipoze .....	58
2.	CILJEVI I HIPOTEZE ISTRAŽIVANJA .....	61
2.1.	Ciljevi istraživanja.....	61
2.2.	Hipoteze istraživanja .....	61
3.	MATERIJAL I METOD RADA .....	62
3.1.	Dizajn studije.....	62
3.2.	Ispitanici .....	62
3.3.	Klinički nalaz.....	63
3.4.	Mikrobiološka analiza .....	64
3.5.	Alergološko testiranje prick testom .....	64
3.6.	Biohemijska ispitivanja - određivanje ukupnih i specifičnih imunoglobulina E .....	65
3.7.	Patohistološka i imunohistohemijska analiza .....	66
3.8.	Hirurško liječenje .....	68
3.9.	Statistička obrada podataka .....	69
4.	REZULTATI .....	71
4.1.	Dob .....	71
4.2.	Polna distribucija .....	72
4.3.	Porodična anamneza .....	73
4.4.	Simptomi .....	74
4.5.	Procjena težine oboljenja, VAS skor .....	75
4.6.	Endoskopski nalaz .....	76
4.7.	CT-skor.....	76
4.8.	Korelacije između VAS, endoskpskog i CT skora .....	77
4.9.	Astma.....	77
4.10.	Ukupni serumski IgE.....	79
4.11.	Prick test .....	79
4.12.	Mikrobiološki nalaz.....	83
4.13.	Specifični IgE na enterotoksin A <i>Staphylococcus aureus</i> -a .....	85
4.13.1.	Deskriptivna statistika (eksperimentalna grupa) sa analizom hipoteza o jednakoj raspodjeli vrijednosti SEA-IgE u uzorku .....	86
4.13.2.	Prediktivni značaj SEA-IgE.....	91
4.14.	Patohistološka analiza.....	92
4.15.	Imunohistohemijska ekspresija IL-5 i IgE.....	95
4.15.1.	Imunohistohemijska ekspresija IL-5.....	98

4.15.1.1.	Razlike u distribuciji i korelacije u odnosu na imunohistohemijsku ekspresiju IL-5 ....	100
4.15.1.2.	Prediktivni značaj imunohistohemijske ekspresije IL-5 .....	105
4.15.2.	Imunohistohemijska ekspresija IgE.....	108
4.15.2.1.	Razlike u distribuciji i korelacije u odnosu na imunohistohemijsku ekspresiju IgE ....	110
4.15.2.2.	Prediktivni značaj imunohistohemijske ekspresije IgE .....	115
5.	DISKUSIJA .....	118
5.1.	Osnovne demografske karakteristike ispitanika .....	118
5.2.	Klinička slika (simptomi, VAS skor, endoskopski skor, CT skor).....	119
5.3.	Astma.....	122
5.4.	Ukupni serumski IgE i alergijska preosjetljivost dokazana prick testom.....	123
5.5.	Mikrobiološki nalaz.....	125
5.6.	Specifični IgE na enterotoksin A <i>Staphylococcus aureus-a</i> (SEA-IgE) .....	127
5.7.	Patohistološki nalaz .....	132
5.8.	Imunohistohemijska ekspresija IL-5 u tkivu nosnosinusne polipoze .....	134
5.9.	Imunohistohemijska ekspresija IgE u tkivu nosnosinusne polipoze .....	136
6.	ZAKLJUČAK .....	139
7.	LITERATURA .....	140
8.	LISTA SKRAĆENICA.....	167
9.	PRILOZI .....	170
10.	BIOGRAFIJA .....	173

# 1. UVOD

## 1.1. Istorijat

Najstariji zapisi koji opisuju nosne polipe potiču od starih Egipćana (4000 godina prije nove ere) koji su opisivali nosne polipe kao "viseće grozdove u nosu". Polipe kao termin uvodi *Hippocrates* (460–375 prije nove ere) opisujući ih kao vrećice sluzi koje uzrokuju nazalnu opstrukciju i poremećaj čula mirisa. Prvi pisani dokumenti o liječenju polipoze vezuju se za *Hippocrates*, koji je detaljno opisao odstranjenje polipa (Slika 1.) spužvom ili omčom. Osim navedenih metoda, koristio se određenim vidom kauterizacije polipa (vrelim željezom). Nakon odstranjenja polipa, tamponirao je nos trakama natopljenim u med, ulja, bakarni puder [1]. Istorijat nosne polipoze je dug jer se metode liječenja opisuju u zapisima najranijih civilizacija i postoje dokazi da su i *Galen*, *Aegina*, *Hildanus* liječili nosne polipe. Sama riječ polip je grčkog porijekla, *polypos* (polys - mnogo, pouς - nogu) [2].



*Slika 1.* Metoda odstranjenja polipa pomoću omče. Izvor: Stevenson RS, Guthrie D. *A history of otorhinolaryngology. Living stone*, Edinburgh, pp 70-71 [3].

*Paulus Aegineta* (625.-690.) je vjerovao da su etmoidne ćelije mjesto ishodišta nosnosinusne polipoze. U 1. vijeku nove ere, *Celsus* opisuje polipe kao lokalnu manifestaciju sistemskog oboljenja. *Avicena* (980-1037 p.n.e.) je opisivao polipe u nosu. *Abulcasis* (1013-1106), najveći arapski hirurg tog vremena, imao je svojstvenu tehniku odstranjivanja polipa kukom i makazama, te je nosne kavume nakon operacije ispirao sirćetom. Za *Fallopious* (1523-1562) se vezuje uvođenje omče u hirurški tretman polipoze. Za odstranjivanje polipa iz prednjeg segmenta nosne šupljine koristio je ligature, a za zadnje segmente koristio je omče. *Fabricius* je prvi koristio forceps

konstruisan poput zakriviljenih makaza i opisao hiruršku tehniku sa upotrebom istog. Forceps je usavršio *John Van Horne* u osamnaestom vijeku. *Benjamin Bell*, ugledni škotski hirurg, opisao je hiruršku tehniku odstranjenja polipa pomoću makaza i forcepsa 1791. godine [4].

Anatomske studije *Zuckerkandl, Onodi i Grünwald*, koje su izučavale nosne i paranasalne šupljine, bile su značajan podsticaj za dalji razvoj dijagnostičkih i terapijskih procedura u ovoj oblasti [5]. Etiopatogeneza nosnosinusne polipoze bila je predmet interesovanja kroz istoriju, što se vidi iz najranijih zapisa pa sve do danas. *Billroth* 1843. godine opisuje polipe kao hiperstrofične izrasline nosne mukoze i iznosi pretpostavke da je nazalna infekcija značajan faktor u nastanku polipoze. *Virchow* je naglašavao značaj deformiteta nosa u nastanku polipa, koji su, prema njegovom mišljenju, bili izrasline tipa tumora. *Lurie* je 1959. godine uočio vezu između polipoze i cistične fibroze, dok su *Samter i Beer* 1969. godine opisali Samterov trijas. Od tih najranijih zapisa pa do danas, postignut je značajan napredak u razumijevanju incidence, etiologije, kao i patofiziologije nosnosinusne polipoze. Osamdesete godine dvadesetog vijeka karakteriše preokret u terapijskom pristupu sinonazalnoj polipozi, uvođenje kortikosteroidne terapije i razvoj funkcionalne endoskopske sinusne hirurgije, koja je potisnula radikalnu sinusnu hirurgiju i danas je prihvaćena kao osnovni vid liječenja HRS. Bolje razumijevanje patofiziologije oboljenja PNS doprinijelo je napretku hirurških tehnika, ali i integraciji konzervativnih i hirurških terapijskih strategija [6].

## 1.2. Definicija

Prema EP3OS (engl. *european position paper on rhinosinusitis and nasal polyps*) smjernicama iz 2012. godine, hronični rinosinuzitis (HRS) se definiše kao perzistentna inflamacija sluznice nosa i paranasalnih sinusa koja traje duže od 12 nedjelja bez kompletne rezolucije simptoma. Hronični rinosinuzitis se klinički definiše kao inflamacija sluznice nosa i paranasalnih sinusa u trajanju dužem od 12 nedjelja, okarakterisana sa dva ili više simptoma od kojih jedan mora biti: nazalna opstrukcija ili nosna sekrecija (prednja ili zadnja),

+/- bol ili pritisak na licu u projekciji sinusa,

+/- oslabljen ili potpuni gubitak čula mirisa,

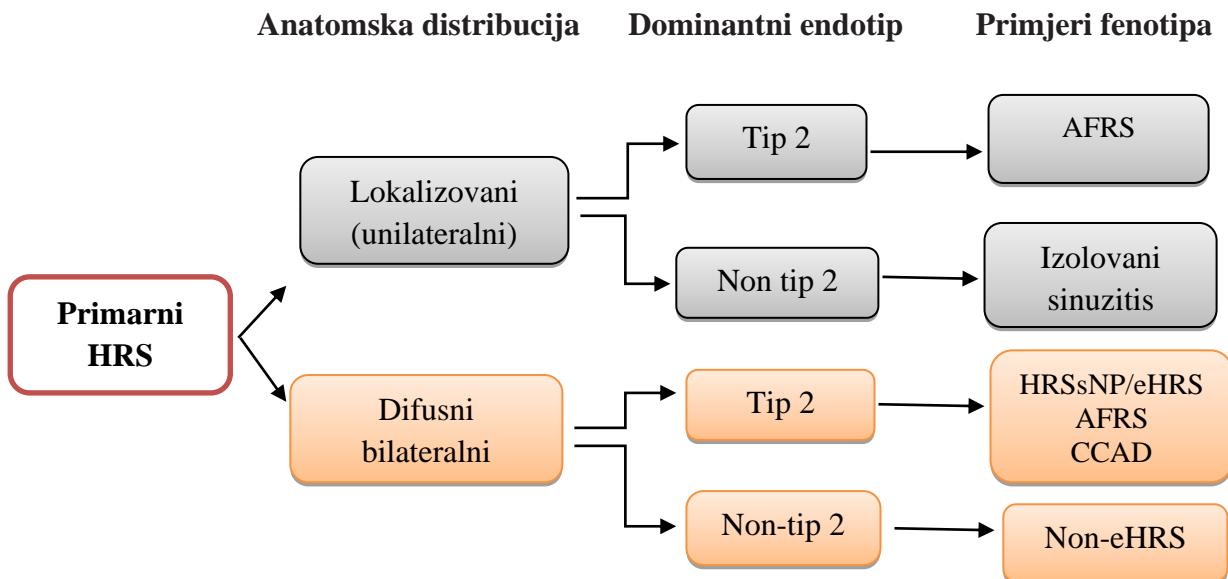
ili endoskopski dokazani znaci polipoze, i/ili edema, opstrukcije, i/ili mukopurulentne sekrecije u nivou srednjeg nosnog hodnika,

i/ili inflamatorne promjene u nalazu kompjuterizovane tomografije unutar ostiomeatalnog kompleksa i paranasalnih sinusa [7].

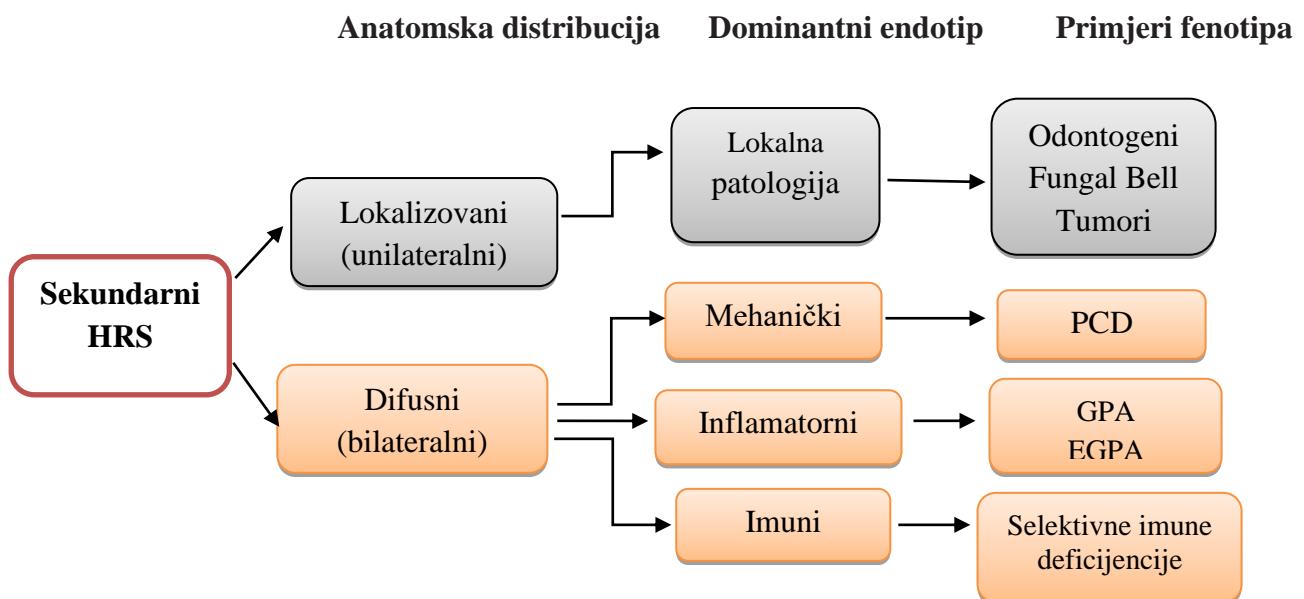
Oboljenje može zahvatiti jednu, više istostranih ili sve sinusne šupljine. S obzirom na prisustvo i odsustvo polipa u nosnim i paranasalnim šupljinama, HRS se dijeli u dvije podgrupe ili klinička fenotipa, hronični rinosinuzitis sa (HRSsNP) i bez nosnosinusne polipoze (HRSbNP). Još uvijek nije poznato da li su HRSsNP i HRSbNP različiti klinički i histološki entiteti oboljenja ili se radi o dva različita evolutivna stadijuma istog oboljenja. Ova podjela svakako nije konačna, jer heterogenost patofizioloških mehanizama unutar svake grupe ukazuje na prisustvo brojnih podtipova [8]. Klinički se HRSsNP manifestuje edemom sluznice nosne šupljine, prisutnim sekretom i peteljkastim, glatkim, mekim izraštajima (polipima) u nosnoj šupljini, te karakterističnim radiološkim nalazom otoka i polipa u nivou ostiomeatalnog kompleksa i paranasalnih šupljina. S obzirom na čestu udruženost sa astmom, nosnosinusnu polipozu ne možemo posmatrati kao izolovano oboljenje sluznice nosa i sinusa, već kao lokalizovanu manifestaciju hroničnog inflamatornog poremećaja cijelog respiratornog sistema [8].

Nosnosinusna polipoza je podijeljena prema *Stammberger* kliničkim i endoskopskim kriterijima: anatomska položaj, odgovor na konzervativnu terapiju, udruženost polipa s drugim bolestima i histološka grada prema nalazu svjetlosne mikroskopije. Ova klasifikacija podrazumijeva: Tip 1 – antrohoanalni polip; Tip 2 – hoanalni polip; Tip 3 – nosna polipoza u hroničnom sinusitisu bez eozinofilije; Tip 4 – nosna polipoza u hroničnom sinusitisu s dominantnom eozinofilijom; Tip 5 – polipoza u sistemskim oboljenjima (cistična fibroza, Kartagenerov sindrom, primarna cilijarna diskinezija) [10].

U zavisnosti od dosad poznatih patofizioloških, uzročnih faktora ili kliničke slike, možemo izdvojiti različite forme HRSsNP: HRS sa neezinofilnom inflamacijom, hronični hiperplastični eozinofilni HRS, HRS u sklopu aspirinske preosjetljivosti, alergijski fungalni HRS, HRS u sklopu cistične fibroze. Sve ove forme imaju specifične patogenetske mehanizme i u različitoj mjeri mogu biti prezentovani kliničkom slikom nosnosinusne polipoze, a zahtijevaju individualni pristup i liječenje [11]. Najnovija klasifikacija HRS, prihvaćena od strane radne grupe EPOS20, podrazumijeva podjelu na primarni i sekundarni, lokalizovani (unilateralni) i difuzni (bilateralni) HRS (Slika 2 i Slika 3).



**Slika 2.** Preuzeto i adaptirano iz Grayson JW, Hopkins C, Mori ES, B. Contemporary Classification of Chronic Rhinosinusitis: Moving beyond CRSwNP and CRSsNP. JAMA Otolaryngol Head Neck Surg. 2020;146(9):831-838 [12]. AFRS, alergijski fungalni rinosinuzitis; CCAD, (engl. central compartment allergic disease); HRS, hronični rinosinuzitis; HRSsNP, hronični rinosinuzitis sa nosnosinusnom polipozom; eHRS, eozinofilni HRS.



**Slika 3.** Preuzeto i adaptirano iz: Grayson JW, Hopkins C, Mori ES, B. Contemporary Classification of Chronic Rhinosinusitis: Moving beyond CRSwNP and CRSsNP. JAMA Otolaryngol Head Neck Surg. 2020;146(9):831-838[12]. HRS, hronični rinosinuzitis; PCD, primarna cilijarna diskinezija; CF, cistična fibroza; GPA, granulomatozni poliangitis (Wegenerova granulomatoza); EGPA, eozinofilni granulomatozni poliangitis (Churg-Strauss).

### **1.3. Epidemiologija**

Prevalenca HRS u evropskim zemljama varira od 7 do 27%, ali u prosjeku iznosi 10.9% [13]. Rezultati epidemioloških studija, koje su ispitivale prevalencu nosnosinusne polipoze, zavise od primijenjenih metodoloških procedura. Rezultati se razlikuju u zavisnosti da li je primjenjeni metod specifični upitnik ili je primjenjena endoskopija, kompjuterizovana tomografija, obdukcija nosnih i paranasalnih šupljina. U tom smislu, prevalenca nosnosinusne polipoze može varirati od 0.2-5.6% [14]. Ovu pojavu najbolje ilustruje studija rađena na kadaverima, a koja je ukazala da je prevalenca nosnosinusne polipoze dokazana prednjom rinoskopijom 2%, dok je nakon nazo-etmoidalne blok resekcije iznosila 26% [15].

Epidemiološke studije ukazuju na to da prevalenca hroničnog rinosinuzitisa u svijetu iznosi 5-12%, čime se svrstava u red najčešćih hroničnih oboljenja sa značajnim uticajem na socio-ekonomski aspekte života pacijenata [8]. Prevalenca HRSsNP iznosi 1 do 4% u opštoj populaciji, zastupljena je u svim rasama, češće kod muškog pola i osoba starijih od 40 godina. Učestalost polipoze raste sa godinama i svoj pik doseže u dobi starijoj od 50 godina [8, 16]. Nazalni polipi nađeni su kao nalaz autopsije kod 30% ljudi koji tokom života nisu prijavljivali simptome nosnosinusne polipoze [17]. Švedska studija sa 1900 ispitanika utvrdila je prevalencu nosnosinusne polipoze od 2,7%, češću zastupljenost muškog pola, stariji uzrast i prisutnu astmu među oboljelima [18]. *Klossek* i saradnici su utvrdili prevalencu HRSsNP od 2,11%, bez značajne polne predominacije [19]. Finska studija *Hedman* i saradnika dokazala je da je prevalenca nosnosinusne polipoze iznosila 4.3% [20]. *Won* i saradnici ustanovili su prevalencu HRSbNP od  $3.5 \pm 0.2\%$  i HRSsNP od  $2.5 \pm 0.2\%$  (mean  $\pm$  SE). Ista studija je utvrdila da prevalenca HRSsNP raste sa godinama i češći je kod muškog pola, pušača i pacijenata sa kasnom pojavom astme. Sa druge strane, HRSbNP je prevalentniji kod osoba mlađih od 40 godina i povezan je češće sa pojavom astme u djetinjstvu ili ranom pojavom astme (prije 40 godina) [21]. Nosnosinusna polipoza javlja se u sklopu različitih oboljenja, u smislu komorbiditeta, ali ipak najčešće u sklopu hroničnog rinosinuzitisa, gdje se javlja kod jedne trećine pacijenata (Tabela 1).

**Tabela 1.** Učestalost oboljenja ili poremećaja u sklopu kojih se javlja nosnosinusna polipoza

oboljenja ili poremećaji	učestalost
<b>AERD</b>	15-23%
<b>Astma kod odraslih</b>	7%
<b>IgE posredovana astma</b>	5%
<b>Ne-IgE posredovana astma</b>	13%
<b>HRS kod odraslih</b>	33%
<b>Nealergijski rinitis</b>	5%
<b>Alergijski rinitis</b>	1,5%
<b>Astma/sinuzitis kod djece</b>	0,1%
<b>Cistična fibroza kod djece</b>	10%
<b>Cistična fibroza kod odraslih</b>	50%
<b>Sy Churg-Strauss</b>	50%
<b>Alergijski fungalni rinosinuzitis</b>	60-100%
<b>Sy Kartagener (primarna cilijarna diskinezija)</b>	40%

Preuzeto i adaptirano iz: Settipane RA, Peters AT, and Chandra R. Chronic rhinosinusitis.

Am J Rhinol Allergy 2013; 27:11–15 [22]. AERD - aspirin exacerbated respiratory disease, respiratorna bolest pogoršana aspirinom.

Komorbiditet se definiše kao istovremena pojava ili prisustvo više oboljenja. Komorbiditeti HRSsNP mogu postojati neovisno od samog oboljenja, dok drugi mogu biti međusobno povezani (astma i nosnosinusna polipoza) zbog zajedničkog faktora rizika ili zato što jedna bolest utiče na pojavu druge bolesti. Može se reći da je hronični rinosinuzitis sa nosnosinusnom polipozom idiopatski, ali u određenom broju slučajeva nosnosinusna polipoza nastaje u sklopu genetskih, metaboličkih ili imunoloških oboljenja [8].

### 1.3.1. Astma i nosnosinusna polipoza

Nos, kao početni dio respiratornog sistema, obezbjeđuje brojne protektivne i odbrambene mehanizme u svrhu zaštite donjih disajnih puteva. Koncept “jedinstvenog disajnog puta” svoje uporište ima upravo u rezultatima studija koje ukazuju na izostanak protektivne uloge nosa kao vodećeg faktora rizika za razvoj oboljenja donjih disajnih puteva [23]. Sudeći prema savremenim stavovima, gornji i donji disjni putevi predstavljaju funkcionalnu i strukturalnu cjelinu (Tabela 2).

**Tabela 2.** Mogući patofiziološki mehanizmi koji povezuju donje i gornje disajne puteve

PATOFIZIOLOŠKI MEHANIZMI	
<b>RESPIRATORNI</b>	Gubitak protektivne funkcije nosa Neuro-vaskularna interakcija između gornjih i donjih disajnih puteva, nazobronhijalni refleksi Bronhijalna hiperreaktivnost Aspiracija nazalnog sekreta (postnazalni drip) Aspiracija inflamatornih medijatora Izmjena produkcije nitrik oksida Strukturalne promjene povezane sa anatomijom ili inflamacijom
<b>SISTEMSKI</b>	Aktivacija inflamatornih ćelija produkovanih u koštanoj srži Aktivacija eozinofila, bazofila, mast-ćelija i limfocita nakon ekspozicije alergenom Lokalno oslobođanje medijatora indukovano sistemskim efektima Aktivacija urođenih stromalnih i hematopoetskih efektorskih ćelija

Preuzeto i adaptirano iz: Fasano MB. Combined airways: impact of upper airway on lower airway. Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg 2010;18:15-20 [23].

Oboljenja jedinstvenog disajnog puta mogu biti podijeljena na alergijske i nealergijske subtipove koji imaju različite razvojne pravce. Iz perspektive prirodnog toka oboljenja, nosnosinusna polipoza u komorbiditetu sa astmom predstavlja krajnji produkt hroničnog inflamatornog procesa lokalizovanog na cijelom respiratornom sistemu, te predstavlja najtežu formu oboljenja jedinstvenog disajnog puta [24, 25]. Kao najvažniji patofiziološki mehanizmi uključeni u zajedničko ispoljavanje HRS i astme navode se sistemska propagacija inflamacije, neurogena nazobronhijalna interakcija, te uticaj mikrobioma, prije svega kolonizacija sa *Staphylococcus aureus* [26-29].

Inflamatorna oboljenja donjih disajnih puteva često koegzistiraju sa HRS, te se procjenjuje da dvije trećine pacijenata sa HRS ima astmu, hroničnu opstruktivnu bolest pluća (HOBP) ili bronhiektazije [30-31]. Tako da ne iznenađuje činjenica da GINA 2019 preporučuje ispitivanje prisustva HRS kao neophodne karike u terapijskom pristupu astmi [32].

Nosnosinusna polipoza se javlja četiri puta češće kod pacijenata sa kasnom pojavom astme (40 i više godina starosti) u odnosu na pacijente kod kojih se astma javlja u mlađem dobnom uzrastu [22,33]. Rezultati studija ukazuju da približno 20% do 60% pacijenata sa nazalnim polipima ima astmu i da približno 7% do 25.4% pacijenata sa astmom ima nazalne polipe [34,35]. Postoji

velika mogućnost da 25% pacijenata sa HRSsNP ima nedijagnostikovanu astmu. Studije ukazuju da većina pacijenata sa nosnosinusnom polipozom kod kojih nije dijagnostikovana astma ipak ima određene poremećaje spirometrijskih parametara, koji su indikatori bronhijalne opstrukcije. Ova pojava naročito je izražena kod formi HRSsNP sa eozinofilnom predominacijom [36, 37].

Studije koje su ispitivale bronhijalnu hiperreaktivnost kod pacijenata sa HRSsNP utvrdile su novodijagnostikovanu astmu kod 28%-40% pacijenata, što ukazuje na subkliničke forme astme kod ovih pacijenata [38,39].

Uticaj astme na HRS može se arbitrarno podijeliti na uticaj koji se odnosi na težinu i kontrolu bolesti i uticaj koji astma ima na ishod konzervativnog i hirurškog liječenja [8].

Istovremeno ispoljavanje astme i nazalnih polipa značajno povećava broj remisija i hospitalizacija zbog astme, a sa druge strane, pojava astme kod pacijenata sa nazalnim polipima predstavlja prediktor teških formi oboljenja [40,41]. Studija *Lin* i saradnika utvrdila je da su teže forme astme bile značajno češće udružene sa nosnosinusnom polipozom kao komorbiditetom. Ista studija utvrdila je da su teške radiološke forme nosnosinusne polipoze prediktor loše kontrolisane astme [42]. Rezultati meta analize pokazuju da je endoskopska sinusna hirurgija doprinijela poboljšanju brojnih kliničkih parametara, između ostalog i simptoma astme u 76,1% slučajeva. Ista studija je pokazala poboljšanje u smislu smanjenja broja napada u 84.8% slučajeva, smanjenja broja hospitalizacija u 64.4% slučajeva, smanjenja upotrebe oralnih kortikosteroida u 72.8% slučajeva, inhalatornih u 28.5% slučajeva [43].

### **1.3.2. Respiratorna bolest pogoršana aspirinom**

Poseban klinički fenotip HRSsNP okarakterisan je prisustvom astme, preosjetljivošću na aspirin i nosnosinusnom polipozom (engl. *aspirin sensitive asthma*- ASA trias). Sindrom je prvi opisao *Widal* 1922.godine, ali pun opis kliničkih manifestacija je dao *Samter* po kome je sindrom nazvan Samterov trijas [44]. Termin novijeg datuma je respiratorna bolest pogoršana aspirinom (engl. *aspirin exacerbated respiratory disease*-AERD). Rezultati meta analize ukazuju da je prevalenca AERD kod pacijenata sa dobro kontrolisanom, "klasičnom" astmom 7%, a kod pacijenata sa teškim formama astme i do 14%. Prevalenca AERD kod pacijenata sa nosnosinusnom polipozom iznosi 10%. Za razliku od idiopatskog HRSsNP, žene i mlađi dobni uzrast češće su zastupljeni među oboljelima. Nosnosinusnu polipozu u sklopu AERD karakterišu teške, recidivantne forme oboljenja refrakterne na konzervativne i hirurške modele liječenja, sa čestim

hirurškim revizijama. Povišene vrijednosti cisteinil-leukotriena (CysLT) nastaje zbog deficit-a enzima ciklooksigenaze, ali i pojačane aktivnosti 5-lipooksigenaze i sinteze leukotriena C4 [45,46].

### **1.3.3. Alergija i nosnosinusna polipoza**

Uloga alergijske inflamacije u nastanku HRS ostaje predmet brojnih kontroverzi. Prema studiji grupe autora koji su analizirali frekvenciju i distribuciju alergijske preosjetljivosti kod pacijenata sa hroničnim rinosinuzitisom (HRS), postojala je značajna razlika u pogledu prisustva atopije kod pacijenata sa HRS, ali nije pronađena značajna razlika u nivou pozitivnog *prick skin* testa u odnosu na opštu populaciju [47].

Kada je u pitanju HRSsP, produkcija IgE antitijela je posljedica lokalne aktivacije i diferencijacije u plazma ćelije i B-limfocite, a koja nastaje nakon ekspozicije različitim aeroalergenima i infektivnim agensima. Pojavu lokalne produkcije IgE antitijela nezavisnu od atopije u sklopu lokalnog alergijskog rinitisa je detaljno opisala *Rondon* sa saradnicima, te je definisala kao entopiju [48]. Postoje dokazi da lokalna alergijska reakcija ima značajnu ulogu u infiltraciji i agregaciji eozinofila u tkivu polipa. Brojni citokini produkovani u sklopu alergijske reakcije promovišu migraciju, aktivaciju, proliferaciju i apoptozu eozinofila, čime doprinose formiranju i daljem razvoju polipoze [49,50]. Rezultati studije *Ponte* i saradnika ukazuju na to da pacijenti sa atopijom češće imaju astmu i veći rizik od razvoja NP u poređenju sa pacijentima koji boluju od nealergijskog rinitisa [51]. Prema drugim autorima, postojanje alergijske preosjetljivosti kod pacijenta sa NP ne utiče na skor nazalnih simptoma, endoskopski i radiološki nalaz [52].

### **1.3.4. Alergijski fungalni rinosinuzitis**

Alergijski fungalni rinosinuzitis (AFRS) ili eozinofilni fungalni rinosinuzitis predstavlja jedinstven fenotip koji u osnovi ima preosjetljivost na fungalne alergene posredovane IgE antitijelima i eozinofilnu inflamaciju nosnosinusne sluznice [53]. Imunološka reakcija je odgovor imunološki kompetentnog domaćina, zbog čega ovo oboljenje spada u grupu neinvazivnih fungalnih sinuzitisa. Pacijenti sa AFRS imaju atopijsku konstituciju i pozitivnu anamnezu alergijskog rinitisa ili astme u djetinjstvu. Oboljenje se uglavnom javlja kod mlađe dobne skupine, za razliku od idiopatske nosnosinusne polipoze [54].

Alergijski fungalni rinosinuzitis je udružen sa nosnosinusnom polipozom u 50% slučajeva. Ovo oboljenje karakteriše prisustvo guste sluzi i nalaz gljivičnih hifa, a patohistološke karakteristike odgovaraju eozinofilnoj inflamaciji i nakupljanju *Charcot-Leyden*-ovih kristala. Uzročnici ove vrste sinuzitisa su gljivice iz roda *Aspergillus* (15%), *Bipolaris*, *Dreschlerae*, *Curvularia* i *Schizophyllum commune* (85%) [55]. Oboljenje se klinički očituje nalazom jednostrane nosnosinusne polipoze sa karakterističnim mucinom forme “maslaca od kikirikija” (engl. *peanut-butter-like*) [56]. Za postavljanje dijagnoze AFRS koriste se *Bent-Kuhn* dijagnostički kriteriji. Neophodno je prisustvo tri od pet mogućih pozitivnih kriterija: nosnosinusna polipoza, pozitivan nalaz gljivica na podlozi, neinvazivna forma gljivične invazije sa eozinofilnim sekretom, tip I preosjetljivosti na gljivice, forma radiološkog nalaza sa karakterističnim gusto nabijenim mekotkivnim hiperdenzitetom u sinusima, unilateralna ili diskretna forma promjena na nivou paranasalnih sinusa [57]. Drugi kriteriji (DeShazo) podrazumijevaju, eroziju koštanih zidova sinusa, prisutne Charcot-Leyden kristale, unilateralno oboljenje, perifernu eozinofiliju, pozitivan nalaz gljivica u kulturi [58].

Liječenje AFRS gotovo uvijek zahtijeva hirurški debridman (*fran. débridement*) zahvaćenih sinusa, čime se uklanja antigena stimulacija za pacijente sa AFRS i pruža širi pristup za dalje kliničko praćenje i primjenu topikalnih lijekova. Oralni kortikosteroidi mogu smanjiti recidive nakon operacije, ali primjena drugih konzervativnih procedura tipa topikalnih ili oralnih antifungalnih lijekova nema dokazanu efikasnost [8].

### 1.3.5. Imunodeficijencije i nosnosinusna polipoza

Prevalenca imunodeficijencija, tipa hipogamaglobulinemije značajno je veća kod pacijenata sa HRS u odnosu na opštu populaciju. Ovo je ujedno i rezultat meta analize koja je obuhvatila 1418 pacijenata sa HRS i ustanovila da je u 23% slučajeva postojala hipogamaglobulinemija [59]. Ove deficijencije imunog odgovora uglavnom su uslovljene genetskim mutacijama, a odlikuje ih predispozicija prema razvoju rinosinuzitisa, pneumonija, hronične upale srednjeg uha, te sklonost infekcijama koje uzrokuju sojevi streptokoka, *Haemophilus influenzae* i *Moraxella catarrhalis* [60]. HRS koji nastaju kao posljedica hipogamaglobulinemija mogu imati istu ili sličnu kliničku prezentaciju kao i idiopatski HRS, te ne iznenađuje dug vremenski period od pojave prvih simptoma do potvrde dijagnoze. Ipak, postoje određene kliničke karakteristike koje ukazuju na imunodeficijenciju koja je u podlozi oboljenja: refrakternost na standardnu antibiotsku terapiju,

recidivantne infekcije, povezanost sa infekcijama donjih disajnih puteva (pneumonije, bronhiekstazije). Kad su u pitanju imunodeficijencije kod pacijenata sa HRS, najčešće zastupljene su humoralne deficijencije (deficijencije specifičnih antitijela, česte varijabilne imunodeficijencije, selektivna IgA deficijencija). Deficijencije IgG klase imunoglobulina često su udružene sa rekurentnim infekcijama respiratornih puteva [59]. Retrospektivna studija *Vanlerberghe* i saradnika ispitivala je 307 pacijenata sa HRS refrakternih na terapiju i ustanovila prisustvo IgA deficijencije kod 2,2% pacijenata, IgG2 deficijenciju kod 2,0% pacijenata, IgG3 deficijenciju kod 17,9% pacijenata [61]. Studija *Hoover* i saradnika istraživala je ulogu imunodeficijencija kod 80 odraslih pacijenata sa opsežnim formama HRS. Utvrđila je IgG3 deficijenciju kod tri ispitanika i pozitivnu korelaciju nivoa IgE i IgG4 sa stepenom proširenosti oboljenja [62].

Najbolji način za dijagnostikovanje hipogamaglobulinemija je mjerjenje titra serum specifičnih gamaglobulina (uobičajeno IgG) u odgovoru na antigene vakcina. Ovaj pristup podrazumijeva imunizaciju pacijenta proteinskim antigenima (toksoid tetanusa) ili polisaharidnim antigenima, te mjerjenje nivoa antitijela prije i nakon imunizacije [63].

Terapija podrazumijeva nadoknadu pojedinačnih frakcija imunoglobulina, antibiotsku profilaksu, vakcinaciju i hiruršku terapiju u selektovanim slučajevima [64]. Ne treba zaboraviti na pojavu sekundarnih imunodeficijencija kao posljedicu imunosupresivne terapije. Terapija sistemskih autoimunih oboljenja doprinosi razvoju umjerenih i teških hipogamaglobulinemija kod 26% pacijenata, s tim da kod polovine pacijenata dolazi do spontanog oporavka bez potrebe za specifičnom nadoknadom [65].

### **1.3.6. Primarna cilijarna diskinezija i nosnosinusna polipoza**

Primarna cilijarna diskinezija je nasljedna bolest, nasljeđuje se autosomalno recesivno, a u osnovi poremećaja je poremećaj u pokretljivosti cilija. Ovaj klinički i genetički veoma heterogen poremećaj javlja se sa incidentom od 1:15000 živorodene djece. Zbog poremećaja u građi i funkciji cilija, infekcije respiratornih puteva (upale srednjeg uha, sinuzitisi, pneumonije, bronhiekstazije) su česte od najranije životne dobi [66].

Pokreti cilija od 10 do 20 puta u sekundi pomjeraju sekret i u njemu impregnirane čestice prema epifarinksu, te svrsishodan mukocilijarni klirens zavisi od uredne građe i funkcije cilija. Poremećaj ove funkcije doprinosi izostanku mukocilijarnog klirensa, stazi i akumulaciji mukusa, što predstavlja podlogu za razvoj respiratornih infekcija. Bolest se odlikuje hroničnom upalom

respiratornih puteva, sterilitetom kod muškaraca, dok se kod 50% oboljelih pojavljuje i *situs viscerum inversus* [66]. Poljski ljekar *Manes Kartagener* opisao je 1933. godine klinički trias: *situs viscerum inversus*, hronični sinuzitis i bronhiktazije kao poseban kliničko patološki entitet (*Kartagener*-ov sindrom) [67].

S obzirom da je sluznica nosnih i paranasalnih šupljina pokrivena cilijarnim epitelom, pacijenti sa primarnom cilijarnom diskinezijom (PCD) često prijavljuju simptome tipa nazalne opstrukcije, sekrecije i poremećaja čula mirisa. Često se mogu javiti simptomi hronične upale srednjeg uha, te konduktivna redukcija sluha. Ovo oboljenje je povezano sa HRSsNP u 15-30% slučajeva, što nalaže dijagnostičke procedure u pravcu PCD kod djece sa prisutnom nosnosinusnom polipozom [68].

Dijagnoza PCD se postavlja na osnovu heteroanamnestičkih podataka o ponavljajućim respiratornim infekcijama. Postojanje *situs viscerum inversus* dalje doprinosi sumnji na ovaj poremećaj. Upotreba elektronskog mikroskopa omogućila je bolji uvid u građu cilija [69].

U cilju praćenja mukocilijarnog klirensa koristi se saharinski test i inhaliranje radioaktivnih čestica. Ultrastrukturne abnormalnosti cilija i vizualna analiza pokretljivosti cilija elektronskim mikroskopom ukazuju na nepokretnost ili diskineziju cilija. Kao skrining test i "zlatni standard" u dijagnostikovanju primarne cilijarne diskinezije služi test mjerenja nazalnog azot oksida, čija je koncentracija značajno niža u osoba s primarnom cilijarnom diskinezijom u odnosu na zdravu populaciju. U dijagnostičkom protokolu može koristiti i analiza frekvencije kretanja cilija (engl. *ciliary beat frequency*) i model kretanja cilija (engl. *ciliary beat pattern*) u nazalnom bioptatu, mada ova procedura ima više negativni prediktivni značaj. Okosnicu terapije čini konzervativna terapija (antibiotici, mukolitici, vakcinacija), fizikalni postupci (mjere za poboljšanje iskašljavanja) i hirurška terapija (kod bronhiktazija, lobektomije i endoskopska sinusna hirurgija) [70].

### **1.3.7. Vaskulitisi i nosnosinusna polipoza**

Vaskulitisi predstavljaju heterogenu grupu sistemskih autoimunih oboljenja okarakterisanih inflamacijom zidova krvnih sudova. Klinička prezentacija zavisi od lokalizacije i promjera zahvaćenih krvnih sudova. Unutar vaskulitisa malih krvnih sudova uveden je termin vaskulitis, povezan s antineutrofilnim citoplazmatskim antitijelima (ANCA), kao poseban kliničko-patološki entitet, kao i određene terminološke izmjene. Antineutrofilna citoplazmatska antitijela su cirkulišuća antitijela većinom IgG-izotipa, a koja se stvaraju protiv enzima neutrofilnih i

monocitnih lizosomskih granula [71]. Ova skupina vaskulitisa obuhvata granulomatozni poliangitis, prema staroj terminologiji Wegenerova granulomatoza, i eozinofilni granulomatozni poliangitis, ranije poznat kao Churg-Straussov vaskulitis. Treći entitet u ovoj skupini je i mikroskopski poliangitis. Osnovna obilježja ove forme vaskulitisa su pozitivna anti-ANCA antitijela, brzo-progresivni glomerulonefritisi, dobar odgovor na imunosupresivnu terapiju ciklofosfamidom. Eozinofilni granulomatozni poliangitis je rijetka forma vaskulitisa koju karakteriše eozinofilna granulomatozna infiltracija tkiva, sistemske manifestacije, hronični rinitis, nosnosinusna polipoza i astma. Prema konsenzusu, ovo oboljenje se definiše kao “ezoinofilna granulomatozna inflamacija respiratornog sistema sa nekrotizirajućim vaskulitisom malih i srednjih krvnih sudova“ [72].

Etiološki faktori su nepoznati, ali vjerovatno da je autoimuni Th2 upalni odgovor sa predominacijom eozinofila, kod genetski predisponiranih osoba, potaknut eksposicijom određenim alergenima, lijekovima, vakcinama, infekcijama. Patohistološka karakteristika oboljenja je rezultat upalnog Th2 odgovora i pretjerane produkcije citokina IL-4, IL-5 IL-13 koji uzrokuju eozinofilnu infiltraciju i oštećenje endotela [73]. Eozinofilni granulomatozni poliangitis se uglavnom javlja u srednjoj životnoj dobi, ali može se javiti i u djetinjstvu. U najvećem broju slučajeva mogu se izdvojiti tri klinička stadija oboljenja. U prodromalnom stadiju prisutni su rinitis, nosnosinusna polipoza i astma, eozinofilni stadij karakteriše sistemska i lokalna eozinofilna infiltracija, a treća “vaskulitis“ faza uključuje teške forme polineuropatija, miokarditisa, ishemijskih bolesti srca, mozga i gastrointestinalnog sistema. Sistemska manifestacija oboljenja razvija se u prosjeku 8 godina nakon dijagnoze astme [74].

Prema kriterijima američkog reumatološkog udruženja, najmanje četiri od šest kriterija moraju biti zastupljeni za dijagnozu eozinofilnog granulomatoznog poliangitisa: prisustvo astme, eozinofilija ( $>10\%$ ), mono- ili polineuropatija, pulmonarni infiltrati (tranzitorni i migrirajući), poremećaj na nivou paranasalnih sinusa, eozinofilna infiltracija ekstravaskularnog tkiva arterija, arteriola i venula. Postoje dvije vrste ANCA i to citoplazmatska, koja su usmjereni na serin proteinaze 3, i perinuklearna, usmjereni na mijeloperoksidazu. Prva antitijela su visokospecifična ( $>90\%$ ) za granulomatozni poliangitis, a druga (uz manju specifičnost) za eozinofilni granulomatozni poliangitis i mikroskopski poliangitis [75]. Sistemska eozinofilija je prisutna kod svih pacijenata, pozitivan titar ANCA je potvrđen kod 30-40% pacijenata, ukupni IgE je pozitivan kod 75% pacijanata. Radiološki nalaz uglavnom upućuje na pansinuzitis, koštanu ekspanziju, fronto-etmoidne mukokele, eroziju i proširenje interkantalne distance [76].

Terapija uključuje imunosupresivne agense: sistemski prednizolon, cyclophosphamid, azathioprin, mycophenolate mofetil i methotrexat. Dodatna terapija uključuje: intravenske imunoglobuline, leflunomid, anti-TNF $\alpha$ , interferon i izmjene plazme. Noviji terapeutiski biološki agensi su : rituximab, anti-IL-5 (mepolizumab), anti-IgE (omalizumab) [77]. Endoskopska sinusna hirurgija je metoda izbora kod pacijenata refrakternih na konzervativnu terapiju. Topikalni kortikosteroidi se koriste u svim slučajevima [78].

### 1.3.8. Cistična fibroza

Cistična fibroza (CF) predstavlja genetsko oboljenje, a nasljeđuju se autozomno recessivno. U osnovi oboljenja je genska mutacija, te posljedični deficit proteina koji se nalazi na površini ćelija (transmembranski regulator cistične fibroze) i reguliše transport jona hlor kroz ćelijsku membranu, a zbog čega sekret koji ćelije luče postaje viskozniji (gušći) i lakše opstruiše izvodne kanale žlijezda određenih organa. Mukus postaje dehidriran i gust, što redukuje mukocilijski klirens i stvara uslove za razvoj infekcije gram negativnim bakterijama, prevashodno *Pseudomonas aeruginosa*, *Achromobacter xylosoxidans* i *Burkholderia cepacia*. U ranom djetinjstvu su česte infekcije respiratornog trakta bakterijom *Staphylococcus aureus*, naročito meticilin rezistentnim sojevima. Klinička slika cistične fibroze je direktna posljedica izmjena u radu egzokrinih žlijezda. Simptomi i težina bolesti su promjenjivi, ali kliničkom slikom dominira hronična plućna bolest. Bilateralna nosnosinusna polipoza je indikativna za cističnu fibrozu [79,80].

Čest nalaz kod oboljelih od CF su hipoplastične paranazalne šupljine, nalaz muko-ili piokela u sinusima, promjene na lateralnom zidu nosne šupljine. U slučaju pojave nosnosinusne polipoze kod mlađih od 16 godina, treba razmotriti dijagnostičke procedure u pravcu cistične fibroze. Nosnosinusna polipoza se razvija kod približno 20% pacijenata sa cističnom fibrozom i odlikuje ih dominanatno neutrofilna inflamacija. Težina nosnosinusne polipoze kod pacijenata zavisi od zastupljenog gentotipa [79-81].

S obzirom da je nosnosinusna polipoza kod CF refrakterna na konzervativnu terapiju, hirurška terapija ostaje metoda izbora kao bezbjedna i efikasna procedura u smislu smanjenja nazalnih simptoma [82]. Ipak, procenat hirurških revizija je visok (28% unutar tri godine), te se iz istog razloga uvijek preporučuju radikalniji hirurški zahvati (totalna etmoidektomija, medialna maksilektomija, radikalna frontalna sinusotomija). Hirurška terapija se preporučuje i kod pacijenata

sa hroničnim oboljenjima pluća, te transplantiranim pacijentima, s obzirom na eradikaciju gram negativnih bakterija, čime se prevenira rekolonizacija pluća [80].

#### **1.4. Etiopatogeneza hroničnog rinosinuzitisa sa nosnosinusnom polipozom**

U etiopatogenezi hroničnog rinosinuzitisa uključeno je više različitih, genetskih i faktora okoline, čija interakcija potiče više mehanizama hronične tkivne inflamacije, a koji vode razvoju specifične kliničke prezentacije. Ispitivanje potencijalnih etiopatogenetskih faktora u nastanku HRS još predstavlja aktuelnu temu u naučnim krugovima, s obzirom na multifaktorijalne mehanizme nastanka oboljenja. Uprkos dokazima da su faktori koji pridonose razvoju HRS poremećaji mukociliarnog klirensa, bakterijska i fungalna infekcija, imunomodulacija superantigenima, alergijska inflamacija, morfološko-anatomski poremećaji i varijacije, tačni etiopatogenetski mehanizmi još uvijek nisu poznati [8].

Etiopatogenetski faktori u nastanku HRS mogu se podijeliti na adinamičke (stalne) i dinamičke (promjenjive) faktore. Adinamički faktori uključuju anatomske varijacije kao posljedice prethodnih trauma, oboljenja ili hirurških zahvata, septalne deformacije, nepravilnosti oblika ili veličine nosnih školjki i sinusnih ušća. Dinamički faktori podrazumijevaju inflamatorne promjene respiratorne sluznice, tipa mukozalnog oštećenja, remodelovanja, fibroze, poremećaj mukociliarnog klirensa, koje nastaju pod uticajem različitih agenasa (bakterija, virusa, gljivica, toksina ili alergena). Iako su patofiziološki mehanizmi nastanka HRS nedovoljno poznati, faktori koji imaju značaj u nastanku ovog oboljenja su genetska predispozicija, inflamacije, infekcije, anatomske abnormalnosti, sistemske ili lokalne imunodeficijencije [8].

Hronični rinosinuzitis je rezultat hronične inflamacije sluznice nosa i paranasalnih sinusa uzrokovani različitim faktorima. Mehanizmi koji determinišu inflamaciju još uvijek nisu u potpunosti jasni. Može se reći da je oboljenje rezultat neadekvatnog ili prekomjernog imunog odgovora na spoljašnje faktore. Kooperativna aktivnost izmijenjenog urođenog i stečenog imunog odgovora sa spoljašnjim faktorima (mikroorganizmi i alergeni) ima značajnu ulogu u započinjanju i održavanju oboljenja [8,9,83-86].

HRS bi se mogao definisati kao oboljenje multifaktorijalne etiologije, u osnovi koje su disfunkcionalne interakcije između brojnih spoljašnjih faktora sredine i imunog odgovora domaćina. Još uvijek nisu identifikovani faktori koji bi se isključivo ili sa velikom vjerovatnoćom svrstali u red etioloških faktora. Vjerovatno da važnost specifičnih uzročnih faktora varira prema

značaju, što za posljedicu ima različite tipove tkivne inflamacije. Dvadeseti vijek je, u polju rinologije, obilježen stalnim naporima na iznalaženju etioloških faktora. U tom smislu je nastala i fungalna hipoteza, potom je u središte interesovanja postavljen *Staphylococcus aureus*, a nešto kasnije i pretpostavke o mikrobiološkoj disbiozi. Međutim, terapeutski postupci usmjereni na navedene patogene nisu dali željene rezultate, te su navedene hipoteze za rezultat imale odbacivanje antimikrobne terapije kao modaliteta liječenja. Teorijski bi identifikacija genetskih i epigenetskih varijacija unutar domaćina koje favorizuju nastanak HRS imala pozitivne dijagnostičke i terapijske implikacije. Za sada, osim u slučaju cistične fibroze, ne postoji mogućnost za izolovanje jedinstvenog poremećaja na nivou gena koji uslovjava predisponiranost razvoja HRS. HRS se najčešće dijagnostikuje kod pacijenata srednje životne dobi, što ukazuje na dugotrajni premorbidni kurs, kompleksnu, po intenzitetu i slijedu, varijabilnu interakciju domaćina i spoljnje sredine i superponirane dodatne faktore. Sve zajedno čini izolovanje etioloških faktora gotovo nemogućim postupkom, a usmjerava dodatna istraživanja u pravcu hronične inflamacije koja se odvija unutar nosnih i paranasalnih šupljina, sa fokusom na aktivirane endotipove ili molekularne obrasce. Posebna istraživanja su usmjerena na samoograničavajući, imuni odbrambeni odgovor sluznice protiv patogena koji ima za cilj očuvanje, ozdravljenje i uspostavljanje ponovnog integriteta. U slučaju HRS, ova fiziološka funkcija izostaje, te se održava narušen integritet sluznice, sa permanentnom hroničnom inflamacijom određenog tipa ili kombinacije tipova imunog odgovora. Iako postoje određena podudaranja između HRSsNP i HRSbNP, ipak postoje značajne razlike u inflamatornom profilu, kliničkoj prezentaciji i terapijskim procedurama. U poređenju sa HRSbNP pacijentima, pacijenti sa HRSsNP imaju simptome većeg intenziteta, više radiološke skorove, češću potrebu za konzervativnom i hirurškom terapijom [8,87,88].

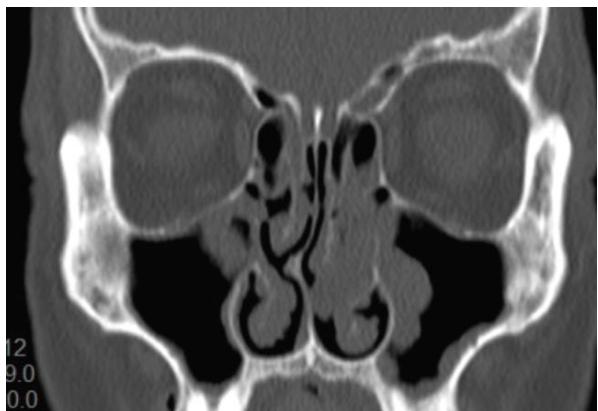
Mogući etiopatogenetski mehanizmi ili predisponirajući faktori u nastanku HRSsNP uključuju ulogu alergijske preosjetljivosti, mikroorganizma, biofilmova, superantigena *Staphylococcus aureus*-a, fungalnu hipotezu, poremećaj imune barijere, poremećaje u metabolizmu eikozanoida [8,84]. S obzirom na savremene hipoteze o etiopatogenetskim mehanizmima HRS, u daljem tekstu su opisani najčešći doprinoseći faktori okoline, te faktori domaćina odnosno imunopatogenetski faktori.

#### **1.4.1. Uloga alergijske preosjetljivosti u nastanku hroničnog rinosinuzitisa sa nosnosinusnom polipozom**

HRSsNP je rezultat neadekvatnog ili prekomjernog imunog odgovora na spoljašnje faktore, što je uslovilo prenaglašenu ulogu alergije kao etiopatogenetskog faktora. S druge strane, patofiziološki mehanizmi alergijske reakcije u okviru koje se produkuju brojni Th2 (T-helper) citokini, orkestiraju inflamaciju eozinofilnim granulocitima (Eo) koja bi mogla doprinijeti formiranju i daljem razvoju NP [50]. *Settipane* i saradnici su, još sedamdesetih godina prošlog vijeka, dokazali odsustvo alergije kod većine pacijenata sa NP, čime je svakako poljuljana “alergijska hipoteza” u etiopatogenezi ovog oboljenja [89]. Mada uloga alergijske senzibilizacije u nastanku HRSsNP ostaje nejasna, prema nekim autorima, postoji visoka prevalenca alergije kod HRSsNP i do 64%, dok drugi autori ukazuju na to da se prevalenca ovog oboljenja ne razlikuje od prevalence alergije u opštoj populaciji. Savremena istraživanja ne donose isključive dokaze, te samim tim i ne odbacuju ulogu alergije u nastanku hroničnog rinosinuzitisa sa nosnosinusnom polipozom [8,90-92].

Alergijska inflamacija ima podjednaku Th2 polarizaciju imunog odgovora, sa karakterističnim citokinskim miljeom, koja je najčešće u osnovi nosnosinusne polipoze. Teorijski bi prisustvo alergena na sluznici nosa moglo provocirati nastanak polipoze, dok je mogućnost dopremanja alergena u šupljine paranazalnih sinusa, ograničena. Mada je moguće da već sama alergijska inflamacija i posljedični edem izazivaju poremećaj u drenaži paranazalnih sinusa i posljedičnu hroničnu inflamaciju. Novija istraživanja ukazuju na to da proteazna aktivnost alergena može dovesti do interakcija sa epitelijalnim ćelijama i posljedičnim oslobađanjem Th2 citikina i hemokina, a što u konačnici rezultira razvojem hronične inflamacije u sklopu HRS. Istraživanja u oblasti patofiziologije alergijskog rinitisa i HRS ukazuju na smanjenu ekspresiju inhibitora proteaza u epitelijalnim ćelijama eozinofilnog HRS [93].

U skorije vrijeme je opisan poseban podtip HRS nazvan atopijsko oboljenje centralne lokalizacije (engl. central compartment atopic disease - CCAD), a odnosi se na karakteristični endoskopski i radiološki fenotip polipozno izmijenjene sluznice srednje nosne školjke i nosnog hodnika, kod pacijenata sa HRSsNP i dokazanom IgE preosjetljivošću na inhalatorne alergene (Slika 4).



**Slika 4.** Koronalni presjek kompjuterizovane tomografije. Karakteristično polipozno izmijenjena sluznica kod pacijenta sa CCAD.

Za razliku od difuzne nosnosinusne polipoze, pretpostavlja se da izlaganje ovog regiona struji vazduha u kojoj se nalaze inhalatori alergeni doprinosi nastanku centralnog obrasca polipoze. Za razliku od idiopatskog HRSsNP, ovaj podtip je vezan za mlađi dobni uzrast ili postoje anamnestički podaci o alergijskom rinitisu u djetinjstvu [94].

#### 1.4.2. Mikroorganizmi u nastanku hroničnog rinosinuzitisa sa nosnosinusnom polipozom

Skorija istraživanja ukazuju na važnost mikroba u HRS, bilo da im se pripisuje uloga u samom nastanku oboljenja ili kao faktora koji doprinose pogoršanju. Dok je sastav mikrobiote (skup mikroorganizama prisutnih u definisanoj okolini) kod zdravih kontrolnih skupina i pacijenata sa HRS dobro opisan, uloga mikrobiote u patogenezi HRS ipak ostaje nejasna. Uloga mikrobiote u patogenezi HRS je ponovo aktuelizirana zbog poboljšanja dijagnostičkih tehnika. Ovo je ujedno i razlog nagomilanih, često kontradiktornih podataka vezanih za izolovane sojeve kod zdravih ispitanika i oboljelih od HRS. Uzrok ovome su vjerovatno tehničke razlike u metodološkim pristupima različitim studijama: razlika u lokaciji i tehnikama uzorkovanja, ciljne genske regije, platforme za sekvenciranje, bioinformatika i baze podataka o taksonomskom rasporedu, mogu doprinijeti teškoćama u usporedbi i prikriti realne trendove [95].

Novije molekularne tehnike su u zdravim paranasalnim sinusima prikazale obilne i složene bakterijske komune, uključujući i anaerobne mikroorganizme. Uobičajeno identifikovani bakterijski rodovi uključuju *Staphylococcus*, *Corynebacterium* i *Propionibacterium* [96].

Dok su određene studije pokazale da su karakteristike sinusne mikrobiote HRS bile uporedive sa onima kontrolne grupe, druge analize, koristeći HRS fenotipove ili endotipove, pokazale su različite sinusne bakterijske zajednice [97,98]. Savremene tehnike identifikacije kao što je PCR (engl.

*polymerase chain reaction* - PCR) tehnika, su ustanovile sličan ukupan broj bakterija prisutnih u zdravim i oboljelim paranasalnim sinusima [99,100]. Nedavno izvedena meta-analiza koja je upoređivala sastav bakterijske mikrobiote kod pacijenata sa HRS i zdravim ispitanicima nije utvrdila značajnu razliku u zastupljenosti vrsta [101].

Mikroorganizmi koji kolonizuju disajni put mogu poticati uređeni ili stečeni imunitet. T-ćelijske populacije koje polarizuju citokinski profil mogu modulirati poremećeni odgovor na prisustvo trigera iz okruženja. Bakteriološka hipoteza u etiopatogenezi HRS može biti zasnovana na direktnoj bakterijskoj infekciji, oštećenju sluznice bakterijskim produktima ili reakcijama preosjetljivosti na bakterijske antigene [102]. Postoje brojne hipoteze o ulozi bakterija u nastanku i/ili pogoršanju HRS, mada je sve više zagovornika ideje da gubitak integriteta epitelne barijere uslijed progresivne upale olakšava daljnje izlaganje spoljašnjim podražajima, uključujući gljivice, virus, bakterije i njihove metaboličke proekte [103]. Bolje razumijevanje uloge bakterija u patogenezi HRS može doprinijeti boljem razumijevanju efikasnosti liječenja HRS antibiotskom terapijom, odnosno ograničiti nepotrebne ili nekorisne obrasce propisivanja. Standardni antimikrobni modaliteti liječenja uglavnom su usmjereni na specifične mikrobne infekcije i patogenost. Ali u uslovima gdje nema identifikacije bakterijskog specifičnog uzročnika, gdje postoji neravnoteža, nestabilnost u komenzalnoj mikrobioti, uloga i efekat antibiotika su upitni [104]. Uloga pojedinačnih bakterija ili hipoteze o pojedinačnim uzročnicima (*engl .single-pathogen hypothesis*) najviše se odnose na ulogu *Staphylococcus aureus*-a, više nego bilo kog drugog pojedinačnog uzročnika [101].

Evidentno je da predmet istraživanja više nije pojednostavljeni model patogenosti vezan za jedan agens, već kompleksna dinamička interakcija između bakterija i domaćina. Svaka potencijalna hipoteza i mehanizam djelovanja bakterija u okviru HRS nisu međusobno isključivi i vjerovatno su međusobno povezani i interaktivni [105]. Teorija intracelularne invazije patogena (*engl. intramucosal bacteria*) odnosi se na mogućnost *Staphylococcus aureus* (SA) da opstaje unutar epitelnih ćelija ili submukozno u intersticiju, te izbjegava imunološki odgovor domaćina. Jedan od dokaza da *Staphylococcus aureus* ima značajnu imunomodulatornu ulogu u imunopatofiziološkim dešavanjima HRSsNP jeste nalaz ove bakterije u intracelularnoj formi u tkivu polipa ovih pacijenata [106]. Intracelularni SA je identifikovan u 40% do 75% pacijenata sa HRS u odnosu na 0% do 12.5% subjekata kontrolne grupe, a naročito prevalentno kod pacijenata sa AERD [106,107]. Identifikacija intracelularnog SA kod pacijenata sa HRS bila je značajno povezana sa povećanim rizikom od relapsa oboljenja i ponavljanim hirurškim revizijama [108].

Studija koja je ispitivala submukoznu invaziju bakterija kod pacijenata sa HRS pronašla je uporedive stope za sve procijenjene grupe pacijenata, uključujući subjekte kontrolne skupine, ispitane sa HRSbNP i HRSsNP, kao i pacijente sa cističnom fibrozom [109]. Specifična etiologija povećane zastupljenosti SA u HRS i potencijalna uloga u patogenezi oboljenja ostaje nejasna. Moguće je da gubitak integriteta epitelne barijere, kao jedne od patoloških karakteristika oboljenja, može pružiti priliku za intramukoznu invaziju [110].

Istovremeno prisustvo ili zastupljenost određenih vrsta bakterija (engl. *cooccurrence of bacteria*) privlači sve više pažnje kada su u pitanju bakterijske invazije sluznica. Istraživanja su identifikovala značajno prisustvo različitih odnosa međusobno povezanih određenih vrsta bakterija. Metaboličkim modelom takođe je identifikovan obrazac razmjene metabolizma među vrstama koji može oblikovati i održavati zavisne odnose između određenih mikroba [111]. Ova teorija nudi uvjerljiv argument za studije koje kombinuju molekularne pristupe i na kulturama utemeljene studije i koje potencijalno vode ka potpunom razumijevanju složenosti interakcija bakterijskih zajednica, kako na nivou određenih vrsta, tako i na nivou sojeva [110].

Egzistirajući u biofilmu, bakterije pokazuju specifične osobine rasta i metabolizma. Biofilmom indukovana oboljenja karakteriše hronicitet, sklonost egzacerbacijama, te ekstremna rezistencija prema antibiotskoj terapiji. Biofilm je definisan kao zajednica bakterija inkorporirana u vlastitom matriksu polimera, irreverzibilno inkorporiran na površinu. Teorija o ulozi biofilmova u patogenezi HRS je skorijeg datuma. Utvrđena je polimikrobnja priroda biofilmova u patogenezi HRS sa predominantnim *Staphylococcus aureus* i *Haemophilus influenzae*, kao i udruženost biofilmova sa teškim formama HRS [112,113]. Polimikrobnji biofilmovi pokazuju svojstva i interakcije koje se razlikuju od samih pojedinih vrsta, a podjednako moduliraju dinamiku mikrobne zajednice. Ova svojstva se odnose na promjene u morfologiji, zaštiti od antibiotika, poboljšanju adhezije uslijed koagregacije, konkurentske isključenje sa mjestima vezanja, proizvodnju virulentnih faktora [114]. Sve je jasnije da biofilmovi vjerovatno predstavljaju prevladavajući način postojanja mikroba u okruženju. Zajednica mikroba u biofilmu ne znači nužno i direktnu povezanost s procesom bolesti. Međutim, uporediva stopa identifikacije biofilma kod pacijenata sa CRS i zdravih ispitanih dovodi u pitanje ulogu biofilma u HRS [115].

Fungalna hipoteza u etiopatogenezi HRS ima svoje uporište u istraživanjima Ponikau i saradnika krajem dvadesetog vijeka. Autori su istraživali incidencu alergijskog fungalnog sinuzitisa koristeći posebne tehnike kolektovanja i zasijavanja mukozne sluzi. Dokazali su pozitivne fungalne kulture kod gotovo svih pacijenata sa HRS. Predominacija eozinofila u sinusnom mukusu pacijenata sa

fungalnim rinosinuzitisom je rezultirala uvođenjem termina “eozinofilni fungalni rinosinuzitis” [116]. Hipoteza je dodatno afirmisana rezultatima studije u kojoj je ispitivana efikasnost Amfotericina B u terapiji HRS. Prema ovim rezultatima, intranasalna aplikacija Amfotericin B je redukovala nivo markera eozinofilne inflamacije i upalno zadebljanje sluznica [117]. Međutim, multicentrična studija *Ebbens* i saradnika dokazala je da lavaža Amfotericinom B ne redukuje kliničke znake i simptome HRS [118].

Fungalna hipoteza u HRS zagovara, ili direktnu aktivaciju eozinofila na površini nosnosinusne sluznice, ili poremećen imunološki odgovor domaćina na gljivice. Dokazano je da pacijenti sa HRS imaju poremećen Th1 I Th2 imuni odgovor na uobičajene funge, prije svega na *Alternaria*-u [119]. Gljivice ili njihovi produkti mogu aktivirati povećanu produkciju citokina i nakupljanje inflamatornih ćelija, prije svega eozinofila. Ovi zaključci su proizašli iz rezultata studija koje su utvrdile poremećaj integriteta epitelne barijere kod pacijenata sa alergijskim fungalnim rinosinuzitisom [120]. Izgleda da je uloga gljivica u patogenezi HRS tek sekundarna u odnosu na primarne procese oboljenja [121].

#### **1.4.3. Poremećaj u metabolizmu eikozanoida**

Kao što je već prije navedeno, zajedničko ispoljavanje astme, preosjetljivosti na aspirin i nosnosinusne polipoze je sindrom poznat pod nazivom ASA trijas, Samterova trijada ili respiratorna bolest pogoršana aspirinom (AERD). Karakteriše je preosjetljivost na aspirin i nesteroidne antiinflamatorne lijekove (preosjetljivost na lijekove koje inhibiraju ciklooksigenazu-1). Mechanizam nastanka oboljenja nije u potpunosti razjašnjen, u osnovi je poremećen metabolizam arahidonske kiseline, ekscesivna produkcija cisteinil leukotriena i proinflamatornih prostaglandina, te smanjena produkcija antiinflamatornog prostaglandina. Pretjerana ili nedovoljna produkcija kritičnih modulatora vezanih za metabolizam arahidonske kiseline, uključujući leukotriene, lipoksine, tromboksan i prostaglandine, vjerovatno mogu biti uključeni u patofiziologiju AERD. Tkivne promjene podrazumijevaju eozinofilnu inflamaciju nosnosinusne i bronhijalne sluznice sa prisutnim mastocitima i trombocitima adheriranim na leukocite. Lijekovi na koje se razvijaju reakcije preosjetljivosti su acetilsalicilna kiselina i nesteroidni antiinflamatori lijekovi (NSAIL). U početnoj fazi oboljenje karakteriše pojava nazalne opstrukcije i sekrecija, a tokom sljedećih nekoliko godina se razvija klinička slika teške, recidivantne forme oboljenja gornjih i donjih disajnih puteva [44].

#### **1.4.4. Hipoteza stafilokoknih superantigena**

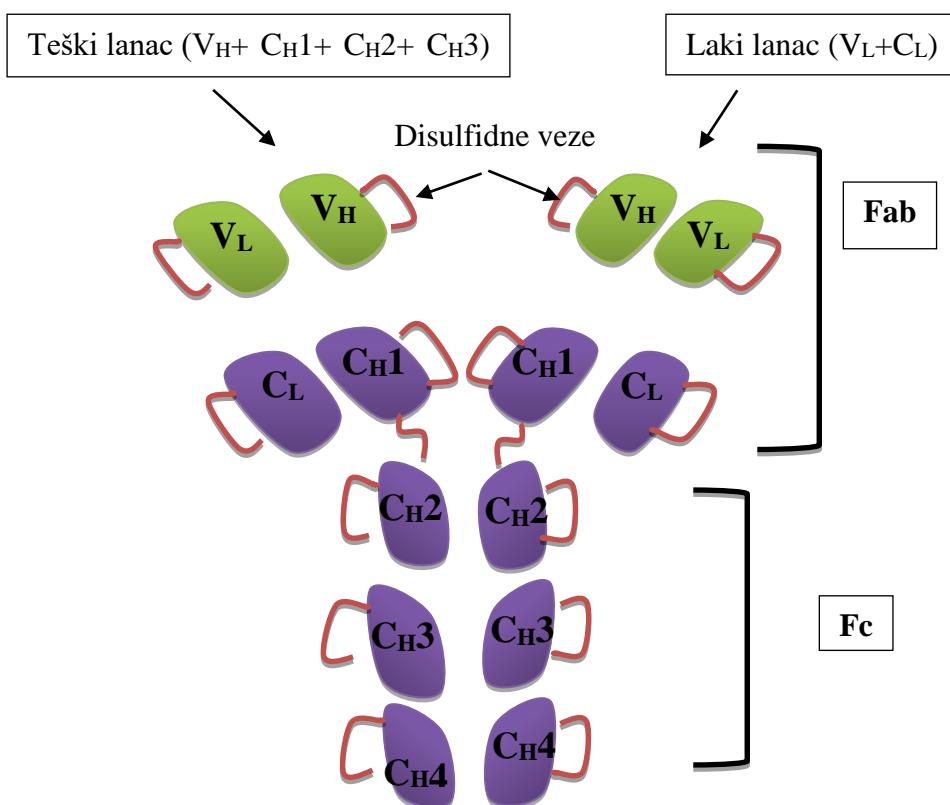
##### *1.4.4.1. Imunoglobulin E*

Imunoglobulini (Ig) su glikoproteini koje luče B limfociti u terminalnom razvojnom obliku, a koji posreduju humoralni imuni odgovor. Svi imunoglobulini postoje u dva osnovna oblika, kao receptori za antogene na površini B-limfocita i kao slobodni Ig u krvi ili limfi. Građa Ig je kompleksna, posjeduju više različitih antigenskih determinanti. Svaki Ig se sastoji od četiri polipeptidna lanca, koji su povezani hidrofobnim i disulfidnim vezama. Polipeptidne lance čine dva laka (L) lanca (24-25kD) i dva teška (H) lanca ( 55-70kD). Lake lance čine dvije regije: varijabilne (V) regije i konstantne (C) regije. Varijabilna regija se naziva i amino-terminalni kraj, pokazuje velike varijabilnosti između antitijela, a sastoji se od oko 110 aminokiselina. Konstantna (C) regija se naziva i karboksi-terminalni kraj, a postoje samo dva tipa lakena,  $\kappa$  i  $\lambda$ . Teške lance čine varijabilne regije i konstantne regije, čije se aminokiseline javljaju u pet nizova,  $\mu$ ,  $\delta$ ,  $\gamma$ ,  $\epsilon$  i  $\alpha$ , što nazivamo izotipovima. Zbog razlika u teškim lancima, Ig se dijele u pet klase: IgM, IgG, IgA, IgD i IgE. U okviru pojedinačne molekule Ig, najveće razlike se odnose na varijabilne regije oba lanca ( $V_H$  i  $V_L$ ), gdje su smještene hipervarijabilne ili dopunske determinanatne regije, koje zajedno nazivamo dio varijabilnih lanaca antitijela za koji se veže antigen (engl. *complementarity determining regions -CDR*). Svaka od ovih regija ima 9-12 aminokiselina, a obilježavaju se sa  $CDR_1$ ,  $CDR_2$ ,  $CDR_3$ . To je ujedno i mjesto koje se naziva i Fab regija. Karboksiterminalni kraj se naziva Fc regija. V regioni lakena i teških lanaca su mjesto prepoznavanja antiga, dok su C regioni teških lanaca odgovorni za iniciranje efektorskih funkcija. Molekule Ig imaju prostorno razdvojene funkcije prepoznavanja i sprovođenja. Karboksi-terminalni krajevi se razlikuju zavisno o klasi imunoglobulina [122,123].

Nakon stvaranja u koštanoj srži, B limfociti odlaze u sve dijelove tijela, gdje stiču zreli fenotip i postaju sposobne da stvaraju antitijela ako dobiju signale od antiga (Ag). B-limfociti prepoznaju antigen putem specifičnih receptora ispoljenih na ćelijskim mebranama ili molekulom imunoglobulina, koju čine varijabilni i konstantni domeni. Efektorske ćelije imunog sistema na svojim membranama nose receptore za Fc fragmente antitijela, te se interakcijom s tim receptorima događaju imunološki procesi posredovani antitijelima [124].

IgE je serumski imunoglobulin zastupljen u najnižoj koncentraciji u odnosu na imunoglobulinske izotipove, građen od 4 polipeptidna lanca, dva teška  $\epsilon$  lanca i dva laka  $\kappa/\lambda$  lanca.

Teški ε lanac je sačinjen od 4 konstantna (C) regionala (Cε1-Cε4). Imunoglobulin E (IgE) čini oko 0,002% ukupnih serumskih imunoglobulina i njegova koncentracija u plazmi je manja od 1 $\mu$ g/mL, dok u određenim patološkim stanjima može iznositi i više od 1000  $\mu$ g/mL. U fiziološkim uslovima, IgE je najmanje zastupljen imunoglobulinski izotip, jer je u najvećoj koncentraciji vezan na ćelijskom receptoru. Povećan nivo IgE u organizmu je najčešće rezultat njegove sklonosti ka predominaciji Th2 odgovora na alergene. Proizvodnja i sekrecija IgE ovisi o Th2 i IL-4 koji uzrokuje gensko prekapčanje, a nagomilavanje Th2 ćelija nalazi se na mjestima odvijanja alergijske reakcije kao što su koža, sluznica disajnih puteva ili gastrointestinalni sistem. Postoje dvije regije IgE, Fab fragment na koju se veže antigen, te Fc regija, kojom se IgE veže za receptore na membrani efektorskih ćelija. Fc fragmentom se molekula usidri u membranu ćelija, a dijelom ulazi u unutrašnjost ćelija. Sam fragment se sastoji od tri domene Cε2, Cε3, Cε4. Efektorske ćelije imunog sistema na svojim membranama nose receptore za Fc fragmente Ig, a Fc receptor specifični za teški lanac ε nazivaju se FcεRI i nalaze se na mast ćelijama i bazofilnim leukocitima [122,125].



*Slika 5. Shematski prikaz građe molekule IgE imunoglobulina. VL: varijabilni dio lako lanca VH: varijabilni dio teškog lanca, CL: konstantni dio lako lanca, CH: Preuzeto i adaptirano iz: Abbas AK, Lichtman AH. Basic Immunology. Functions and Disorders of the Immune System. 3rd Ed Updated, Philadelphia, The United States of America, Saunder Elsevier 2011[122].*

Karakteristično je da se IgE antitijela za ove receptore vežu vrlo visokim afinitetom, te da se broj izraženih receptora na ovim ćelijama povećava s brojem cirkulirajućih IgE antitijela. IgE može modulirati ekspresiju svojih receptora na mast ćelijama i bazofilnim leukocitima mehanizmima koji povećavaju gustinu Fc $\epsilon$ RI. Sa povećanjem Fc $\epsilon$ RI ekspresije i visokom koncentracijom cirkulišućih IgE antitijela, potrebna je niska koncentracija alergena za stimulaciju mast ćelija i bazofilnih leukocita. Ovi receptori su pronađeni i na Langerhansovim ćelijama i makrofagima u koži. IgE se veže na receptore Fc $\epsilon$ R I i u odsustvu antiga, za razliku od ostalih imunoglobulina, koji se vežu na Fc receptor samo kada je vezan antigen na antitijelo. Sam receptor se sastoji od tri podjedinice, alfa lanca, beta lanca i gama podjedinice. Alfa lanac se sastoji od dvije domene koje su ujedno vezno mjesto za IgE i transmembranskog dijela. Beta lanac prolazi kroz membranu i vrši ulogu signalnog transduktora [125].

#### *1.4.4.2. Stvaranje antigen specifičnih IgE antitijela*

Imuni sistem, kao važna komponenta odbrane domaćina, stoji pred velikim i raznolikim svakodnevnim izazovom, koji čine strane čestice i mikroorganizmi. Osnovne karakteristike imunog odgovora su fleksibilnost i raznolikost, koje imaju svrhu efikasnog sprečavanja razvoja infekcije. Imunološki proces započinje prepoznavanjem i vezivanjem antiga za različite grupe antigenskih receptora koji su eksprimirani na površini T i B ćelija, a čijim naknadnim aktiviranjem započinje niz regulatornih i efektorskih procesa u imunološkom odgovoru. Imunoglobulin E ima centralnu ulogu u alergijskoj kaskadi s obzirom da utiče na degranulaciju mast ćelija i influks inflamatornih ćelija i medijatora alergijske inflamacije. IgE antitijela su biološki medijatori alergijskih reakcija preosjetljivosti u sklopu alergijske astme, rinitisa, urticarija, atopijskog dermatitisa, kao i većine alergijskih reakcija na hranu. Povećana koncentracija ukupnog i specifičnog IgE kod bolesnika s alergijskom preosjetljivošću posljedica je imunološke reakcije posredovane pomoćničkim 2 limfocitima (engl. *T helper limfocit*, Th2) [125,126].

Antigen specifična IgE antitijela stvaraju se kao odgovor na alergene koji inače, u normalnim okolnostima, ne indukuju preosjetljivost ili su prolaznog karaktera. Kao antigen prezentujuće ćelije u ovoj reakciji služe dendritske ćelije, u kojima se formira antigen-peptid-molekul glavnog histokompatibilnog kompleksa klase II (Ag-peptid-MHC). Zreli naivni B-limfociti susreću se s antigenom koji je obrađen i predstavljen od strane dendritskih ćelija u perifernim limfnim organima (limfni čvorovi, tonzile, slezena). Oni postaju aktivirani nakon interakcije s T-limfocitima

specifičnim za antigen. Nakon aktivacije na granici između folikula sa B-limfocitima i zona sa T-limfocitima, B-limfociti imaju dvije mogućnosti. Migriraju do folikula, proliferiraju i formiraju germinalne centre, ili migriraju u ekstrafolikularnu regiju, proliferiraju i diferenciraju u kratkotrajne plazma ćelije. B-limfociti u germinalnom središtu podliježu maturaciji u antitijela kroz procese somatske hipermutacije (SHM), "class switch" rekombinacije (CSR), klonalne ekspanzije i selekcije [125,126]. Upravo su ove reakcije neophodne za stvaranje ogromne raznolikosti imunoglobulinskih receptora, što obezbeđuje efikasan imuni odgovor. CSR je u genskom lokusu teškog lanca Ig konstantne regije neophodna za "class switch" s IgM, IgG ili IgA na IgE antitijela, rezultirajući u ekspresiji IgE od strane B ćelija. Zrela B ćelija mijenja svoj receptor kao odgovor na antigensku stimulaciju (što predstavlja reviziju receptora), pokrenuta produktima gena koji aktiviraju rekombinaciju (RAG1 i RAG2). Signali od strane T pomoćnih ćelija neophodni su za CSR na IgE + ćelije (interleukin 4 i IL-13, te vezivanje između CD40 na B ćelijama i CD40 liganda na T ćelijama) [127].

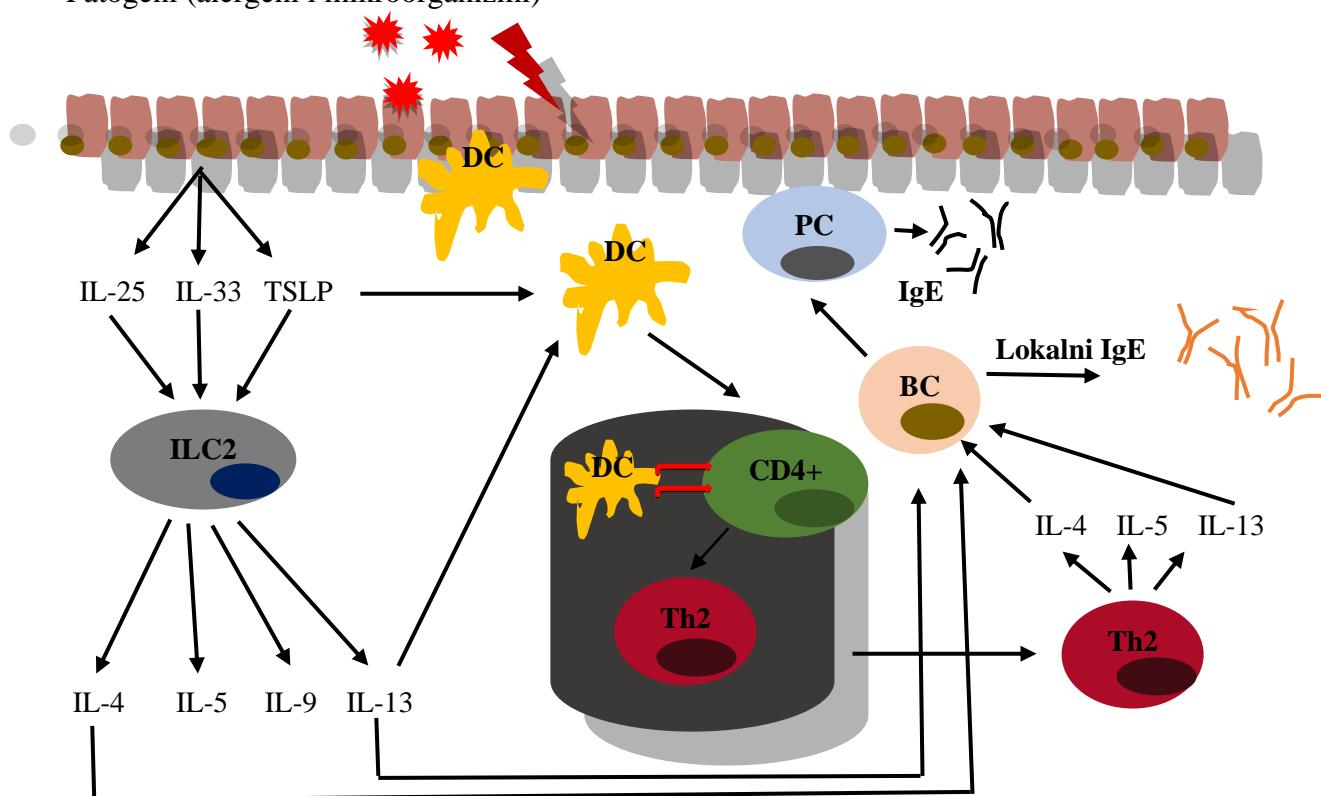
B-limfociti su potaknuti na stvaranje IgE od strane T-limfocita, kroz dva kritična signala: interleukin (IL) 4 ili IL-13 se veže na receptore B-limfocita, što uključuje put STAT 6 signalne transdukцијe i vezivanje CD40 B-limfocita na njihov T-limfocitni ligand (CD40 ligand). Kao rezultat ove aktivnosti, DNK B-limfocita se preuređuje i spaja favorizujući proizvodnju IgE antitijela. Ova antitijela se uglavnom stvaraju u tonsiloadenoidnom tkivu, sluznici respiratornog i gastrointestinalnog trakta [128]. Definitivno je prihvaćeno da se CSR odvija u limfnom tkivu, mada istraživanja ukazuju da se lokalna CSR odvija kod astme i alergijskog rinitisa [129].

U slučaju dokazane atopije kod pacijenata sa HRSsNP, lokalni IgE može biti rezultat uobičajene stimulacije aeroalergenima. Sa druge strane, lokalna hiperimunoglobulinemija E prisutna je i kod pacijenata bez atopije [130]. Dokazi o lokalnoj produkciji IgE proističu iz studija koje su potvrdile prisustvo ovog imunoglobulina u nazalnom sekretu, ali ne i u serumu pacijenata [47]. Lokalna, nazalna produkcija IgE ustanovljena je kod pacijenata sa simptomima alergijskog rinitisa i negativnim *skin prick* testovima. Ovi nalazi ukazali su na mogućnost da B-limfociti u nazalnoj mukozi mogu biti indukovani na stvaranje lokalnih IgE antitijela, koja se ne mogu detektovati u serumu, niti *skin prick* testom. U tom slučaju, govorimo o entopiji odnosno o lokalizovanoj alergiji. Hipotetički, *skin prick* test bio bi pozitivan ukoliko bi se testiranje izvodilo na sluznici donje nosne školjke [131].

Studije su ukazale na to da prisustvo IgE-pozitivnih mast ćelija, plazma ćelija, B ćelija, T-ćelija, u nazalnoj mukozi, te lokalna produkcija IL-4, IL-13, omogućavaju sintezu IgE kod

pacijenata sa alergijskim i nealergijskim rinitisom [132,133]. Rezultati studija ukazuju na to da je povišen lokalni IgE (Slika 6) rezultat drugačijeg inflamatornog obrasca. Kao jedan od mogućih izvora IL-4, IL-5 i IL-13, neovisan od T ćelija, jesu urođene limfoidne ćelije tipa 2 (engl. *innate lymphoid cells*, ILC) [134]. Dokazi upućuju na prisustvo imonoglobulina slobodnih lakih lanaca (engl. *free light chains*, FLC) koji služe kao alternative IgE u pokretanju inflamacije atopijskog i neatopijskog rinitisa preko aktivacije mast-ćelija. Dokazan je i link između Ig FLC i mast-ćelija u nastanku nazalne hiperreaktivnosti [135].

#### Patogeni (alergeni i mikroorganizmi)



**Slika 6.** Obrazac koji rezultira lokalnom IgE produkcijom kod HRSsNP. Dendritske ćelije procesuiraju aeroalergene ili druge patogene i prezentuju ih T ćelijama. Aktivirane Th2 ćelije oslobođaju medijatore, citokine (IL-4, IL-13) koji uz kostimulirajuće molekule dovode do somatske rekombinacije regionala teških lanaca imunoglobulina u B-ćelijama prije sazrijevanja u IgE produkujућe plazma ćelije. Alternativno ILC2 ćelije oslobođaju IL-4 i IL-13 koji stimulišu produkciju IgE. Preuzeto i adaptirano iz: De Schryver E, Devuyst L, Derycke L, Dullaers M et al. Local Immunoglobulin E in the Nasal Mucosa: Clinical Implications. Allergy Asthma Immunol Res. 2015;7(4):321-331[126].

#### 1.4.4.3. Specifični IgE na *Staphylococcus aureus* enterotoksin

Za pokretanje stečenog imunog odgovora, neophodno je formiranje veza između MHC molekule na ćelijama koje predstavljaju antigen (APC) i T-ćelijskog receptora (engl. *T-cell receptor* TCR) na T-limfocitima. Rezultat ove aktivnosti može biti aktiviranje T-ćelija, produkcija citokina, vezivanje sa B-ćelijama, stimulacija kloniranja, te povećanje broja antitijela. Superantigeni su proteinski egzotoksini koji dovode do antigen-nezavisne aktivacije T-limfocita. Oni se vežu za MHC klase II i TCR bez posredstva antiga, aktiviraju T-limfocite na nespecifičan način i zaobilaze obradu ćelija koje predstavlja antigen (APC). Aktivirane T-ćelije, produkuju citokine gotovo nekontrolisano, odnosno izazivaju poliklonalnu proliferaciju supsetova T i B limfocita. Različiti produkti virusa i bakterija mogli bi indukovati lokalni imuni odgovor, odnosno mogu imati karakteristike superantigena, ali u slučaju HRSsNP, ova svojstva se pripisuju enterotoksinima SA [136-138].

Uporedo sa razvojem teorije o lokalnoj produkciji IgE, razvija se i “hipoteza stafilokoknih superantigena“, koja svoje uporište nalazi u činjenici da enterotoksin koji produkuje bakterija SA može indukovati snažan imuni odgovor, aktivirajući nekoliko vrsta imunokompetentnih ćelija, prije svega poliklonalnu aktivaciju T limfocita [49].

*Staphylococcus aureus* (SA) je gram–pozitivna, aerobna ili fakultativno anaerobna bakterija iz roda *Staphylococcus*. Nosnice su glavni rezervoar SA, 20% ljudi je stalno kolonizovano, 60%, povremeno, dok 20% ljudi nema kolonizaciju ovom bakterijom. Ova bakterija je široko rasprostranjena u prirodi, te ima sposobnost tolerancije ekstremnih temperatura i pH vrijednosti. SA sintetizuje veliki broj toksina i enzima koji doprinose patogenosti [139].

Prva istraživanja vezana za enterotoksin SA kao superantigen sprovedena su ranih godina dvadesetog vijeka [137]. Enterotoksini koje produkuje SA, *Staphylococcus aureus* enterotoksin A (SEA), *Staphylococcus aureus* enterotoksin B (SEB) i toksin toksičnog šok sindroma-1 (TSST-1), imaju osobine superantigena. Njihova osobina je da mogu indukovati snažan imuni odgovor, aktivirati imunokompetentne ćelije, zaobilazeći uobičajene mehanizme aktivacije, bez vezivanja za antigen prezentujuće ćelije. Štaviše, izazivaju poliklonalnu aktivaciju T limfocita direktnim vezivanjem za receptore na T-ćelijama, što uslovjava aktiviranje tipa 2 imunog odgovora, sa produkcijom B-limfocita i sintezom IgE antitijela [136].

Studija Bachert i saradnika, sprovedena 2001. godine, prva je studija koja je ustanovila vezu između enterotoksina *Staphylococcus aureus*-a i patogeneze nosnosinusne polipoze.

Autori su ustanovili značajno prisustvo specifičnih IgE na enterotoksine A i B (SEA-IgE i SEB-IgE) u tkivu polipa. Takođe su ustanovili značajnu povezanost između SEA-IgE, SEB-IgE, Th2 inflamatornog profila i astme kao komorbiditeta [49]. Imunohistohemijske analize tkiva polipa kod pacijenata sa HRSsNP pokazale su prisustvo limfoidnih nakupina i struktura tipa folikula, što sugerise na lokalnu produkciju IgE. Ista studija je demonstrirala organizovano sekundarno limfno tkivo u tkivu polipa, kao i poliklonalnu hiperimunoglobulinemiju E, koja je bila u vezi sa prisustvom specifičnih IgE na enterotoksin *Staphylococcus aureus*-a (SA) [136]. Studija Zhang i saradnika dokazala je da je specifični IgE na enterotoksin *Staphylococcus aureus* prisutan u tkivu nosnosinusne polipoze, neovisno o vrijednostima ukupnog IgE, što bi, uz prisustvo plazma ćelija, sugerisalo mogućnost lokalne, poliklonalne i funkcionalne produkcije IgE [140].

#### 1.4.4.4. Efektorska uloga IgE

Nakon sinteze, IgE antitijela se dijelom vezuju za efektorske ćelije, dijelom odlaze u krvotok. Receptori na efektorskim ćelijama mogu biti receptori visokog (Fc $\epsilon$ RI), kao i receptori niskog afiniteta za IgE (Fc $\epsilon$ RII; CD23). Fc $\epsilon$ RI je smješten na membrani mast ćelija, bazofilnih i eozinofilnih leukocita, monocita, trombocita, Langerhans-ovim ćelijama i B-limfocitima. Receptori niskog afiniteta pripadaju lektinima C-tipa i konstitutivno se vezuju na B-limfocitima, monocitima, dendritskim ćelijama, te se pod uticajem IL-4 može vezati i za makrofage i eozinofilne leukocite. Ovi receptori imaju ulogu u modulaciji i diferencijaciji B limfocita, aktivaciji monocita, a kod pacijenata sa atopijom pojačana je njihova ekspresija na membrani B limfocita [141]. IgE svojim se Fc krajem veže za  $\alpha$  podjedinicu Fc $\epsilon$ RI. Dvije domene od kojih se sastoji  $\alpha$  lanac čine vezno mjesto za IgE. Ulogu signalnog prijenosnika ima  $\beta$  lanac, koji je zavijen i prolazi kroz membranu. Vezivanje IgE na receptor dovodi do intraćelijske signalizacije aktivnošću kinaza vezanih uz  $\beta$  i  $\gamma$  podjedinice Fc $\epsilon$ RI, čime dolazi do aktivacije bazofila i mastocita, te njihove degranulacije [142,143].

Degranulacija obuhvata egzocitozu preformisanih granula, što u alergijskim reakcijama odgovara akutnoj anafilaktičkoj reakciji. Ova reakcija se odigrava unutar nekoliko minuta (najkasnije 15-20 minuta) od susreta sa antigenom. U preformisanim granulama nalaze se histamin, heparin, hondroitin, neutralne proteaze, kisele hidrolaze, karboksipeptidaze, hemotaktički faktor eozinofilnih leukocita A (ECF-A), kao i određeni citokini (IL-4, IL-5, IL-6, IL-13), faktor tumorske nekroze  $\alpha$  (TNF-  $\alpha$ ) i faktor transformacije rasta  $\beta$  (TGF- $\beta$ ). Istovremeno sa ovim ranim odgovorom, aktivacija receptora sintetiše nove sekundarne medijatore ili eikozanoide, odnosno

dolazi do aktiviranja fosfolipaze A2 i procesa metabolizma arahidonske kiseline. U sklopu ovog procesa, dolazi do stvaranja trombocit-aktivirajućeg faktora (PAF), a preko ciklooksigenaze i lipooksigenaze nastaju prostaglandin D2 (PGD2) i cisteinil-leukotrijeni (LTC4, LTD4, LTE4). Efekti ovih medijatora ispoljavaju se 4-6 sati nakon susreta sa antigenom. U sklopu trećeg puta signalne transdukcije, dolazi do formiranja citokina [144].

Histamin je medijator rane faze alergijskih reakcija i ispoljava svoje dejstvo direktnim i indirektnim putem. Vezujući se za H-receptore na krvnim sudovima, dovodi do povećanog permeabiliteta, eksudacije plazme, vazodilatacije, edema i opstrukcije disajnih puteva. Indirektnim dejstvom se ostvaruje neurogena inflamacija jer histamin stimuliše H-receptore nociceptivnih nerava tipa C i oslobađanje neuropeptida (supstanca P, kalcitonin G vezujući peptid, neurokinin A i dr.). Rekrutman inflamatornih ćelija je osnov kasne faze alergijske reakcije, a uslovjen je hemotaktičnim medijatorima i citokinima oslobođenim u sklopu rane faze. Usljed aktivacije adhezivnih molekula endotelijalnih ćelija dolazi do uspostavljanja čvrste veze između endotela i leukocita privučenih hemotaksijom na mjesto inflamacije. Upalni infiltrat čine eozinofilni, bazofilni i u manjoj mjeri neutrofilni granulociti. Nakon transcendotelijalne migracije, upalne ćelije bivaju aktivirane, te oslobađaju biološki aktivne supstance (bazne proteine, leukotrijene, citokine i histamin). Sve biološki aktivne supstance na mjestu inflamacije održavaju i potenciraju inflamaciju, te djeluju citotoksično [145].

#### 1.4.4.5. Eozinofilni granulociti

Eozinofilni granulociti ili eozinofili (Eo) čine 2-5% ukupnih leukocita. Nastaju u koštanoj srži, gdje ostvaruju kompletan razvoj. Razvijaju se, odnosno proliferiraju i maturiraju iz mijeloidne kolonije, pod djelovanjem interleukina-3 i faktora stimulacije granulocitno/makrofagnih kolonija (engl. *granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*, GM-CSF), glikoproteina sekretovanog od brojnih ćelija. Pod dejstvom IL-5 stvaraju se svi razvojni i zreli oblici eozinofila [146]. Iz koštane srži, zreli Eo odlaze u krv, te prelaze u ciljna tkiva, gdje ostvaruju svoje dejstvo i gdje im je zastupljenost sto puta veća nego u krvi. U brojnim oboljenjima, prije svega alergijskim, kinetika i rasподjela Eo je izmijenjena, te ih odlikuje eozinofilna infiltracija. Inflamacija unutar alergijskih oboljenja obilježena je Eo, kao efektorskim ćelijama alergijske inflamacije [147].

U citoplazmi zrelih Eo su eozinofilne granule u kojima se nalazi: eotaksin (engl. *eotaxin*), eozinofilni katijonski protein (engl. *eosinophil cationic protein-ECP* ), glavni bazični protein (engl.

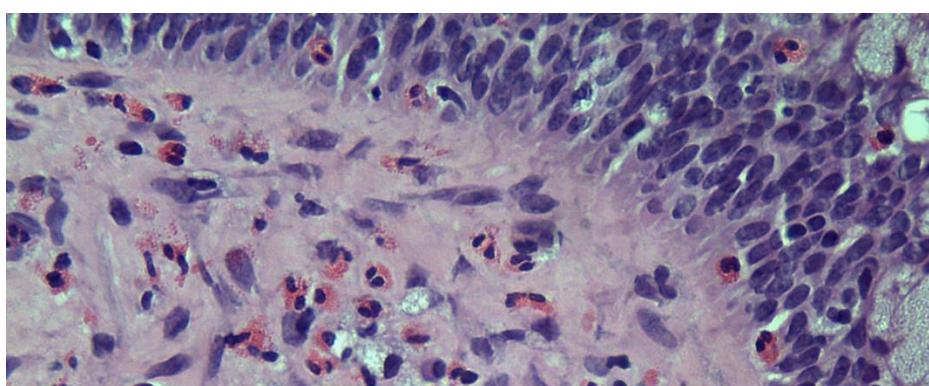
*mayor basic protein* - MBP), eozinofilna peroksidaza (engl. *eosinophil peroxidase* - EPO), eozinofilni neurotoksin (engl. *eosinophil-derived neurotoxin* - EDN), lizozomske hidrolaze (engl. *lysosomal hydrolases*), lizofosfolipaza (engl. *lysophospholipase-Charcot-Leyden crystals* - CLC). Od nabrojanih katjonskih proteina, ECP, EPO, EDN su markeri eozinofilne aktivnosti, upravo otkriveni u alergijskim oboljenjima. Eo sintetišu i brojne enzime i neuropeptide: fosfolipazu A2, kiselu fosfatazu, arilsulfatazu, katalazu, peroksidazu, citohrom b558, lizozim i supstancu P. U granulama se nalaze i rezervoari arahidonske kiseline, iz koje se sintetišu eikozanoidi i faktor aktivacije trombocita (engl. *platelet activating factor* - PAF). Na Eo se nalaze i brojni receptori za imunoglobuline, citokine, lipidne medijatore, histamin, komponente komplementa, hemokine, citokine. Eo luče brojne citokine, IL-3, IL-5 i GM-CSF, koji imaju ulogu u funkcionsanju i preživljavanju Eo, hemokine tipa RANTES (*regulated on activation, normal T-cell expressed and secreted*), TNF $\alpha$ , TGF- $\beta$ 1, IL-1 $\alpha$ , IL-6, IL-8, IL-2, IL-4, IL-10. Eozinofili ispoljavaju brojne proinflamatorne imunomodulirajuće efekte, što dolazi do izražaja u hroničnim fazama zapaljenja. Migracija Eo iz periferne krvi u ciljna tkiva počinje adhezijom za endotel venula, nakon čega slijedi hemotaksa i adhezija za ekstracelularni matriks i epitel. Ovaj proces se odvija pod uticajem citokina (IL-3, IL-5 i GM-CSF) porijeklom iz Th ćelija ili CD4+ ćelija, kao i samih eozinofila. U ovom procesu učestvuju i drugi inflamatorni citokini, kao što su TNF $\alpha$ , interferon gama (engl. *interferon gamma* - IFN $\gamma$ ), IL-1, IL4. Dalje, pod uticajem hemotaktičkih faktora, citokina (IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-8, IL-13), hemokina i hemoatraktanata, nastavljaju infiltraciju ciljnih tkiva, adheziju za ekstracelularni matriks, te aktivirane epitelne ćelije. Aktivatori Eo su brojni citokini i medijatori inflamacije (IL-1, IL-3, IL-5, IL-14, GM-CSF, TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ , PAF). Citokini IL-3, IL-5, IL-6 i GM-CSF, stimulišu rast i sazrijevanje eozinofila, kao i povećanje njihove aktivnosti. Navedeni citokini produžavaju život eozinofila, odlažući programiranu ćelijsku smrt. Osim toga, podstiču proizvodnju superoksida, te intenziviraju sposobnost fagocitoze [147,148].

U ciljnim tkivima, eozinofili oslobođaju brojne medijatore, ali vrše i antigensku prezentaciju. Katjonski proteini oslobođeni u sluznici respiratornog trakta stimulišu efektorske ćelije, oštećuju strukturne ćelije, izazivaju bronhijalnu hiperreaktivnost, te aktiviraju druge ćelije inflamacije. Citotoksični proteini dovode do deskvamacije epitela, eozinofilni neurotoksin uzrokuje neaktivnost nerava i sekreciju žlijezda, eozinofilna peroksidaza uzrokuje oštećenje ćelija, a glavni bazni protein uzrokuje nekrozu ćelija. Eo sintetišu neuropeptide koji izazivaju povećanu propustljivost krvnih sudova, hemotaksu Eo i bronhokonstrikciju. Eo sadrže arahidonsku kiselinu i enzime za njenu oksidaciju (fosfolipaza A2), pod čijim uticajem nastaju lipidni medijatori prostaglandini, leukotrieni

i PAF. Navedeni medijatori u alergijskoj inflamaciji sluznice nosa doprinose povećanoj endotelnoj permeabilnosti, sekreciji mukusa i aktivaciji senzitivnih vlakana, a osim toga imaju proinflamatorno dejstvo (hemotaksa i aktivacija Eo i drugih ćelija inflamacije). Poslije odgovarajuće stimulacije, Eo na svojoj površini eksprimiraju MHC klase II i učestvuju u prezentaciji antiga [147-149].

Osnovnu patoanatomsku karakteristiku nosnosinusne polipoze čini hronično zapaljenje u kojem dominiraju eozinofilni granulociti i limfociti. U najvećem broju slučajeva, patohistološka slika odgovara stromi infiltriranoj eozinofilima, dok kod manjeg broja slučajeva dominiraju neutrofili i limfociti. Eozinofilna inflamacija predstavlja kardinalnu karakteristiku HRSsNP. Kako nastaje mukozalni tip inflamacije kod HRSsNP još uvijek nije poznato. Inicijalni trigeri mukozalne eozinofilne inflamacije, koji je u osnovi HRSsNP, još uvijek su nedovoljno istraženi [11].

Ključ razumijevanja patofiziologije NP je regulacija rekrutmana, aktivacije i preživljavanja eozinofila, kao i njihov efekat na formiranje polipoznih formacija. Eo i njihovi medijatori izazivaju brojne patološke i patofiziološke poremećaje karakteristične za nosnosinusnu polipozu. Eo u tkivu nosnosinusne polipoze produkuju upalne proinflamatorne medijatore, koji ne samo da dovode do oštećenje tkiva, već regulišu i Eo aktivnost i preživljavanje (Slika 7). Vjerovatno je ovaj upalni infiltrat samoodržavajući, odnosno nakon okidanja početne inflamacije, postojanje inicijalnog provocirajućeg faktora više nije nephodno za tok oboljenja. Evropske i američke studije ukazuju na to da u većini slučajeva nosnosinusne polipoze, patohistološke karakteristike odgovaraju eozinofilnoj infiltraciji [150].



*Slika 7. Hronični rinosinuzitis s nosnosinusnom polipozom. U stromi se nalazi gust leukocitni infiltrat, prevaga eozinofilnih granulocita u stromi i u epitelu (3+), HE x 400.*

Ranija istraživanja ukazuju na to da su sistemska i lokalna eozinofilija kod pacijenata sa HRS indikatori težih oblika oboljenja. Ovome u prilog ide činjenica da su u tkivu polipa kod pacijenata

sa HRSsNP češće identifikovani inflamatorni markeri ( IL-5, ECP, eotaxin) zaduženi za hemotaksiju, aktivaciju, diferencijaciju i preživljavanje eozinofila, u odnosu na zdrave pacijente i pacijente sa HRSbNP [87,151]. Nosnosinusna polipoza sa eozinofilnom predominacijom povezana je sa težim formama oboljenja, kao i sa povećanim rizikom recidiva i hirurških revizija [152]. Eozinofilna infiltracija naročito je ispoljena kod pacijenata sa AERD. Smatra se da je tkivna eozinofilija u ovom slučaju uzrokovana povećanjem koncentracije inflamatornih medijatora i hemokina, posebno IL-5 i eotaksina. Eozinofilna inflamacija sa povišenim vrijednostima IgE nađena u tkivu pacijenata sa HRSsNP sugerije prisustvo atopije, iako atopija nema uticaj na inflamatorne promjene kod HRSsNP. Specifični IgE na bakterijski superantigen može biti povišen kod pacijenata sa HRSsNP i posredovati eozinofilnu inflamaciju [8,140,153].

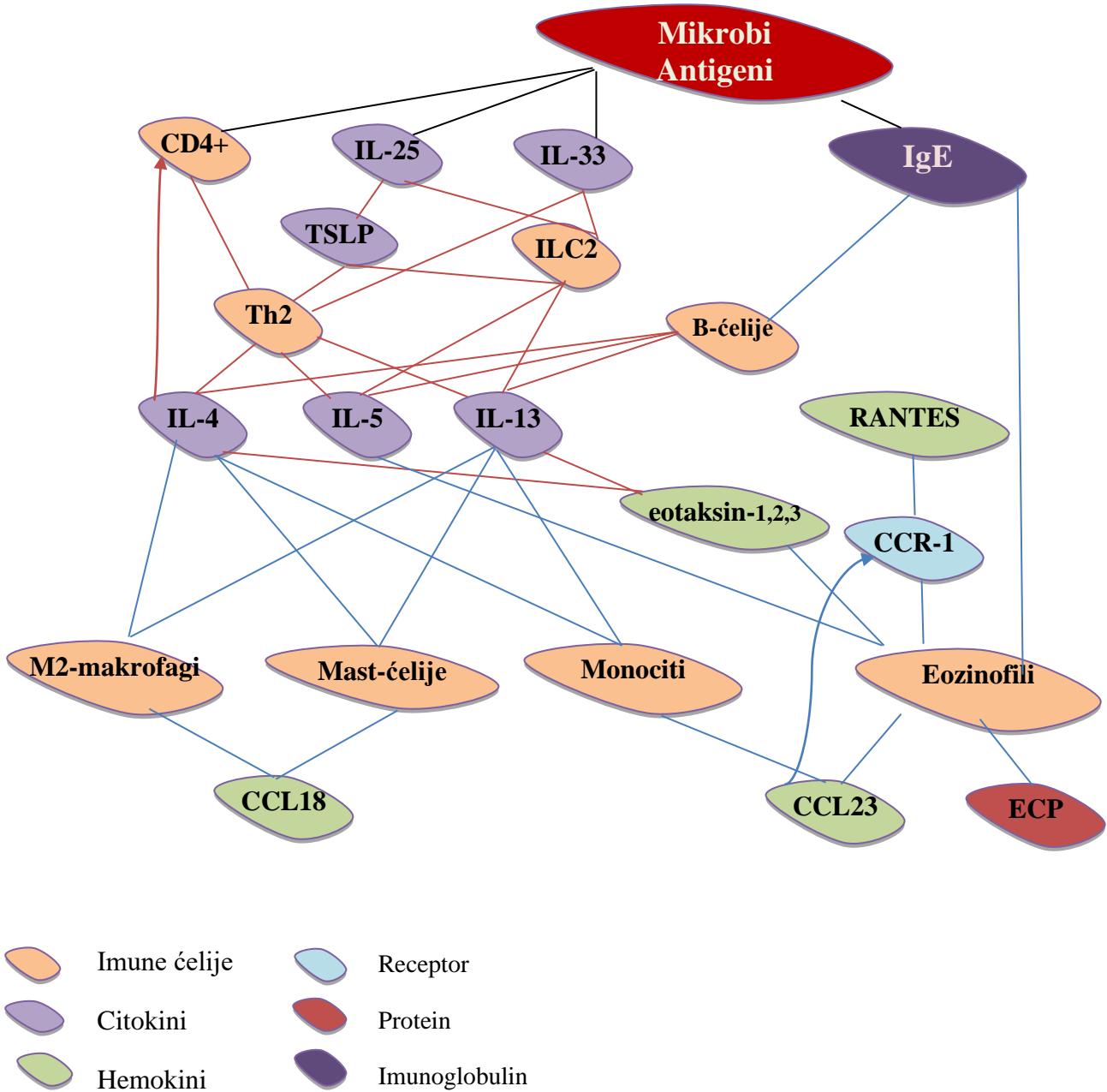
Za određivanje nivoa tkivne eozinofilije koristi se optimalni prag, koji je prema *Kountakis* i saradnicima više od 5 eozinofila u vidnom polju, a prema *Soler* i saradnicima više od 10 eozinofila u vidnom polju [154]. Marker tkivne eozinofilije i aktivacije eozinofila je ECP, čija je koncentracija značajno viša u nazalnom sekretu nego u serumu. Novija istraživanja su pokazala da je nivo ECP u nazalnom sekretu viši kod bolesnika sa polipozom nosa i pridruženom astmom ili intolerancijom aspirina, u poređenju sa bolesnicima bez astme i intolerancije aspirina [155].

## **1.5. Uloga domaćina - imunopatologija hroničnog rinosinuzitisa sa nosnosinusnom polipozom**

Upalni mehanizmi hroničnog rinosinuzitisa (HRS) su molekularni obrasci koji dovode do razvoja inflamatornih promjena na sluznici paranazalnih sinusa i procesa remodelovanja i predstavljaju patofiziološku osnovu ovog oboljenja. U osnovi ovih mehanizama su složeni, kontinuirani, dinamički interaktivni inflamatorični procesi, koji rezultiraju promjenjivim obrascem tkivne inflamacije ili varijabilnim imunološkim markerima, a koji tek približno koreliraju sa kliničkim fenotipom. Velika je vjerovatnoća da faktori domaćina ili individualna imunopatogenetska predisponiranost imaju ključnu ulogu u nastanku hronične inflamacije na nivou nosnih i paranazalnih šupljina. Ta predisponiranost se odnosi na potencijalnu heterogenost imunopatogenetskih signala, koji mogu uključivati genetske mutacije, tip 1 ili druge antigen-specifične preosjetljivosti, disregulacije na molekularnom nivou, nivou citokina i eikozanoida. Da bi pretpostavljeni epigenetski mehanizmi doprinijeli razvoju hronične inflamacije, neophodna je genetska predisponiranost T ćelijskih receptora, trajna proizvodnja superantigena od strane ekstra i intracelularnih mikroba, kao i trajna ekspozicija respiratorne sluznice [8].

Jednostavna podjela na Th1 i Th2 oboljenje ne uključuje razlike unutar HRS pacijenata, niti klinički fenotipi određuju imunološki profil. Iz istog razloga postoji potreba za identifikacijom inflamatornih endotipa koji bi definisali subtipove oboljenja sa uniformnim patofiziološkim, funkcionalnim i patološkim razlikama [156].

Zbog svega navedenog, javila se potreba za izdvajanjem specifičnih klastera baziranih na imunim markerima ili određenim kliničkim parametrima, koji bi imali i svoje terapijske implikacije. Na osnovu rezultata evropske multicentrične studije, pacijenti sa HRS su na osnovu predominantnog inflamatornog profila podijeljeni na deset klastera. Četiri klastera su obuhvatila pacijente sa niskim IL-5, ECP, IgE, te su predominantno bili pacijenti sa HRSbNP i malom incidentom astme kao komorbiditeta. Klaster sa umjerenom koncentracijom IL-5 sačinjavali su pacijenti sa HRSbNP i pacijenti sa HRSSNP i značajnom pojavom astme. Klaster sa visokom koncentracijom IL-5 odgovarao je pacijentima sa HRSSNP i visokom prevalencom astme kao komorbiditeta. Dva klastera sa visokim koncentracijama IgE i značajnom prevalencom astme imala su i značajne koncentracije specifičnih IgE na enterotoksine *Staphylococcus aureus*-a. Rezultati ove studije ukazali su na različitost inflamatornih mehanizama uključenih u nastanak različitih fenotipa HRS. Odnosno, ova studija je dokazala da HRS ne predstavlja homogeno inflamatorno oboljenje, te da prisutni endotipi prezentuju širok raspon inflamatornih profila. Zapravo, inflamacija unutar HRS je multidimenzionalno heterogena sa Th1, Th2, Th17, Th22 proinflamatornim odgovorom, posredovana eozinofilno/neutrofilnom inflamacijom i superantigenima [157]. Patofiziološki mehanizmi i imunološki markeri mogu biti podloga za klaster klasifikacije ili formulisanje endotipova koji primarno nisu evidentni na osnovu sagledavanja fenotipskih odlika. Endotipovi su definisani biomarkerom ili biomarkerima koji mogu doprinijeti tačnijoj dijagnozi, optimalnoj terapijskoj strategiji, te determinisati prognostičke faktore [158].



**Slika 8.** Imunopatogenetski mehanizmi uključeni u HRSsNP okarakterisani Th2-imunim fenotipom. Mikroorganizmi i antigeni aktiviraju epitel koji sekretuje IL-25, IL-33, i TSLP, a koji potiču Th2 i ILC2 odgovor. Th2 generiše imuni odgovor i sekreciju IL-4 i IL-13 koji će stimulisati B-ćelije na lokalnu produkciju IgE. Isti inflamatorni profil produkuje IL-5 koji uslovjava eozinofiliju. Hemokini održavaju i potiču dalju eoziofilnu infiltraciju. Makrofagi aktivirani Th2 citokinima, doprinose daljem inflamatornom odgovoru. Preuzeto i adaptirano iz: Koennecke M, Klimek L, Mullol J, Gevaert P, Wollenberg B. Subtyping of polyposis nasi: phenotypes, endotypes and comorbidities. Allergo Journal International 2018, 27(2):56-65[159].

Bez obzira na patofiziološke mehanizme koji su u osnovi oboljenja, HRS sa i bez nosnosinusne polipoze predstavljaju kliničke entitete zasnovane na različitim procesima remodelovanja, te različitom citokinskom i ćelijskom profilu. HRSbNP vjerovatno predstavlja rezultat nepotpunog oporavka sluznice nakon akutnog bakterijskog rinosinuzitisa, sa inflamatornim profilom koji karakterišu neutrofili i visoke koncentracije proinflamatornih citokina IL-1, IL-6, IFN $\gamma$ , i TNF $\alpha$ . Ovaj fenotipski podtip u podlozi ima i fibrozne remodelirajuće procese potaknute Th1 citokinskim profilom. HRSsNP se može okarakterisati Th2 upalnim infiltratom, lokalnom imunoglobulin E produkcijom i infiltracijom eozinofila, kojom orkestriraju IL-5 i eotaxin. Za razliku od navedenog inflamatornog profila, za pacijente sa nosnosinusnom polipozom iz jugoistočne Azije karakteristična je prevaga neutrofila, povišene vrijednosti Th1/Th17 i mijeloperoksidaza. U savremenoj literaturi još uvijek ne postoji jasna usaglašenost o faktorima koji uslovjavaju dominaciju Th2 imunog odgovora u tkivu polipa kod pacijenata sa HRSsNP. Th1, Th2 ili Th3 imuni odgovor je orkestriran ILC i Th subsetovima limfocita koji luče brojne citokine. U *in vivo* uslovima, imuni odgovor je složene prirode, uglavnom mješovito zastupljen. Tako je i u slučaju HRS, gdje mukozalna barijera oštećena spoljašnjim agensima potiče Th1, Th2 i Th3 imuni odgovor, koji je, za razliku od fiziološkog odgovora, hroničnog karaktera, poliklonalan i usmjeren protiv niza slabo definisanih ciljeva. Tkivna inflamacija koja rezultira iz ovih interakcija je mješovitog obrasca i intenziteta, potencijalno uključuje više endotipova i pokazuje varijabilnost u kliničkoj prezentaciji, komorbiditetima, toku i ishodu oboljenja [8,159].

### **1.5.1. Hipoteza poremećene imunološke barijere**

Epitelna barijera kao dio urođenog imunog odgovora ima ulogu zaštite od različitih faktora spoljašnje okoline. "Hipoteza imunološke barijere" u etiopatogenezi odnosi se na prepostavke da mnoga potencijalna oštećenja u mehaničkim (epitelijalnim) i imunološkim (urođenim i stečenim) barijerama rezultiraju u povećanoj kolonizaciji mikroorganizama, te na taj način doprinose nastanku HRS [160]. Poremećaj epithelnog urođenog imunog odgovora kompromituje odbranu domaćina i smanjuje toleranciju na uobičajene mikrobne antigene, te tako uslovjava sklonost infekciji ili kolonizaciji patogenim mikroorganizmima zapaženoj kod pacijenata sa HRS [161]. Oštećena barijera doprinosi generisanju do tada samoograničavajućeg imunog odgovora što za rezultat ima usmjeravanje ćelijskog i citokinskog imunog miljea u pravcu Th1 ili Th2 odgovora. Navedeni generisani imuni odgovor ne teži oporavku već, naprotiv, održava se kroz kompleksnu mrežu

inflamatornog miljea. Unutar hronične inflamacije respiratornog sistema, postoji značajna aktivacija epitelnih ćelija koje imaju ulogu posredovanja i regulacije urođenog i stečenog imunog odgovora [162].

Sinonazalne epitelne ćelije eksprimiraju različite receptore na svojoj površini koji prepoznaju molekularne obrasce mikroorganizama. Patogenetski mehanizmi unutar HRS vjerovatno uključuju disfunkciju receptora. Ostala oštećenja koja mogu povećati osjetljivost na patogene uključuju smanjen nivo antimikrobnih proteina porijeklom od sinonazalnog epitela, kao što je porodica proteina S100, S100A7 (psorijasin) i S100A8 / A9 (kalprotektin) [163]. Značajnu ulogu u odbrani domaćina ima STAT3, jer kao signalni transduktor i aktivator transkripcije predstavlja transkripcionali medijator za porodicu IL-6 citokina. Oštećenja na ovom nivou mogu dovesti do opsežnog imunog odgovora [164].

U tkivu polipa je povišena koncentracija aktivirajućeg faktora B-ćelija, koji je bitan za preživljavanje i proliferaciju B-ćelija i produkciju antitijela. Pretjerana produkcija ovog faktora dovodi do proliferacije B-ćelija, skretanja prema Th2 imunološkom profilu, kao i produkciji antitijela koja potenciraju oštećenja tkiva [165]. Hipoteza imunološke barijere obuhvata i poremećaj metabolizma arahidonske kiseline, koji se sreće kod pacijenata sa aspirinskom senzitivnošću. Inflamacija ovog fenotipa uključuje visoke koncentracije leukotriena, produkata ciklooksigenaze i 5-lipooksigenaze, kao i povećanu ekspresiju cisteinil-leukotriena i njihovih receptora [166].

Makrofagi kao dio uređenog imunog odgovora na nivou sluznice mogu biti klasifikovani kao proinflamatori i kao imunosupresivni. Proinflamatori makrofagi podržavaju Th1 odgovor, preveniraju patogenu rezistenciju, produkujući proinflamatorne citokine (IL-1-beta, IL-12, IL-23, nitik oksid i TNF). Imunosupresivni makrofagi redukuju fagocitozu i podržavaju intraćelijsko preživljavanje bakterija i virusa. Aktivirani imunosupresivni makrofagi mogu usloviti hroničnu inflamaciju u nosnosinusnoj polipozi, što potencijalno objašnjava visoku stopu kolonizacije sa SA kod pacijenata sa HRSsNP, u poređenju sa kontrolnom skupinom, te ukazuje na moguće oštećenje epitelnog odbrambenog odgovora [167,168]. Krysko i saradnici su uz pomoć protočne citometrije i imunohistohemijske analize uočili poremećenu fagocitnu funkciju makrofaga u nosnim polipima, što doprinosi intracelularnom preživljavanju SA [169].

P-glikoprotein je komponenta inkorporirana u sluznicu sa aktivnom funkcijom sekrecije epitelijalnih citokina, a čija je regulacija poremećena u HRSsNP. Poznato je da je ovaj glikoprotein prekomjerno eksprimiran u HRSsNP, a dokazano je da je njegova ekskrecija povezana sa eozinofilijom i težim radiografskim karakteristikama kod pacijenata sa HRSbNP. Antagonist p-

glikoproteina je verapamil, a preliminarni rezultati pokazuju da je terapija ovim agensom sigurna i efikasna za tretman HRSsNP u poređenju sa kortikosteroidima i biološkim agensima [170,171].

Još uvijek je nejasno da li faktori uključeni u poremećaje na nivou epitela posreduju inicijalnu transmembransku penetraciju. Ono što je u osnovi najvjerojatnije jeste da poremećaji na nivou epitelne barijere mogu promovisati jaču antigensku stimulaciju, viši stepen inflamacije, koji vodi dodatnim oštećenjima epitela i hroničnom toku inflamacije [8].

### 1.5.2. Urođene imune ćelije

Urođeni imuni odgovor veoma je važan tokom rane faze infekcije i borbe sa mikroorganizmima. Urođene imune ćelije (engl. *Innate lymphoid cells* - ILC) predstavljaju populaciju nedavno opisanih ćelija urođene imunosti, koje imaju značajnu ulogu u inflamaciji i remodovanju. Ove ćelije se aktiviraju od strane urođenog imunog odgovora signalnim mehanizmima od strane patogena i citokina urođenog imunog odgovora [172]. U zavisnosti od produkcije citokina, ove ćelije se mogu podijeliti u tri glavne subpopulacije. Grupa ILC2 predstavlja urođene ekvivalente Th2 ćelija. Ova grupa uključuje ćelije koje sekretuju IL-5 i IL-13 u odgovoru na prisutne IL-25, IL-33 i TSLP, što ukazuje na njihov značaj u urođenom imunom odgovoru na helminte i alergene [173]. Značaj otkrića subpopulacije ILC2 leži u činjenici da se alergijska inflamacija respiratornog trakta može odvijati i bez stimulisanja stečenog imunog odgovora [174].

Skorija istraživanja potenciraju ulogu urođenih limfocita (*Innate lymphoid cells*, ILCs) subsetova limfocita koji su uključeni u poremećaj funkcije antigen specifičnih receptora, te doprinose sekreciji brojnih citokina. Nakupljanje i aktivacija ovih ćelija utvrđeni su kod pacijenata sa nosnosinusnom polipozom [175,176]. Ove ćelije, osim Th2 ćelija, učestvuju u indukciji i generisanju tipa 2 inflamatornog odgovora, povezujući obrasce urođenog i stečenog imuniteta, što rezultira oslobođanjem citokina IL-4, IL-5 i IL-13 [35].

### 1.5.3. Hemokini

Rekrutman Eo u tkivo polipa podjednako je važan događaj u tkivnoj eozinofiliji kod nosnosinusne polipoze, kao i aktivacija i preživljavanje Eo. Brojni hemokini, tipa eotaxin-1/-2/-3, CC motif chemokine ligand 5 (CCL5 ili RANTES - *regulated on activation, normal T-cell*

*expressed and secreted), CXC motif chemokine ligand 8 (CXCL8 or IL-8), CCL23, CCL18, CXCL12 (stromal cell-derived factor 1  $\alpha$ , SDF-1  $\alpha$ ), i CXCL13 (B cell-attracting chemokine 1, BCA-1), uključeni su u rekrutman inflamatornih ćelija u tkivo polipa kod HRSsNP. Svoju funkciju ispoljavaju preko CCR3 receptora ispoljenog na površini Eo. RANTES je prvi hemokin koji se sekretuje od strane nazalnih epitelnih ćelija i učestvuje u privlačenju Eo i T-ćelija, a koji je identifikovan kao faktor poremećene regulacije u nosnosinusnoj polipozi [177]. Dokazi da RANTES ima značajnu ulogu u mobilizaciji eozinofila u tkivo polipa potkrijepljeni su rezultatima studija koje su pokazale značajnu povezanost između eozinofilije i ekspresije RANTES [178]. S druge strane, istraživanje Beck i saradnika ne ide u prilog značajne ekspresije RANTES u tkivu polipa [177].*

Opisana je uloga i drugih hemokina tipa CXCL8 i CCL23 unutar nazalne sluznice, a čija je uloga kod HRSsNP, hemotaksa i aktivacija migracije eozinofila, čime doprinose hroničnoj inflamaciji u tkivu polipa. Otkriveno je da se ovi hemokini u značajnoj mjeri nalaze u tkivu polipa, što ukazuje na poremećaj u regulaciji njihove ekspresije i aktivacije pod uticajem Th2 imunog odgovora [179,180]. Prema rezultatima studija koje su istraživale ulogu eotaksina, eotaxin-1, -2 i -3, utvrđena je značajna korelacija između ovih hemokina i nosnosinusne polipoze, što implicira njihovu ključnu ulogu hemotaksičnih faktora [181,182].

#### **1.5.4. Citokini**

Citokini predstavljaju glikoproteine niske molekularne težine, čija je osnovna uloga regulacija diferencijacije, rasta i funkcije ćelija uključenih u inflamatorni odgovor. Alergijska oboljenja su, u osnovi, poremećaj u ravnoteži određenih klasa citokina. Isti citokin može ostvarivati različite efektorske funkcije, djelujući na istu ćeliju. Imunomodulatorna funkcija citokina ostvaruje se putem inhibicije ili aktivacije sinteze drugog citokina. Oni ostvaruju svoje biološke funkcije preko receptora visokog afiniteta. Citokini koji regulišu rast, diferencijaciju i funkciju limfocita tokom specifičnog imunog odgovora su IL-2, IL-4, TGF- $\beta$ , dok su citokini uključeni u efektorskoj fazi specifičnog imunog odgovora INF- $\gamma$ , TNF- $\beta$ , IL-5, IL-10, IL-12 [183].

Citokinski profil HRS je predmet savremenih istraživanja, s obzirom na potencijalnu mogućnost otkrivanja specifičnih biomarkera za fenotipizaciju HRS. Klasična patofiziološka podjela HRS na HRSsNP i HRSbNP podržana je karakterističnim citokinskim miljeom. HRSbNP je određen Th1 ili Th17 fenotipom s izraženom neutrofilijom, ekspresijom TGF- $\beta$ , interferonima tipa

I, i IL-6, IL-8 ili IL-17. Ovo je u suprotnosti s odlikama HRSsNP, kojeg karakteriše poremećaj u regulaciji Th2 imunog odgovora sa povećanom produkcijom IL-4, IL-5, IL-13, lokalnog IgE (neovisno o atopijskom statusu pacijenta), te izražena eozinofilija u tkivu polipa [85,183].

Diferencijacija nezrelih ćelija u pravcu Th1 ili Th2 imunog profila će zavisiti od vrste citokina koji djeluju na nezrele ćelije u aferentnoj fazi imunog odgovora, od vrste doze i oblika antiga, od ćelija koje prezentuju antigen, od kostimulatornih signala i molekula. Th2 milje s povećanom ekspresijom limfopoetina timusne strome (TSLP) i inflamatorne ćelije tipa 2, kao što su ILC2, koje proizvode IL-4, IL-5, IL-13, IL-25 i/ili IL-33. ILC2 ćelije imaju ulogu u aktivaciji T i B stanica i aktiviranju epitelnih ćelija. Signali koji potiču od epitelnih ćelija aktiviraju ILC2 i T ćelije, što rezultira oslobođanjem citokina obrasca inflamacije tipa 2, a koji imaju značajan uticaj na patofiziološke determinante HRSsNP. Ove determinante se odnose na: integritet epitelne barijere, hiperplaziju mukoznih žlezda i produkciju mukusa, funkciju magrofaga u fagocitozi, mogućnost oslobođanja interferona, produkciju Th ćelija sa povećanom produkcijom IgE, aktivaciju komponenti komplementa, rekrutman i aktivaciju mast ćelija i eozinofila, procese remodelovanja i depoziciju fibrina. Osnovna karakteristika HRSsNP je poremećaj u regulaciji Th2 imunog odgovora sa povećanom produkcijom IL-4, IL-5, IL-13, lokalnog IgE (neovisno o atopijskom statusu pacijenta), te izražena eozinofilija u tkivu polipa. Citokini Th2 fenotipa, IL-4, IL-5 i IL-13 kontrolišu tok eozinofilne inflamacije u HRSsNP [184].

Jedan od vodećih medijatora u patofiziologiji HRSsNP je IL-5, koji ne igra samo značajnu ulogu u diferencijaciji i proliferaciji Eo prekursora u koštanoj srži, već ima i glavnu ulogu u aktivaciji, hemotaksi, te migraciji Eo iz periferne cirkulacije u tkiva. IL-5 je sintetisan od strane Th2 limfocita i mast-ćelija, ali takođe i od strane samih eozinofila, što ukazuje na značaj ovog citokina tokom hronične inflamacije. Receptori eksprimirani na membrani eozinofila za citokin IL-5 su visokoafinitetni receptori, koji obezbjeđuju vezivanje i prenos aktivacionih signala u ćeliju [151,185].

Interleukin 4, citokin sekretovan od strane mast-ćelija, Th2 limfocita i eozinofila, ima značajnu ulogu u regulaciji imunog odgovora na multiplom nivou. Predstavlja ključni faktor u diferencijaciji T limfocita i promovisanju u pravcu Th2 imunog odgovora. Ovaj citokin je faktor rasta i preživljavanja limfocita, ali i faktor inhibicije apoptoze Th2 limfocita, koji rapidno sekretuju IL-4, IL-5, IL-9 i IL-13. Usljed nedostatka signalne aktivacije koju obezbjeđuje IL-4 ove ćelije bi podlegle apoptozi i bile eliminisane. Osim toga, IL-4 ima značajnu ulogu u alergijskoj inflamaciji, povećavajući ekspresiju Fc epsilon RI receptora na B limfocitima, mast-ćelijama, promovišući na

taj način proliferaciju i preživljavanje mast-ćelija, te indukuje hemotaksiju mast-ćelija, eozinofila i bazofila [123].

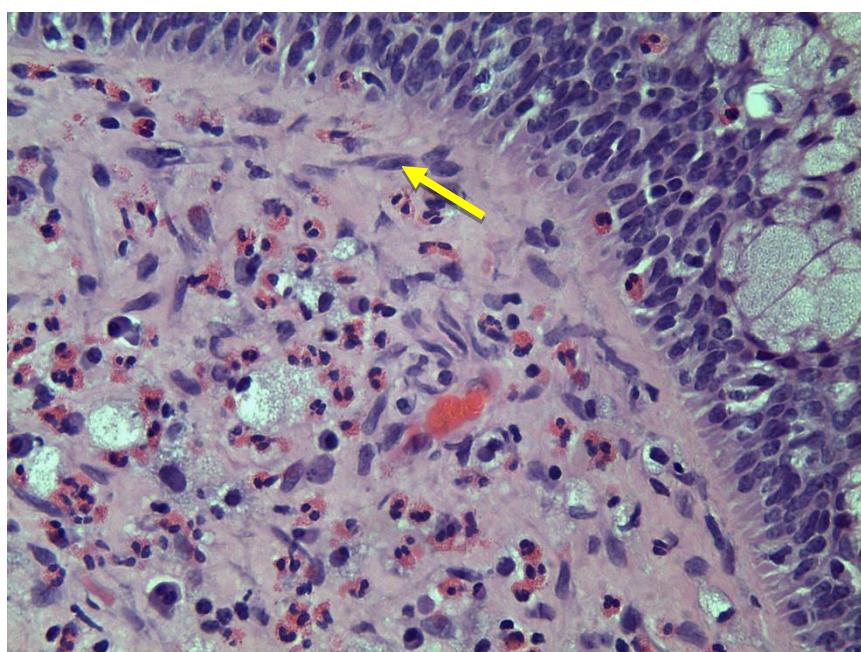
Degranulacijom mast-ćelija nastaju preformisani medijatori IL-4 i TNF $\alpha$ , pod čijim dejstvom se odigrava ekspresija adhezivnih molekula vaskularnih ćelija-1 (engl. Vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1), što omogućava vezivanje eozinofila i bazofila na endotel. Ovi citokini stimulišu i sintezu hemokina u endotelnim ćelijama (IL-8, RANTES), koji imaju ulogu u hemotaksi eozinofila, bazofila, monocita i T limfocita, u tkivu gdje se odigrava hronična Th2 inflamacija [186]. Citokini IL-13 i IL-4, produkovani od strane Th2 ćelija, dijele određene biološke aktivnosti s obzirom na to da imaju kapacitet da indukuju produkciju IgE od strane B-ćelija, čime se svrstavaju u red medijatora koji započinju, ali i održavaju IgE posredovana oboljenja. Oba citokina ostvaruju regulatornu ulogu na nivou Th2 limfocita, mast-ćelija, eozinofila, adhezivnih molekula, hemokina, IgE produkcije, uslovljavaju hiperplaziju peharastih ćelija, te respiratornu hiperreaktivnost [187]. IL-13 indukuje sintezu IgE nezavisno od IL-4 i njegovo je prisustvo neophodno za optimalnu produkciju IgE u uslovima kad je produkcija IL-4 odsutna ili niska. Osim toga, ovaj citokin ima značajnu ulogu u indukciji ekspresije VCAM-1, na endotelijalnim ćelijama, što rezultira u adheziji i ekstravazaciji T-ćelija, monocita i Eo na mjestu inflamacije. Skorija istraživanja ukazuju na to da ovi citokini mogu biti indukovani i urođenim i stečenim imunim odgovorom. Ključni faktori u sintezi IgE, produkciji mukusa u epitelnim ćelijama, aktivaciji makrofaga i remodeliranju jesu IL-4 i IL-13, čime doprinose najvažnijim inflamatornim promjena kod HRSsNP [188]. IL-13 utiče na epitelnu diferencijaciju, što rezultira smanjenom metaplazijom cilijarnih i peharastih ćelija, što dodatno pridonosi propusnosti epitelne barijere sinonazalnih epitelnih ćelija. IL-13 takođe povećava hiperreaktivnost disajnih puteva i uzrokuje subepitelnu fibrozu [189].

Istraživanja novijeg datuma su ukazala da citokini koji su porjeklom od epitela, IL-25, IL-33 i TSLP, imaju medijatorsku ulogu u promovisanju Th2 tipa inflamacije. Interleukini 25, IL-33 i TSLP su citokini porijeklom od epitela, uključeni u inicijalnu Th2 inflamaciju i eozinofiliju. Cilj studije *Lam* i saradnika je upoređivanje ekspresije ovih citokina sa fenotipskim i histopatološkim markerima pacijenata sa HRS, kako bi se istražili mogući faktori koji potiču eozinofilnu infiltraciju kod HRS. Zaključili su da je prekomjerna ekspresija IL-25 i IL-33 prisutna kod eozinofilnih formi HRS. Otpuštanje ovih citokina od strane disfunkcionalnog epitela može promovisati eozinofilnu infiltraciju kod HRSwNP [190]. Interleukin 25 bi se mogao uvrstiti u grupu specifičnih markera s obzirom na to da je poremećaj ekspresije IL-25 u tkivu HRSsNP povezan sa eozinofilijom i težim radiološkim formama [191].

Nedavna studija ukazala je na povišene vrijednosti IL-17 receptora B u podskupini Th2 i Th17 ćelija kod nosnosinusne polipoze, te da su ove vrijednosti pozitivno korelirale sa eozinofilijom u tkivu [192]. Studija Miljkovic i saradnika ustanovila je povećane vrijednosti Th17 citokina (IL-17A, IL-17F, IL-21 i IL-22) u uzorcima polipa i periferne krvi kod pacijenata sa HRSsNP i smanjene vrijednosti IL-21 kod pacijenata sa atopijom, što sugerije izmijenjenu aktivaciju Th17 ćelija i protektivnu ulogu IL-21 kod alergijske inflamacije [193].

### 1.5.5. Remodelovanje

Endotipizacija hroničnog rinosinuzitisa na podtipove HRSsNP i HRSbNP može biti determinisana, između ostalog, različitom ekspresijom procesa remodelovanja. Remodelovanje je dinamičan proces, kako u fiziološkim, tako i u patološkim okolnostima, determinisan produkcijom i degradacijom ekstracelularnog matriksa, orkestiriran različitim medijatorima, među kojima TGF- $\beta$  zauzima centralnu ulogu [194]. Ovaj citokin reguliše funkciju imunih ćelija, predstavlja snažan supresor aktivacije T ćelija, kao i sekrecije B ćelija. TGF- $\beta$  je, između ostalog, značajan faktor uključen u procese remodelovanja, jer privlači i indukuje proliferaciju fibroblasta, povećava depoziciju ekstracelularnog matriksa, kao i kolagena.

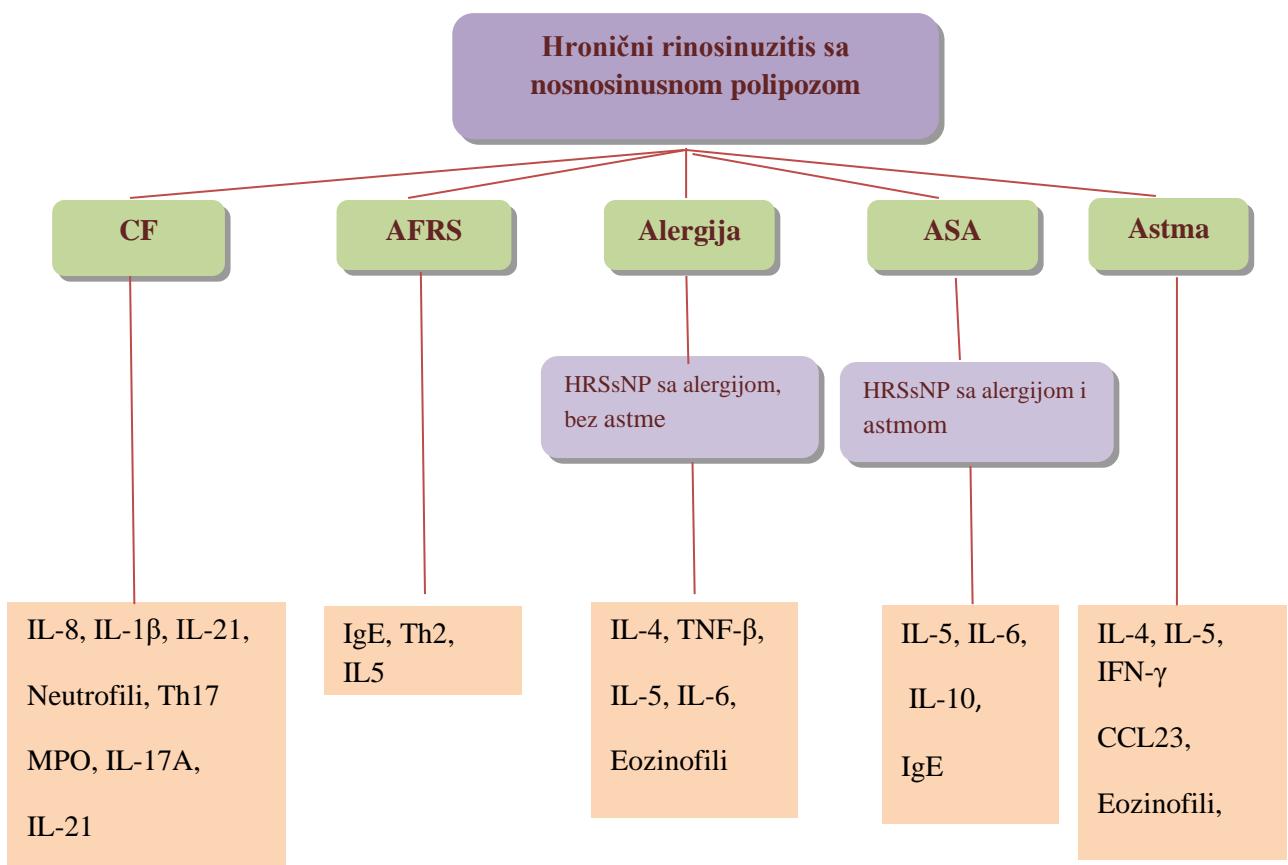


*Slika 9. Hronični rinosinuzitis s nosnosinusnom polipozom. U stromi se nalazi gust leukocitni infiltrat, prevaga eozinofilnih granulocita u stromi i u epitelu (3+), HE x 400; žuta strelica –fibroblasti u stromi.*

TGF- $\beta$  predstavlja potentan stimulator fibroblastne proliferacije u respiratornom epitelu. Fibroblasti su prisutni u stromi nosnosinusne polipoze i povezani su sa aktivnom akumulacijom ekstracelularnog matriksa. Rezultati studija ukazuju na snižene vrijednosti ovog citokina u tkivu polipa kod pacijenata sa HRSsNP u odnosu na zdrave ispitanike. Smanjena ekspresija TGF- $\beta$  može se interpretirati kao smanjena funkcija T regulatornih ćelija koje produkuju ovaj citokin ili se može dovesti u vezu sa izraženom fibrogenom aktivnošću. Dokazane su povišene vrijednosti TGF- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 2 i kolagena kod pacijenata sa HRSbNP. S druge strane, kod pacijenata sa HRSsNP pronađene su snižene vrijednosti TGF- $\beta$  i kolagena [195].

Producija i degradacija ekstracelularnog matriksa regulisana je porodicom metaloproteinaza (engl. metalloproteinases - MMPs) i njihovih tkivnih inhibitora (engl. tissue inhibitors of metalloproteinases - TIMP). U tkivu nosnosinusne polipoze pronađene su povišene vrijednosti MMP-9, ali ne i snižene vrijednosti TIMP-1, što sugerise da bi poremećaj u odnosu MMP-9/TIMP-1 mogao biti povezan sa degradacijom ekstracelularnog matriksa kod pacijenata sa HRSsNP [87,196].

U skladu sa prethodno iznesenim karakteristikama patofizioloških zbivanja unutar HRSsNP, moguće je izdvojiti 4 različita endotipa HRSsNP, T ćelijski /Th2 citokinski-endotip, eozinofilni-endotip, B-ćelijski/IgE –endotip i cisteinil leukotrijenski endotip. Unutar različitih endotipa postoje različiti signalni mehanizmi, od inicijalnih procesa, preko održavanja inflamacije, do procesa remodelovanja [159].



*Slika 10. Preuzeto i adaptirano iz Koennecke M, Klimek L, Mullol J, Gevaert P, Wollenberg B. Subtyping of polyposis nasi: phenotypes, endotypes and comorbidities. Allergo Journal International 2018, 27(2):56-65[159].*

*Imunopatogenetske karakteristike različitih fenotipa hroničnog rinosinuzitisa s nosnosinusnom polipozom (HRSsNP), cistična fibroza (CF), alergijski fungalni rinosinuzitis (AFRS), myeloperoxidaza (MPO).*

## 1.6. Patohistološke karakteristike hroničnog rinosinuzitisa sa nosnosinusnom polipozom

Pod terminom nosnosinusne polipoze podrazumijevaju se benigni, inflamatorni izraštaji obloženi pseudoslojevitim, respiratornim epitelom, smješteni u nosnim odnosno paranasalnim šupljinama. Klinički se manifestuju kao želatinozne, ovalne, glatke, meke, bijedo-ružičaste, prozirne mase. U određenim slučajevima mogu poprimiti i čvršću konzistenciju i imati bjelosivu boju, a u slučaju bolje vaskularizacije poprimaju i ružičastu boju. Užom ili širom osnovom pripojeni su za okolnu sluzokožu, najčešće sa ishodištem u nivou srednjeg nosnog hodnika, etmoidnog kompleksa, olfaktivne jame (*olfactory cleft*) i sfenoetmoidnog recesusa.

U osnovi patohistoloških obilježja nosnosinusne polipoze leži remodelirajuća forma respiratornog epitela, nastala kao rezultat dugotrajne perzistentne inflamacije. Najčešća

patohistološka karakteristika NP je inflamatorna ćelijska infiltracija i epitelijalna hiperplazija, intersticijalni edem, vaskularna hiperplazija i glandularna proliferacija. Polipi najčešće vode porijeklo iz hronično inflamirane sluznice prednjeg etmoidnog sinusa i pokriveni su respiratornim pseudoslojevitim treplastim epitelom, koji naliježe na zadebljanu bazalnu membranu i subepitelno rastresito vezivno tkivo [197, 198].

NP se mogu klasifikovati prema histološkim osobinama na: 1) edematozne eozinofilne ili polipe „alergijskog tipa“, 2) hronične fibroinflamatorne polipe, 3) seromukozne, žlezdane polipe i 4) polipe sa stromalnom ćelijskom atipijom. Edematozni eozinofilni ili polipi „alergijskog tipa“ su najčešća forma i javljaju se u više od 86% slučajeva NP, karakteriše ih izražena hiperplazija peharastih ćelija, zadebljana bazalna membrana sa hijalinizacijom, zapaljenjski infiltrat sačinjen od eozinofila, a u manjoj mjeri od limfocita i plazmocita [199].

Stromu ovih polipa odlikuje, osim inflamatornih ćelija, fibroblasti, fluid koji kreira pseudocistične formacije. Fibroinflamatori polipi čine 8,4% polipa, a karakteriše ih nedostatak hiperplazije peharastih ćelija i stromalni edem, upalni infiltrat sačinjen od limfocita. S druge strane, prisutne su metaplastične promjene zadebljane bazalne membrane, iako blaže u odnosu na prethodni tip. Stromu prožimaju fibroblasti, te izražena fibroza, dilatirani krvni sudovi i hiperplazija seromukoznih žljezda [200]. Kod manje od 5% slučajeva nalazimo polipe sa edematoznom stromom i hiperpalzijom seromukoznih žljezda. Ovaj tip ima sličnosti sa prvim, eozinofilnim tipom, ali glavna razlika je mnoštvo žlezdanih struktura. Ova vrsta polipa dovodi se u vezu sa posebnim entitetom, respiratornim epitelnim adenomatoidnim hamartomom [201]. Polipi sa stromalnom atipijom, kao posljedicom hroničnog zapaljenja, mikroskopski se teško mogu razlikovati od neoplazmi. Jedina razlika, u odnosu na neoplazme, jeste nedostatak brojnih mitoza. Histološka karakteristika je mnoštvo bizarnih atipičnih hiperhromatičnih, zvjezdastih ćelija ili džinovskih pleomorfnih histiocita. Ponekad te ćelije mogu biti nepravilne, s prisustvom vezikularne citoplazme [202].

## 1.7. Klinička slika

Pacijenti sa HRSsNP mogu imati različitu prezentaciju simptoma, u zavisnosti od stadija oboljenja. Klinička slika varira s obzirom na veličinu i lokalizaciju nazalnih polipa. U početnom stadiju oboljenja, pacijenti mogu imati blagu kliničku sliku ili biti bez simptoma. Pojava simptoma HRSsNP i njihov intenzitet mogu varirati, zbog čega pacijenti mogu imati parcijalnu ili kompletну

nazalnu opstrukciju. Nazalna opstrukcija je posljedica dilatacije venskih sinusa, inflamacije, edema i prisutnih polipoznih masa. U slučaju uznapredovalog stadija oboljenja, pacijenti imaju izraženu nazalnu kongestiju, sekreciju iz nosa, poremećaj ili odsustvo čula mirisa, poremećaj glasa (nazalni prizvuk u govoru), te smetnje sluha. Često se javlja kihanje u salvama, ali pacijenti ga ne povezuju sa specifičnim podražajima ili alergenima. Kihanje i sekrecija iz nosa najčešće su cjelogodišnje tegobe. Sekrecija, prednja ili zadnja, može biti prozirna, vodenasta, mukozna ili mukopurulentna, u slučaju pridružene infekcije. Pridruženi simptomi su bolno, suho grlo, promuklost i kašalj. Izražena nazalna opstrukcija može uzrokovati i hrkanje, prekide disanja u toku sna, hipoksiju ili hiperkapniju, što može imati negativan uticaj na funkciju kardiovaskularnog sistema. *Serrano* i saradnici su ustanovili da su pacijenti sa nosnosinusnom polipozom imali dva puta veći rizik za razvoj poremećaja spavanja [203].

S obzirom na to da su polipi većinom smješteni u srednjem i gornjem nosnom hodniku, javljaju se i olfaktorne tegobe, od oslabljenog (hyposmia) do potpunog odsustva čula mirisa (anosmia). Istovremeno se javlja i poremećaj čula okusa. Pacijenti povremeno prijavljuju bol u predjelu lica i glave, koji je uglavnom povezan sa egzacerbacijama rinosinuzitisa. Pacijenti sa pridruženom astmom imaju pridružene simptome od strane donjih disajnih puteva, povremene bronhospazme, otežano disanje i kašalj. U slučaju uznapredovale nosnosinusne polipoze, dolazi i do destrukcije nosnih kostiju, što se prepoznaje po deformaciji nosne piramide, u smislu proširenja nosnog hrbta, i hipertelorizmu (Woakov sindrom) [8].

## **1.8. Kvalitet života pacijenata sa nosnosinusnom polipozom**

Kvalitet života u vezi sa zdravlјem odnosi se na kvalitet života koji je određen, prije svega, zdravstvenim stanjem osoba, tj. uticajem oboljenja i posljedično primijenjenih terapijskih procedura i režima na čovjekov način života [8]. Sinonazalna oboljenja mogu imati značajan uticaj na fizičko i psihičko zdravlje odnosno na kvalitet života pacijenata. Značajna karakteristika, koja definiše težinu oboljenja, jeste pacijentova percepcija uticaja oboljenja na svakodnevne radne, školske i slobodne aktivnosti, te na kvalitet sna [204]. Procjena kvaliteta života oboljelih jedno je od standardnih mjerjenja, čiji je značaj u poboljšanju brige o pacijentu, kao i u pružanju optimalne zdravstvene zaštite. Sve više kliničara u svakodnevnom rutinskom radu koristi mjerjenje kvalitete života. Kliničke intervencije više nisu usmjerene na liječenje samo oboljelog organa, već treba da omoguće pacijentu da se osjeća bolje i da bolje funkcioniše u svakodnevnim aktivnostima. U sagledavanju

stanja gornjih disajnih puteva odnosno njihove funkcije, kliničari koriste različite dijagnostičke procedure, čiji rezultati veoma slabo do umjerenog koreliraju sa kvalitetom života oboljelih [205]. Uzveši u obzir socioekonomski aspekti, kao i negativan uticaj na psihofizičke aspekte zdravlja, hronični rinosinuzitis značajno narušava kvalitet života pacijenata [206].

Ispitivanje koje je koristilo opšte zdravstvene mjerne instrumente, je pokazalo da je opšte zdravstveno stanje pacijenata sa hroničnim rinosinuzitisom lošije u usporedbi sa stanjem pacijenta sa kongestivnim zatajenjem srca, hroničnom opstruktivnom plućnom bolešću i Parkinsonovom bolesti [207]. Negativan uticaj na kvalitet života kod pacijenata sa HRS naročito se odražava na opšte zdravstveno stanje i emocionalni status i to češće kod ženskog pola, starijih i visokoobrazovanih osoba [208]. U sklopu HRS izdvaja se poseban entitet oboljenja pod nazivom teško hronično oboljenje gornjih disajnih puteva (engl. severe chronic upper airway disease - SCUAD), koje odlikuje izostanak pozitivnog efekta liječenja i negativan uticaj na kvalitet života. Klinički markeri ovog entiteta su prisustvo nosnosinusne polipoze, astme i preosjetljivosti na aspirin [209].

Psihološke implikacije HRS još uvijek predstavljaju zanemareno polje istraživanja, iako je emocionalni teret koji oboljenje nosi daleko od toga da bude zanemarljiv. Za pravilnu dijagnozu i bolje razumijevanje potreba pacijenata veoma je važna opšta zdravstvena procjena s obzirom da klinička slika može uveliko odstupati od pacijentove procjene težine oboljenja i pridruženih simptoma [210]. Uprkos značajnom poboljšanju parametara specifičnih i opštih mjernih instrumenata kvaliteta života, depresija i anksioznost ne mogu se ublažiti nakon ESS. S druge strane, pridružena anksioznost kod pacijenata sa HRS negativno utiče na poboljšanje kvaliteta života nakon ESS [211].

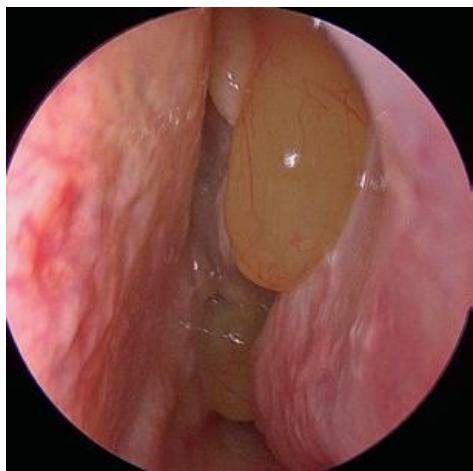
Kvalitet života mjeri se korištenjem određenog "instrumenta", obično u formi upitnika, vizualnih skala i drugih sistema procjene težine simptoma i tegoba. Bez obzira koji mjerni instrument se upotrebljava cilj je omogućiti kvantitativnu procjenu inače subjektivnih zapažanja, a na koje mogu uticati brojne varijable. Specifični instrumenti za mjerenje kvalitete života omogućavaju kvantitativnu procjenu težine simptoma, što ima za cilj uočavanje diskretnih, ali klinički relevantnih za ishod liječenja. Iako se temelje na subjektivnim simptomima pacijenta, instrumenti su objektivni, jer su podvrgnuti opsežnim postupcima validacije i reproducibilnosti. Studija koju su izveli Rudmik i saradnici potvrdila je da su SNOT-22 (engl. Sinonasal Outcome Test), upitnik o olfaktornim poremećajima (engl. Questionnaire of Olfactory Disorders, QOD) i test

za kontrolu sinuzitisa (engl. Sinusitis Control Test - SCT) sadržavali najviše psihometrijskih parametara [212].

Kod hroničnog rinosinuzitisa, vizuelno analogna skala (*engl. visual analogue scale -VAS*) za ukupni skor nazalnih simptoma skor (*engl. total nasal symptom score - TNSS*) dio je rutinske kliničke prakse u svrhu klasifikacije oboljenja na blago, umjereni ili teško. Vizuelna analogna skala za TNSS ili individualne simptome često se koristi u istraživačke svrhe kao mjerni instrument za procjenu težine simptoma i uticaja oboljenja na kvalitet života [213]. Studije su potvratile pozitivnu korelaciju između VAS skorova i skorova specifičnih mjernih instrumenata kao što je Sino-Nasal Outcome Test, SNOT-22, te se VAS skala može koristiti u procjeni težine oboljenja kao početni i jednostavniji mjerni instrument u odnosu na SNOT-22. Vizuelno analogna skala može biti inkorporirana u različite zdravstvene mjerne instrumente i shodno tome može poboljšati komunikaciju između doktora i pacijenta, povećati nivo kontrole i usklađenosti sa tretmanom [214, 215]. Upotreba VAS mjerne skale ne zahtijeva specijalnu obuku, korisna je u svakodnevnoj kliničkoj praksi, jednostavna za upotrebu i od strane pacijenata i zdravstvenih radnika ima visoku osjetljivost, pouzdanost i reproducibilnost [8].

## 1.9. Dijagnoza nosnosinusne polipoze

Dijagnoza HRSsNP postavlja se na osnovu istorije bolesti, kliničke slike, kliničkog otorinolaringološkog nalaza, radioloških procedura, te dodatnih testova. Objektivnim kliničkim otorinolaringološkim pregledom može se konstatovati disanje na usta, zatvorena ili otvorena rinolalija, promuklost, deformacija lica u smislu proširenja nosnih kostiju i dorzuma nosa. Objektivne metode koje potvrđuju dijagnozu HRSsNP su endoskopija nosa i kompjuterizovana tomografija paranasalnih sinusa, dok dodatni testovi mogu pomoći u diferencijalnoj dijagnozi etioloških i predisponirajućih faktora ili se koriste u istraživačke svrhe. Anamnestički podaci potvrđuju perzistentne i dugotrajne smetnje u smislu nazalne opstrukcije, sekrecije i poremećaja čula mirisa. Ima rijetkih slučajeva kada su tegobe kratkotrajne, a polipi se otkriju tek slučajno pri kliničkom pregledu. Prednjom rinoskopijom mogu se konstatovati veći polipi, koji prominiraju van srednjih nosnih hodnika ili ispunjavaju nosne kavume. Polipozno tkivo se vizuelno može jasno razlikovati od okolnih struktura nosnog kavuma.



*Slika 11. Endoskopski nalaz nazalnih polipa koji prominiraju iz srednjeg nosnog hodnika.*

Kao pomoćno dijagnostičko sredstvo služi pritisak sonde, jer su polipozne mase uglavnom pokretne i lako se utiskuju u odnosu na čvrstu strukturu nosnih školjki. Endoskopija nosa je najsigurnija dijagnostička procedura u procjeni lokalizacije i veličine polipa, praćenju efekata konzervativne terapije, u pre- i postoperativnoj evaluaciji oboljenja. Endoskopija nosa omogućava opsežnu vizualizaciju svih struktura nosnih kavuma, uključujući i etmoidni infundibulum, sfenoetmoidalni recessus, gornji nosni hodnik i olfaktornu jamu, predio epifarinks i zadnjih partija nosnog kavuma, što je čini esencijalnom dijagnostičkom procedurom u rinologiji. Osim toga, ovom procedurom moguće je uočiti patološke promjene nedostupne standardnom prednjom i zadnjom rinoskopijom [8,205].

Iako je klinička prezentacija polipa u nosnom kavumu uglavnom jasna, mnoge benigne ili maligne tumorske promjene mogu biti predmet diferencijalno dijagnostičkih dilema (Tabela 3).

*Tabela 3. Diferencijalna dijagnoza nosnosinusne polipoze*

<b>Benigne promjene</b>	<b>Maligne promjene</b>
Bulozne konhe	Planocelularni karcinom
Invertni papilom	Adenokarcinom
Pleomorfni adenom	Adenocistični karcinom
Meningeomi, švanomi, neurofibromi	Mukoepidermoidni karcinom
Hemangiomi, angiofibromi	Olfaktorni neuroblastom
Granulomatoza	Maligni melanom
Fibromi, lejomiomi	Metastatski tumori
Sarkoidoza	Nediferentovani karcinom
	Limfomi, plazmocitomi
	Rabdomiosarkom, hondrosarkom

Preuzeto i adaptirano iz: Bernstein JM. The immunohistopathology and pathophysiology of nasal polyps. (The differential diagnosis of nasal polyps.) In Nasal Polyps: Epidemiology, Pathogenesis and Treatment. Settipane GA, Lund VJ, Bernstein JM, and Tos M (Eds). Providence, RI: OceanSide Publications 1997, 85–95. [216].

Laboratorijska testiranja mogu biti od koristi u određenim slučajevima, ali ipak imaju veći značaj u istraživačke svrhe. Alergološka obrada se podrazumijeva u skoro svim slučajevima, a podrazumijeva *prick* testove i određivanje ukupnih i specifičnih IgE antitijela.

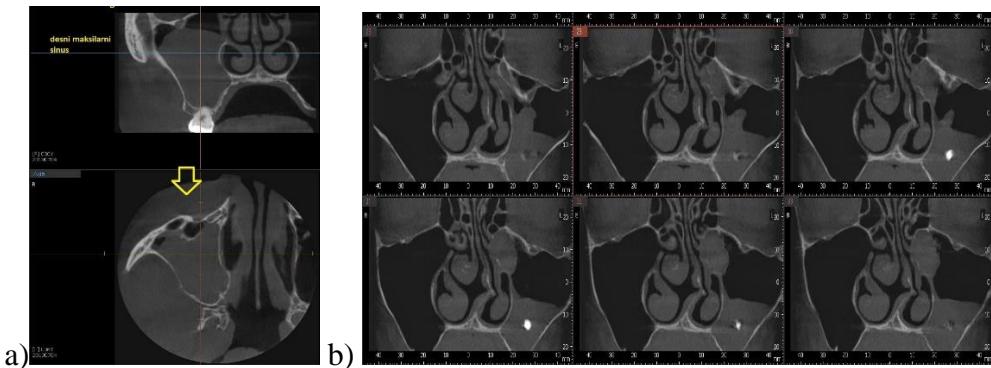
Mikrobiološke analize sekreta iz srednjeg nosnog hodnika mogu doprinijeti etiološkoj dijagnozi u slučaju egzacerbacije oboljenja i sumnje na bakterijske infekcije. U indikovanim slučajevima rade se i testovi za identifikaciju imunodeficijencija. Citološka analiza nazalnog sekreta je korisna u identifikovanju nazalne eozinofilije. Patohistološka analiza bioptata polipoznih masa može biti od značaja u slučajevima suspektnim na tumore, granulomatozu ili vaskulitise. Određivanje hlorida u znoju se primjenjuje u svim slučajevima sumnje na cističnu fibrozu. U bolje opremljenim centrima na raspolaganju su testovi cilijarne disfunkcije i određivanje nitrik oksida [205].

Uloga radioloških procedura u evaluaciji paranasalnih sinusa i okolnih struktura je precizan uvid u morfološke karakteristike, anatomske varijacije, stanje nosnosinusne sluznice, prisustvo i proširenost patoloških promjena. Dostupne procedure uključuju standardne radiografije, kompjuterizovanu tomografiju (CT), magnetnu rezonancu (MR), konusni snop kompjuterizovane tomografije (engl. *cone beam computed tomography* - CBCT) [8, 217].

Standardne radiografije (okcipito-mentalna projekcija po *Waters-u*) imaju ograničenu upotrebnu vrijednost kod nosnosinusne polipoze. Superpozicija struktura onemogućava procjenu ostiomeatalnog kompleksa, etmoidnog kompleksa i sfenoidnog sinusa. Standardne radiografije pokazuju slabu senzitivnost i specifičnost, tako da ni niska doza zračenja ne može opravdati njihovu upotrebnu vrijednost [218].

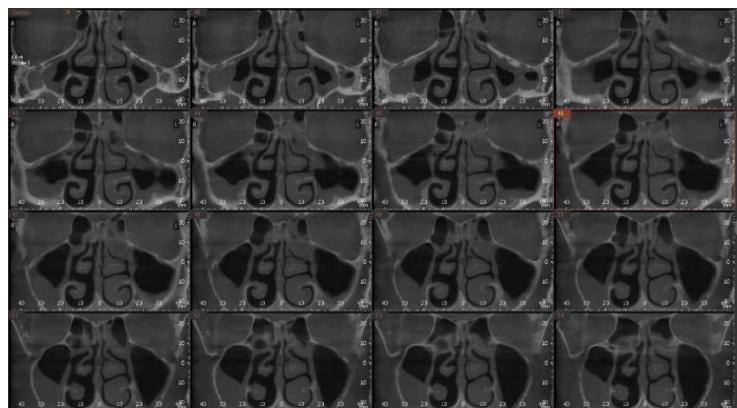
Konusni snop kompjuterizovane tomografije predstavlja modifikaciju kompjuterizovane tomografije i prevashodno je zlatni standard u oralnoj i maksilofacijalnoj hirurgiji, ali je našla svoje mjesto i u procjeni patoloških stanja na nivou paranasalnih sinusa, jer daje optimalan uvid u stanje nosnih i paranasalnih šupljina u odnosu na standardnu radiografiju, a redukuje dozu radijacije u odnosu na konvencionalni CT (Slika 12 i 13). Ova metoda omogućava trodimenzionalnu evaluaciju paranasalnih sinusa, a u odnosu na konvencionalni CT, CBCT obezbjeđuje adekvatnu rezoluciju i nižu dozu zračenja, te je njena korist u procjeni patoloških stanja PNS nesumnjiva. Visoka rezolucija CT i CBCT obezbjeđuje visoko kvalitetne koronalne i sagitalne projekcije u cilju procjene stanja ostiomeatalnog kompleksa, frontalnog i sfenoetmoidalnog recesusa i prisustva frontoetmoidalnih i sfenoetmoidalnih celula [205]. *Demeslay* i saradnici su sproveli studiju na 15 kadavera, upoređujući CT i CBCT kroz 26 anatomske markere. Morfološka podudarnost između

dvije radiološke procedure bila je veoma visoka (>98 %), ali sa značajno manjom dozom zračenja u korist CBCT. Ovo istraživanje je pokazalo da je CBCT validna, reproducibilna, bezbjedna radiološka procedura za identifikaciju sinonazalnih anatomskih struktura [219].



**Slika 12.** a) CBCT nalaz retencione ciste desnog maksilarnog sinusa, b) CBCT nalaz fungalnog rinosinuzitisa u lijevom maksilarnom sinusu - naknadno potvrđeno klinički i patohistološki.

Treba imati na umu da ova procedura nije metoda izbora u preoperativnoj evaluaciji masivne polipoze, hirurških revizija, jednostranih lezija PNS i sumnje na proširenost oboljenja u susjedne strukture. Takođe, ova metoda i dalje ne isključuje finansijske troškove i ekspoziciju zračenju.



**Slika 13.** CBCT, nalaz hroničnog rinosinuzitisa: edem mukoze, retencija sekreta unutar paranazalnih sinusa, opstrukcija ostiomeatalnih kompleksa

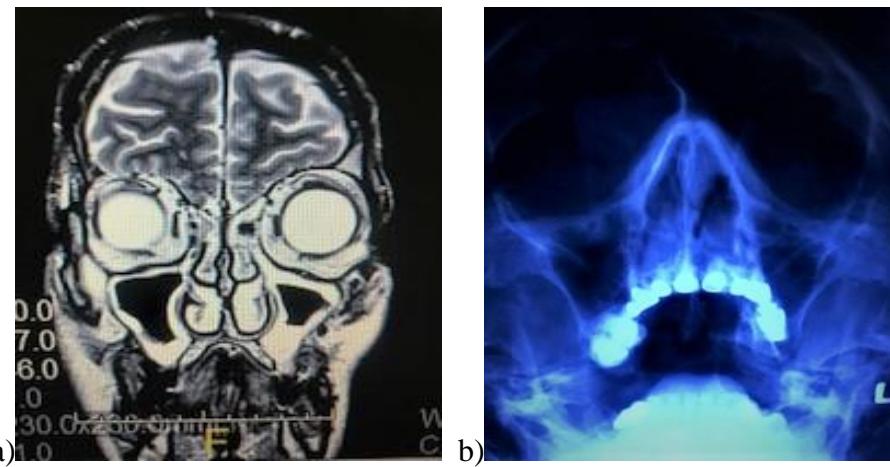
Kompjuterizovana tomografija predstavlja zlatni standard za potvrdu dijagnoze HRS i stepena proširenosti oboljenja, ali ne i primarni korak u dijagnostici oboljenja. CT treba razmotriti kao dijagnostičko sredstvo u slučaju neuspjeha inicijalne terapije, kod unilateralnih oboljenja i sumnje na širenje patološkog procesa u okolne strukture. Zbog visoke doze zračenja i troškova same procedure, ne može biti rutinska dijagnostička procedura. U svrhu procjene radioloških karakteristika oboljenja, kod pacijenata sa HRSsNP koristi se kompjuterizovana tomografija paranasalnih sinusa (CT-PNS) u tri ravni, koronalnoj, sagitalnoj i aksijalnoj, sa presjecima na 3 mm

i naknadnom rekonstrukcijom na 0,7 i 1 mm. Nalaz CT-PNS se gradira prema *Lund-Mackay* skoring sistemu. CT-PNS pruža uvid u morfološko-anatomske karakteristike nosnosinusnog regiona, uvid u lokalizaciju i lokalnu proširenost patološkog procesa, strukturalne abnormalnosti koje su potencijalni patofiziološki mehanizam samog oboljenja (Slika 14). Preoperativna analiza CT omogućava trodimenzionalnu orientaciju, uvid u lokalizaciju i proširenost patološkog stanja, uvid u blizinu susjednih vitalnih struktura i obezbjedan operativni pristup [205].



*Slika 14. Kompjuterizovana tomografija hroničnog rinosinuzitisa sa nosnosinusnom polipozom*

Magnetna rezonanca omogućava tačan uvid i diferencijaciju mekotkivnih promjena, uključujući infekcije, inflamaciju, te neoplazme (Slika 15). Osim toga, omogućuje uvid u proširenost navedenih mekotkivnih promjena u okolne strukture, orbitu ili endokranij. Ali, u poređenju sa CT, ne obezbjeđuje optimalan uvid u koštane strukture. Značajna prednost u odnosu na CT-PNS je odsustvo zračenja. Ova dijagnostička procedura ima svoju primjenu kod polipoznih masa koje se endoskopski vizualiziraju u gornjim dijelovima nosnih kavuma s obzirom na mogućnost da se radi o meningoencefalokelama ili neoplazmama. MR sa kontrastom je neophodna dijagnostička procedura u procjeni lokalne i regionalne proširenosti sinonazalnih neoplazmi. U procjeni proširenosti sinonazalnih neoplazmi prema orbiti ili bazi lobanje, CT i MR su komplementarne dijagnostičke procedure. U svakom slučaju, MR nije rutinska dijagnostička procedura za pacijente sa HRSbNP i HRSsNP [205].



**Slika 15.** Magnetna rezonanca i standardna radiografija istog pacijenta sa hroničnim rinosinuzitism, indikovane zbog dugotrajne glavobolje i urađene u istom vremenskom periodu. Uočava se podudarajući nalaz na nivou maksilarnih sinusova, te nepotpuna vizualizacija etmoidnih sinusova na standardnoj radiografiji.

## 1.10. Terapija hroničnog rinosinuzitisa s nosnosinusnom polipozom

Cilj tretmana HRSsNP je klinička kontrola bolesti, odnosno da pacijenti nemaju simptoma ili da simptomi ne predstavljaju opterećenje i ukoliko je moguće relativno zdrava nosnosinusna sluznica koja iziskuje samo lokalni tretman. Može se reći da je cilj liječenja nosnosinusne polipoze otklanjanje polipoznih masa, čime se uspostavlja prohodnost nosnih šupljina, čulo mirisa, omogućava bolja ventilacija i drenaža paranasalnih šupljina, kao i poboljšanje simptoma od strane donjih disajnih puteva. Tretman HRSsNP predstavlja svojevrsni izazov za otorinolaringologe, pulmologe i alergologe. Indikacije za određeni vid terapije postavljaju se na osnovu simptomatologije, pridruženih komorbiditeta, endoskopskog nalaza, lokoregionalne proširenosti oboljenja, utvrđene nalazom kompjuterizovane tomografije. Idealna terapijska procedura bi uključila individualni endotip oboljenja i primjenu odgovarajuće konzervativne ili hirurške terapije. Navedeni personalizovani pristup u liječenju pacijenata sa HRSsNP identificuje neophodne modalitete liječenja, optimizira efekte terapije, smanjuje progresiju i recidive oboljenja [8].

### 1.10.1. Konzervativno liječenje nosnosinusne polipoze

Konzervativni tretman HRSsNP prema važećim protokolima su topikalni kortikosteroidi, kratki kurs sistemskih kortikosteroida, te dugotrajni kurs makrolidnih antibiotika [8]. Kortikosteroidi (KS) su antiinflamatorni lijekovi koji imaju nespecifično dejstvo na infliatorne

procese. Njihovo antiinflamatorno dejstvo je posljedica povećanja sinteze antiinflamatornih proteina i smanjene sinteze proinflamatornih proteina, citokina, adhezivnih molekula, enzima i receptora. Inicijalni događaj u mehanizmu djelovanja kortikosteroida je ulazak KS u ćeliju i vezivanje za glikokortikoidni receptor, migriranje kompleksa u jedro, gdje se vezuju za određenu sekvencu dezoksiribonukleinske kiseline (DNK), nakon čega dolazi do izmjena (pozitivnih ili negativnih) u transkripciji i promjena u translaciji glasničke ribonukleinske kiseline (RNK), te nastanka proteina. Dolazi do indukcije sinteze glikoproteina, od kojih je najvažniji lipokortin 1, koji ima glavni antiinflamatorni efekat zbog supresije indukcije fosfolipaze A2 (PLA2) i ciklooksigenaze-2 (COX-2), te posljedične inhibicije sinteze prostaglandina, tromboksana i leukotriena. I drugi, novosintetisani proteini ostvaruju antiinflamatorni efekat. Vazokortin smanjuje propustljivost postkapilarnih venula, te posljedični edem. Neutralne endopeptidaze inhibiraju neuropeptide, inhibitor leukocitnih proteaza neutralizuje proteaze oslobođene iz leukocita, endonukleaze utiču na smanjeno preživljavanje eozinofila i mastocita. Inhibitorni efekat na proinflamatorne transkripcijske faktore koji regulišu ekspresiju proinflamatornih citokina (IL-1, IL-2, IL-3, IL-6, TNF- $\alpha$  i INF- $\gamma$ ) sprečava aktivaciju T limfocita. Kortikosteroidi utiču na smanjeno ispoljavanje adhezivnih molekula, te sprečavaju migraciju i dijapedezu upalnih ćelija na mjesto inflamacije. Osim toga, KS smanjuju efektivnu koncentraciju specifičnih antitijela. Kortikosteroidi smanjuju broj cirkulišućih limfocita, monocita, eozinofila i bazofila, a povećavaju broj neutrofilnih granulocita. Pod uticajem KS smanjuje se broj eozinofila u tkivima kao posljedica smanjenog otpuštanja iz koštane srži, te smanjene hemotakse, uslijed supresije hemokina. Na nivou sluznice nosa, KS smanjuju ekspresiju proinflamatornih, povećavaju transkripciju antiinflamatornih gena i imaju direktni uticaj na periferni nervni sistem [220, 221].

Topikalni ili intranasalni kortikosteroidi definitivno su izmijenili tok konzervativnog liječenja HRSsNP. Doprimanje aktivne susstance na mjesto djelovanja, te izbjegavanje sistemskog neželenog efekta liječenja kortikosteroida, svakako su značajne prednosti topikalnog načina administriranja lijeka. Efikasnost KS u terapiji nosnosinusne polipoze dobro je dokumentovana. Pozitivan efekat kortikosteroidne terapije kod HRSsNP dokazan je *in vitro* i *in vivo* metodama. Dokazano je smanjeno preživljavanje eozinofila i fibroblasta u tkivu polipa nakon tretmana KS, inhibicija ekspresije signalne RNA za eotaksin i brojne druge proinflamatorne gene i molekule povezane sa produkcijom citokina, hemokina i receptora uključenih u Th2 imuni odgovor [222, 223]. Harvey i saradnici su sprovedli randomiziranu, dvostruko slijepu, placebom kontrolisanu studiju u cilju ispitivanja efikasnosti administriranja KS terapije putem nazalne irrigacije ili spreja

kod pacijenata sa HRS. Nazalna irigacija se pokazala efikasnjom u smislu otklanjanja simptoma nazalne opstrukcije, sekrecije, VAS, endoskopskog i radiološkog skora. Nazalna irigacija omogućava, ne samo dopremanje aktivne farmakološke supstance, već doprinosi dodatnom benefitu u smislu uklanjanja sekreta i inflamatornih produkata [224].

Analizirajući rezultate studija koje su ispitivale efikasnost topikalne KS terapije, EPOS2020 grupa je utvrdila da topikalni KS značajno redukuju veličinu polipa u odnosu na placebo. Takođe su ustanovili da upotreba topikalnih KS nakon endoskopske sinusne hirurgije značajno prevenira recidiv nosnosinusne polipoze u odnosu na placebo. Analiza neželjenih efekata nazalnih KS kroz rezultate 42 randomizirane dvostruko slijepo studije pokazala je da su nazalni KS bezbjedni lijekovi, te da ih pacijenti dobro podnose. Rezultati studija koje su pratile neželjene efekte lokalne kortikosteroidne terapije (epistaksa, lokalna iritacija sluznice nosa i ždrijela, glavobolja, mučnina), ukazuju na rijetke, blage do umjerene smetnje. Podaci iz meta analiza ukazuju na to da se topikalni KS češće dovode u vezu sa pojmom epistakse u odnosu na placebo. Savremeni intranasalni kortikosteroidi imaju izuzetno nisku bioraspoloživost ( $<1\%$ ), te samim tim nemaju uticaj na osovinu hipotalamus-hipofiza-nadbubrežna žljezda [8].

Neželjeni efekti sistemskih KS mogu biti posljedica njihovog imunosupresivnog, antiupalnog i hormonalnog djelovanja. Ukoliko se KS koriste kraće od dvije nedelje, štetni efekti uglavnom izostaju. Pacijenti na dugotrajnoj sistemskoj terapiji KS mogu imati različite neželjene efekte. Na koži se javljaju akne, atrofija, strije, telengiektažije i hirzuitizam. Može se javiti smanjena otpornost na infekcije, usporeno zarastanje rana, arterijska hipertenzija, sklonost tromboembolijama, hiperlipidemija, Cushingov sindrom, intolerancija glukoze, diabetes, hipokalijemija. Gastrointestinalni poremećaji podrazumijevaju krvarenja želuca i tankog crijeva, te pankreatitis. Osteomuskularni neželjeni efekti uključuju zaostajanje u rastu, mišićnu atrofiju, osteonekrozu i osteoporozu. Javljuju se i katarakta, glaukom, te psihički poremećaji [225].

Sudeći prema rezultatima studija koje su ispitivale uticaj kratkog kursa (4 nedelje i manje) antibiotika na tok akutnih egzacerbacija hroničnog rinosinuzitisa, pokazale su da nema uvjerljivih dokaza o značajnom benefitu na tok oboljenja. Određene studije su dokazale mjerljiv, ali ne i dugotrajan efekat na težinu pojedinih simptoma i kvalitet života. U odnosu na prijavljene neželjene efekte, gastrointestinalni simptomi su bili veoma česti [8]. Rezultati jedne od studija koja je konkretno ispitivala uticaj kratkog kursa doksicilina kod pacijenata sa HRSsNP ukazali su na značajno redukovanje veličine polipa, postnazalnog slijevanja i nazalne sekrecije [226]. *Sabino* i saradnici su ispitivali uticaj kratkog kursa AB (amoksicilin sa klavulonskom kiselinom) kod

pacijenata sa i bez nosnosinusne polipoze i utvrdili da nije bilo značajnih razlika u pogledu simptom skora, endoskopskog skora ili bakterijske eradikacije između grupa koje su primale AB i placebo [227]. Dugotrajni kurs antibiotske terapije (duže od 4 nedjelje) kod pacijenata sa HRS odnosi se na primjenu AB iz grupe makrolida, koji su pokazali obećavajuće rezultate s obzirom na imunomodulatorni efekat. Primjena ove AB terapije je, prema rezultatima studija, uticala na smanjenje nivoa inflamatornih markera, endoskopskog, radiološkog skora i izmjenu konzistencije mukusa [228]. *Wallwork* i saradnici su ispitivali efikasnost roksitromicina u dozi od 150mg dnevno u trajanju od 12 nedjelja kod pacijenata sa HRSSNP. Rezultati ove studije ukazali su na značajno poboljšanje u SNOT-22 i endoskopskom skoru u odnosu na placebo grupu. Ova studija je ukazala na značajno poboljšanje samo u grupi pacijenata sa niskim vrijednostima IgE, što implicira na važnost selektovanja pacijenata za ovaj vid terapije [229]. Neposredno prije propisivanja makrolida, treba imati na umu da ovi lijekovi u punoj terapijskoj dozi mogu izazivati kardiovaskularne neželjene efekte. Uzimajući u obzir rezultate dosadašnjih studija, nedostatak ubjedljivih dokaza o efikasnosti, te potencijalni rizik od neželjenih kardiovaskularnih efekata lijeka, autori EPOS2020 ne mogu sa sigurnošću preporučiti dugotrajni tretman makrolidima u terapiji HRS [8].

Ispitujući efikasnost topikalnih AB u tretmanu hroničnog rinosinuzitisa, EPOS2020 grupa je analizirala šest randomiziranih studija i utvrdila da nije bilo značajne efikasnosti u odnosu na placebo. Jedna od studija je dokazala značajnu efikasnost nazalnog ispiranja sa mupirocinom u eradikaciji SA u odnosu na oralnu terapiju amoksicilinom sa klavulonskom kiselinom [230].

Povećana produkcija cisteinil-leukotriena i poremećaj na nivou njihovih receptora ima nesumnjivu ulogu u nastanku subtipova HRSSNP. Postoji ograničen broj studija koje su ispitivale efikasnost antileukotriena, prije svega montelukasta, u terapiji HRSSNP. Na osnovu analize dostupnih studija, EPOS2020 smjernice ne preporučuju istovremenu upotrebu montelukasta u terapiji HRSSNP, ali u isto vrijeme ne odbacuju mogućnost upotrebe ove terapije kod pacijenata gdje izostaje efekat kortikosteroida [8].

Prema važećim preporukama, dekongestivi nisu preporučljivi u terapiji HRSSNP, ali mogu naći svoje opravdanje u slučajevima izražene kongestije kao dodatna terapija [8].

*Kirtsreesakul* i saradnici su ispitivali efikasnost kombinovane terapije oxymetazolinom i mometazon furoate nazalnim sprejom u odnosu na kombinaciju placebo plus mometazon furoat nazalni sprej kod pacijenata sa HRSSNP tokom četiri nedjelje. Ustanovili su značajno poboljšanje simptoma, mukocilijskog klirensa i endoskopskog skora, kod pacijenata koji su primali

kombinaciju sa nazalnim dekongestivom. Značaj ove studije proizilazi iz dokaza da kombinacija nazalnog dekongestiva sa KS sprečava razvoj *rebound* efekta [231].

Ispiranje ili irigacija sluznice nosa slanim rastvorima doprinosi njenoj funkciji, prije svega mehaničkim uklanjanjem mukusa ili krusti i poboljšanjem mukociliarnog klirensa, povećava aktivnost cilija, otklanja antigene, bakterije, biofilmove i inflamatorne medijatre. Osim toga, slani rastvori mogu biti medij za različite vrste aktivnih ljekovitih supstanci (rastvori kortikosteroida i antibiotika). Kada je u pitanju ovaj vid terapije, postavljaju se dva ključna pitanja, koja aplikacija i koja koncentracija je efikasnija. Studije koje su izučavale ovu problematiku nisu ponudile strogo uvjerljive dokaze, ali njihovom analizom došlo se do zaključka da su izotonični i rastvor Ringer laktata najefikasniji u terapiji HRS. Iz istog razloga se ne može potvrditi koji je način aplikacije efikasniji, sprej ili tuširanje sluznice nosa [8].

Nosnosinusnu polipozu u sklopu AERD odlikuju izraženi simptomi, ozbiljne endoskopske i radiološke forme oboljenja, te česti recidivi oboljenja nakon konzervativne i hirurške terapije. Osnovni vid liječenja se sastoji u izbjegavanju nesteroidnih antiinflamatornih lijekova (NSAID), te u konzervativnoj i hirurškoj terapiji nosnosinusne polipoze. U svrhu liječenja ovih pacijenata, koriste se različiti protokoli aspirinske desenzibilizacije, od kojih je široko prihvaćen Scripps klinički protokol za oralnu aspirinsku desenzibilizaciju, po kojem se ordinira aspirin u dozi od 625mg dva puta dnevno. Sprovodi se u hospitalnim ili kućnim uslovima, uz neophodnu superviziju stručnog medicinskog osoblja, s obzirom na mogućnost egzacerbacije astme. Efekti ove terapije su poboljšanje simptoma i unapređenje kvalitete života. Studije ukazuju i na smanjenu potrebu za oralnim KS i hirurškim revizijama [232].

Terapija HRS furosemidom je namjenjena sprečavanju postoperativnog relapsa oboljenja. Furosemid je diuretik koji djeluje na nivou  $\text{Na}^+$  i  $\text{K}^+$  kanala uzrokujući povećanu apsorpciju tečnosti, odnosno dehirataciju respiratorne sluznice. Studija *Hashemian* i saradnika je dokazala značajnu efikasnost furosemida u pogledu smanjenja simptom i VAS skora, ali ne i CT skora kod pacijenata sa HRSsNP u odnosu na placebo [233]. Cilj studije *Kroflic* i saradnika je bio uporediti efikasnost preoperativne terapije oralnim kortikosteroidom i inhalatornim furosemidom u prevenciji relapsa nosnosinusne polipoze. Nisu ustanovaljene značajne razlike u pogledu subjektivnog simptom i endoskopskog skora, ali je potvrđena redukcija edema u grupi pacijenata koji su primali furosemid u inhalaciji [234]. Prema EPOS2020, furosemid pokazuje određenu efikasnost u pogledu smanjenja simptoma i kliničkih znakova HRSsNP. Uvrštavanje furosemida u preporuke za liječenje HRSsNP zahtijeva još istraživanja u sklopu placebom kontrolisanih studija [8].

Sudeći prema određenim istraživanjima, neurogena inflamacija ima potencijalnu ulogu u nastanku HRSsNP, a shodno tome lokalna upotreba kapsaicina kao neuromodulatora nazalne hiperreaktivnosti bi imala preventivni uticaj na recidiv nosnosinusne polipoze [8]. Studija *Baudoin* i saradnika imala je za cilj ispitati efekat topikalnog kapsaicina u tretmanu teških formi HRSsNP. U studiju su uključeni pacijenti sa eozinofilnim difuznim HRSsNP, bez pridružene alergije i astme. Rezultati studije ukazali su na značajno povećanje nosnosinusne vazdušne zapremine (mjerene CT-PNS), poboljšanje subjektivnog i endoskopskog skora nakon tretmana kapsaicinom [235]. Studija *Filiaci* i saradnika dokazala je značajnu efikasnost kapsaicina u smanjenju subjektivnog i endoskopskog skora i tkivne eozinofilije u odnosu na kontrolnu grupu [236]. Prema EPOS2020, kapsaicin pokazuje efikasnost u pogledu smanjenja simptoma i kliničkih znakova HRSsNP, ali uvrštanje kapsaicina u preporuke za liječenje HRSsNP zahtijeva istraživanja u sklopu placebom kontrolisanih studija [8].

Veoma je teško utvrditi direktnu povezanost između hroničnog rinosinuzitisa i gastroezofagealne refluksne bolesti (GERB) s obzirom na visoku prevalencu oba oboljenje, te mogućnost njihovog nezavisnog koegzistiranja [8]. Rezultati studija, koji su istraživali ovu povezanost, ukazuju na značajnu ulogu GERB kao faktora koji doprinosi težim formama HRS [237,238]. Studija *Jelavic* i saradnika istraživala je prevalencu *Helicobacter pylori* u tkivu polipa pacijanta sa HRSsNP, te utvrdili da pozitivna sinonazalna kolonizacija ovom bakterijom ima pozitivnu prediktivnu ulogu na postoperativni endoskopski skor, ali nema uticaja na težinu simptoma i tkivnu eozinofiliju [239]. Empirijska terapija GERB uključuje inhibitore protonske pumpe, ali s obzirom na nedostatak studija koje potvrđuju njihovu efikasnost u poboljšanju subjektivnih i objektivnih skorova kod pacijenata sa HRS, EPOS2020, ne preporučuje njihovu upotrebu [8].

S obzirom na to da je ključni patofiziološki mehanizam kod HRSsNP, barem u najvećem broju slučajeva, okarakterisan značajnom produkcijom IgE i aktivacijom mast-ćelija, tretman anti-IgE biološkim agensom trebalo bi da bude značajan doprinos u liječenju. Cilj liječenja sastoji se od vezivanja anti-IgE agensa za cirkulišući IgE, što za posljedicu ima smanjenje ekspresije IgE receptora na mast-ćelijama, bazofilima i dendritskim ćelijama. Efekat liječenja omalizumabom, rekombinantnim monoklonalnim antitijelom, ispitivan je u dvije randomizirane studije. Studije su ustanovile značajno poboljšanje simptoma bolesti, kliničkih nalaza (endoskopski i radiološki skor), te kvaliteta života kod pacijenata sa HRSsNP na terapiji omalizumabom u odnosu na placebo. Uglavnom su poboljšanja zabilježena kod pacijenata sa alergijskom senzibilizacijom [240, 241].

Prema savremenim smjernicama, još uvijek nema dovoljno dokaza koji bi uvrstili ovu vrstu biološke terapije u protokol liječenja HRSsNP [8].

Interleukin 5 predstavlja citokin od ključnog značaja za diferencijaciju i prolongirano preživljavanje eozinofila u tkivu polipa, te samim tim i potencijalnu metu u terapiji HRSsNP.

Cilj terapije se sastoji u blokiranju slobodnog IL-5. Efikasnost anti-IL5 monoklonalnih antitijela mepolizumaba i reslizumaba ispitivana je kroz randomizirane kontrolisane studije. Bachert i saradnici su ispitivali efikasnost mepolizumaba kod pacijenata sa HRSsNP, a koji su istovremeno primali intranasalne KS. Ustanovili su značajno smanjenje potrebe za hirurškim liječenjem, poboljšanje simptoma, kvaliteta života, ali ne i olfaktorne i plućne funkcije [242].

Gevaert i saradnici su sproveli dvostruko slijepu placebom kontrolisanu studiju da bi ispitali efikasnost mepolizumaba kod pacijenata sa HRSsNP, te ustanovili da nije bilo značajnih promjena u simptom skoru, ali je ustanovljeno značajno smanjenje veličine polipa, broja eozinofila u perifernoj cirkulaciji, nivoa eozinofilnog katijonskog proteina i serumskog IL-5 [243]. Sudeći prema rezultatima ovih studija, preporuke u liječenju uključuju upotrebu mepolizumaba kod pacijenata sa HRSsNP koji ispunjavaju kriterije za ovaj vid terapije [8].

Interleukini 4 i 13 su značajni medijatori koji posreduju u Th2 imunom odgovoru i dijelom koriste iste receptore za efektorske funkcije, prije svega sintezu IgE, eozinofilnu aktivaciju i procese remodelovanja. Upravo je IL-4 ključni citokin u diferencijaciji ka Th2 inflamatornom profilu, te indukuje produkciju drugih citokina i hemokina (IL-5, IL-9, IL-13) odgovornih za održavanje ove forme inflamacije [244]. Jedino monoklonalno antitijelo odobreno za liječenje nosne polipoze i preporučeno savremenim smjernicama u liječenju je dupilumab, antitijelo usmjereno na IL-4 receptore, čime inhibira vezivanje IL-4 i IL-13. Bachert i saradnici su kroz dvostruko slijepu placebom kontrolisanu studiju ispitivali efikasnost ovog antitijela kod pacijenata sa HRSsNP i ustanovili značajno poboljšanje simptoma, VAS i SNOT 22 skora, endoskopskog i radiološkog skora, te plućne funkcije u odnosu na placebo. Najčešće prijavljeni neželjeni efekti lijeka su nazofaringitis, pogoršanje nosnosinusne polipoze i astme, glavobolja, epistaksia i eritem na mjestu aplikacije [245].

### **1.10.2. Hirurško liječenje nosnosinusne polipoze**

Značajan preokret u terapijskom pristupu sinonazalnoj polipozi je uvođenje endoskopske sinusne hirurgije, koja je potisnula radikalnu sinusnu hirurgiju. Cilj ESS je minimalno invazivnom

hirurškom tehnikom odstraniti patološki proces, uspostaviti dobru prohodnost nosnog kavuma, optimalnu ventilaciju i drenažu paranasalnih sinusa kao preduslov uspostavljanja i održavanja funkcije nosa i paranasalnih sinusa, te uspostaviti bolje uslove za sprovođenje lokalne terapije [246]. Ova hirurška intervencija je, od uvođenja do danas, širila svoje indikativno područje od infektivnih i hroničnih inflamatornih stanja do tumora sinonazalnog regiona i baze lobanje. Ipak, FESS je najčešće indikovana kod HRS, sa i bez nosnosinusne polipoze, uz objektivne dokaze o postojanju oboljenja (endoskopski i radiološki) i perzistentnih simptoma refrakternih na konzervativni tretman. Prednosti FESS u odnosu na radikalne operacije paranasalnih sinusa su: minimalna invazivnost procedure, bezbjednost, očuvanje okolnih anatomske struktura, kraći operativni tok i period oporavka, minimalno krvarenje i stvaranje postoperativnih ožiljaka [8]. Nedavna meta-analiza utvrdila je da odgovarajući konzervativni tretman doprinosi poboljšanju kvaliteta života pacijenata sa blagim ili umjerenim simptomima HRS. U slučajevima teških formi HRS, refrakternih na konzervativni tretman, hirurško liječenje doprinosi značajnom unapređenju kvaliteta života [247].

Određen broj pacijenata u postoperativnom periodu ima recidive oboljenja, bez obzira na hiruršku tehniku koja je primijenjena. Stopa recidiva varira od 4% do 60%, sa srednjom vrijednošću od 20%. Različite studije su ukazale na zaključak da su pacijenti sa HRSsNP, astmom i AERD imali višu stopu postoperativnih recidiva i više potreba za hirurškim revizijama [248]. Nezavisni faktori uključeni u neuspjeh tretmana ili recidiv oboljenja su atopija, eozinofilija, AERD i astma, a svi oni su vezani za tip 2 inflamacije [8]. Prospektivna studija sa dvanaestogodišnjim periodom praćenja dokazala je značajno smanjenje endoskopskog postoperativnog skora tokom perioda praćenja. Ista studija je dokazala hirurške revizije kod 16% pacijenata u šestogodišnjem postoperativnom periodu i kod 36,8% pacijenata u periodu od 12 godina. Nakon 12 godina od operativnog zahvata, više od 90% pacijenata je odgovorilo potvrđno na pitanje da li bi ponovili operativnu proceduru [249]. Rezultati meta analize potvrdili su značajno poboljšanje simptoma astme, smanjenje broja astmatskih napada, te broja hospitalizacija nakon ESS. Rezultati su takođe ukazali na smanjenu upotrebu sistemskih i inhalatornih kortikosteroida [43].

Komplikacije ESS se klasificuju kao ozbiljne (veliki rizik od trajnog deficita), velike (nema trajnog oštećenja, intraoperativni tretman ili revizija) i male komplikacije (nema trajnog oštećenja, intraoperativni tretman). Ozbiljne komplikacije se javljaju u 0,04% slučajeva i uključuju meningitis, intracerebralno krvarenje ili infekciju, neurološki deficit, retroorbitalne hemoragije, oštećenje optičkog nerva, diplopije, oštećenje vida, oštećenje unutrašnje karotidne arterije, toksični šok

sindrom, sepsu i smrt. Velike komplikacije se javljaju u 0,9% slučajeva i uključuju rinolikvoreju, oštećenje lakrimalnog duktusa, značajna intraoperativna i rana postoperativna krvarenja >1000ml. Male komplikacije se javljaju u 3,1% slučajeva i podrazumijevaju priraslice, infekcije, manja krvarenja (<1000ml), te povrede medijalnog zida orbite (emfizem, periorbitalne ekhimoze, postoperativna bol) [250].

## **2. CILJEVI I HIPOTEZE ISTRAŽIVANJA**

### **2.1. Ciljevi istraživanja**

- utvrditi prisustvo specifičnih imunoglobulina E na enterotoksin A *Staphylococcus aureus*-a u serumu pacijenta sa hroničnim rinosinuzitisom i nosnosinusnom polipozom
- utvrditi povezanost specifičnih imunoglobulina E na enterotoksin A *Staphylococcus aureus*-a sa:
  - a) stepenom ekspresije Th2 proinflamatornog citokina interleukina-5 i imunoglobulina E u uzorcima polipa,
  - b) alergijskom senzibilizacijom na inhalatorne alergene,
  - c) kliničkim, radiološkim i mikrobiološkim karakteristikama pacijenata.

### **2.2. Hipoteze istraživanja**

1. Enterotoksin A *Staphylococcus aureus*-a indukuje produkciju imunoglobulina E i Th2 posredovanu inflamaciju kod pacijenata sa hroničnim rinosinuzitisom i nosnosinusnom polipozom.
2. Prisustvo imunoglobulina E na enterotoksin A *Staphylococcus aureus*-a i Th2 posredovana inflamacija negativno korelira sa rezultatima skin prick testa, a pozitivno korelira sa težinom kliničke slike, lokalnom proširenošću oboljenja, te prisustvom astme kao komorbiditeta.

### **3. MATERIJAL I METOD RADA**

#### **3.1. Dizajn studije**

Istraživanje je sprovedeno kao prospektivna i dijelom retrospektivna studija u Klinici za bolesti uha, grla i nosa Univerzitetskog kliničkog centra Republike Srpske, Banjaluka, u vremenskom periodu od 2016. do 2019. godine.

#### **3.2. Ispitanici**

Istraživanjem je obuhvaćeno 190 pacijenata, oba pola, starijih od 18 godina. Studijom su obuhvaćeni pacijenti sa hroničnim rinosinuzitisom i nosnosinusnom polipozom, kod kojih smo indikovali operativno liječenje nakon neuspjeha konzervativne terapije. Dijagnozu HRSsP smo postavili na osnovu EPOS smjernica [8].

Ispitanici su podijeljeni u dvije grupe:

- a) Eksperimentalna grupa - 120 ispitanika, starijih od 18 godina, sa hroničnim rinosinuzitisom i nosnosinusnom polipozom,
- b) Kontrolna grupa - 70 zdravih ispitanika, starijih od 18 godina, kod kojih smo sproveli operativno liječenje nosne pregrade (septoplastika), a koji na osnovu anamneze, kliničke slike i standardne radiografije paranasalnih šupljina, nisu imali hronični rinosinuzitis.

Kriterijumi za uključivanje u studiju:

- a) Pozitivna istorija bolesti u smislu postojanja dva ili više simptoma (nazalna kongestija, nazalna i postnazalna sekrecija  $\pm$ , bol/pritisak u predjelu lica, poremećaj čula mirisa) u trajanju dužem od 12 nedjelja, endoskopski nalaz polipa u nosnom kavumu, edem sluznice i sluzavo-gnojavi sekret primarno u srednjem nosnom hodniku, CT dokaz postojanja polipa u nosnim i paranasalnim šupljinama.
- b) Pismena saglasnost ispitanika o učestvovanju u studiji.

Kriterijumi za neuključivanje u studiju:

- a) Sistemska ili lokalna upotreba kortikosteroida tokom prethodna dva mjeseca,
- b) Teža sistemska oboljenja ili imunodeficijencija,
- c) Neadekvatno tehnički uzeti i pripremljeni materijal za hematološku i

- imunohistohemijsku analizu,
- d) Pacijenti sa nosnosinusnom polipozom, intolerancijom na aspirin i nesteroidne antiinflamatorne lijekove,
- e) Pacijenti sa antrohoanalnim polipima, cističnom fibrozom, primarnom cilijarnom diskinezijom,
- f) Ispitanici bez pismene saglasnosti.

Kod svih ispitanika su registrovani osnovni demografski podaci. Na osnovu anamnestičkih podataka dobijeni su podaci o postojanju porodične dijateze. Podaci o prisustvu bronhijalne astme dobijeni su na osnovu anamnestičkih podataka i uvidom u raniju medicinsku dokumentaciju. Prije uključivanja u studiju, svi ispitanici upoznati su sa protokolom studije i ispunili su informativni pristanak, prethodno odobren od strane Etičkog odbora Univerzetskog kliničkog centra Republike Srpske, Banjaluka. Intenzitet simptoma kod svih ispitanika procjenjivan je na osnovu subjektivne procjene pacijenata VAS analognom skalom (engl. Visual Analog Scale) na dan uključenja u studiju (Prilog 1). Oboljenje je, na osnovu skale, klasifikovano kao blago, umjereno teško i teško.

### **3.3. Klinički nalaz**

Kod pacijenata eksperimentalne grupe vršena je klinička procjena težine oboljenja na osnovu endoskopskog skora. Endoskopija nosnog kavuma vršena je rigidnim endoskopom dijametra 2,7 mm, pod uglom od 0 i 30 stepeni (Prilog 2). Ocjenjivano je prisustvo polipa, sekreta, edema, modifikovanim Lund-Kennedy endoskopskim skorom, te je prema endoskopskom nalazu dobijen preoperativni endoskopski skor, koji se kretao od 0-12 [251].

Korištena je i klasifikacija polipa prema veličini na četiri stepena: 0 - nema polipa, 1 - polipi unutar srednjeg nosnog hodnika, ne sežu ispod donje ivice srednje nosne školjke, 2 - polipi van srednjeg nosnog hodnika, ali ne sežu ispod donje ivice donje nosne školjke, 3 - polipi sežu ispod donje ivice donje nosne školjke ili ispunjavaju nosni kavum u potpunosti. Maksimalni endoskopski skor je iznosio 6 [8].

U svrhu procjene radioloških karakteristika oboljenja kod pacijenata eksperimentalne grupe, korišten je nalaz kompjuterizovane tomografije paranasalnih sinusa u tri ravni, koronalnoj, sagitalnoj i aksijalnoj, s presjecima na 3 mm i naknadnom rekonstrukcijom na 0,7 i 1 mm. CT-PNS je izvođen u nativnoj seriji u slojevnim snimkama ili presjecima u Zavodu za kliničku radiologiju Univerzetskog kliničkog centra Republike Srpske, Banjaluka, koristeći uređaj Siemens

SOMATOM Sensation 16 CT scanner. Širina prozora se kretala od 400 do 2000 HU (Hounsfield unit), što je prozor za analizu koštanih struktura. Nalaz CT-PNS je gradiran prema Lund-Mackay skoring sistemu (Prilog 4) [252].

### **3.4. Mikrobiološka analiza**

Materijal za bakteriološku analizu sekreta, metodom brisa, uzet je tokom operativnih zahvata (septoplastika ili FESS), iz srednjeg nosnog hodnika. Materijal je transportovan u Zavod za mikrobiologiju Univerzitetskog kliničkog centra Republike Srpske, Banjaluka, u odgovarajućoj transportnoj podlozi. Svi uzorci su propisno zatvoreni i zapakovani. Materijal za analizu je pravilno obrađen, što podrazumijeva postupak koji je omogućio da se iz njega najbrže izoluje, identificuje i diferencira uzročnik, pravljenje mikroskopskog preparata i zasijavanje na odgovarajuće podloge. Materijal je zasijavan na krvne agar ploče. Ploče sa zasijanim materijalom su stavljene u inkubator na 37°C u trajanju od 24 sata. Drugi dan se očitavao porast, izolacija i identifikacija mikroorganizama. Uredan nalaz je izdat nakon 24 sata, pozitivan nalaz nakon 48 do 72 sata.

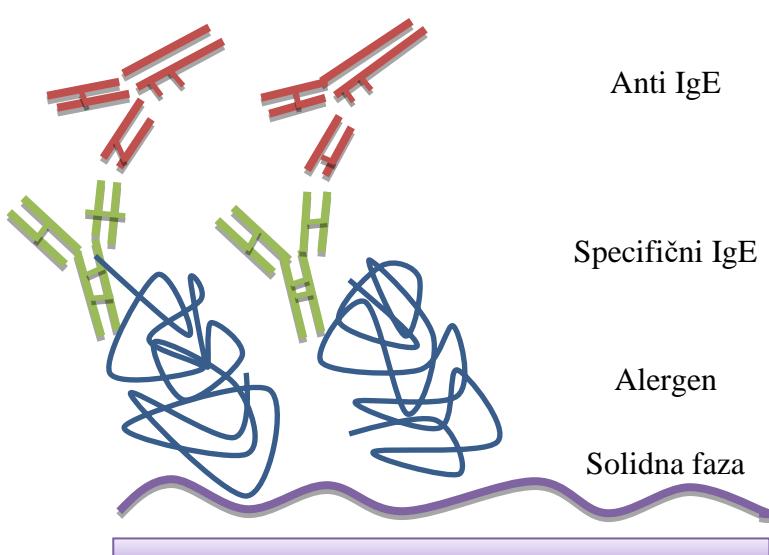
### **3.5. Alergološko testiranje prick testom**

Svim ispitanicima je vršeno alergološko testiranje *prick* testom na inhalatorne alergene. Skin prick test je izvođen standardnim panelom alergena, prema uputstvima i preporukama [253]. Negativna i pozitivna kontrola (10 mg/mL rastvor histamina) bile su uključene u *prick* test. Pozitivan nalaz je bio nalaz papule dijametra većeg od 3mm u odnosu na negativnu probu. Korišten je standardni panel alergena prema preporukama: *Dermatophagoides pteronyssinus*, *Dermatophagoides farinae*, *Betula verucosa*, *Platanus occidentalis*, *Cupressus sempervirens*, *Phleum pratense*, *Ambrosia elatior*, *Artemisia vulgaris*, *Alternaria alternata*, *Aspergillus fumigatus*, epitel psa, epitel mačke, te *Blatella sp.* Test je izvođen u Univerzitetskom kliničkom centru Republike Srpske, Banjaluka, od strane stručnog osoblja.

### 3.6. Biohemijačka ispitivanja - određivanje ukupnih i specifičnih imunoglobulina E

*In-vitro* koncentracija ukupnih IgE antitijela i specifičnog IgE na enterotoksin A *Staphylococcus aureu-a*, određivana je svim ispitnicima, fluoro-enzim-imunohemijskom metodom na ImmunoCAP aparatu (Phadia, Uppsala, Sweden) u Zavodu za laboratorijsku dijagnostiku Univerzitetskog kliničkog centra Republike Srpske, Banjaluka. Uzorak venske krvi (8-10ml) uzet je metodom venepunkcije. Venska krv je centrifugirana na 3000 obrtaja 10min radi odvajanja seruma koji je pohranjen na -70°C do testiranja.

Metoda se sastoji u tome da vezani alergen (kovalentno vezan za inkapsulirani fleksibilni hidrofilni nosač) iz reagensa specifično reaguje sa ukupnim ili specifičnim IgE antitijelima iz seruma. Poslije ispiranja nespecifičnog IgE antitijela, dodaje se monoklonalno anti-IgE antitijelo obilježeno beta-galaktozidazom. Poslije dodavanja supstrata 4-metil-umbeliferil-beta-galaktozida, mjeri se nastala fluoroscencija, proporcionalna koncentraciji ukupnog ili specifičnog IgE-a u uzorku seruma (Slika 16). Pozitivan test pokazuje prisustvo IgE, specifičnog za testirani alergen. Specifičnost i osjetljivost se kreću u rasponu 85-95%. Metoda za određivanje specifičnog IgE, radioalergosorbentni test na hidrofilnom polimernom nosaču – imuno CAP sistem (CAP System RAST) je zlatni standard za određivanja ukupnog i specifičnog IgE. Metoda se smatra reproducibilnom i pouzdanom. Ovi testovi detektuju i kvantifikuju IgE specifičan za alergen u serumu [254].



**Slika 16.** Određivanje specifičnog IgE u serumu. Na 2 ili 3-dimenzionalni nosač, (solidna faza) vezan je alergen. Specifični IgE iz seruma se veže za alergen. Vezani specifični IgE označava se dodatkom fluorescentno označenih anti-IgE-antitijela koja se vežu za već vezani specifični IgE. Preuzeto i adaptirano iz: Wang J, Godbold JH, Sampson HA. Correlation of serum allergy (IgE) tests performed by different assay systems. *J Allergy Clin Immunol* 2008;121:1219-24 [255].

Normalna koncentracija ukupnog IgE je podrazumijevala vrijednosti IgE antitijela veće od 122 kU/l. Nivo specifičnog IgE antitijela na enterotoksin A *Staphylococcus aureus*-a izrazili smo u koncentracijama u kU<sub>A</sub>/L [255].

### **3.7. Patohistološka i imunohistohemijska analiza**

Uzorci tkiva za patohistološku i imunohistohemijsku analizu uzeti su tokom operativnih zahvata. Pacijentima eksperimentalne grupe uzet je uzorak polipa iz srednjeg nosnog hodnika tokom endoskopske sinusne hirurgije, a kod pacijenata kontrolne grupe uzet je uzorak sluznice (do 0,5 cm<sup>3</sup>) s površine prednjeg dijela donje nosne školjke tokom septoplastike. Patohistološka analiza sprovedena je u Zavodu za kliničku patologiju Univerzitetskog kliničkog centra Republike Srpske, Banjaluka. Bioptički uzorci su, nakon prijema i fiksacije u 10% neutralnom puferovanom formalinu, dehidrirani u alkoholu i infiltrirani tečnim parafinom u tkivnom procesoru (Leica TP1020, Leica Biosystems Nussloch GmbH, Njemačka), a zatim ukalupljeni u parafinske blokove. Za histološku i imunohistohemijsku analizu, parafinski blokovi su rezani na presjeke debljine 4-5µm pomoću rotacionog mikrotoma (Leica RM 2245, Leica Biosystems Nussloch GmbH, Njemačka). U prvom koraku procedure, presjeci tkiva obojeni su standardnom metodom hematoksilin-eozin u sistemu za automatsko bojenje (Leica ST 4040, Leica Biosystems Nussloch GmbH, Njemačka) i analizirani svjetlosnim mikroskopom. Analizom smo obuhvatili morfološku strukturu uzorka polipa (epitel, bazalna membrana i stroma) kod eksperimentalne grupe. Koristili smo Hellquist klasifikaciju polipa u histološke grupe (Prilog 4) [256].

Za imunohistohemijsku analizu, tanki presjeci tkiva su, nakon deparafinizacije i rehidratacije, obojeni ručno po standardnom imunohistohemijskom protokolu. Aktivnost endogene peroksidaze je blokirana inkubacijom tkiva u rastvoru 3% vodonik peroksida 10 minuta na sobnoj temperaturi. Toplotni oporavak antiga je obavljen u PT Linku (Dako PT 200, Agilent Technologies, Inc. USA). U PT Linku na temperaturi 98°C, tkivo je zagrijavano 20 minuta u citratnom puferu pH 6.0. Nakon zagrijavanja i hlađenja na sobnoj temperaturi, tkivo je isprano TBS puferom (engl. Tris buffered saline) pH 7,4 i inkubirano odgovarajućim primarnim antitijelom. Inkubacija sa primarnim antitijelom izvedena je preko noći u vlažnoj komori na 4°C.

Za imunohistohemijsku detekciju IgE korišteno je poliklonalno zečije antitijelo firme Abcam (ab:23458, Abcam Inc.Cambridge MA,USA), razblaženo u omjeru 1:500, a za identifikaciju IL-5, korišteno je mišje monoklonalno antitijelo firme R&D (MAB605, R&D system Abingdon, U.K.)

razblaženo u omjeru 1:100. Liofilizirano antitijelo IL-5, isporučeno u prahu, prethodno je rekonstituisano sterilnom otopinom slanog fosfatnog pufera (engl. Phosphate Buffered Saline) u tečno stanje sa koncentracijom 0,5 mg/ml.

Za pripremu radnih otopina odgovarajućeg titra oba antitijela, korištena je komercijalna otopina za razrjeđivanje antitijela (Antibody Diluent, ab:64211 Abcam Inc. Cambridge MA, USA). Specifičnost interakcije primarnih antitijela s ciljnim antigenima vizualizovana je primjenom kompatibilnih detekcionih sistema: Rabbit specific HRP/DAB (ABC) Detection IHC Kit korištena je za detekciju IgE, a Mouse Specific HRP/DAB Detection kit za detekciju IL-5. Detekcioni sistemi su Abcam tehnologije (Abcam Inc. Cambridge MA, USA) i korišteni su prema uputstvu proizvođača.

Nakon inkubacije sa biotiniliranim sekundarnim antitijelom (10 minuta na sobnoj temperaturi), presjeci tkiva su bili izloženi streptavidinu i biotiniliranom kompleksu peroksidaze hrena (horseradish peroxidase – HRP) u fosfatnom puferu tokom narednih 10 min. Mjesto vezivanja antitijela je vizualizovano bojenjem DAB hromogenom (3,3'-diaminobenzidin) 5 minuta. Sa DAB hromogenom, nastali kompleks je razvijao smeđu boju kao potvrdu pozitivne imunohistohemijske reakcije. Nakon ispiranja hromogena, presjeci tkiva su bili "kontra-bojeni" hematoksilinom (30 sekundi), isprani tekućom vodom, dehidrirani u rastućoj koncentraciji etanola (70%, 90% i 100%), zatim ksilolu i montirani u kanada balzam. Postojanje i nivo ekspresije antigenih determinanti za IgE i IL-5 procijenjeno je analizom tkiva na svjetlosnom mikroskopu (Leica DM 2500, Leica Biosystems Nussloch GmbH, Njemačka).

Korektnost imunohistohemijske reakcije kontrolisana je na tkivu tonzile (pozitivna i negativna kontrola). Za pozitivnu kontrolu, na tkivo tonzile su dodavana primarna antitijela za IgE i IL-5 u istim razrjeđenjima u kojima su primijenjena i na testne uzorke (polipe i sluznice). Za negativnu kontrolu, na tkivima tonzile nisu aplicirana primarna antitijela. Umjesto njih, inkubacija je izvedena sa PBS puferom, zbog čega se i nije očekivala određena imunološka aktivnost.

Patohistološku analizu i imunohistohemijsku analizu svih uzoraka radio je jedan patolog. Za određivanje stepena imunohistohemijske ekspresije korišten je semikvantitativni sistem ocjenjivanja, koji je uključivao intenzitet imunobojenja i procenat ćelija koje su imale sigurnu pozitivnu imunokoloraciju ili reakciju (Prilog 5). Određivanje nivoa imunoreaktivnosti vršeno je na osnovu formule [257-259]. Analiza imunohistohemijske reakcije će se bazirati na semikvantitativnom određivanju intenziteta bojenja putem sistema gradacije od 0 do 3 (0 - odsutan, 1 - slabo pozitivan, 2 – umjereni pozitivan, 3 – izraženo pozitivan

Imunohistohemijska ekspresija (R) = postotak obojenih ćelija pomnožen sa ocjenom intenziteta;

R ≤ 1 - negativna imunohistohemijska ekspresija (0);

R ≥ 2 ≤ 4 - slabo pozitivna imunohistohemijska ekspresija (1+);

R ≥ 6 ≤ 8 - umjereni pozitivna imunohistohemijska ekspresija (2+);

R ≥ 9 - izražena imunohistohemijska ekspresija (3+)

Stepen inflamacije (gustina inflamacijskog infiltrata) određivan je na osnovu broja leukocita u stromi (lamini propriji) semikvantitativnom metodom. Određivan je broj leukocita na 10 vidnih polja uvećanja 40x i iz tako dobijenog broja izračunata prosječna vrijednost:

1- odsutni i oskudni infiltrati leukocita u stromi (stepen inflamacije): < 4 leukocita;

2- umjereni leukocitni infiltrat (stepen inflamacije): 5-10 leukocita;

3- izraženi leukocitni infiltrat (stepen inflamacije): > 10 leukocita.

### **3.8. Hirurško liječenje**

Kod pacijenata eksperimentalne grupe indikovali smo operativno liječenje metodom funkcionalne endoskopske sinusne hirurgije (engl. functional endoscopic sinus surgery - FESS). Kriterij za uključivanje ispitanika kontrolne grupe bio je postavljena dijagnoza deviranog nosnog septuma, indikovano operativno liječenje, septoplastika. Operativni zahvati su izvođeni u opštoj endotrahealnoj anesteziji. Toaleta nosnog vestibuluma vršena je rastvorom povidon joda. Tokom hirurških zahvata korišteni su adekvatni hirurški instrumenti, rigidni endoskopi 0°, 45°, promjera 4 i 2,7mm, te irrigaciona pumpa. Kod pacijenata kontrolne grupe sprovedena je septoplastika i mukotomija donje nosne školjke. U predio nosnog vestibuluma i premaksile instiliran je rastvor Adrenalina (prema omjeru 1:200 000), nakon čega je sproveden operativni zahvat koji podrazumijeva: hemitransfikciju, preparaciju mukoperihondrija i mukoperiosta obostrano od hrskavičavog i koštanog dijela septuma, formiranje dva gornja i dva donja tunela, razglobljavanje hondrovomerijalnog spoja, resekcija i fiksiranje septuma u medijalni položaj. U sklopu operativnog zahvata rađena je resekcija sluznice (do 0.5cm<sup>3</sup>) sa površine prednjeg dijela donje nosne školjke tkiva za imunohistohemijsku analizu, kao i materijal za bakteriološku analizu sekreta metodom brisa, iz srednjeg nosnog hodnika.

Kod pacijenata eksperimentalne grupe rađen je FESS, hirurška tehnika podrazumijevala je endoskopsku antrotomiju i etmoidektomiju. Za epimukoznu anemizaciju sluznice koristile su se trake gaze natopljene rastvorom adrenalina (prema omjeru 1:200 000), a za lokalnu instilaciju

rastvor 2% Lidokaina i Adrenalina u predio srednje nosne školjke i lateralnog zida nosne šupljine. U zavisnosti od kliničkog i radiološkog nalaza, obim hirurške resekcije prilagođen je za svakog pacijenta pojedinačno. U slučajevima kada su nosni kavumi ispunjeni polipoznim masama, prvo su se odstranjivale polipozne mase iz zajedničkih nosnih hodnika. Ukoliko je postojala izražena devijacija nosne pregrade, vršila se korekcija, septoplastikom. Vršena je medijalizacija srednje nosne školjke, uklanjanje polipoznih masa iz srednjeg nosnog hodnika, odakle se uzimao uzorak polipa za patohistološku i imunohistohemijsku analizu. Nakon resekcije sabljastog nastavka (*processus uncinatus*) ili uncinektomije, otvarana je i dijelom odstranjena etmoidna bula (*bulla ethmoidalis*), a odstranjene su i polipozne mase i patološka sluznica (prednja etmoidektomija). U određenim slučajevima sprovodilo se odstranjevanje bazalne lamele (*lamina basalis*), otvaranje i dijelom odstranjevanje zadnjih etmoidnih ćelija (zadnja etmoidektomija). Nakon infundibulektomije, rađeno je proširenje sinusnog ušća maksilarnog sinusa i antrotomija, odstranjevanje polipa i patološki izmijenjene sluznice iz antruma. Uobičajeno je plasirana privremena tamponada, trakama gaze, koje se odstranjuju prvog postoperativnog dana. Ukoliko se u toku FESS izvrši i septoplastika, nakon hirurškog zahvata, plasirana je prednja tamponada nosa, u trajanju od tri dana. Postoperativno je ordiniran antibiotik, prema usaglašenom terapijskom protokolu (Cephaleksin, 500mg, tri puta dnevno, 7 dana), simptomatska terapija (analgetici) prema potrebi. Prva postoperativna kontrola obavljala se 4. postoperativnog dana, kada je rađena detamponada. U toku druge postoperativne kontrole, 7. postoperativni dan, rađena je endoskopija kavuma, odstranjevanje sekreta i krusta.

### **3.9. Statistička obrada podataka**

Podaci su analizirani i opisani odgovarajućim metodama deskriptivne statistike, računanjem apsolutnih i relativnih distribucija pacijenata kontrolne i eksperimentalne grupe, u odnosu na posmatrane faktore, te računanjem aritmetičke sredine i standardne devijacije za primjenljive, intervalne varijable. Ova obilježja su prikazivana tabelarno i/ili grafički, gdje je bilo prigodno i primjenljivo. Statistička analiza se zasnivala na odgovarajućim parametarskim i neparametarskim statističkim testovima, odnosno univarijantnim statističkim metodama.

Za potrebu izračunavanja statistički značajne razlike u distribuciji kontrolne i eksperimentalne grupe korišten je *Pirsonov  $\chi^2$ -test*, *Mann-Whitney U test*, *Kraskal-Wallisova* analiza varijanse, te *Spirmanov* test korelacijske veze i jačine veze između varijabli intervalnog karaktera (SEA-IgE, CT skor, endoskopski skor), kao i kategorijalnih varijabli posmatranih kao varijable

ordinalnog karaktera. Pomoću z-testa nezavisnosti proporcija sa Bonferoni korekcijom vršeno je poređenje proporcionalnosti distribucije kategorijalnih varijabli od statističkog značaja. Regresiona analiza je korištena radi utvrđivanja veze između nezavisnih faktora, prediktora, umjerenog i izraženo pozitivnog nivoa imunoreaktivnosti IL-5, IgE I IL-13, za definisane zavisne varijable odnosno kliničke parametre. Dominantno je korištena binarna logistička regresija za zavisne varijable, za koje se utvrđivala vjerovatnoća pojave u odnosu na odsustvo iste, te linearna za identifikaciju vjerovatnoće uticaja prediktora nivoa imunoreaktivnosti IL-5 i IgE na promjenu intervalnih zavisnih varijabli. Statistički značajna razlika definisana je na nivou 0,05, a razlika od vrlo visokog statističkog značaja na nivou od 0,01. Statistička obrada podataka sprovedena je korištenjem alata za obradu podataka SPSS verzija 21.0 (IBM, USA).

## 4. REZULTATI

Studija je obuhvatila ukupno 190 pacijenata, 120 pacijenata eksperimentalne i 70 pacijenata kontrolne grupe. Eksperimentalnu grupu sačinjavali su pacijenti sa hroničnim rinosinuzitisom i nosnosinusnom polipozom, a kontrolnu grupu pacijenti kod kojih je bila indikovana septoplastika (bez anamnestičkih podataka i kliničkih nalaza koji potvrđuju hronični rinosinuzitis).

### 4.1. Dob

Srednja vrijednost i standardna devijacija starosti ispitanika u ukupnom uzorku iznosila je 42,04 (14,68), najstariji ispitanik imao je 73 godine, a najmlađi 18 godina. Mann-Whitney U test analize nezavisnih uzoraka pokazao je da između ispitanika eksperimentalne i kontrolne grupe postoji statistički značajna razlika (Tabela 4), ( $U = 1236.50$ ;  $Z = -8.07$ ,  $p < 0,01$ ). Srednja vrijednost starosti ispitanika za eksperimentalnu grupu iznosila je 49 godina, a za kontrolnu grupu 31 godinu, ukazujući na to da su pacijenti eksperimentalne grupe bili statistički značajno stariji (Tabela 5).

**Tabela 4.** Deskriptivne vrijednosti dobi ispitanika u ukupnom uzorku

	N	M	SD	Min	Max	Percentil		
						25ti	50ti (Md)	75ti
<b>Dob</b>	190	42.12	14.68	18	73	30.00	42.00	54.50

Legenda: M - aritmetička sredina, SD – standardna devijacija; Min/Max – minimalne i maksimalne vrijednosti varijable; Md – medijana

**Tabela 5.** Deskriptivne vrijednosti dobi ispitanika u ukupnom uzorku

	Eksperimentalna (N=120)	Kontrolna (N=70)	
<b>Dob</b>	49 (13)	31 (9)	$U=1236.50$ , $Z = -8.07$
<b>M (SD)</b>			$p < 0,01$

Legenda: \* Mann-Whitney U test; M- aritmetička sredina, SD – standardna devijacija

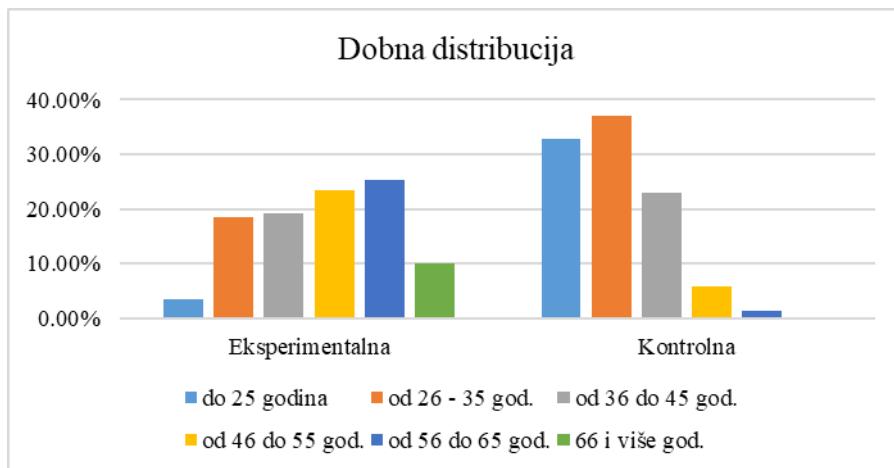
Tabela 6 dodatno opisuje ispitanike, distribuirane prema dobnim grupama, te se uočava da postoji statistički značajna razlika između distribucije ispitanika eksperimentalne i kontrolne grupe,  $\chi^2 = 63,66$  (5);  $p < 0,01$ . U eksperimentalnoj grupi, ispitanici su dominantno distribuirani u starijim dobnim grupama (kategorijama).

**Tabela 6.** Distribucija ispitanika eksperimentalne i kontrolne grupe prema dobnim kategorijama

Dob po kategorijama		Eksperimentalna		Kontrolna	$\chi^2$ (df); p
		N	%		
do 25 godina		4	3.4%	23	63.66(5); p<0.01
	%				
od 26 - 35 god.		22	18.5%	26	
	%				
od 36 do 45 god.		23	19.3%	16	
	%				
od 46 do 55 god.		28	23.5%	4	
	%				
od 56 do 65 god.		31	25.2%	1	
	%				
66 i više god.		12	10.1%	0	
	%				

Legenda:  $\chi^2$  - Hi kvadrat; df – stepen slobode; p - nivo značajnosti - \*\* p<0.01

Starosne raspodjele pacijenata eksperimentalne i kontrolne grupe su prikazane na slici 17.



**Slika 17.** Distribucija ispitanika eksperimentalne i kontrolne grupe prema dobnim kategorijama

## 4.2. Polna distribucija

U eksperimentalnoj grupi je bilo 37,0% pacijenata ženskog i 63,0% pacijenata muškog pola.

U kontrolnoj grupi je bilo 42,9% pacijenata ženskog i 57,1% pacijenata muškog pola.

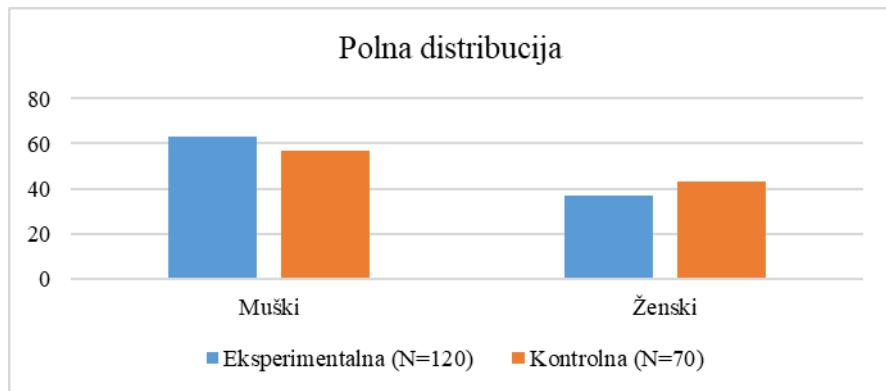
Statistička analiza ispitivanja razlika distribucije prema polu između ispitanika eksperimentalne i kontrolne grupe nije bila statistički značajna (Tabela 7 i Slika 18).

**Tabela 7.** Distribucija ispitanika eksperimentalne i kontrolne grupe prema polu

Pol	Eksperimentalna (N=120)	Kontrolna (N=70)	$\chi^2$ (df); p
	Muški		
	76 (63,0)	40 (57,1)	0,640 (1);

<b>N (%)</b>	<b>Ženski</b>	<b>44 (37,0)</b>	<b>30 (42,9)</b>	<b>p=0.424</b>
--------------	---------------	------------------	------------------	----------------

Legenda:  $\chi^2$  - Hi kvadrat; df – stepen slobode; p- nivo značajnosti



*Slika 18. Procentualna distribucija ispitanika prema polu za kontrolnu i eksperimentalnu grupu ispitanika*

#### 4.3. Porodična anamneza

Pozitivnu porodičnu anamnezu, u smislu postojanja nosnosinusne polipoze kod članova porodice, imalo je 21,8% pacijenata (Tabela 8).

*Tabela 8. Distribucija ispitanika prema postojanju pozitivne porodične anamneze*

<b>Pozitivna porodična anamneza N (%)</b>	<b>Eksperimentalna (N=120)</b>		<b>Kontrolna (N=70)</b>
	<b>Nema</b>	<b>IMA</b>	
Nema	95 (79,2)	25 (21,8)	0 (0)
IMA			0 (0)

#### 4.4. Simptomi

Zastupljenost simptoma kod pacijenata eksperimentalne i kontrolne grupe prikazana je u Tabelama 9 i 10. U obzir smo uzeli najzastupljenije simptome kod pacijenata sa HRSsNP i devijacijom nosne pregrade. Svi pacijenti eksperimentalne grupe su imali nazalnu opstrukciju i sekreciju, a skoro svi i poremećaj mirisa i okusa. Svi pacijenti kontrolne grupe su imali privremenu ili stalnu nazalnu opstrukciju.

**Tabela 9.** Simptomi kod pacijenata sa hroničnim rinosinuzitisom i nosnosinusnom polipozom

Simptom	n (%)
<b>Nazalna opstrukcija (trajna)</b>	120 (100.00)
<b>Nazalna sekrecija</b>	120 (100.00)
<b>Poremećaj čula mirisa i okusa</b>	115 (95.8)
<b>Svrab nosa i kihanje</b>	87 (72.5)
<b>Iritacija (bol) u grlu</b>	64 (53.3)
<b>Glavobolja</b>	43 (35.8)
<b>Poremećaji sluha</b>	22 (18.3)
<b>Upale srednjeg uha</b>	8 (6.6)
<b>Ukupno</b>	<b>120 (100.00%)</b>

**Tabela 10.** Simptomi kod pacijenata kontrolne grupe

Simptom	n(%)
<b>Nazalna opstrukcija (privremena ili trajna)</b>	70 (100.00)
<b>Nazalna sekrecija</b>	22 (31.4)
<b>Poremećaj čula mirisa i okusa</b>	5 (7.1)
<b>Svrab nosa i kihanje</b>	4 (5.7)
<b>Iritacija (bol) u grlu</b>	37 (52.9)
<b>Glavobolja</b>	39 (55.7)
<b>Poremećaji sluha</b>	4 (5.7)
<b>Upale srednjeg uha</b>	8 (6.6)
<b>Ukupno</b>	<b>70 (100.00%)</b>

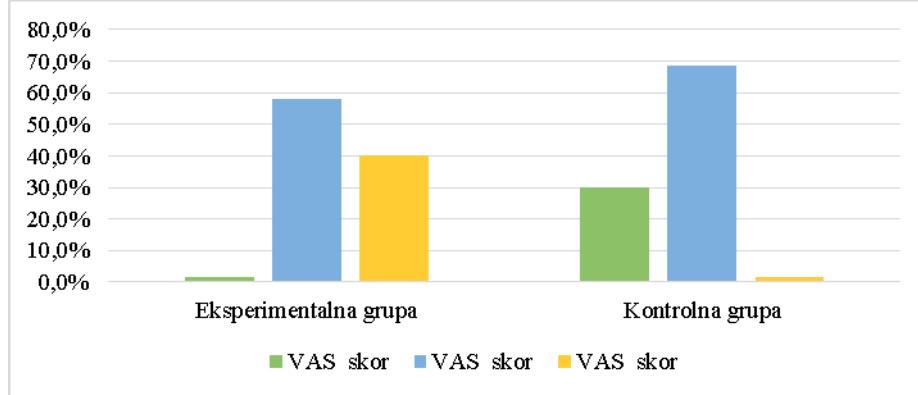
#### 4.5. Procjena težine oboljenja, VAS skor

U odnosu na zastupljenost VAS skora prema kategorijama blago, umjereno i teško (Tabela 11), prisutna je statistički značajna razlika u distribuciji između eksperimentalne i kontrolne grupe,  $\chi^2 = 55,58$  (2);  $p < 0,01$ . Pacijenti eksperimentalne grupe su statistički značajno češće zastupljeni u grupi sa teškim VAS skorom u odnosu na pacijente kontrolne grupe. I obrnuto, pacijenti kontrolne grupe su statistički značajno češće zastupljeni u grupi sa blagim VAS skorom u odnosu na pacijente eksperimentalne grupe (Slika 19).

**Tabela 11.** Zastupljenost ispitanika prema rezultatu VAS skora

		Eksperimentalna (N=120)	Kontrolna (N=70)	$\chi^2$ (df); p
<b>VAS skor</b>	Blago	2 (1,7)	21 (30,0)	55,58 (2);
<b>N (%)</b>	Umjereno	69 (58,0)	48 (68,6)	$p < 0,01$
	Teško	49 (40,3)	1 (1,4)	

Legenda:  $\chi^2$  - Hi kvadrat; df – stepen slobode; p - nivo značajnosti



**Slika 19.** Distribucija prema kategorijama VAS skora ispitanika eksperimentalne i kontrolne grupe

#### 4.6. Endoskopski nalaz

U odnosu na klasifikaciju polipa prema gradusu od 0-6, kod ispitanika eksperimentalne grupe utvrđena je aritmetička sredina od 4,58 sa standardnom devijacijom od 1,18 (Tabela 12).

**Tabela 12.** Deskriptivne vrijednosti klasifikacije polipa gradus

	N	M	SD	Min	Max	Percentil		
						25ti	50ti (Md)	75ti
<b>Klasifikacija polipa gradus</b>	120	4.58	1.18	2	6	4.00	4.00	6.00

Legenda: M - aritmetička sredina, SD – standardna devijacija; Min/Max – minimalne i maksimalne vrijednosti varijable; Md - medijana

Endoskopski skor eksperimentalne grupe imao je vrijednost aritmetičke sredine (na skali od 0-12) od 10,13 sa standardnom devijacijom od 1,66 (Tabela 13).

**Tabela 13.** Deskriptivne vrijednosti za endoskopski skor

	N	M	SD	Min	Max	Percentil		
						25ti	50th (Md)	75ti
<b>Endoskopski skor</b>	120	10.10	1.66	6	12	9.00	10.00	12.00

Legenda: M - aritmetička sredina, SD – standardna devijacija; Min/Max – minimalne i maksimalne vrijednosti varijable; Md – medijana

#### 4.7. CT-skor

U Tabeli 14. predstavljene su vrijednosti CT skora za ispitanike eksperimentalne grupe, gdje je aritmetička sredina na skali od 0-24 bila 16,16 sa standardnom devijacijom 3,30.

**Tabela 4.** Deskriptivne vrijednosti za CT skor

	N	M	SD	Min	Max	Percentil		
						25ti	50ti (Md)	75ti
<b>CT-skor</b>	120	16.16	3.30	10	24	14.00	16.00	18.00

Legenda: M - aritmetička sredina, SD – standardna devijacija; Min/Max – minimalne i maksimalne vrijednosti varijable; Md – medijana

#### 4.8. Korelacija između VAS, endoskopskog i CT skora

Spirmanov test korelacije utvrdio je statistički značajne pozitivne korelacije na nivou ( $p<0,01$ ) srednje jačine endoskopskog i VAS skora eksperimentalne grupe ispitanika  $r=0,334$ , kao i VAS i CT skora  $r=0,379$ , dok je visoka korelacija utvrđena između nivoa endoskopskog i CT skora  $r=0,550$  (Tabela 15 i 16).

**Tabela 15.** Deskriptivna statistika za eksperimentalnu grupu VAS skora/ CT/endoskopskog skora

	M	SD	N
<b>Endoskopski skor</b>	10.11	1.669	120
<b>VAS skor</b>	2.39	.523	120
<b>CT-skor</b>	16.16	3.287	120

Legenda: M - aritmetička sredina; SD – standardna devijacija; N= broj ispitanika

**Tabela 16.** Prikaz vrijednosti korelacija nivoa VAS skor/ CT/Endoskopskog skora

Spearmanov koeficijent korelacije - rho	VAS skor	CT-skor
<b>Endoskopski skor</b>	<b>0,334**</b>	<b>0,550**</b>
<b>VAS skor</b>	/	<b>0,379**</b>
<b>N</b>	120	120

Legenda: \*\* $p<0,01$  nivo značajnosti; N - broj ispitanika obuhvaćenih analizom

#### 4.9. Astma

Podaci o postojanju astme registrovani su kod 47,1% ispitanika eksperimentalne grupe. Nismo ustanovili statistički značajnu zastupljenost (Tabela 17).

**Tabela 17.** Distribucija ispitanika prema postojanju astme

	Eksperimentalna (N=120)	Kontrolna (N=70)
<b>Astma</b>	Nema	63 (52,9)
<b>N (%)</b>	Ima	57 (47,1)

Analizirali smo odnos astme, subjektivnih i objektivnih kliničkih parametara, kao i parametara koji su rezultirali iz mikrobioloških, imunoloških i imunohistohemijskih analiza kod pacijenata eksperimentalne grupe. Nismo utvrdili statistički značajne razlike u pogledu zastupljenosti (Tabela 18).

**Tabela 18.** Distribucija kliničkih, mikrobioloških, imunoloških, patohistoloških i imunohistohemijskih parametara u odnosu na astmu kod pacijenata eksperimentalne grupe

		Astma	Statistički test	
		Odsutna	Prisutna	
<b>Pol, N (%)</b>	Muški	39 (61,9)	37 (64,9)	0,11 (1) <sup>a</sup>
	Ženski	24 (38,1)	20 (35,1)	
<b>Pozitivna porodična anamneza, N (%)</b>	Negativna	50 (79,4)	45 (78,9)	0,01 (1) <sup>a</sup>
	Pozitivna	13 (20,6)	12 (21,1)	
<b>Prick test, N (%)</b>	Negativan	32 (50,8)	35 (61,4)	1,36 (1) <sup>a</sup>
	Pozitivan	31 (49,2)	22 (38,6)	
	Poz.	3 (4,8)	2 (3,5)	
<b>Ukupni IgE, N (%)</b>	Neg.	26 (41,3)	30 (52,6)	1,55 (1) <sup>a</sup>
	Poz.	37 (58,7)	27 (47,4)	
<b>VAS skor, N (%)</b>	Blago	1 (1,6)	1 (1,8)	1,48 (2) <sup>a</sup>
	Umjereni	33 (52,4)	36 (63,2)	
	Teško	29 (46,0)	20 (35,1)	
<b>Bris srednjeg nosnog hodnika na <i>Staphylococcus aureus</i>, N (%)</b>	Negativan	58 (92,1)	52 (91,2)	0,03 (1) <sup>a</sup>
	Pozitivni	5 (7,9)	5 (8,8)	
<b>Ekspresija IL-5 N (%)</b>	0	2 (3,2)	1 (1,8)	4,01 (2) <sup>a</sup>
	1+	25 (39,7)	33 (57,9)	
	2+	36 (57,1)	23 (40,4)	
<b>Ekspresija IL-5 N (%)</b>	0	2 (3,2)	1 (1,8)	0,25 (1) <sup>a</sup>
	1+, 2+	61 (96,8)	56 (98,2)	
<b>Ekspresija IgE, N (%)</b>	0	2 (3,2)	3 (5,3)	3,75 (3) <sup>a</sup>
	1+	15 (23,8)	22 (38,6)	
	2+	26 (41,3)	18 (31,6)	
	3+	20 (31,7)	14 (24,6)	
<b>Ekspresija IgE, N (%)</b>	0	2 (3,2)	3 (5,3)	0,33 (1) <sup>a</sup>
	1+, 2+, 3+	61 (96,8)	54 (94,7)	
<b>Stepen inflamacije, N (%)</b>	odsutni i oskudni	3 (4,8)	2 (3,5)	1,80 (2) <sup>a</sup>
	umjereni	31 (49,2)	35 (61,4)	
	izraženi	29 (46,0)	20 (35,1)	
<b>CT skor (kat), N (%)</b>	9 do 16	37 (58,7)	29 (50,9)	0,74 (1) <sup>a</sup>
	17 do 24	26 (41,3)	28 (49,1)	
<b>Endoskopski skor (kat), N (%)</b>	5 do 8	16 (25,4)	11 (19,3)	0,63 (1) <sup>a</sup>
	9 do 12	47 (74,6)	46 (80,7)	
<b>Dob, M (SD)</b>		50,35 (12,38)	46,82 (13,88)	U=1518,00 <sup>b</sup> Z=-1,45
<b>SEA-IgE, M (SD)</b>		0,12 (0,29)	0,16 (0,33)	U= 1448,50 <sup>b</sup> Z= -0,79
<b>Endoskopski skor, M (SD)</b>		10,10 (1,86)	10,12 (1,45)	U=1770,00 <sup>b</sup> Z=-0,13
<b>CT-skor, M (SD)</b>		16,14 (3,42)	16,18 (3,16)	U=1751,50 <sup>b</sup> Z= -0,23
<b>Klasifikacija polipa gradus 0-6. srednja vrijednost, M (SD)</b>		5 (1)	5 (1)	U=1785,00 <sup>b</sup> Z= -0,06

<sup>a</sup>Chi kvadrat  $\chi^2$  (df); <sup>b</sup>Mann-Whitney test nezavisnih uzor

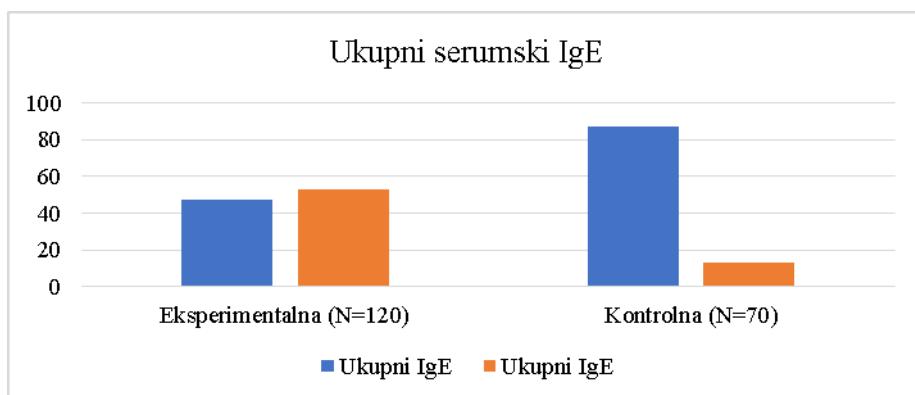
#### 4.10. Ukupni serumski IgE

Analiza zastupljenosti ukupnog serumskog IgE i poređenje razlike u distribuciji eksperimentalne i kontrolne grupe (Tabela 19) utvrdila je statistički značajnu razliku,  $\chi^2 = 30,03$  (1);  $p < 0,01$ ; gdje 52,9% ispitanika eksperimentalne grupe ima pozitivan nalaz IgE, za razliku od 12,9% ispitanika kontrolne grupe. Razlika u distribuciji uočljiva je i na Slici 20.

**Tabela 19.** Zastupljenost ispitanika prema rezultatu ukupnog serumskog IgE

		Eksperimentalna (N=120)	Kontrolna (N=70)	$\chi^2$ (df); p
<b>Ukupni serumski IgE</b>	Negativan	56 (47,1)	61 (87,1)	30,03 (1);
<b>N (%)</b>	Pozitivan	64 (52,9)	9 (12,9)	$p < 0,01$

Legenda:  $\chi^2$  - Hi kvadrat; df – stepen slobode; p - nivo značajnosti



**Slika 20.** Zastupljenost ukupnog serumskog IgE unutar eksperimentalne i kontrolne grupe

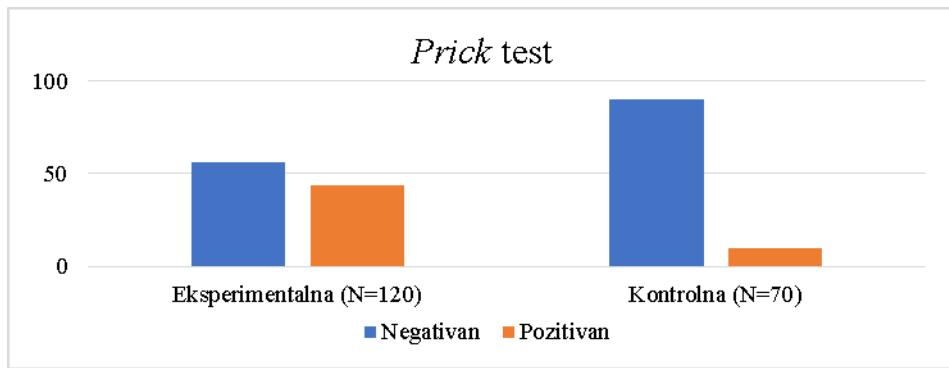
#### 4.11. Prick test

Prick test je bio pozitivan kod 43,7% pacijenata eksperimentalne i 10% pacijenata kontrolne grupe, te je ustanovljena statistički značajna razlika u distribuciji između ove dvije grupe ispitanika prema rezultatima prick testa,  $\chi^2 = 23,308$  (1);  $p < 0,01$  (Tabela 20 i Slika 21). Zastupljenost alergijske preosjetljivosti je statistički značajno češća kod pacijenata eksperimentalne grupe.

**Tabela 20.** Distribucija ispitanika prema nalazu prick testa

		Eksperimentalna (N=119)	Kontrolna (N=70)	$\chi^2$ (df); p
<b>Prick test</b>	Pozitivan	53 (43,7)	7 (10,0)	23,308 (1);
<b>N (%)</b>	Negativan	67 (56,3)	63 (90,0)	$p < 0,01$

Legenda  $\chi^2$  - Hi kvadrat; df – stepen slobode; p - nivo značajnosti



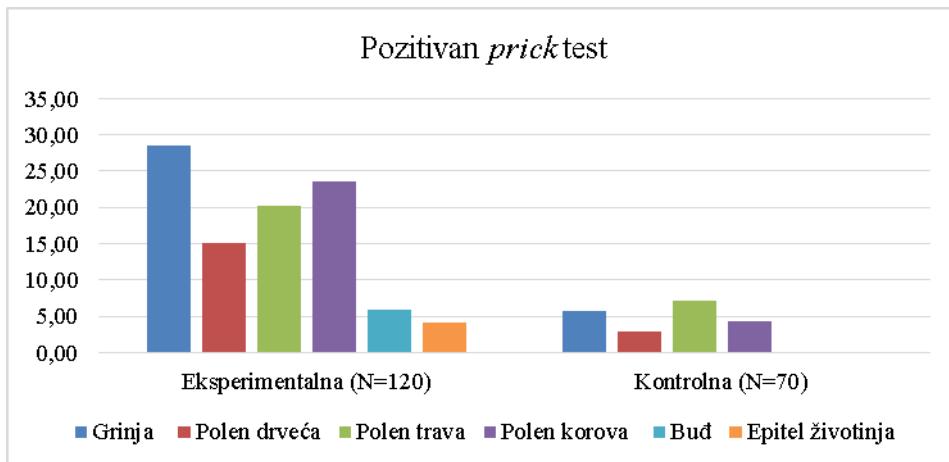
*Slika 21. Distribucija ispitanika eksperimentalne i kontrolne grupe prema nalazu prick testa.*

Takođe se uočava (Tabela 21) da 43,7% ispitanika eksperimentalne grupe ima preosjetljivost na jedan i više inhalatornih alergena, za razliku od tek 10% ispitanika kontrolne grupe. Kod pacijenata eksperimentalne grupe postoji statistički značajna zastupljenost u distribuciji alergijske preosjetljivosti na pojedinačne alergene: grinje ( $p<0.01$ ), polen drveća ( $p<0.01$ ), polen trava ( $p<0.05$ ), polen korova ( $p<0.01$ ) i buđ ( $p<0.05$ ).

*Tabela 21. Distribucija ispitanika prema vrstama inhalatornih alergena*

	Eksperimentalna (N=120)		Kontrolna (N=70)	$\chi^2$ (df); p
<b>Inhalatori alergeni (broj alergena)</b>	0	67 (56,3)	63 (90,0)	
N (%)	1	13 (10,9)	2 (2,9)	
	2	19 (16,0)	3 (4,3)	
	3	10 (8,4)	2 (2,9)	
	4	11 (8,4)	0 (0)	
<b>Grinja</b>	Neg.	85 (71,4)	66 (94,3)	14,335 (1);
N (%)	Poz.	35 (28,6)	4 (5,7)	p<0.01
<b>Polen drveća</b>	Neg.	101 (84,9)	68 (97,1)	7,01 (1);
N (%)	Poz.	19 (15,1)	2 (2,9)	p<0.01
<b>Polen trava</b>	Neg.	95 (79,8)	65 (92,9)	5,756 (1);
N (%)	Poz.	25 (20,2)	5 (7,1)	p<0.05
<b>Polen korova</b>	Neg.	91 (76,5)	67 (95,7)	11,90 (1);
N (%)	Poz.	29 (23,5)	3 (4,3)	p<0.01
<b>Buđ</b>	Neg.	113 (94,1)	70 (100,0)	4,27 (1);
N (%)	Poz.	7 (5,9)	0 (0)	p<0.05
<b>Epitel životinja</b>	Neg.	115 (95,8)	70 (100,0)	3,02 (1);
N (%)	Poz.	5 (4,2)	0 (0)	p=0,082

Legenda:  $\chi^2$  - Hi kvadrat; df - stepen slobode; p - nivo značajnosti, \* $p<0.05$ , \*\*  $p<0.01$



*Slika 22. Distribucija ispitanika eksperimentalne i kontrolne grupe prema pozitivnom nalazu prick testa na inhalatorne alergene.*

Unutar eksperimentalne grupe analizirali smo zastupljenost alergijske preosjetljivosti na inhalatorne alergene u odnosu na demografske, kliničke, mikrobiološke, biohemijske i imunohistohemijske parametre. Ustanovili smo značajnu zastupljenost muškog pola u grupi sa negativnim prick testom. Postoji značajna veza između pozitivnog serumskog nalaza ukupnog IgE i pozitivnog prick testa na inhalatorne alergene (Tabela 22).

**Tabela 22.** Distribucija alergijske preosjetljivosti dokazane prick testom u odnosu na prikazane parametre.

Parametar		Prick test		Statistički test
		Negativan	Pozitivan	
<b>Pol, N (%)</b>	Muški	48 (71,6)	28 (52,8)	4,50 <sup>a</sup> , (1)*
	Ženski	19 (28,4)	25 (47,2)	r =0,194*
<b>Pozitivna porodična anamneza, N (%)</b>	Nema	55 (82,1)	40 (75,5)	
	Ima	12 (17,9)	13 (24,5)	
<b>Astma, N (%)</b>		32 (47,8)	31 (58,5)	0,78 <sup>a</sup> , (1)
		35 (52,2)	22 (41,5)	
<b>Ukupni IgE, N (%)</b>	Negativan	46 (68,7)	10 (18,9)	29,47 <sup>a</sup> , (1)**
	Pozitivan	21 (31,3)	43 (81,1)	r= 0,496**
<b>VAS skor, N (%)</b>	Blago	2 (3,0)	0 ()	
	Umjereni	36 (53,7)	33 (62,3)	2,18 <sup>a</sup> , (1)
	Teško	29 (43,3)	20 (37,7)	
<b>Bris srednjeg nosnog hodnika na <i>Staphylococcus aureus</i> N (%)</b>	Negativan	61 (91,0)	49 (92,5)	
	Pozitivni	6 (9,0)	4 (7,5)	0,08 <sup>a</sup> , (1)
<b>Ekspresija IL-5 N (%)</b>	0	2 (3,0)	1 (1,9)	
	1+	31 (46,3)	27 (50,9)	0,35 <sup>a</sup> , (1)
	2+	34 (50,7)	25 (47,2)	
<b>Ekspresija IL-5 N (%)</b>	0	2 (3,0)	1 (1,9)	
	1+, 2+	65 (97,0)	52 (98,1)	0,15 <sup>a</sup> , (1)
<b>Ekspresija IgE, N (%)</b>	0	3 (4,5)	2 (3,8)	
	1+	25 (37,3)	12 (22,6)	
	2+	23 (34,3)	21 (39,6)	3,38 <sup>a</sup> , (1)
	3+	16 (23,9)	18 (34,0)	
<b>Ekspresija IgE, N (%)</b>	0	3 (4,5)	2 (3,8)	
	1+, 2+, 3+	64 (95,5)	51 (96,2)	0,04 <sup>a</sup> , (1)
<b>Stepen inflamacije, N (%)</b>	odsutni i oskudni	2 (3,0)	3 (5,7)	
	umjereni	40 (59,7)	26 (49,1)	1,58 <sup>a</sup> , (1)
	izraženi	25 (37,3)	24 (45,3)	
<b>CT skor (kat), N (%)</b>	9 do 16	38 (56,7)	28 (52,8)	
	17 do 24	29 (43,3)	25 (47,2)	0,18 <sup>a</sup> , (1)
<b>Endoskopski skor (kat), N (%)</b>	5 do 8	11 (16,4)	16 (30,2)	
	9 do 12	56 (83,6)	37 (69,8)	3,22 <sup>a</sup> , (1)
<b>Dob, M (SD)</b>		50,2 (13,3)	46,7 (12,8)	U=1473,50 Z=-1,59
<b>SEA-IgE, M (SD)</b>		0,11 (0,28)	0,17 (0,33)	U=1497,50 <sup>b</sup> Z=-0,45
<b>Endoskopski skor, M (SD)</b>		10,3 (1,6)	9,8 (1,8)	U=1518,00 <sup>b</sup> Z=-1,40
<b>CT-skor, M (SD)</b>		15,9 (2,8)	16,4 (3,8)	U=1700,50 <sup>b</sup> Z=-0,40
<b>Klasifikacija polipa gradus 0-6. srednja vrijednost, M (SD)</b>		4,73 (1,1)	4,38 (1,3)	U=14870,00 <sup>b</sup> Z=-1,58

<sup>a</sup>Chi kvadrat  $\chi^2$  (df); <sup>b</sup>Mann-Whitney test nezavisnih uzoraka; r- Spearmanova korelacija (ordinalna); \*p<0,05;

\*\*p<0,01

#### 4.12. Mikrobiološki nalaz

U Tabeli 23 prikazana je analiza nalaza intraoperativnog brisa srednjeg nosnog hodnika. U eksperimentalnoj grupi 50,4% ispitanika imalo je pozitivan nalaz, u kontrolnoj grupi 42,9%, ali nije postojala statistički značajna razlika u distribuciji između ove dvije grupe ispitanika.

**Tabela 23.** Zastupljenost pozitivnog i negativnog nalaza brisa srednjeg nosnog hodnika

			Eksperimentalna	Kontrolna	$\chi^2$ (df); p
<b>Bris srednjeg nosnog hodnika</b>	Negativan	N	59	40	1,01 (1); p=0,315
		%	49.6%	57.1%	
	Pozitivan	N	61	30	
		%	50.4%	42.9%	

Legenda:  $\chi^2$  - Hi kvadrat; df – stepen slobode; p - nivo značajnosti

U odnosu na zastupljenost pojedinačnih bakterija u brisu srednjeg nosnog hodnika, nema statistički značajnih razlika u distribuciji između kontrolne i eksperimentalne grupe (Tabela 24 i 25). Uočava se da je najzastupljenija bakterija *Klebsiella spp* (kod 16% ispitanika) u eksperimentalnoj grupi, dok je u kontrolnoj grupi najzastupljenija bakterija *Staphylococcus aureus* (kod 18,6% ispitanika).

**Tabela 24.** Zastupljenost pojedinačnih bakterija

			Eksperimentalna	Kontrolna	$\chi^2$ (df); p
<i>Escherichia coli</i>	Nema	N (%)	110 (92.4%)	66 (94.3%)	0,26 (1); p=0,628
	Ima	N (%)	9 (7.6%)	4 (5.7%)	
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Nema	N (%)	118 (99.2%)	70 (100.0%)	0,59 (1); p=0,442
	Ima	N (%)	1 (0.8%)	0 (0.0%)	
<i>Staphylococcus aureus</i>	Nema	N (%)	109 (91.6%)	57 (81.4%)	1,01 (1); p=0,315
	Ima	N (%)	10 (8.4%)	13 (18.6%)	
<i>Enterobacter</i>	Nema	N (%)	115 (96.6%)	68 (97.1%)	0,04 (1); p=0,849
	Ima	N (%)	4 (3.4%)	2 (2.9%)	
<i>Klebsiella spp</i>	Nema	N (%)	100 (84.0%)	64 (91.4%)	2,10 (1); p=0,147
	Ima	N (%)	19 (16.0%)	6 (8.6%)	
<i>Streptococcus</i>	Nema	N (%)	115 (96.6%)	70 (100.0%)	2,404 (1); p=0,121
	Ima	N (%)	4 (3.4%)	0 (0.0%)	
<i>Proteus mirabilis</i>	Nema	N (%)	110 (92.4%)	67 (95.7%)	1,01 (1); p=0,315
	Ima	N (%)	9 (7.6%)	3 (4.3%)	
<b>Ostale bakterije*</b>	Nema	N (%)	116 (97.5%)	68 (97.1%)	0,02 (1); p=0,889
	Ima	N (%)	3 (2.5%)	2 (2.9%)	

Legenda:  $\chi^2$  - Hi kvadrat; df – stepen slobode; p - nivo značajnosti;

\* (*Enterococcus spp*, *Citrobacter*, *Pseudomonas*, *Proteus vulgaris*, *Serratia marcescens*)

**Tabela 25.** Zastupljenost nalaza brisa srednjeg nosnog hodnika prema vrsti bakterija (način bojenja i potreba za kiseonikom)

		Eksperimentalna	Kontrolna	$\chi^2$ (df); p
<b>bris srednjeg nosnog hodnika prema vrsti bakterija (način bojenja)</b>	Negativan	N 60 % 50.0%	40 57.1%	3,90(1) p=0,142
	Gram pozitivni	N 15 % 12.5%	13 18.6%	
	Gram negativni	N 45 % 37.5%	17 24.3%	
	Negativan	N 60 % 50.0%	40 57.1%	3,90(1) p=0,142
	Aerobni	N 15 % 12.5%	13 18.6%	
	Fakultativno anaerobni	N 45 % 37.5%	17 24.3%	

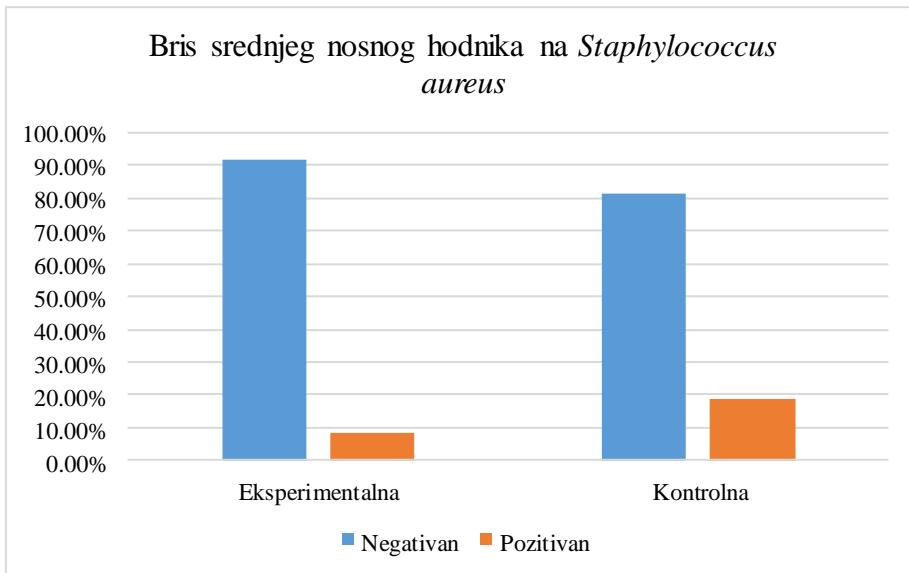
Legenda:  $\chi^2$  - Hi kvadrat; df – stepen slobode; p- nivo značajnosti

Kada je u pitanju zastupljenost bakterije *Staphylococcus aureus*, između eksperimentalne i kontrolne grupe, uočavamo statistički značajnu razliku,  $\chi^2 = 4,26$  (1);  $p<0.05$ , odnosno kod značajno većeg broja ispitanika kontrolne grupe je pozitivan nalaz intraoperativnog brisa na *Staphylococcus aureus* (Tabela 26 i Slika 23).

**Tabela 26.** Zastupljenost *Staphylococcus aureus*, između eksperimentalne i kontrolne grupe

Bris srednjeg nosnog hodnika, <i>Staphylococcus aureus</i>	Eksperimentalna	Kontrolna	$\chi^2$ (df); p
<b>Negativan</b>	N 110 % 91.6%	57 81.4%	4,26 (1) p<0.05
<b>Pozitivan</b>	N 10 % 8.4%	13 18.6%	

Legenda:  $\chi^2$  - Hi kvadrat; df – stepen slobode; p- nivo značajnosti



**Slika 23.** Distribucija nalaza brisa srednjeg nosnog hodnika na *Staphylococcus aureus* između eksperimentalne i kontrolne grupe

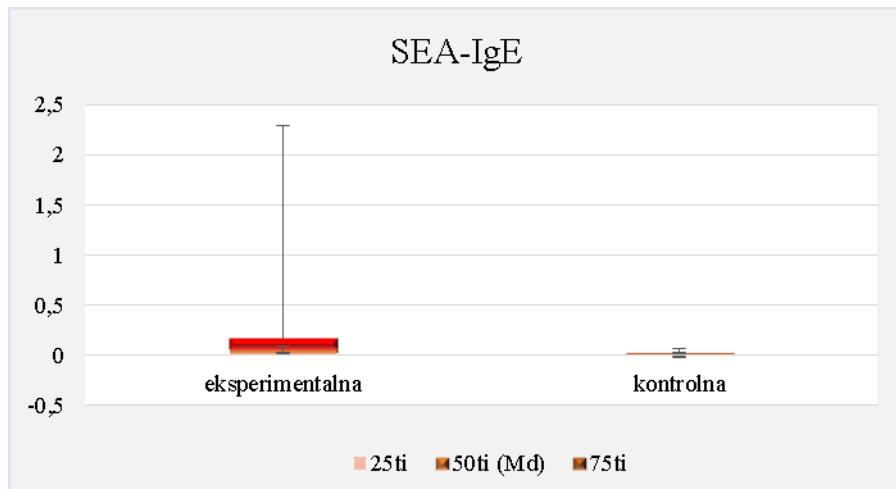
#### 4.13. Specifični IgE na enterotoksin A *Staphylococcus aureus*-a

Kada je u pitanju nivo specifičnog IgE na enterotoksin A *Staphylococcus aureus*-a (SEA-IgE), uzeli smo u obzir srednje vrijednosti koncentracija. Uočili smo statistički značajnu razliku u srednjim vrijednostima između eksperimentalne ( $M=0,13$ ) i kontrolne grupe ( $M=0,01$ ), utvrđenu na nivou  $p<0,01$ , Mann-Whitney U testom ( $U = 971,00$ ;  $Z=-8,11$ ). Značajno više vrijednosti SAE-IgE registrovane su kod pacijenata eksperimentalne grupe i gotovo negativne vrijednosti (SD 0,01) kod pacijenata kontrolne grupe (Tabela 27 i Slika 24).

**Tabela 27.** Deskriptivne vrijednosti SEA-IgE eksperimentalne i kontrolne grupe

		N	M	SD	Min	Max	Percentil			$U=971,00$
							25ti	50ti (Md)	75ti	
<b>SEA- IgE</b>	eksperimentalna	120	0,13	0,31	0,00	2,12	0,02	0,04	0,11	$Z=-8,11$
	kontrolna	70	0,01	0,01	0,00	0,05	0,00	0,00	0,01	

Legenda: M - aritmetička sredina; SD – standardna devijacija; Min-Max – minimalne i maksimalne vrijednosti u uzorku; Md – medijana. \*Mann-Whitney U test za nezavisne uzorke; p – nivo statističke značajnosti



*Slika 24. Box plot prikaz nivoa SEA-IgE između eksperimentalne i kontrolne grupe*

#### 4.13.1. Deskriptivna statistika (eksperimentalna grupa) sa analizom hipoteza o jednakoj raspodjeli vrijednosti SEA-IgE u uzorku

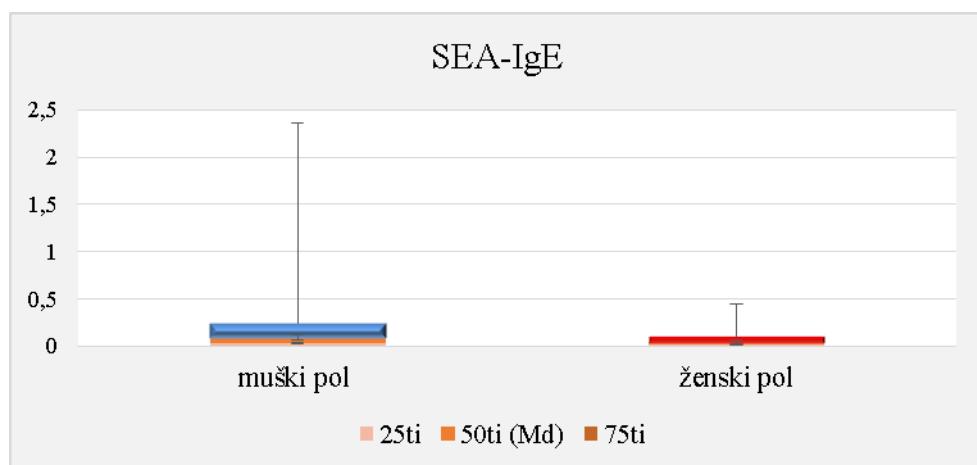
U Tabeli 28 prikazana je deskriptivna statistika vrijednosti SEA-IgE za dihotomne varijable od interesa za istraživanje sa statističkom obradom ispitivanih razlika dva nezavisna uzorka - Whitney U testom. Uočava se da je SEA-IgE:

- značajno viši kod ispitanika muškog pola ( $Md= 0,06$ ), u odnosu na pacijente ženskog pola ( $Md= 0,03$ ),  $U=1016$ ,  $p<0,01$  (Slika 25).
- značajno viši za ispitanike koji imaju pozitivan nalaz ukupnog serumskog IgE ( $Md=0,07$ ), za razliku od pacijenata koji imaju negativan navedeni nalaz ( $Md=0,03$ ),  $U=871.50$ ;  $p<0,01$  (Slika 26).

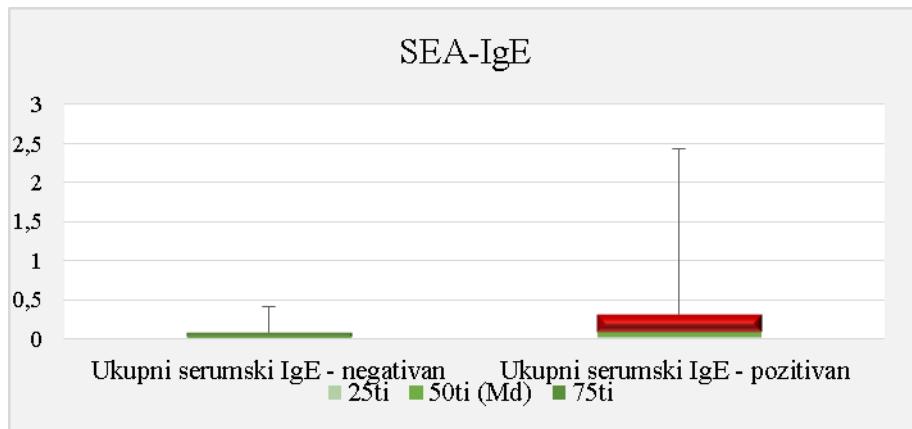
**Tabela 28.** Deskriptivna statistika za nivo SEA-IgE za dihotomne varijable od istraživačkog interesa, sa prikazom statističkih razlika u vrijednostima

		SEA-IgE					<b>M</b>	<b>U; p</b>
		M	SD	P25	Md	P75		
<b>Pol</b>	Muški	0,18	0,37	0,03	0,06	0,15	63.39	1016.00 <b>&lt;0,01;</b>
	Ženski	0,06	0,08	0,01	0,03	0,06	45.78	
<b>Porodična anamneza</b>	Pozitivna	0,12	0,18	0,01	0,04	0,16	53.69	988.50; 0.575
	Negativna	0,14	0,33	0,02	0,05	0,10	57.89	
<b>Astma</b>	Nema	0,12	0,29	0,01	0,04	0,11	54.75	1448.50; 0.426
	Ima	0,16	0,33	0,03	0,04	0,12	59.64	
<b>Prick test</b>	Pozitivan	0,17	0,33	0,01	0,04	0,20	58.55	1497.50; 0.653
	Negativan	0,11	0,28	0,02	0,04	0,08	55.77	
<b>Ukupni serumski IgE</b>	Nema	0,05	0,06	0,01	0,03	0,05	43.64	871.50; <b>&lt;0,01</b>
	Ima	0,22	0,40	0,03	0,07	0,22	69.23	
<b>Bris srednjeg nosnog hodnika na</b>	Negativan	0,14	0,32	0,01	0,04	0,11	56.32	445.00; 0.477
	Pozitivan	0,10	0,10	0,03	0,05	0,20	64.00	
<b>Staphylococcus aureus</b>								

Legenda: M - aritmetička sredina; SD – standardna devijacija; P25 – 25ti percentil distribucije; Md – medijana; P75 – 75ti percentil distribucije; M rank – srednja vrijednost ranga u statističkoj obradi; Mann-Whitney U – vrijednost testa; p – nivo značajnosti



**Slika 25.** Box-plot prikaz distribucije vrijednosti SEA-IgE prema polu



*Slika 26.* Box-plot prikaz distribucije vrijednosti SEA-IgE u grupi sa pozitivnim nalazom ukupnog serumskog IgE

U Tabeli 29 prikazana je deskriptivna statistika vrijednosti SEA-IgE za varijable od interesa za istraživanje sa statističkom obradom ispitivanih razlika gdje smo imali više od dvije kategorije Kruskal-Wallis H testom. Kod starosnih kategorija ispitanika uočavamo najviše vrijednosti kod ispitanika dobnog uzrasta 46-55 godina ( $M=0,23$ ), a najniže kod najmlađih ispitanika, do 25 godina ( $M=0,04$ ). Nisu utvrđene statistički značajne razlike u srednjim vrijednostima SEA-IgE između starosnih grupa. Najviše vrijednosti nivoa SEA-IgE uočene su kod ispitanika sa najvišim VAS skorom ( $M=0,15$ ), a najniže kod ispitanika sa najnižim VAS skorom ( $M=0,04$ ), ali nisu utvrđene statistički značajne razlike između ovih kategorija u srednjoj vrijednosti SEA-IgE.

*Tabela 29.* Deskriptivna statistika za nivo SEA-IgE za varijable sa više od dvije kategorije

		SEA-IgE					M Rank	$\chi^2$ (df); p
		M	SD	P25	Md	P75		
<b>Dob - kategorije</b>	Do 25 god	0,04	0,06	0,00	0,02	0,08	35.50	5.85
	26 do 35 god	0,12	0,18	0,02	0,04	0,11	58.61	(5); 0.321
	36 do 45 god	0,17	0,44	0,01	0,05	0,12	56.32	
	46 do 55 god	0,23	0,45	0,03	0,06	0,20	68.43	
	56 do 65 god	0,09	0,16	0,01	0,04	0,08	50.40	
	66 više god.	0,07	0,06	0,02	0,06	0,11	57.04	
<b>VAS skor</b>	Blago	0,04	0,01	0,03	0,04	0,05	50.50	0.28
	Umjereni	0,13	0,29	0,01	0,04	0,12	55.97	(2); 0.868
	Teško	0,15	0,34	0,03	0,04	0,10	58.80	

Legenda: M - aritmetička sredina; SD – standardna devijacija; P25 – 25ti percentil distribucije; Md – medijana; P75 – 75ti percentil distribucije; M rank – srednja vrijednost ranga u statističkoj obradi;

\* Kruskal-Wallis H test izražen u vrijednosti Hi kvadrata, df – stepena slobode i p – nivo značajnosti

Kruskal-Wallis H Test je korišten kako bi se utvrdilo da li postoji statistički značajna razlika u nivou SEA-IgE unutar kategorija, imunohistohemijska ekspresija IL-5 i IgE u tkivu polipa i stepen inflamacije. Nisu utvrđene statistički značajne razlike unutar navedenih varijabli (Tabela 30).

Uočili smo najviše srednje vrijednosti SEA-IgE kod umjerene imunohistohemijske ekspresije (2+) IL-5 ( $M=0,14$ ) i IgE ( $M=0,20$ ). Posmatrajući stepen inflamacije, uočavamo najvišu srednju vrijednost SEA-IgE kod kategorije ispitanika kod kojih je bio umjerен leukocitni infiltrat ( $M=0,14$ ), dok je najniža vrijednost bila kod ispitanika sa odsutnim i oskudnim infiltratima leukocita u stromi ( $M=0,10$ ).

**Tabela 30.** Deskriptivna statistika za nivo SEA-IgE za varijable sa više od dvije kategorije od istraživačkog interesa sa prikazom statističkih razlika u vrijednostima

		SEA-IgE					<b>M</b> <b>Rank</b>	$\chi^2$ (df); p
		M	SD	P25	Md	P75		
<b>Ekspresija IL-5</b>	0	0,08	0,06	0,04	0,08	0,12	69.75	0,54
	1+	0,13	0,30	0,02	0,04	0,09	55.25	(2);
	2+	0,14	0,31	0,01	0,04	0,12	58.21	0,764
	3+	-	-	-	-	-	-	
<b>Ekspresija IgE</b>	0	0,03	0,01	0,03	0,04	0,04	43.63	2.08
	1+	0,11	0,19	0,02	0,04	0,07	53.53	(3);
	2+	0,20	0,46	0,01	0,04	0,10	56.57	0.555
	3+	0,09	0,08	0,03	0,06	0,14	62.74	
<b>Stepen inflamacije**</b>	1 - odsutni i oskudni	0,10	0,09	0,03	0,08	0,17	64.50	0,39
	2 - umjereni	0,14	0,31	0,02	0,04	0,08	55.58	(2);
	3- gusi	0,13	0,32	0,01	0,04	0,13	58.23	0.820

Legenda: M- aritmetička sredina; SD – standardna devijacija; P25 – 25ti percentil distribucije; Md – mediana; P75 – 75ti percentil distribucije; M rank – srednja vrijednost ranga u statističkoj obradi;

\* Kruskal-Wallis H test izražen u vrijednosti Hi kvadrata, df – stepena slobode i p – nivo značajnosti

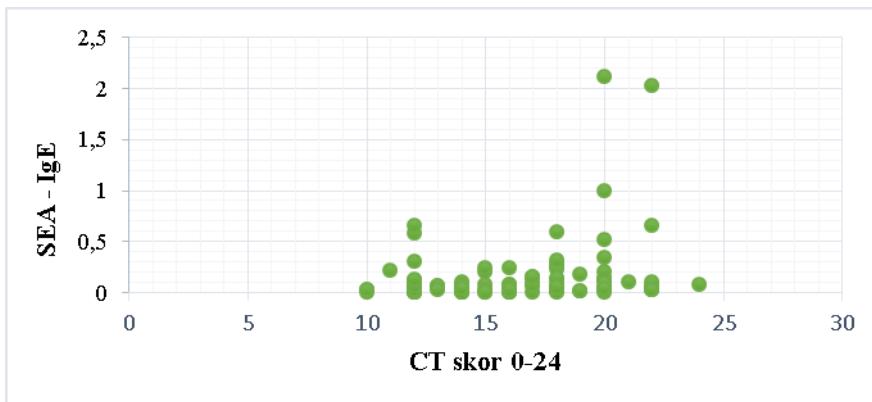
\*\* 1- infiltrati leukocita u stromi: manje od 4 leukocita; 2- leukocitni infiltrati: 5-10 leukocita; 3- leukocitni infiltrati: više od 10 leukocita

Spirmanov test korelacijske utvrdio je statistički značajnu srednje izraženu, pozitivnu korelaciju,  $r=0,255$ ,  $p<0,01$ , između nivoa SEA-IgE i nivoa CT skora. Kod viših vrijednosti CT skora, možemo očekivati više vrijednosti SEA-IgE. Statistički značajna korelacija između vrijednosti endoskopskog skora i SEA-IgE nije utvrđena (Tabela 31 i Slika 27).

**Tabela 31.** Prikaz vrijednosti korelacija nivoa SEA-IgE i CT/Endoskopskog skora

		<b>CT-skor</b>	<b>Endoskopski skor</b>
		Koeficijent korelacijski*	
<b>SEA-IgE</b>	Koeficijent korelacijski*	<b>0,255</b>	0,020
	p	<b>&lt;0,01</b>	0,830
	N	113	113

Legenda: \* vrijednost Spearmanovog koeficijenta korelacijske: p – nivo značajnosti; N - broj ispitanika obuhvaćenih analizom



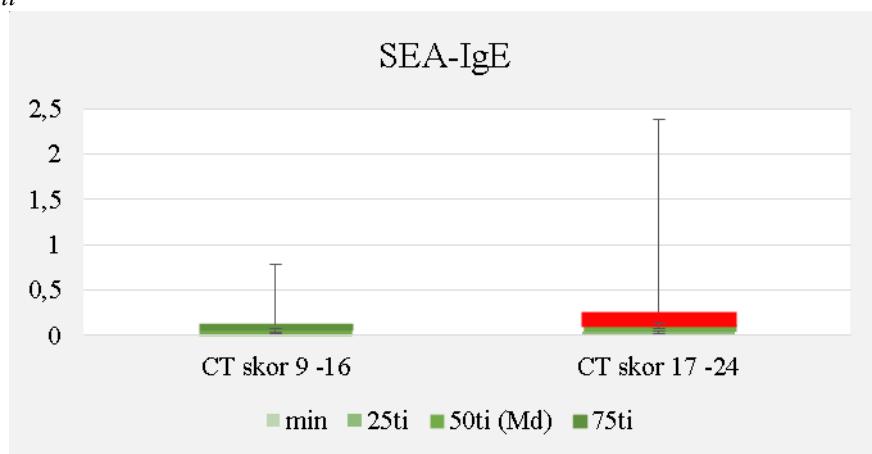
*Slika 27.* Scatter plot prikaz vrijednosti korelacije nivoa SEA-IgE i CT skora

Dodatno, redukcijom varijabli CT skor i endoskopski skor u tri logičke kategorije, te izvršenom analizom Mann-Whitney U testom srednjih rangova, potvrđena je statistički značajna razlika, odnosno srednje vrijednosti SEA-IgE bile su više kod pacijenata višeg CT skora, za razliku od grupe ispitanika nižeg CT skora. Veza između visine endoskopskog skora i nivoa SEA-IgE nije utvrđena (Tabela 32 i Slika 28).

*Tabela 32.* Deskriptivna statistika za nivo SEA-IgE za dihotomne varijable od istraživačkog interesa sa prikazom statističkih razlika u vrijednostima

		SEA-IgE					<b>M Rank</b>	<b>U; p</b>
		M	SD	P25	Md	P75		
<b>CT skor</b>	9 do 16	0.07	0.12	0.01	0.04	0.07	48.83	1087.50;
	17 do 24	0.21	0.42	0.03	0.07	0.16	66.59	<0,01
<b>Endoskopski skor</b>	5 do 8	0.07	0.08	0.01	0.04	0.12	52.75	966,00);
	9 do 12	0.15	0.34	0.02	0.04	0.10	58.15	0,472

Legenda: M - aritmetička sredina; SD – standardna devijacija; P25 – 25ti percentil distribucije; Md – medijana; P75 – 75ti percentil distribucije; M rank – srednja vrijednost ranga u statističkoj obradi; Mann-Whitney U – vrijednost testa; p – nivo značajnosti



*Slika 28.* Box-plot prikaz distribucije vrijednosti SEA-IgE i CT skora

#### 4.13.2. Prediktivni značaj SEA-IgE

Binarna logistička regresija korištena je kako bismo utvrdili prediktivni značaj vrijednosti SEA-IgE na pojavu odnosno postojanje kliničkih parametara dihotomnog karaktera, astmu, *prick* test, ukupni serumski IgE i pozitivni bris srednjeg nosnog hodnika na *Staphylococcus aureus*. Klinički parametri umjerene (2+) i izražene (3+) imunohistohemiske ekspresije IL-5 i IgE, stepen inflamacije, su klasifikovani dihotomno (Tabela 33).

U Tabeli 33 prikazane su prediktorske vrijednosti koeficijenata logističke regresije.

- Postoji statistički značajna korelacija između vrijednosti SEA-IgE i ukupnog serumskog IgE, odnosno sa povećanjem vrijednosti SEA-IgE povećava se mogućnost da će biti detektovane pozitivne vrijednosti ukupnog serumskog IgE, sa šansom od 146 (95% CI, 3,84 do 5618), Wald  $\chi^2(1) = 7,20$ ,  $p < 0,01$ .
- Postoji statistički značajna korelacija između vrijednosti SEA-IgE i vrijednosti VAS skora, odnosno sa povećanjem vrijednosti SEA-IgE smanjuje se mogućnost da će pacijenti imati VAS skor u kategoriji blago [0,12 (95% CI, 0,07 do 0,22), Wald  $\chi^2(1) = 52,24$ ,  $p < 0,01$ ], te raste mogućnost da će pacijenti imati VAS skor u kategoriji umjeren [1,33 (95% CI, 1,03 do 1,77), Wald  $\chi^2(1) = 4,88$   $p < 0,05$ ].

**Tabela 33.** Prediktivni značaj SEA-IgE na kliničke parametre dihotomnog karaktera

Zavisna varijabla	B	S.E.	Wald	df	p	Exp (B)	95% C.I. za EXP(B)	
							Donji	Gornji
<b>Astma</b>	0.18	0.57	0.10	1.00	0.75	1.20	0.39	3.68
<b>Prick test</b>	0.25	0.58	0.19	1.00	0.66	1.29	0.41	4.01
<b>Ukupni serumski IgE</b>	4.99	1.86	7.20	1.00	<b>0.01</b>	146.92	3.84	5618
<b>Bris srednjeg nosnog hodnika na <i>Staphylococcus aureus</i></b>	-0.63	1.60	0.15	1	0.69	1.87	0.08	43.86
<b>VAS skor-blago (ref. kategorija „teško“)</b>	-2.08	0.29	52.24	1.00	<b>0.00</b>	0.12	0.07	0.22
<b>VAS skor-umjeren (ref. kategorija „teško“)</b>	0.29	0.13	4.88	1.00	<b>0.03</b>	1.33	1.03	1.72
<b>IL-5 (2+)</b>	0.07	0.57	0.02	1.00	0.90	1.07	0.35	3.26
<b>IgE (2+)</b>	0.24	0.58	0.18	1.00	0.67	1.28	0.41	3.96
<b>Stepen inflamacije 2*</b>	0.34	0.59	0.33	1.00	0.57	1.40	0.44	4.46
<b>Stepen inflamacije 3**</b>	-0.48	0.61	0.60	1.00	0.44	0.62	0.19	2.07

Legenda: B – koeficijent logističke regresije; S.E. – standardna greška za B; Wald – vrijednost testa značajnosti koeficijenata logističke regresije; df – stepen slobode za Wald test; p – nivo značajnosti; Exp(B) – odds ratio ili relativni odnos šansi izloženosti/prisutnosti kliničke vrijednosti; 95% C.I. za EXP(B) – interval pouzdanosti za EXP(B). \* umjereni leukocitni infiltrat: 5-10; \*\* izraženi leukocitni infiltrat: više od 10 leukocita.

Linearna regresija, univariantna, korištena je kako bi se izračunao prediktivni značaj vrijednosti SEA-IgE na CT i endoskopski skor (Tabela 34). Statistički značajno visina SEA-IgE utiče na visinu CT skora,  $F(1, 111) = 7,13$ ,  $p < 0,01$ , gdje je  $R^2 = 25\%$ . Koeficijent B nam ukazuje da će se CT skor povećati za 2,68 ukoliko se vrijednost SEA-IgE poveća za 1.

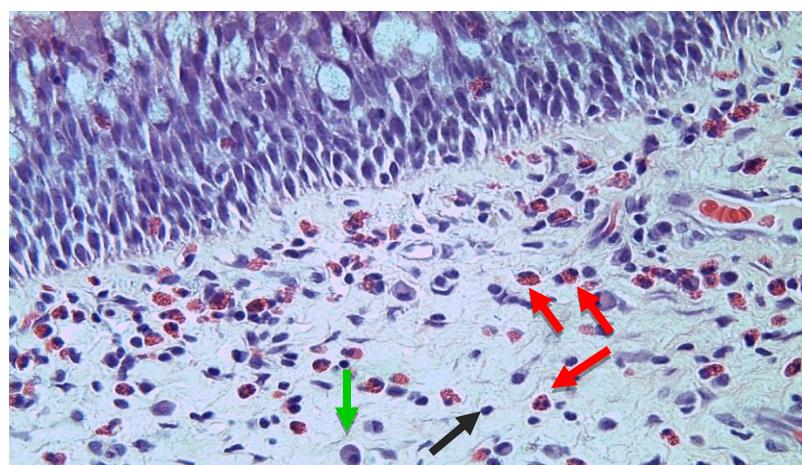
**Tabela 34.** Prediktivni značaj vrijednosti SEA-IgE na kliničke parametre intervalnog karaktera

Prediktor:	R <sup>2</sup>	B	S.E.	Beta	t	p	95% C.I. za EXP(B)	
Zavisna varijabla							Donji	Gornji
<b>Endoskopski skor</b>	14%	0.79	0.51	0.14	1.54	0.13	-0.23	1.81
<b>CT-skor</b>	25%	2.68	0.99	0.25	2.72	<b>0.01</b>	0.73	4.64

Legenda:  $R^2$  – procenat predviđenih vrijednosti zavisne varijable; B – koeficijent linearne regresije; S.E. – standardna greška za B; Beta – standardizovan koeficijenat regresije; t – test statističke značajnosti; p – nivo značajnosti; 95% C.I. za EXP(B) – interval pouzdanosti za EXP(B).

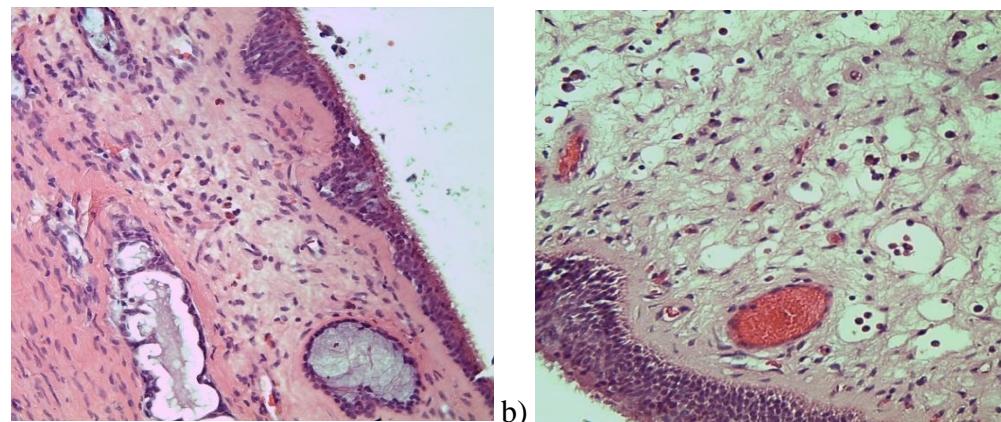
#### 4.14. Patohistološka analiza

Analizom je obuhvaćena morfološka struktura uzorka polipa (epitel, bazalna membrana i stroma) kod eksperimentalne grupe. Kod većine, 113 (94.1%) pacijenata, najčešća patohistološka karakteristika uzorka je: polipoidni fragmenti respiratorne sluznice su obloženi pseudostratifikovanim epitelom respiratornog tipa, sa fokalnim metaplastičnim višeslojnim i prelaznim epitelom, koji naliježe na zadebljalu bazalnu membranu i subepitelno rastresito vezivno tkivo. Izražen edem strome sa zapaljenskim infiltratom bogatim eozinofilima, u manjoj mjeri limfocita i plazmocita, te umnožene mukozne, cistično izmijenjene žlijezde, obložene cilindričnim i dijelom kuboidnim epitelom. Ovakav nalaz odgovara edematoznim, eozinofilnim ili polipima „alergijskog tipa“ (Slika 29).

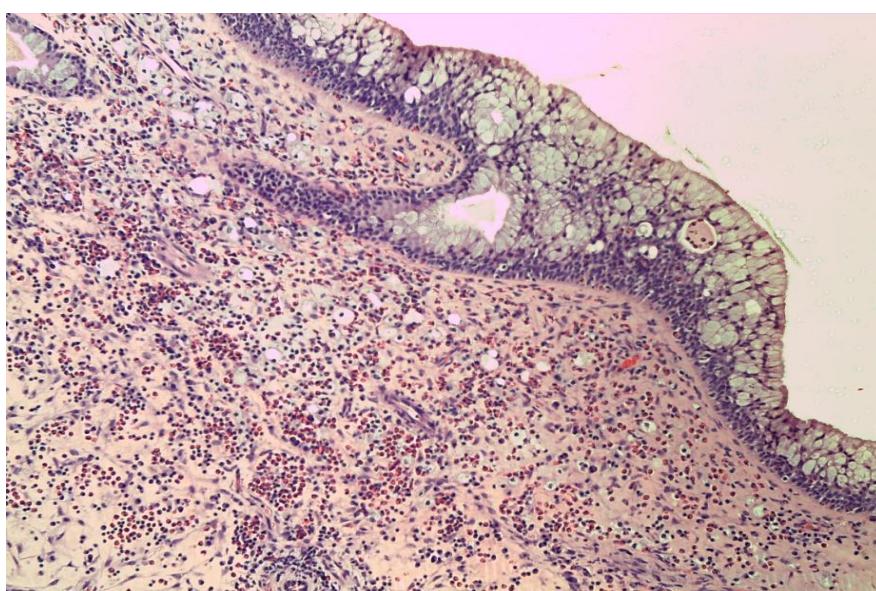


**Slika 29.** Hronični rinosinuzitis s nosnosinusnom polipozom. U stromi se nalazi gust leukocitni infiltrat, prevaga eozinofilnih granulocita u stromi i u epitelu (3+), HE x 200; crvena strelica - eozinofilni granulociti, zelena strelica - plazma ćelija, crna strelica - limfocit.

Kod 7 ( 5,8%) pacijenata, histološki nalaz je odgovarao hroničnim fibroinflamatornim polipima sa stromalnim edemom prožetim dominantno limfocitima i fibroblastima, te prisutnom hiperplazija seromukoznih žljezda. Patohistološka analiza je potvrdila nosnosinusnu polipozu sa prevagom eozinofila (Slika 29) kod većine pacijenata eksperimentalne grupe. Patohistološkom analizom smo utvrdili stepen inflamacije izražen kroz infiltrat leukocita: odsutan i oskudan stepen inflamacije (< 4 leukocita u stromi), umjeren stepen inflamacije (5-10 leukocita), izražen stepen inflamacije (> 10 leukocita) (Slike 30 i 31).



**Slika 30.** Hronični rinosinuzitis s nosnosinusnom polipozom, polip iz srednjeg nosnog hodnika. a) U stromi se nalazi rijedak leukocitni infiltrat (1+), b) u stromi se nalazi umjeren leukocitni infiltrat (2+) HE x 200.



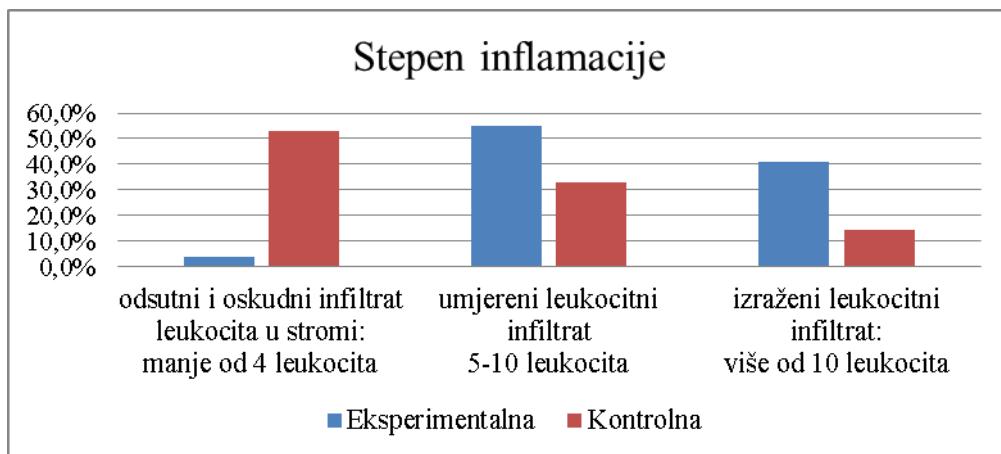
**Slika 31.** Hronični rinosinuzitis s nosnosinusnom polipozom, polip iz srednjeg nosnog hodnika. U stromi se nalazi izražen leukocitni infiltrat (3+), HE x 100; obilje eozinofila.

Analiza zastupljenosti stepena inflamacije i poređenje razlike u distribuciji eksperimentalne i kontrolne grupe (Tabela 35) utvrdila je statistički značajnu razliku,  $\chi^2 = 60,08$  (2);  $p < 0,01$ ; gdje su u eksperimentalnoj grupi dominantno više zastupljeni tkivni uzorci višeg stepena inflamacije, nasuprot kontrolne grupe u kojoj u više od 50% uzoraka tkiva ili nema ili ima oskudne infiltrate leukocita u stromi. Razlika u dristribuciji uočljiva je i na Slici 32.

**Tabela 35.** Zastupljenost ispitanika prema rezultatu ukupnog serumskog IgE

Stepen inflamacije N (%)	Eksperimentalna (N=120)	Kontrolna (N=70)	$\chi^2$ (df); p
	odsutni i oskudni infiltrati leukocita u stromi: manje od 4 leukocita	umjereni leukocitni infiltrati: 5-10 leukocita	izraženi leukocitni infiltrati: više od 10 leukocita
	5 (4,2)	37 (52,9)	60,08 (2); p<0,01
	66 (55,0)	23 (32,9)	
	49 (40,8)	10 (14,3)	

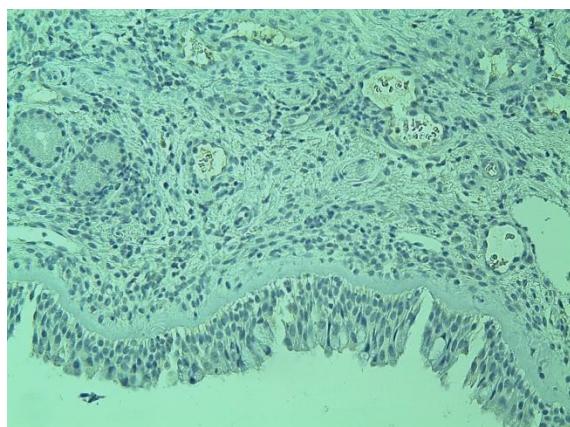
Legenda:  $\chi^2$  - Hi kvadrat; df – stepen slobode; p - nivo značajnosti



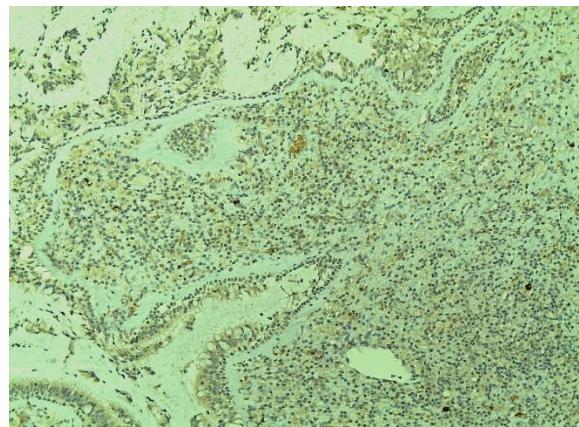
**Slika 32.** Zastupljenost stepena inflamacije unutar eksperimentalne i kontrolne grupe

#### 4.15. Imunohistohemijska ekspresija IL-5 i IgE

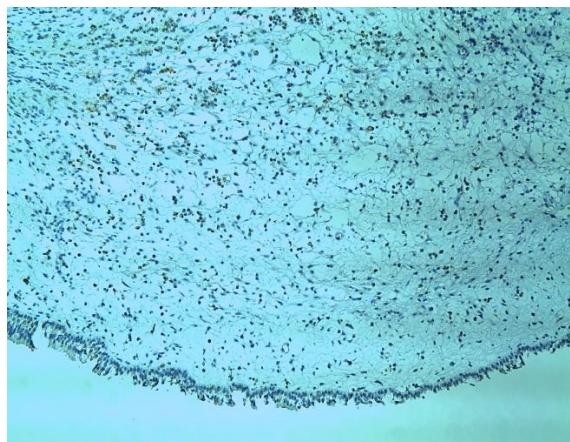
Imunohistohemijsku analizu svih uzoraka radio je jedan patolog. Ustanovljeno je da su svi uzorci reprezentativni. Prikazana je ekspresija IL-5 i IgE u tkivu prema formuli navedenoj u metodama  $R \leq 1$  - negativna imunohistohemijska ekspresija (0);  $R \geq 2 \leq 4$  - slabo pozitivna imunohistohemijska ekspresija (1+);  $R \geq 6 \leq 8$  - umjereno pozitivna imunohistohemijska ekspresija (2+);  $R \geq 9$  - izražena imunohistohemijska ekspresija (3+) (Slika 33-35).



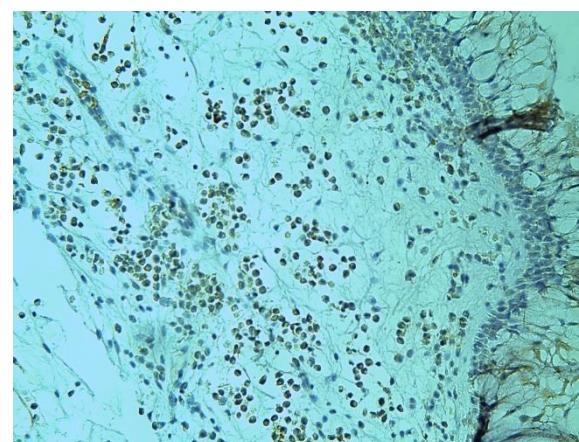
a)



b)

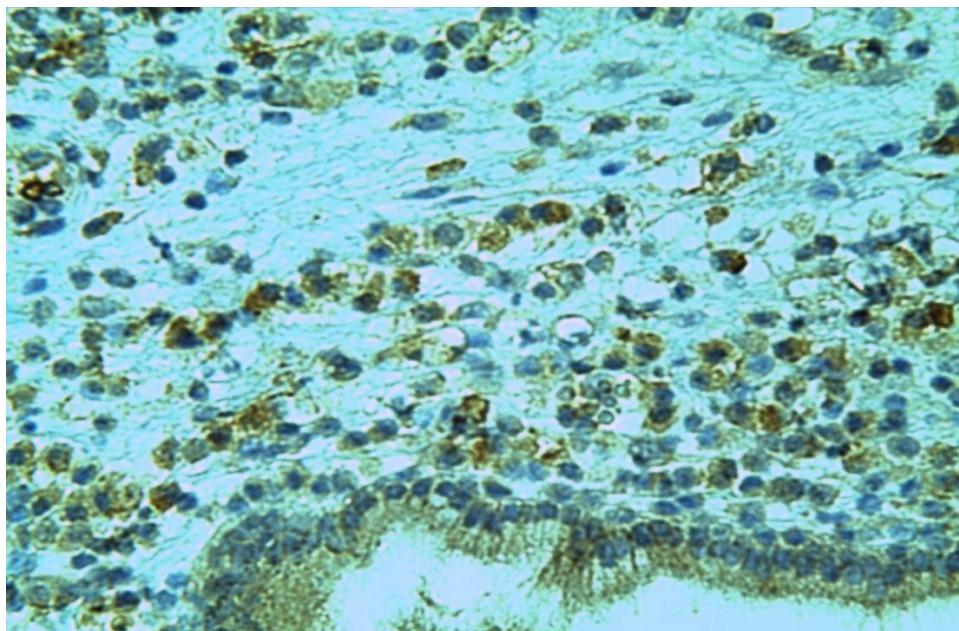


c)

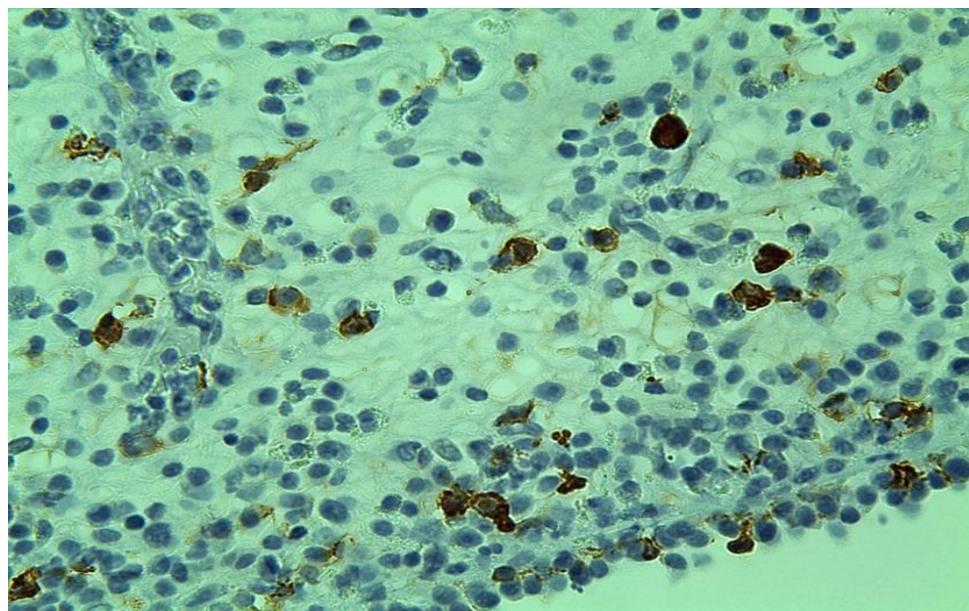


d )

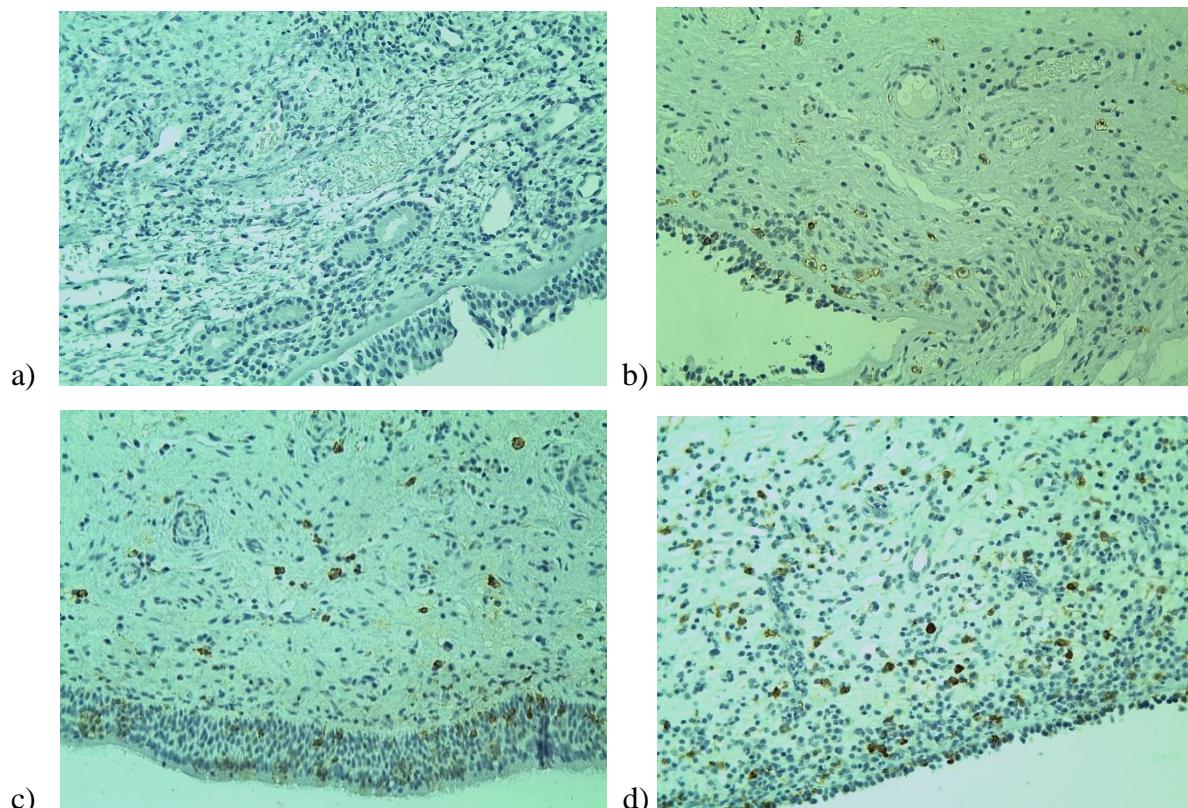
Slika 33. a) Respiratorna sluznica (kontrolna grupa). Odsutna ekspresija IL-5 u leukocitima smještenim u lamini proprijii (0), anti-HIL-5 x 200.b) Polip iz srednjeg nosnog hodnika. Nizak nivo ekspresije IL-5 u citoplazmi leukocita smještenih u stromi polipa (1+), anti-IL-5 x 100. c) Polip iz srednjeg nosnog hodnika. Umjereni nivo ekspresije IL-5 u citoplazmi leukocita smještenih u stromi polipa (2+), anti-IL-5 x 100. d) Polip iz srednjeg nosnog hodnika. Izražena ekspresija IL-5 u citoplazmi leukocita smještenih u stromi polipa (3+), anti-IL-5 x 200.



*Slika 34.* Polip iz srednjeg nosnog hodnika. Izražena ekspresija IL-5 u citoplazmi leukocita smještenih u stromi polipa (3+), anti-IL-5 x 400.



*Slika 35.* Polip iz srednjeg nosnog hodnika. Izražena ekspresija IgE u citoplazmi i na membrani leukocita smještenih u stromi polipa (3+), anti-IgE x 400.



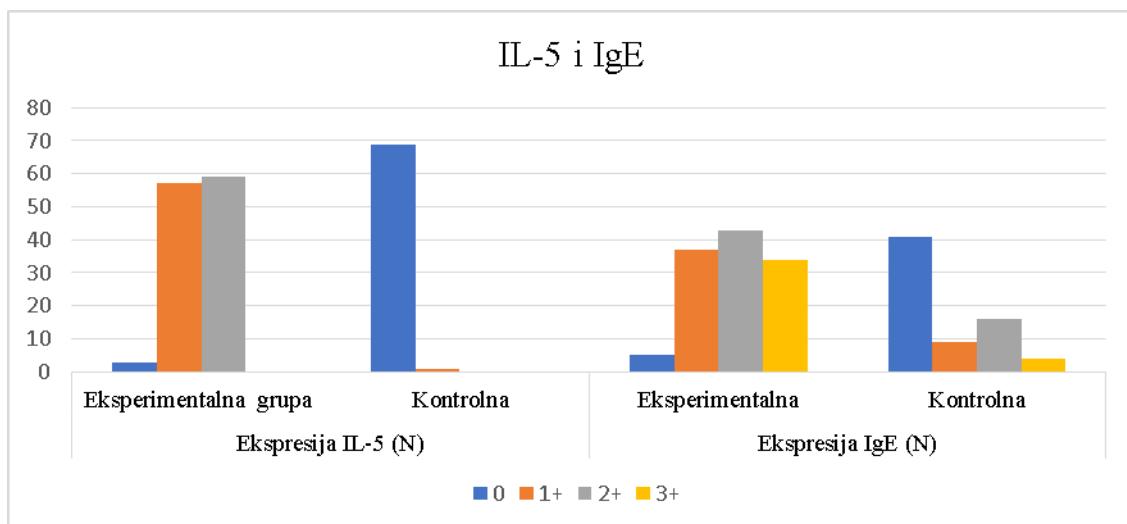
**Slika 36.** a) Respiratorna sluznica (kontrolna grupa). Odsutna ekspresija IgE u leukocitima smještenim u lamini propriji (0), anti- IgE x 200.b) Polip iz srednjeg nosnog hodnika. Nizak nivo ekspresije IgE u citoplazmi i na membrani leukocita smještenih u stromi polipa (1+), anti-IgE x 200. c) Polip iz srednjeg nosnog hodnika. Umjereni nivo ekspresije IgE u citoplazmi i na membrani leukocita smještenih u stromi polipa (2+), anti-IgE x 200. d) Polip iz srednjeg nosnog hodnika. Izražena ekspresija IgE u citoplazmi i na membrani leukocita smještenih u stromi polipa (3+), anti-IgE x 200.

Analizirajući imunohistohemijsku ekspresiju IL-5 i IgE u tkivu polipa, uočava se da je najveći broj ispitanika eksperimentalne grupe imao umjereno pozitivnu (2+) ekspresiju, dok je ekspresija IL-5 kod gotovo svih pacijenata kontrolne grupe bila negativna. Izražena ekspresija (3+) je registrovana u slučaju IgE, dok se ne registruje u slučaju IL-5. Pozitivna ekspresija IgE je dokazana kod 41,4 % pacijenata kontrolne grupe (Tabela 36 i Slika 37).

**Tabela 36.** Pregled brojčane distribucije rezultata za imunohistohemijsku ekspresiju IL-5 i IgE

	<b>negativan (0)</b>	<b>slabo pozitivan (1+)</b>	<b>umjereno pozitivan (2+)</b>	<b>izraženo pozitivan (3+)</b>
<b>IL-5 (N)</b>	Eks.	3	57	59
	Kon.	69	1	0
<b>IgE (N)</b>	Eks.	5	37	43
	Kon.	41	9	16
				34
				4

Legenda: e - eksperimentalna grupa; k - kontrolna grupa.  $R \leq 1$  - negativna imunohistohemijska ekspresija (0);  $R \geq 2 \leq 4$  - slabo pozitivna imunohistohemijska ekspresija (1+);  $R \geq 6 \leq 8$  - umjereno pozitivna imunohistohemijska ekspresija (2+);  $R \geq 9$  - Izražena imunohistohemijska ekspresija (3+)



*Slika 37. Distribucija imunohistohemijske ekspresije IL-5 između eksperimentalne i kontrolne grupe*

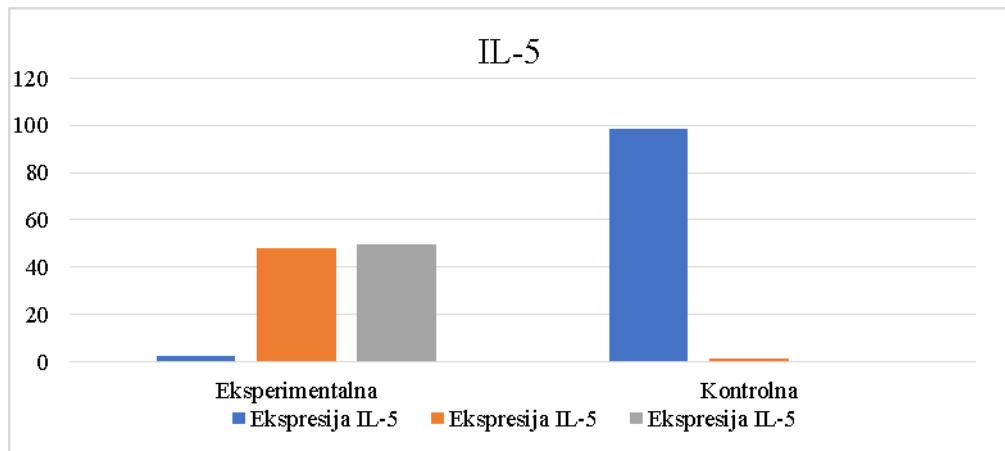
#### 4.15.1. Imunohistohemijska ekspresija IL-5

U ispitanoj grupi pacijenata, 49,6% ispitanika eksperimentalne grupe imalo je umjerenou pozitivnu imunohistohemijsku ekspresiju (2+), a 47,9% slabo pozitivnu (1+) ekspresiju IL-5. Negativnu ekspresiju IL-5 imalo je 98,6% ispitanika kontrolne grupe. Statistički značajno je bilo više pozitivne ekspresije IL-5 kod pacijenata u eksperimentalnoj u odnosu na kontrolnu grupu ( $\chi^2$  (2) =172,46; p<0,01) (Tabela 37 i Slika 38).

*Tabela 37. Zastupljenost ispitanika prema rezultatu imunohistohemijske ekspresije IL-5*

		Eksperimentalna	Kontrolna	$\chi^2$ (df); p
Ekspresija IL-5 N (%)	Negativan (0)	3 (2,5)	69 (98,6)	172,46 (2) p<0,01
	Slabo pozitivan (1+)	58 (47,9)	1 (1,4)	
	Umjerenou pozitivan (2+)	59 (49,6)	0 (0)	
	Izraženo pozitivan (3+)	0 (0)	0 (0)	

Legenda:  $\chi^2$  - Hi kvadrat; df – stepen slobode; p - nivo značajnosti



*Slika 38. Prikaz distribucije imunohistohemijske ekspresije IL-5 za grupe ispitanika*

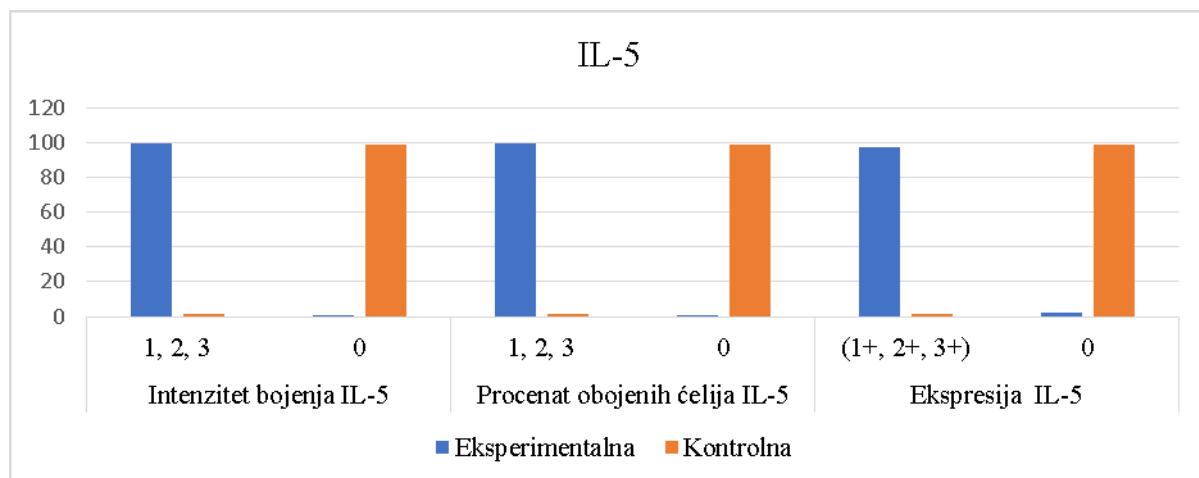
Tabela 38 sadrži prikaz odnosa pozitivnih i negativnih nalaza intenziteta bojenja, procenata obojenih ćelija, te imunohistohemijske ekspresije IL-5 između eksperimentalne i kontrolne grupe. Tako uočavamo statistički značajne razlike:

- između distribucije pacijenata eksperimentalne i kontrolne grupe u odnosu na nalaz intenziteta bojenja IL-5,  $\chi^2 (1) = 180,92$ ;  $p < 0,01$ . Odnosno 99,2% pacijenata eksperimentalne grupe imalo je pozitivan nalaz intenziteta bojenja (1, 2 i 3), a kontrolne 98,6% negativan nalaz.
- u broju pacijenata eksperimentalne i kontrolne grupe ( $\chi^2 (1) = 180,92$ ;  $p < 0,01$ ) u odnosu na procenat obojenih ćelija IL-5, gdje su u eksperimentalnoj grupi više bili zastupljeni ispitanici sa pozitivnim nalazom (99,2%).
- u distribuciji ekspresije IL-5 – u ispitanoj grupi pacijenata, 97,5% ispitanika eksperimentalne grupe je imalo pozitivnu, dok je 98,6% ispitanika kontrolne grupe imalo negativnu ekspresiju IL-5,  $\chi^2 (2) = 172,46$ ,  $p < 0,01$  (Slika 39).

**Tabela 38.** Poređenje distribucija nivoa intenziteta bojenja, procenata obojenih ćelija, te imunohistohemijske ekspresije IL-5 između eksperimentalne i kontrolne grupe

	Eksperimentalna	Kontrolna	$\chi^2$ (df); p
<b>Intenzitet bojenja IL-5 (N, %)</b>			180,92 (1)
(123)	119 (99,2)	1 (1,4)	p<0,01
<b>0</b>	1 (0,8)	69 (98,6)	
<b>Procenat obojenih ćelija IL-5 (N, %)</b>			180,92 (1)
(123)	119 (99,2)	1 (1,4)	p<0,01
<b>0</b>	1 (0,8)	69 (98,6)	
<b>Ekspresija IL-5 (N, %)</b>			172,46 (2)
(1+, 2+, 3+)	117 (97,5)	1 (1,4)	
<b>0</b>	3 (2,5)	69 (98,6)	p<0,01
<b>Pojedinačni sve pozitivne - ekspresije IL-5 (N, %)</b>			1,07 (1)
<b>1+</b>	58 (49,1)	1 (100)	
<b>2+</b>	59 (50,9)	0 (0)	p=0,469
<b>3+</b>	0 (0)	0 (0)	
<b>Ekspresija IL-5 svi pozitivni (N)</b>	117	1	-

Legenda:  $\chi^2$  - Hi kvadrat; df – stepen slobode; p - nivo značajnosti



**Slika 39.** Prikaz distribucije intenziteta bojenja IL-5, procenta bojenja IL-5, imunohistohemijske ekspresije IL-5 eksperimentalne i kontrolne grupe

#### 4.15.1.1. Razlike u distribuciji i korelacije u odnosu na imunohistohemijsku ekspresiju IL-5

**Astma.** U eksperimentalnoj grupi pacijenata, kod 63 ispitanika nije potvrđena astma, a kod 56 ispitanika jeste. Razlika dobijena analizom distribucije pacijenata prema prisutnosti astme u odnosu na ekspresiju IL-5 nije bila od statističkog značaja (Tabela 39).

**Tabela 39.** Distribucija prisutnosti astme u odnosu na imunohistohemijsku ekspresiju IL-5

		Ekspresija IL-5			$\chi^2$ (df); p
		0	1+	2+	
<b>Astma</b>	Nema	N	2	24	37
		%	66.7%	42.1%	62.7%
	Ima	N	1	33	22
		%	33.3%	57.9%	37.3%

Legenda  $\chi^2$  - Hi kvadrat; df – stepen slobode; p - nivo značajnosti

**Prick test.** U eksperimentalnoj grupi pacijenata, 53 ispitanika su imali negativan nalaz prick testa, a 67 ispitanika pozitivan test. Razlika dobijena analizom distribucije pacijenata eksperimentalne grupe u odnosu na nalaz prick testa prema ekspresiji IL-5, nije bila od statističkog značaja (Tabela 40).

**Tabela 40.** Distribucija nalaza prick testa u odnosu na imunohistohemijsku ekspresiju IL-5

		Ekspresija IL-5			$\chi^2$ (df); p
		0	1+	2+	
<b>Prick test</b>	Pozitivan	N	1	27	25
		%	33.3%	45.6%	42.4%
	Negativan	N	2	31	34
		%	66.7%	54.4%	57.6%

Legenda:  $\chi^2$  - Hi kvadrat; df – stepen slobode; p - nivo značajnosti

**Ukupni serumski IgE.** Pozitivan nalaz ukupnog serumskog IgE registrovan je kod 64 pacijenta, dok kod 56 ispitanika nismo detektovali pozitivne vrijednosti. Pacijenti koji su imali pozitivne vrijednosti IgE bili su brojčano više zastupljeni kod pacijenata sa slabom (1+) i umjerenom (2+) imunohistohemijskom ekspresijom IL-5. Razlika u distribuciji pacijenata u odnosu na nalaz ukupnog serumskog IgE prema ekspresiji IL-5 nije bila od statističkog značaja (Tabela 41).

**Tabela 41.** Distribucija nalaza ukupnog serumskog IgE u odnosu na imunohistohemijsku ekspresiju IL-5

		Ekspresija IL-5			$\chi^2$ (df); p
		0	1+	2+	
<b>ukupni IgE</b>	Negativan	N	1	27	28
		%	33.3%	47.4%	47.5%
	Pozitivan	N	2	30	32
		%	66.7%	52.6%	52.5%

Legenda:  $\chi^2$  - Hi kvadrat; df – stepen slobode; p - nivo značajnosti

**Endoskopski skor.** Kategorizacijom vrijednosti endoskpskog skora ispitanici eksperimentalne grupe razvrstani su u dvije kategorije, vrijednosti skora 5-8 (27 pacijenata) i 9-12 (93 pacijenta). Pacijenti koji su imali vrijednost endoskpskog skora 9-12 bili su brojčano više zastupljeni kod

pacijenata sa slabom (1+) i umjerenom (2+) imunohistohemijskom ekspresijom IL-5. Razlika u distribuciji pacijenata u odnosu na kategorije vrijednosti endoskopskog skora prema ekspresiji IL-5 nije bila od statističkog značaja (Tabela 42).

**Tabela 42.** Distribucija vrijednosti endoskopskog skora prema kategorijama u odnosu na imunohistohemijsku ekspresiju IL-5

Endoskopski skor		Ekspresija IL-5			$\chi^2$ (df); p
		0	1+	2+	
		N			
5-8			1	13	13 0,25 (2);
		%	33.3%	21.1%	22.0% 0,88
9 do 12		N	2	45	46
		%	66.7%	78.9%	78.0%

Legenda:  $\chi^2$  - Hi kvadrat; df – stepen slobode; p - nivo značajnosti

**CT-skor.** Kategorizacijom vrijednosti CT skora ispitanici eksperimentalne grupe razvrstani su u dvije kategorije, vrijednosti skora 9-16 (66 pacijenata) i 17-24 (54 pacijenta). Pacijenti koji su imali vrijednost CT skora 9-16 bili su brojčano više zastupljeni u grupi sa slabom (1+) i umjerenom (2+) imunohistohemijskom ekspresijom IL-5. Razlika u distribuciji pacijenata u odnosu na kategorije vrijednosti CT skora prema kategorijama vrijednosti ekspresije IL-5 nije bila od statističkog značaja (Tabela 43).

**Tabela 43.** Distribucija vrijednosti CT skora prema kategorijama u odnosu na imunohistohemijsku ekspresiju IL-5

CT- skor		Ekspresija IL-5			$\chi^2$ (df); p
		0	1+	2+	
		N			
9-16			2	34	30 0,71 (2);
		%	66.7%	57.9%	50.8% 0,68
17-24		N	1	24	29
		%	33.3%	42.1%	49.2%

Legenda:  $\chi^2$  - Hi kvadrat; df – stepen slobode; p - nivo značajnosti

**SEA-IgE.** Pacijenti sa najvišim vrijednostima SEA-IgE bili su brojčano više zastupljeni kod pacijenata sa umjerenom (2+) imunohistohemijskom ekspresijom IL-5 ( $M=0,14$ ). Statistički značajne razlike u srednjim vrijednostima SEA-IgE između ispitanika različitih nivoa ekspresije IL-5 nisu utvrđene (Tabela 44).

**Tabela 44.** Vrijednosti nivoa SEA-IgE u odnosu na imunohistohemijsku ekspresiju IL-5

Ekspresija IL-5	SEA-IgE					M Rank	$\chi^2$ (df); p
	M	SD	P25	Md	P75		
0	0.08	0.06	0.04	0.08	0.12	69.75	0.54 (2); 0.76
1+	0.13	0.30	0.02	0.04	0.09	55.25	
2+	0.14	0.31	0.01	0.04	0.12	58.21	

Legenda: M - aritmetička sredina; SD - standardna devijacija; P25 - 25ti percentil distribucije; Md - mediana; P75 - 75ti percentil distribucije; M rank - srednja vrijednost ranga u statističkoj obradi;

\* Kruskal-Wallis H test izražen u vrijednosti Hi kvadrata, df - stepena slobode i p - nivo značajnosti

**VAS skor.** Kategorizacija vrijednosti VAS skora razdvaja ispitanike eksperimentalne grupe u tri kategorije, blago (2 pacijenta), umjereni (69 pacijenata) i teško (48 pacijenata). Pacijenti koji su imali vrijednosti VAS skora u nivou vrijednosti "umjereni" bili su brojčano više zastupljeni među pacijentima sa slabom (1+) i umjerenom (2+) imunohistohemijskom ekspresijom IL-5. Razlika analize distribucije pacijenata eksperimentalne grupe u odnosu na kategorije vrijednosti VAS skora prema imunohistohemijskoj ekspresiji IL-5 nije bila od statističkog značaja (Tabela 45).

**Tabela 45.** Distribucija vrijednosti VAS skora prema imunohistohemijskoj ekspresiji IL-5

VAS skor	Blago	Ekspresija IL-5			$\chi^2$ (df); p
		0	1+	2+	
Umjereni	N	0	1	1	1,273 (2); p= 0.866
	%	0.0%	1.8%	1.7%	
Teško	N	1	35	33	
	%	33.3%	61.4%	55.9%	
Teško	N	2	22	25	
	%	66.7%	36.8%	42.4%	

Legenda:  $\chi^2$  - Hi kvadrat; df - stepen slobode; p - nivo značajnosti

**Zastupljenost *Staphylococcus aureus* u brisu srednjeg nosnog hodnika.** Ukupno 10 pacijenata eksperimentalne grupe imalo je pozitivan nalaz *Staphylococcus aureus* u brisu srednjeg nosnog hodnika. Pacijenti koji su imali negativan nalaz brisa bili su brojčano više zastupljeni među pacijentima sa slabom (1+) i umjerenom (2+) imunohistohemijskom ekspresijom IL-5. Nije bilo statistički značajne razlike u distribuciji vrijednosti nalaza brisa srednjeg nosnog hodnika između nivoa ekspresije IL-5 (Tabela 46).

**Tabela 46.** Distribucija nalaza brisa srednjeg nosnog hodnika na *Staphylococcus aureus* u odnosu na imunohistohemijsku ekspresiju IL-5

Staphylococcus aureus u brisu srednjeg nosnog hodnika,		Ekspresija IL-5			$\chi^2$ (df); p	
		0	1+	2+		
		N	%	N	%	
Negativan		2	66.7%	53	93.0%	2,565 (2); p= 0.277
		55	91.5%			
Pozitivan		1	33.3%	4	7.0%	8.5%
		5				

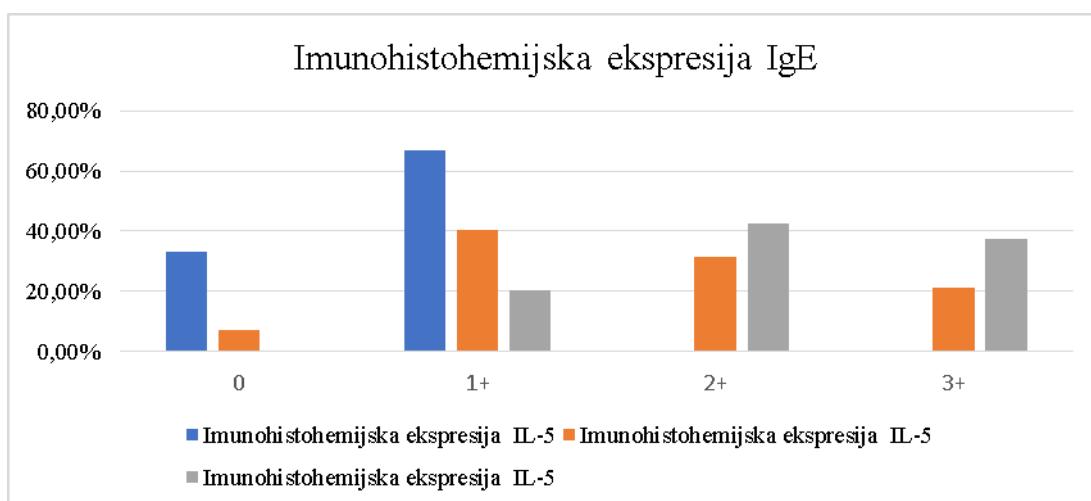
Legenda:  $\chi^2$  - Hi kvadrat; df – stepen slobode; p- nivo značajnosti

**Imunohistohemijska ekspresija IgE.** Analiza razlike u distribuciji imunohistohemijske ekspresije IgE i ekspresije IL-5 pokazala je da postoji statistički značajna razlika po nivoima,  $\chi^2$  (6) = 20,20;  $p < 0,01$ . Uočavamo da su na umjerenom (2+) nivou ekspresije IL-5 dominantno prisutni pacijenti sa umjerenim (2+) i izraženim (3+) nivoom ekspresije IgE, dok je na slabom (1+) nivou ekspresije IL-5 najviše pacijenata sa slabim (1+) i umjerenim (2+) nivoom ekspresije IgE. Spearman-ovom korelacijom utvrđena je pozitivna korelacija, tako da „više“ nivoje ekspresije IgE možemo očekivati u „višim“ nivoima ekspresije IL-5 (Tabela 47 i Slika 40).

**Tabela 47.** Distribucija nalaza imunohistohemijske ekspresije IgE u odnosu na ekspresiju IL-5

Ekspresija IgE		Ekspresija IL-5			Statistika	
		0	1+	2+	Razlike: $\chi^2$ (df); p	Korelacija: Spearman rho
0		N	1	4	0	20,202 (6); p<0,01
		%	33.3%	7.0%	0.0%	
1+		N	2	23	12	
		%	66.7%	40.4%	20.3%	
2+		N	0	19	25	
		%	0.0%	31.6%	42.4%	
3+		N	0	12	22	
		%	0.0%	21.1%	37.3%	

Legenda:  $\chi^2$  - Hi kvadrat; df – stepen slobode; p - nivo značajnosti; \*\*  $p < 0.01$



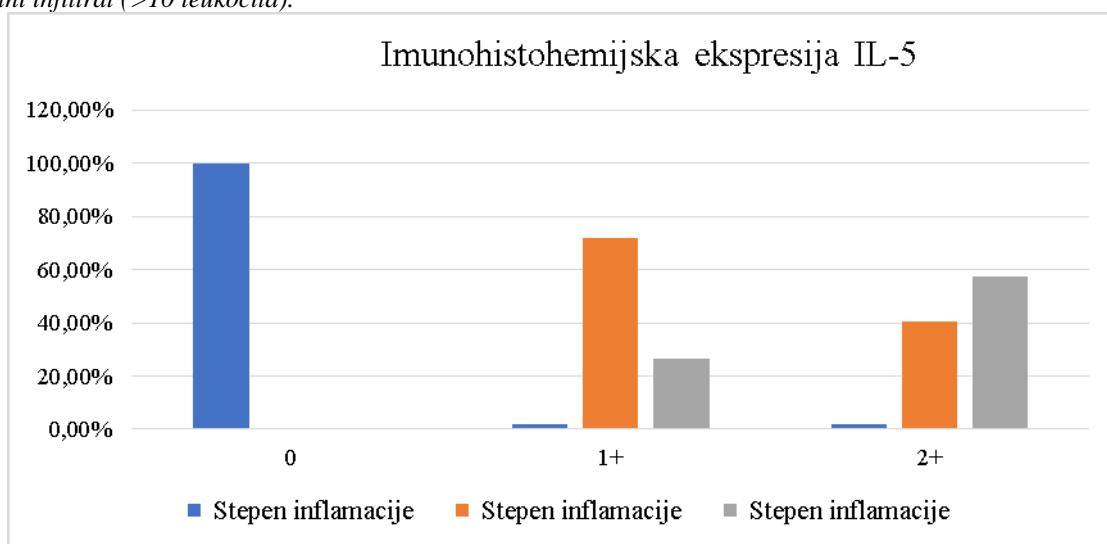
**Slika 40.** Prikaz distribucije imunohistohemijske ekspresije IgE u odnosu na ekspresiju IL-5

**Stepen inflamacije.** Analiza razlike u distribuciji nivoa stepena inflamacije u tkivu polipa između imunohistohemijske ekspresije IL-5 pokazala nam je da postoji statistički značajna razlika u broju pacijenata po nivoima,  $\chi^2 (4) = 82,25$ ;  $p < 0,01$ , odnosno značajno veći broj pacijenata sa izraženim leukocitnim infiltratom ima umjeren (2+) nivo ekspresije IL-5. Ispitujući vezu nivoa stepena inflamacije i imunohistohemijske ekspresije IL-5, Spearmanovom korelacijom je utvrđena pozitivna korelacija, tako da „viši“ stepen inflamacije možemo očekivati u višim nivoima ekspresije IL-5 (Tabela 48 i Slika 41).

**Tabela 48.** Distribucija pacijenata prema stepenu inflamacije u odnosu na imunohistohemijsku ekspresiju IL-5

Stepen inflamacije	Ekspresija IL-5			Statistika Razlike: $\chi^2$ (df); p	Korelacija: Spearman rho
	0	1+	2+		
<b>odsutni i oskudni infiltrati leukocita u stromi</b>	N %	3 100.0%	1 1.8%	1 1.7%	82,25 (4); $p < 0,01$
<b>umjereni leukocitni infiltrat</b>	N %	0 0.0%	42 71.9%	24 40.7%	
<b>izraženi leukocitni infiltrat</b>	N %	0 0.0%	15 26.3%	34 57.6%	

Legenda:  $\chi^2$  - Hi kvadrat; df - stepen slobode; p - nivo značajnosti. Odsutni i oskudni infiltrati leukocita u stromi (< 4 leukocita), umjereni leukocitni infiltrat (5-10 leukocita), umjereni leukocitni infiltrat (5-10 leukocita), izraženi leukocitni infiltrat (>10 leukocita).



**Slika 41.** Prikaz distribucije stepena inflamacije u odnosu na imunohistohemijsku ekspresiju IL-5

#### 4.15.1.2. Prediktivni značaj imunohistohemijske ekspresije IL-5

Binarna logistička regresija korištena je kako bismo utvrdili prediktivni značaj umjerene (2+) imunohistohemijske ekspresije IL-5, pojedinačno na pojavu odnosno postojanje kliničkih parametara dihotomnog karaktera. U Tabeli 49 prikazane su prediktorske vrijednosti koeficijenata logističke regresije imunohistohemijske ekspresije IL-5 na pozitivan nalaz astme, *prick* testa, ukupnog serumskog IgE i pozitivnog brisa srednjeg nosnog hodnika, na *Staphylococcus aureus*. Uočavamo da umjereni pozitivna (2+) imunohistohemijska ekspresija IL-5 ima prediktorski značaj na negativan bris srednjeg nosnog hodnika na *Staphylococcus aureus*, Wald (1) = 24,83, p<0,01. Vrijednost Exp (B) od 0,08, te negativna vrijednost koeficijenta regresije B (-2,58) ukazuje na to da je vjerovatnoća da će pacijenti sa umjereni pozitivnom (2+) imunohistohemijskom ekspresijom IL-5 imati negativan nalaz brisa srednjeg nosnog hodnika na *Staphylococcus aureus* za 0,08 puta veća nego da će imati pozitivan nalaz brisa.

**Tabela 49.** Prediktivni značaj umjerene (2+) i izražene (3+) imunohistohemijske ekspresije IL-5 na kliničke parametre dihotomnog karaktera

Zavisna varijabla	Prediktor nivo IL-5	B	S.E.	Wald	df	p	Exp(B)	95% C.I. za EXP(B)	
								Donji	Gornji
<b>Astma</b>	Slabo pozitivan	-0,69	1,22	0,32	1,00	0,57	0,50	0,05	5,51
	Umjereno pozitivan	0,32	0,27	1,41	1,00	0,24	1,37	0,81	2,33
<b>Prick test</b>	Slabo pozitivan	0,69	1,22	0,32	1,00	0,57	2,00	0,18	22,06
	Umjereno pozitivan	0,18	0,27	0,44	1,00	0,51	1,19	0,71	2,01
<b>Ukupni IgE</b>	Slabo pozitivan	0,69	1,22	0,32	1,00	0,57	2,00	0,18	22,06
	Umjereno pozitivan	0,11	0,27	0,16	1,00	0,69	1,11	0,66	1,87
<b>Bris srednjeg nosnog hodnika na</b>	Slabo pozitivan	-0,69	1,22	0,32	1,00	0,57	0,50	0,05	5,51
	Umjereno pozitivan	-2,58	0,52	24,83	1,00	<b>0,00</b>	0,08	0,03	0,21
<b><i>Staphylococcus aureus</i></b>									

Legenda: B – koeficijent logističke regresije; S.E. – standardna greška za B; Wald – vrijednost testa značajnosti koeficijenata logističke regresije; df – stepen slobode za Wald test; p – nivo značajnosti; Exp(B) – odds ratio ili relativni odnos šansi izloženosti/prisutnosti kliničke vrijednosti; 95% C.I. za EXP(B) – interval pouzdanosti za EXP(B).

Linearna regresija, univariatna, korištena je kako bi se izračunao prediktivni nivo imunohistohemijske ekspresije IL-5 na zavisne varijable VAS skor, CT skor, endoskopski skor i SEA-IgE. Da bi se predvidjela visina endoskopskog skora pacijenata u zavisnosti od nivoa ekspresije IL-5, korišten je regresioni model koji je statistički značajan  $F(1, 118) = 697,15$ ,  $p < 0,01$ ,  $R^2 = 85\%$ . Postoji statistički značajna prediktivna korelacija između endoskopskog skora i ekspresije IL-5, odnosno koeficijent B ukazuje na to da će se endoskopski skor povećati za 6,05 kada se kategorija imunohistohemijska ekspresija IL-5 poveća za jedan nivo. Takođe, ekspresija IL-5 utiče i na visinu VAS skora,  $F(1, 118) = 619,03$ ,  $p < 0,01$ ,  $R^2 = 84\%$ . Postoji statistički značajna prediktivna korelacija između VAS skora i ekspresije IL-5, odnosno koeficijent B ukazuje na to da će se VAS skor povećati za 1,43 nivo kada se kategorija imunohistohemijska ekspresija IL-5 poveća za jedan nivo. Statistički značajno ekspresija IL-5 utiče i na visinu CT skora,  $F(1, 118) = 719,17$ ,  $p < 0,01$ ,  $R^2 = 86\%$ . Postoji statistički značajna prediktivna korelacija između CT skora i imunohistohemijske ekspresije IL-5, odnosno koeficijent B ukazuje na to da će se CT skor povećati za 9,74 kada se kategorija imunohistohemijska ekspresija IL-5 poveća za jedan nivo. Da bismo predvidjeli visinu SEA-IgE pacijenata u zavisnosti od ekspresije IL-5, regresiona analiza je bila statistički značajna  $F(1, 113) = 19,52$ ,  $p < 0,01$ ,  $R^2 = 14\%$ . Postoji statistički značajna prediktivna korelacija između SEA-IgE i imunohistohemijske ekspresije IL-5, odnosno koeficijent B ukazuje na to da će se vrijednost

SEA-IgE povećati za 0,08 kada se kategorija imunohistohemijska ekspresija IL-5 poveća za jedan nivo (Tabela 50).

**Tabela 50.** Prediktivni značaj imunohistohemijske ekspresije IL-5 na kliničke parametre intervalnog karaktera

Prediktor: ekspresija IL-5	R <sup>2</sup>	B	S.E.	Beta	t	p	95% C.I. za EXP(B)	Donji	Gornji
<b>Zavisna varijabla</b>									
<b>Endoskopski skor</b>	85%	6.05	0.23	0.92	26.42	<b>p&lt;0,01</b>	5.59	6.50	
<b>VAS skor</b>	84%	1.43	0.06	0.92	24.88	<b>p&lt;0,01</b>	1.43	0.06	
<b>CT-skor</b>	86%	9.74	0.36	0.93	26.81	<b>p&lt;0,01</b>	9.02	10.46	
<b>SEA-IgE</b>	14%	0.08	0.02	0.39	4.42	<b>p&lt;0,01</b>	0.04	0.12	

Legenda: R<sup>2</sup> – procenat predviđenih vrijednosti zavisne varijable; B – koeficijent logističke regresije; S.E. – standardna greška za B; Beta - standardizovani koeficijent logističke regresije; t – test statističke značajnosti ; p – nivo značajnosti; 95% C.I. za EXP(B) – interval pouzdanosti za EXP(B).

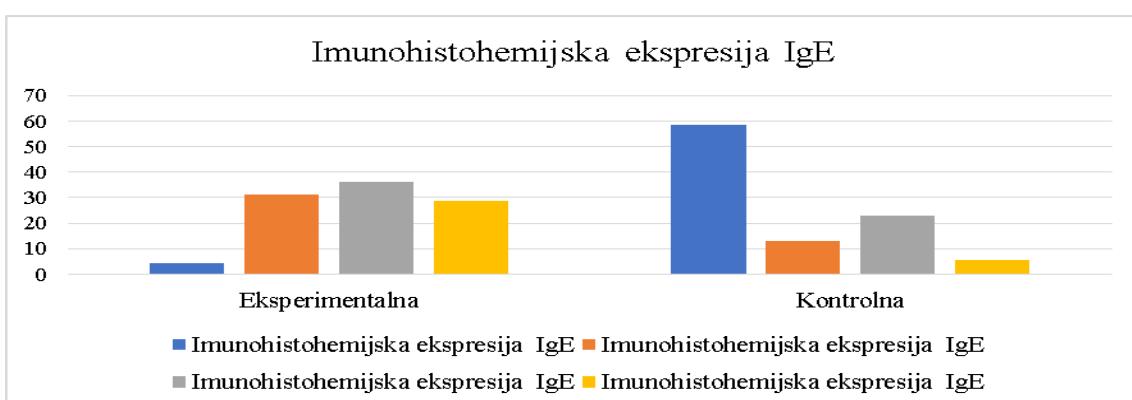
#### 4.15.2. Imunohistohemijska ekspresija IgE

Rezultat  $\chi^2$  analize pokazuje da postoji statistički značajna razlika u distribuciji ispitanika kontrolne i eksperimentalne grupe ( $\chi^2 (3) = 73,49$ ; p<0,01), prema imunohistohemijskoj ekspresiji IgE. Pozitivna ekspresija IgE je statistički značajno češće zastupljena kod pacijenata eksperimentalne grupe (Tabela 51 i Slika 42).

**Tabela 51.** Zastupljenost ispitanika prema imunohistohemijskoj ekspresiji IgE

Ekspresija IgE	N (%)	Eksperimentalna	Kontrolna	$\chi^2$ (df); p
Negativan (0)		5 (4,2)	41 (58,6)	73,49 (3)
Slabo pozitivan (1+)		37 (31,1)	9 (12,9)	p<0,001
Umjereno pozitivan (2+)		43 (36,1)	16 (22,9)	
Izraženo pozitivan (3+)		34 (28,6)	4 (5,7)	

Legenda:  $\chi^2$  - Hi kvadrat; df – stepen slobode; p - nivo značajnosti. Negativan (0)- R ≤ 1, slabo pozitivna (1+)- R ≥ 2 ≤ 4 , umjereno pozitivna (2+)-R ≥ 6 ≤ 8, izraženo pozitivna (3+)-R ≥ 9.



**Slika 42.** Prikaz distribucije imunohistohemijske ekspresije IgE za grupe ispitanika

Tabela 52 obuhvata prikaz odnosa pozitivnih i negativnih nalaza intenziteta bojenja, procenata obojenih ćelija, te imunohistohemijske ekspresije IgE između eksperimentalne i kontrolne grupe. Uočene su statistički značajne razlike:

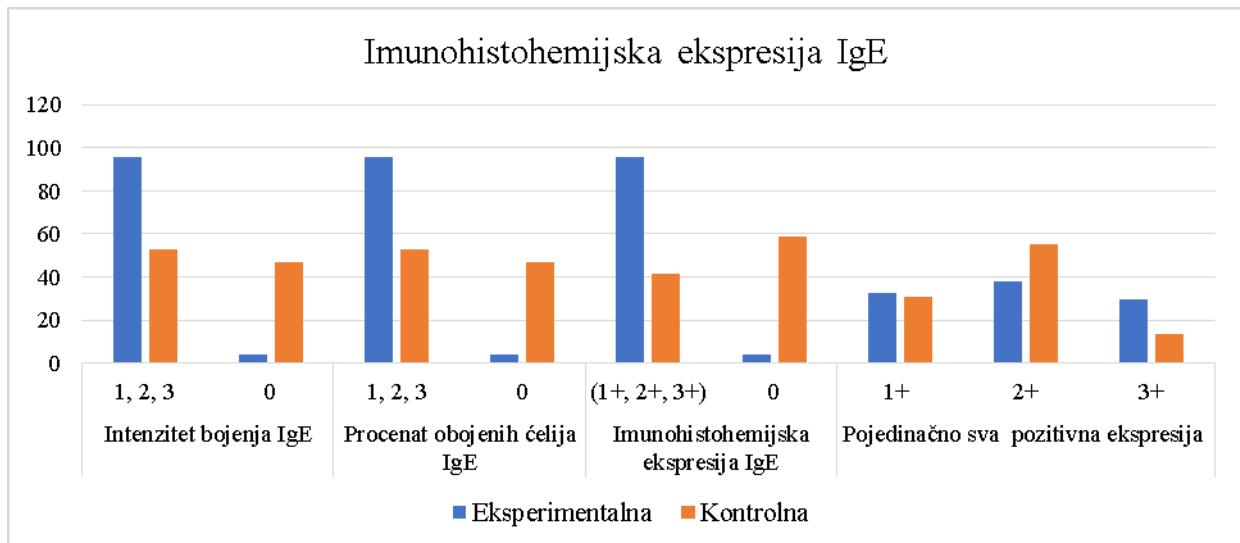
- između distribucije pacijenata eksperimentalne i kontrolne grupe u odnosu na pozitivnost nalaza intenziteta bojenja IgE,  $\chi^2(1) = 50,59$ ;  $p < 0,01$ . Pozitivan nalaz uočen je kod 95,8% pacijenata eksperimentalne grupe (1, 2 i 3), te kod 52,9% kontrolne grupe.
- u broju pacijenata eksperimentalne i kontrolne grupe u odnosu na procenat obojenih ćelija IgE,  $\chi^2(1) = 50,59$ ;  $p < 0,01$ . U eksperimentalnoj grupi više su bili zastupljeni ispitanici sa pozitivnim nalazom (95,8).
- u distribuciji imunohistohemijske ekspresije IgE. 98,5% ispitanika eksperimentalne grupe imalo je pozitivnu imunohistohemijsku ekspresiju IgE, u odnosu na 41,4% ispitanika kontrolne grupe,  $\chi^2(1) = 70,75$ ;  $p < 0,01$ .

Razlika dobijena analizom distribucije pacijenata eksperimentalne i kontrolne grupe u odnosu na distribuciju pozitivnih imunohistohemijskih ekspresija IgE, nije bila od statističkog značaja (Slika 43).

**Tabela 52.** Poređenje distribucija nivoa intenziteta bojenja, procenata obojenih ćelija, te imunohistohemijske ekspresije IgE između eksperimentalne i kontrolne grupe

	Eksperimentalna	Kontrolna	$\chi^2(df); p$
<b>Intenziteta bojenja IgE (N, %)</b> <b>(123)</b> <b>0</b>	115 (95,8) 5 (4,2)	37 (52,9) 33 (47,1)	50,59 (1); $p < 0,01$
<b>Procenata obojenih ćelija IgE (N, %)</b> <b>(123)</b> <b>0</b>	115 (95,8) 5 (4,2)	37 (52,9) 33 (47,1)	50,59 (1); $p < 0,01$
<b>Ekspresija IgE (N, %)</b> <b>(1+, 2+, 3+)</b> <b>0</b>	115 (98,5) 5 (4,2)	29 (41,4) 41 (58,6)	70,75 (1); $p < 0,01$
<b>Pojedinačno sve pozitivne ekspresije IgE (N, %)</b>			
<b>1+</b>	37 (32,5)	9 (31,0)	
<b>2+</b>	44 (37,7)	16 (55,2)	3,96 (2);
<b>3+</b>	34 (29,8)	4 (13,8)	$p = 0,138$
<b>Ekspresija IgE - svi pozitivni (N)</b>	115	29	-

Legenda:  $\chi^2$  - Hi kvadrat; df - stepen slobode; p - nivo značajnosti



**Slika 43.** Prikaz distribucije intenziteta bojenja IgE, procenta bojenja IgE, imunohistohemijska ekspresija IgE eksperimentalne i kontrolne grupe

#### 4.15.2.1. Razlike u distribuciji i korelacije u odnosu na imunohistohemijsku ekspresiju IgE

**Astma.** U kategoriji umjerene (2+) i izraženo pozitivne (3+) imunohistohemijske ekspresije IgE više su bili zastupljeni pacijenti koji nemaju astmu. Razlika dobijena analizom distribucije pacijenata prema prisutnosti astme u odnosu na ekspresiju IgE nije bila od statističkog značaja (Tabela 53).

**Tabela 53.** Distribucija prisutnosti astme u odnosu na imunohistohemijsku ekspresiju IgE

Astma	Ekspresija IgE				$\chi^2$ (df); p
	0	1+	2+	3+	
<b>Nema</b>	N	2	15	26	20
	%	40.0%	40.5%	60.5%	58.8% p=0,254
<b>Ima</b>	N	3	22	18	14
	%	60.0%	59.5%	39.5%	41.2%

Legenda:  $\chi^2$  - Hi kvadrat; df – stepen slobode; p - nivo značajnosti

**Prick test.** Umjerena (2+) imunohistohemijska ekspresija IgE bila je više zastupljena kod pacijenata sa negativnim nalazom prick testa (53,5%), dok su u grupi sa izraženo pozitivnom (3+) ekspresijom IgE najviše bili zastupljeni pacijenti sa pozitivnim nalazom prick testa (42,9%). Razlika dobijena analizom distribucije pacijenata eksperimentalne grupe u odnosu na nalaz prick testa nije bila od statističkog značaja (Tabela 54).

**Tabela 54.** Distribucija vrste nalaza prick testa u odnosu na imunohistohemijsku ekspresiju IgE

Prick test	Ekspresija IgE				$\chi^2$ (df); p	
	0	1+	2+	3+		
<b>Pozitivan</b>	N	2	12	21	18	3,255 (3); p=0,354
	%	40.0%	32.4%	46.5%	52.9%	
<b>Negativan</b>	N	3	25	23	16	
	%	60.0%	67.6%	53.5%	47.1%	

Legenda:  $\chi^2$  - Hi kvadrat; df – stepen slobode; p - nivo značajnosti

**Ukupni serumski IgE.** Pozitivan nalaz ukupnog serumskog IgE zabilježen je kod 60,5% pacijenata sa umjerenom (2+), te kod 52,9% pacijenata sa izraženom (3+) imunohistohemijskom ekspresijom IgE u tkivu polipa. Razlika analize distribucije pacijenata u odnosu na nalaz ukupnog serumskog IgE, prema ekspresiji IgE, nije bila statistička značajna (Tabela 55).

**Tabela 55.** Distribucija zastupljenosti ukupnog serumskog IgE u odnosu na imunohistohemijsku ekspresiju IgE

ukupni IgE	Ekspresija IgE				$\chi^2$ (df); p	
	0	1+	2+	3+		
<b>Pozitivan</b>	N	3	20	17	16	2,04 (3); p=0,564
	%	60.0%	54.1%	39.5%	47.1%	
<b>Negativan</b>	N	2	17	27	18	
	%	40.0%	45.9%	60.5%	52.9%	

Legenda:  $\chi^2$  - Hi kvadrat; df – stepen slobode; p- nivo značajnosti

**Endoskopski skor.** Pacijenti sa umjerenom i izraženom imunohistohemijskom ekspresijom IgE bili su češće zastupljeni u grupi pacijenata sa vrijednostima endoskopskog skora 9-12 (83,7% i 73,5%). Razlika analize distribucije pacijenata u odnosu na kategorije vrijednosti endoskopskog skora prema ekspresiji IgE nije bila statistički značajna (Tabela 56).

**Tabela 56.** Distribucija kategorije endoskopskog skora u odnosu na imunohistohemijsku ekspresiju IgE

	Endoskopski skor	Ekspresija IgE				$\chi^2$ (df); p	
		0	1+	2+	3+		
5 do 8		N	0	10	8	9	3,18 (3); 0,36
		%	0.0%	27.0%	16.3%	26.5%	
9 do 12		N	5	27	36	25	
		%	100.0%	73.0%	83.7%	73.5%	

Legenda:  $\chi^2$  - Hi kvadrat; df – stepen slobode; p - nivo značajnosti

**CT-skor.** Pacijenti sa umjerenom i izraženom imunohistohemijskom ekspresijom IgE bili su češće zastupljeni u grupi pacijenata sa vrijednostima CT skora 17-24 (53,5% i 52,9%). Razlika analize distribucije pacijenata u odnosu na kategorije vrijednosti CT skora, prema ekspresiji IgE, nije bila od statističkog značaja (Tabela 57).

**Tabela 57. Distribucija vrijednosti CT skora prema imunohistohemijskoj ekspresiji IgE**

			Ekspresija IgE				$\chi^2$ (df); p
			0	1+	2+	3+	
<b>CT- skor</b>	9 do 16	N	3	26	21	16	5,64 (3); 0,13
		%	60.0%	70.3%	46.5%	47.1%	
	17 do 24	N	2	11	23	18	
		%	40.0%	29.7%	53.5%	52.9%	

Legenda:  $\chi^2$  - Hi kvadrat; df – stepen slobode; p- nivo značajnosti

**VAS skor.** Razlika analize distribucije pacijenata eksperimentalne grupe u odnosu na kategorije vrijednosti VAS skora prema imunohistohemijskoj ekspresiji IgE nije bila od statističkog značaja (Tabela 58).

**Tabela 58. Distribucija vrijednosti VAS skora prema imunohistohemijskoj ekspresiji IgE**

VAS skor		Ekspresija IgE				$\chi^2$ (df); p
		0	1+	2+	3+	
<b>Blago</b>	N	0	2	0	0	9,46 (6); p=0,150
	%	0.0%	5.4%	0.0%	0.0%	
<b>Umjерено</b>	N	3	22	20	24	
	%	60.0%	59.5%	46.5%	70.6%	
<b>Teško</b>	N	2	13	24	10	
	%	40.0%	35.1%	53.5%	29.4%	

Legenda:  $\chi^2$  - Hi kvadrat; df – stepen slobode; p - nivo značajnosti

**Bris srednjeg nosnog hodnika na *Staphylococcus aureus*.** Pacijenti sa umjerenom i izraženom imunohistohemijskom ekspresijom IgE bili su statistički značajno češće zastupljeni u grupi pacijenata sa negativnim nalazom brisa na *Staphylococcus aureus* (93% i 82%),  $\chi^2$  (3) = 8,15, p<0,05 (Tabela 59).

**Tabela 59.** Distribucija nalaza brisa srednjeg nosnog hodnika na *Staphylococcus aureus* u odnosu na imunohistohemijsku ekspresiju IgE

Bris srednjeg nosnog hodnika na <i>Staphylococcus aureus</i>	Ekspresija IgE				$\chi^2$ (df); p	
	0	1+	2+	3+		
<b>Negativan</b>	N	4	37	41	28	8,15 (3); p<0,05
	%	80.0%	100.0%	93.0%	82.4%	
<b>Pozitivan</b>	N	1	0	3	6	
	%	20.0%	0.0%	7.0%	17.6%	

Legenda:  $\chi^2$  - Hi kvadrat; df – stepen slobode; p - nivo značajnosti

**SEA-IgE.** Najviše vrijednosti SEA-IgE ( $M=0,20$ ) uočene su kod pacijenata sa umjerenom (2+) imunohistohemijskom ekspresijom IgE, te najniže vrijednosti kod negativne ekspresije IgE. Statistički značajne razlike u srednjim vrijednostima SEA-IgE između ispitanika različitih nivoa ekspresije IgE nisu utvrđene (Tabela 60).

**Tabela 60.** Vrijednosti nivoa SEA-IgE u odnosu na imunohistohemijsku ekspresiju IgE

Nivo imunoreaktivnosti IgE	SEA-IgE					M Rank	$\chi^2$ (df); p
	M	SD	P25	Md	P75		
0	0	0,03	0,01	0,03	0,04	0,04	43.63 2.08 (3); 0.55
	1+	0,11	0,19	0,02	0,04	0,07	
	2+	0,20	0,46	0,01	0,04	0,10	
	3+	0,09	0,08	0,03	0,06	0,14	

Legenda: M - aritmetička sredina; SD – standardna devijacija; P25 – 25ti percentil distribucije; Md – mediana; P75 – 75ti percentil distribucije; M rank – srednja vrijednost ranga u statističkoj obradi;

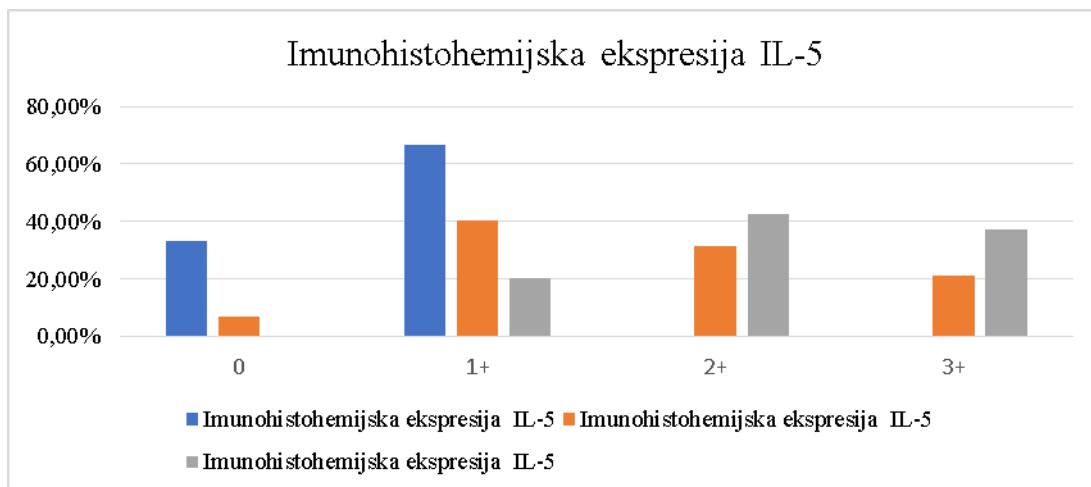
\* Kruskal-Wallis H test izražen u vrijednosti Hi kvadrata, df – stepena slobode i p – nivo značajnosti

**Imunohistohemijska ekspresija IL-5.** Analiza razlike u distribuciji vrijednosti imunohistohemijske ekspresije IL-5 između nivoa imunohistohemijske ekspresije IgE ukazala je da postoji statistički značajna razlika u broju pacijenata po nivoima,  $\chi^2$  (6) =20,20; p<0,01. Umjereni nivo (2+) ekspresije IL-5 je statistički značajno češći u grupi pacijenata sa umjerenim (2+) i izraženim (3+) nivoom ekspresije IgE. Takođe, statistički značajno je slab (1+) nivo ekspresije IL-5 u grupi pacijenata sa slabim (1+) nivoom ekspresije IgE. Spearman-ovom korelacijom je utvrđena pozitivna korelacija, odnosno viši nivoi ekspresije IL-5 se mogu očekivati u višim nivoima ekspresije IgE (Tabela 61 i Slika 44).

**Tabela 61.** Distribucija nalaza ukupnog rezultata IL-5 u odnosu na imunohistohemijsku ekspresiju IgE

Ekspresija IL-5	Ekspresija IgE				Statistika Razlike: $\chi^2$ (df); p	Korelacija: Spearman rho
	0	1+	2+	3+		
<b>0</b>	N	1	2	0	0	
	%	20.0%	5.4%	0.0%	0.0%	
<b>1+</b>	N	4	23	19	12	20,20 (6); p<0,01
	%	80.0%	62.2%	41.9%	35.3%	
<b>2+</b>	N	0	12	25	22	
	%	0.0%	32.4%	58.1%	64.7%	

Legenda:  $\chi^2$  - Hi kvadrat; df – stepen slobode; p - nivo značajnosti; \*\* p<0,01



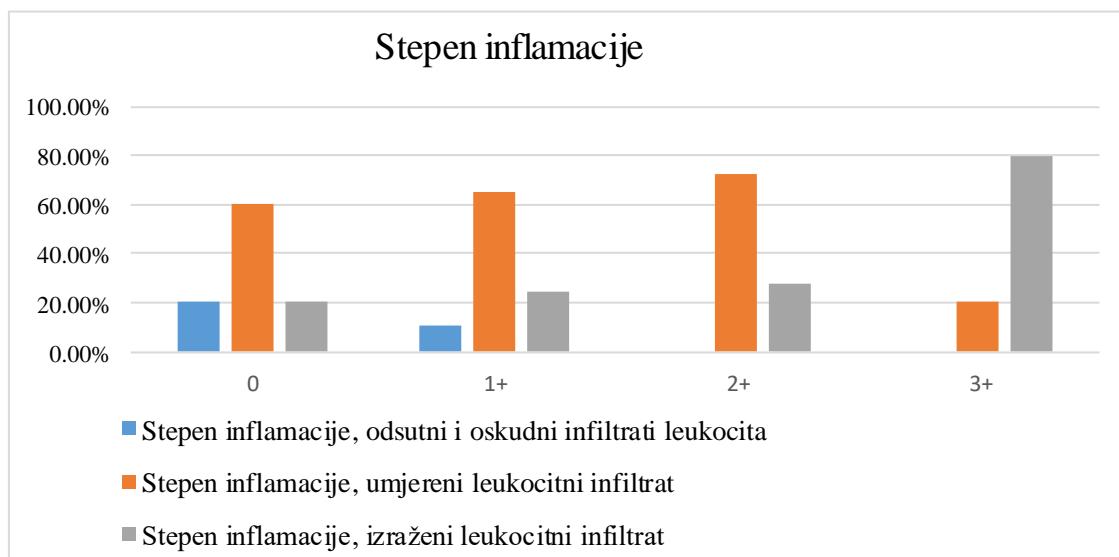
**Slika 44.** Prikaz distribucije imunohistohemijske ekspresije IL-5 u odnosu na imunohistohemijsku ekspresiju IgE

**Stepen inflamacije.** Razlika u distribuciji nivoa stepena inflamacije između kategorija imunohistohemijske ekspresije IgE je statistički značajna,  $\chi^2 (6) = 37,41$ ;  $p < 0,01$ . Umjerena (2+) i izražena (3+) eksprezija IgE je statistički značajno češće zastupljena u tkivu pacijenata sa umjerenim i izraženim leukocitnim infiltratima, 72,1% i 79,4% redom. Spearman-ovom korelacijom utvrđena je pozitivna korelacija, tako da se viši stepen inflamacije može očekivati u višim nivoima eksprezije IgE (Tabela 62 i Slika 45).

**Tabela 62.** Distribucija pacijenata prema stepenu inflamacije u odnosu na imunohistohemijsku ekspresiju IgE

Stepen inflamacije	Ekspresija IgE					Statistika	
	0	1+	2+	3+	Razlike: $\chi^2$ (df); p	Korelacija: Spearman rho	
<b>odsutni i oskudni infiltrati leukocita u stromi</b>	N	1	4	0	0		
	%	20.0%	10.8%	0.0%	0.0%		
<b>umjereni leukocitni infiltrat</b>	N	3	24	32	7	37,41 (6); p<0,01	0,457**
	%	60.0%	64.9%	72.1%	20.6%		
<b>izraženi leukocitni infiltrat</b>	N	1	9	12	27		
	%	20.0%	24.3%	27.9%	79.4%		

Legenda:  $\chi^2$  - Hi kvadrat; df – stepen slobode; p - nivo značajnosti; \*\* p<0,01



**Slika 45.** Prikaz distribucije stepena inflamacije prema imunohistohemijskoj ekspresiji IgE

#### 4.15.2.2. Prediktivni značaj imunohistohemijske ekspresije IgE

Binarna logistička regresija korištena je kako bismo utvrdili prediktivni značaj umjerenog (2+) i izraženo pozitivnog (3+) imunohistohemijske ekspresije IgE, pojedinačno na pojavu odnosno postojanje kliničkih parametara dihotomnog karaktera. U Tabeli 63 prikazane su prediktorske vrijednosti koeficijenata logističke regresije imunohistohemijske ekspresije IgE na pozitivan nalaz astme, prick testa, ukupnog serumskog IgE i brisa srednjeg nosnog hodnika na *Staphylococcus aureus*. Uočava se da umjereni (2+) i izraženo pozitivni (3+) nivoi ekspresije IgE imaju prediktorski značaj na pozitivan bris srednjeg nosnog hodnika na *Staphylococcus aureus*, Wald (1) = 18,72, p<0,01, te Wald (1) = 11,73, p<0,01. Vrijednost Exp (2,56) ukazuje na to da je vjerovatnoća da će

pacijenti imati pozitivan nalaz brisa srednjeg nosnog hodnika na *Staphylococcus aureus* za 13,33 puta veća kod pacijenata sa umjerenom (2+) ekspresijom IgE u odnosu na pacijente sa drugim nivoima ekspresije IgE.

Vrijednost Exp (1,54) ukazuje da je vjerovatnoća da će pacijenti imati pozitivan nalaz brisa srednjeg nosnog hodnika na *Staphylococcus aureus* za 4,67 puta veća kod pacijenata sa izraženom (3+) imunohistohemijskom ekspresijom IgE u odnosu na pacijente sa drugim nivoima ekspresije IgE.

**Tabela 63.** Prediktivni značaj umjerene (2+) i izražene (3+) imunohistohemijske ekspresije IgE na kliničke parametre dihotomnog karaktera

Zavisna varijabla	Prediktor Ekspresija IgE	B	SE	Wald	df	p	Exp(B)	95% CI Exp(B)	
								Donji	Gornji
<b>astma</b>	(2+)	0.42	0.31	1.86	1.00	0.17	1.53	0.83	2.82
	(3+)	0.36	0.35	1.05	1.00	0.31	1.43	0.72	2.83
<b>Prick test</b>	(2+)	-0.14	0.31	0.21	1.00	0.65	0.87	0.48	1.58
	(3+)	0.12	0.34	0.12	1.00	0.73	1.13	0.57	2.21
<b>Ukupni IgE</b>	(2+)	-0.42	0.31	1.86	1.00	0.17	0.65	0.35	1.20
	(3+)	-0.12	0.34	0.12	1.00	0.73	0.89	0.45	1.74
<b>bris srednjeg nosnog hodnika, <i>Staphylococcus aureus</i></b>	(2+)	2.59	0.60	18.72	1.00	<b>p&lt;0,01</b>	13.33	4.12	43.10
	(3+)	1.54	0.45	11.73	1.00	<b>p&lt;0,01</b>	4.67	1.93	11.27

Legenda: B – koeficijent logističke regresije; S.E. – standardna greška za B; Wald – vrijednost testa značajnosti koeficijenata logističke regresije; df – stepen slobode za Wald test; p – nivo značajnosti; Exp(B) – odds ratio ili relativni odnos šansi izloženosti/prisutnosti kliničke vrijednosti; 95% C.I. za EXP(B) – interval pouzdanosti za EXP(B).

Linearna regresija, univariantna, korištena je kako bi se izračunao prediktivni značaj imunohistohemijske ekspresije na zavisne varijable VAS skor, CT skor, endoskopski skor i SEA-IgE. Statistički značajni regresioni modeli registrovani su kod navedenih varijabli (Tabela 64):

- za predviđanje visine endoskopskog skora pacijenata u zavisnosti od imunohistohemijske ekspresije IgE,  $F(1, 118) = 450,09$ ,  $p<0,01$ , gdje je  $R^2 = 79\%$ . Koeficijent B ukazuje na to da će se endoskopski skor povećati za 4,39 kada se ekspresija IgE poveća za jedan nivo.
- za predviđanje visine VAS skora,  $F(1, 118) = 440,10$ ,  $p<0,01$ ,  $R^2 = 78\%$ . VAS skor će se povećati za 1,43 nivo kada se nivo imunoreaktivnosti ekspresije IgE poveća za jedan nivo.
- za predviđanje visine CT skora,  $F(1, 118) = 534,72$ ,  $p<0,01$ , gdje je  $R^2 = 82\%$ . Koeficijent B ukazuje na to da će se CT skor povećati za 7,17 kada se nivo ekspresije IgE poveća za jedan nivo.
- za predviđanje vrijednosti SEA-IgE pacijenata, regresiona analiza je bila statistički značajna  $F(1, 113) = 18,06$ ,  $p<0,01$ ,  $R^2 = 13\%$ . Koeficijent B ukazuje na to da će se vrijednost SEA-IgE povećati za 0,06 kada se nivo ekspresije IgE poveća za jedan nivo.

**Tabela 64.** Prediktivni značaj imunohistohemijske ekspresije IgE na kliničke parametre intervalnog karaktera

<b>Prediktor: Ekspresija IgE</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>B</b>	<b>S.E.</b>	<b>Beta</b>	<b>t</b>	<b>p</b>	<b>95% C.I. za EXP(B)</b>	
	Zavisna varijabla						Donji	Gornji
<b>Endoskopski skor</b>	79%	4.39	0.21	0.89	21.21	p<0,01	3.98	4.80
<b>VAS skor</b>	78%	1.04	0.05	0.89	20.98	p<0,01	0.94	1.14
<b>CT-skor</b>	82%	7.17	0.31	0.91	23.12	p<0,01	6.56	7.79
<b>SEA-IgE</b>	13,1%	0.06	0.01	0.37	4.25	p<0,01	0.03	0.09

Legenda:  $R^2$  – procenat predviđenih vrijednosti zavisne varijable;  $B$  – koeficijent linearne regresije;  $S.E.$  – standardna greška za  $B$ ; Beta – standardizovan koeficijent logističke regresije;  $t$  – test statističke značajnosti;  $p$  – nivo značajnosti; 95% C.I. za  $EXP(B)$  – interval pouzdanosti za  $EXP(B)$ .

## **5. DISKUSIJA**

Termin hronični rinosinuzitis pokriva širok spektar hroničnih inflamatornih stanja sluznice nosnih i paranasalnih sinusa, a koja se manifestuju karakterističnim simptomima u trajanju dužem od 12 nedjelja. Prema najnovijoj definiciji, HRS je više klinički sindrom nego specifično oboljenje okarakterisano perzistentnom simptomatskom inflamacijom sluznice nosa i paranasalnih sinusa. Etiologija ovog sindroma je nepoznata, jer se tek u malom broju slučajeva njegova pojava dovodi u vezu sa poznatim sistemskim poremećajima i lokalnim procesima. Generalno je prihvaćeno da oboljenje nastaje na podlozi izmijenjenih interakcija brojnih faktora okoline i samog organizma. Sama definicija uključuje jedinstven klinički entitet, ali sa patofiziološkog aspekta, ova definicija reprezentuje multiple podudarajuće entitete sa različitim inflamatornim obrascima [8].

Endoskopski nalaz je izdvojio dva osnova fenotipa HRSsNP i HRSbNP, koji se manifestuju dijelom podudarajućom simptomatologijom. Hronični rinosinuzitis bez nosnosinusne polipoze predstavljen je, uglavnom, Th1- neutrofilnom inflamacijom, povišenim vrijednostima interferon- $\gamma$  i transformišućeg faktora rasta  $\beta$ , dok je inflamatorični obrazac kod HRSsNP obilježen Th2-eozinofilnom inflamacijom i povišenim vrijednostima IL-5 i IgE. Unutar samih, navedenih podtipova HRS, postoje heterogeni patofiziološki mehanizmi, koji imaju uticaj na kliničku prezentaciju, determinišu efekte konzervativne i hirurške terapije, a samim tim doprinose kontroli bolesti [8,87, 260].

Ova studija je primarno imala za cilj da utvrdi prisustvo specifičnog imunoglobulina E na enterotoksin A *Staphylococcus aureus*-a kod pacijenata sa HRSsNP, te njegovu povezanost sa Th2 inflamatornim profilom, atopijom, astmom, kliničkim, radiološkim i mikrobiološkim karakteristikama pacijenata. Sekundarni cilj ove studije je bio da, analizom navedenih subjektivnih i objektivnih parametara, odredimo dominantni klinički i inflamatorični fenotip pacijenata sa HRSsNP.

### **5.1. Osnovne demografske karakteristike ispitanika**

Uzimajući u obzir geografske varijacije, prevalenca HRS u evropskim zemljama iznosi 4% do 16%. Hronični rinosinuzitis sa nosnosinusnom polipozom javlja se kod 4,4% opšte populacije [8]. Studija koja je uključila 1900 ispitanika dokazala je prevalencu nosnosinusne polipoze od 2,7% i dokazala češće javljanje oboljenja kod astmatičara, muškog pola i starijeg uzrasta (60 ili više godina) [18]. Studija *Tan* i saradnika ustanovila je da su pacijenti sa HRSsNP najčešće muškog pola

i starijeg uzrasta [261]. Prema rezultatima istraživanja *Won* i saradnika, prevalenca nosnosinusne polipoze raste sa godinama, najčešće poslije 40 godine i kod muškog pola [21].

Rezultati naše studije ukazuju na to da je srednja vrijednost starosti ispitanika za eksperimentalnu grupu iznosila 49 godina, te da su pacijenti eksperimentalne grupe bili statistički značajno stariji, čime se naši rezultati uklapaju u rezultate prethodnih studija (Tabela 5). U eksperimentalnoj grupi, ispitanici su statistički značajno distribuirani u starijim dobnim grupama (Tabela 6 i Slika 17). Statistička analiza (Tabela 7) distribucije prema polu, između ispitanika eksperimentalne i kontrolne grupe, nije ukazala na statistički značajnu razliku, mada je većina pacijenata u eksperimentalnoj grupi bila muškog pola (63,0%).

Skorije istraživanje *Oakley* i saradnika obuhvatilo je više od 25.000 ispitanika, te utvrdilo hereditarnu dijatezu kod pacijenata sa HRSsNP i HRSbNP. Naime, ustanovili su da krvni srodnici prve linije imaju 4,1 puta veću šansu da obole od HRSsNP i 2,4 puta veću šansu da obole od HRSbNP [262]. Rezultati ove studije su komplementarni sa studijom *Bohman* i saradnika, prema kojoj je 13,4% bliskih srodnika pacijenata sa HRSsNP takođe imalo nosnosinusnu polipozu [263].

Prema našoj studiji, 21,8% pacijenata imalo je pozitivnu porodičnu anamnezu, u smislu postojanja nosnosinusne polipoze kod članova porodice, te se naši rezultati približno podudaraju sa prethodnim (Tabela 8).

## 5.2. Klinička slika (simptomi, VAS skor, endoskopski skor, CT skor)

Hronični rinosinuzitis karakterišu brojni simptomi, ne samo od strane nosnosinusnog regiona, nego i od strane srednjeg uha, ždrijela, grkljana. Pacijenti se često žale i na poremećaje spavanja, ali prijavljuju i promjene raspoloženja, poremećaje kognitivnih funkcija, produktivnosti, kao i opšte simptome. Među kardinalne simptome HRS spadaju nazalna opstrukcija, prednja ili zadnja nazalna sekrecija, poremećaj mirisa, kao i bol odnosno pritisak u predjelu lica ili glave. Studija koja je ispitivala učestalost i težinu simptoma upitnikom *Rhinosinusitis Outcome Measure 31* (RSOM-31) kod više od 230 pacijenata sa HRSsNP i HRSbNP ustanovila je približno jednak ukupni skor i podudarajuću simptomatologiju. Rezultati ipak upućuju na to da pacijenti sa HRSsNP prijavljuju nazalnu sekreciju i poremećaj čula mirisa i okusa kao najčešće i najteže simptome [264]. Prema multicentričnoj studiji *Dávila* i saradnika, koja je obuhvatila preko 600 pacijenata sa nosnosinusnom polipozom, kao glavni simptomi izdvojili su se: nazalna kongestija, sekrecija, poremećaji čula mirisa, te u nešto manjoj mjeri kihanje [265].

Rezultati našeg ispitivanja podudaraju se sa prethodnim ispitivanjem u pogledu zastupljenosti kardinalnih simptoma, odnosno nazalnu opstrukciju, sekreciju i poremećaj čula mirisa imaju skoro svi pacijenti eksperimentalne grupe (Tabela 9 i 10). Svakako treba napomenuti da se navedeni simptomi ne javljaju jednakim intenzitetom tokom evolutivnog toka oboljenja. Našim istraživanjem obuhvaćeni su pacijenti planirani za operativno liječenje, te ovi rezultati skoro u potpunosti odgovaraju studijama sprovedenim na pacijentima planiranim za operativno liječenje. Jedna od njih je i studija *Abdalla* i saradnika, u kojoj su pacijenti sa nosnosinusnom polipozom najčešće prijavljivali nazalnu opstrukciju (97%) i smanjenje čula mirisa (90%) kao najčešće simptome, a nakon čega, po učestalosti, slijede poremećaji sna i nazalna sekrecija [266].

Poremećaj kvaliteta života kod pacijenata sa HRSsNP uporediv je sa nivoom poremećaja koje prijavljuju pacijenti sa drugim hroničnim bolestima, kao što su hronične opstruktivne bolesti pluća, astma ili dijabetes. Opterećenje koje ovo oboljenje ima na psihofizičke aspekte zdravlja naročito dolazi do izražaja u podgrupi pacijenata sa astmom i nekontrolisanim simptomima [267]. Studija koja je ispitivala subjektivnu procjenu težine simptoma kod pacijenata sa HRSsNP i HRSbNP utvrdila je da pacijenti sa nosnosinusnom polipozom imaju značajno više nazalne VAS skorove i niže skorove vezane za bol u odnosu na pacijente bez polipoze. Takođe je utvrđeno da nije bilo značajnije razlike u pogledu SNOT-22 skorova između grupa [268]. Rezultati procjena težine simptoma kod pacijenata sa HRS zavise od primijenjene metodologije odnosno od ciljne populacije (pacijenti sa HRS u opštoj populaciji, sekundarnim ili tercijarnim nivoima zdravstvene zaštite) koja se ispituje. Uvezši u obzir pacijente sa HRS u opštoj populaciji, prijavljena prosječna ocjena simptoma (VAS skala) iznosila je 8,2 za pacijente sa HRSsNP i 7,8 za pacijente sa HRSbNP. S druge strane, pacijenti sa HRS na sekundarnom nivou zdravstvene zaštite, potencijalni kandidati za operativno liječenje, prijavljuju umjerene do teške simptome (srednja vrijednost skora SNOT-22, 42,0) [269].

Naše istraživanje ukazalo je na statistički značajnu razliku u distribuciji između eksperimentalne i kontrolne grupe u odnosu na procjenu težine oboljenja VAS skalom. Pacijenti eksperimentalne grupe su statistički značajno češće zastupljeni u grupi sa teškim VAS skorom u odnosu na pacijente kontrolne grupe. I obrnuto, pacijenti kontrolne grupe su statistički značajno češće zastupljeni u grupi sa blagim VAS skorom u odnosu na pacijente eksperimentalne grupe (Tabela 11 i Slika 19).

U kliničkoj, objektivnoj procjeni težine HRSsNP, na raspolaganju su nam dijagnostičke procedure, kao što je endoskopija nosa i kompjuterizovana tomografija nosnih i paranasalnih

šupljina. U našem istraživanju, kod klasifikacije polipa prema gradusu od 0-6, utvrđena je aritmetička sredina od 4,58, sa standardnom devijacijom od 1,18 (Tabela 12), dok je endoskopski skor imao vrijednost aritmetičke sredine (na skali od 0-12) od 10,13, sa standardnom devijacijom od 1,66 (Tabela 13). Za vrijednosti CT skora utvrđena je aritmetička sredina od 16,16, sa standardnom devijacijom 3,30 (Tabela 14).

U svakodnevnom kliničkom radu sa pacijentima oboljelim od nosnosinusne polipoze, uočena je neusaglašenost između endoskopskog nalaza i subjektivnih tegoba pacijanata, prije svega nazalne opstrukcije. Studije koje su ispitivale uzajamnu povezanost težine simptoma i uticaj simptoma na kvalitet života pacijenata sa HRSsNP, sa skorom endoskopskog i radiološkog nalaza, nisu ustanovile značaju pozitivnu korelaciju. Odnosno, subjektivni parametri uglavnom slabo ili uopšte ne koreliraju sa objektivnim parametrima [270, 271]. Jedna od studija koja je imala za cilj da ispita povezanost ovih parametara utvrdila je slabu korelaciju između endoskopskog i VAS skora za nazalnu opstrukciju. Ista studija utvrdila je veoma slabu i odsutnu korelaciju između endoskopskog i VAS skora za poremećaj čula mirisa i sekreciju iz nosa. Iz rezultata ove studije proizilazi zaključak da se na osnovu veličine polipa u nosnoj šupljini ne može procijeniti subjektivna percepcija oboljenja [272]. Analizirajući rezultate većeg broja studija, radna grupa EPOS 2020 zaključila je da između radioloških nalaza i simptoma bolesti kod HRS ne postoji korelacija. Štaviše, više od 40% pacijenata sa prisutnim simptomima, koji ispunjavaju kriterijume za postavljanje dijagnoze HRS, imaju normalan endoskopski i radiološki nalaz [8].

Rezultati našeg istraživanja nisu u saglasnosti sa prethodnim, jer smo, unutar eksperimentalne grupe, utvrdili statistički značajne pozitivne korelacije na nivou ( $p<0,01$ ) između endoskopskog i VAS skora. Takođe smo ustanovili statistički značajnu korelaciju između VAS i CT skora, dok je visoko pozitivna statistički značajna korelacija utvrđena između nivoa endoskopskog i CT skora (Tabela 15 i 16). Ovi rezultati su u saglasnosti sa studijama koje su utvrdile da između radiološkog i endoskopskog nalaza, kod pacijenata sa HRS, postoji dobra korelacija [252, 273]. Studija koja je poredila vrijednosti VAS, SNOT-22 i CT skorova, nije ustanovila značajnu povezanost kod pacijenata sa HRSbNP, dok je kod pacijenata sa HRSsNP povezanost ovih parametara bila značajna. Takođe je utvrđeno da nema korelacije između CT skora i glavobolje kao simptoma, pogotovo kod pacijenata sa HRSsNP [255]. Studija *Ramadhin* i saradnika svojim rezultatima u potpunosti odgovara našoj studiji, odnosno ustanovila je značajnu pozitivnu korelaciju između endoskopskog i CT skora [274]. Vrijednosti subjektivnih i objektivnih skorova determiniše, prije svega, stadij oboljenja u kojem se pacijenti nalaze u trenutku ispitivanja. Relativno visoke srednje

vrijednosti CT i endoskopskog skora u našoj studiji ukazuju na uznapredovali stadij oboljenja u neposrednom preoperativnom periodu, a što je vjerovatno uslovljeno sociološkim i kulturološkim faktorima. S obzirom na relativno visoku stopu recidiva nakon hirurškog liječenja, iskustva iz kliničke prakse ukazuju na to da postoji opšteprihvaćeno mišljenje da hirurško liječenje HRSsNP treba odlagati. Sve navedeno treba uzeti u obzir prilikom tumačenja objektivnih i subjektivnih parametara težine oboljenja, koji u našoj studiji imaju paralelan trend rasta i ukazuju na uznapredovali stadij oboljenja.

### 5.3. Astma

Hronični rinosinuzitis karakteriše hronična perzistentna inflamacija sluznice nosnih i paranasalnih šupljina, kao i značajna, složena povezanost sa razvojem i progresijom hroničnih inflamatornih oboljenja donjih disajnih puteva, prije svega sa astmom i hroničnom opstruktivnom bolešću pluća. Ustanovljeno je da 20% do 60% pacijenata sa nosnosinusnom polipozom ima astmu [275]. Postoje brojni dokazi da udruženost HRSsNP i astme predstavlja jedinstven entitet ili klinički fenotip s aspekta prevalencije i kliničkog toka, te je imperativ iznalaženje mogućih faktora rizika i mehanizama ovog entiteta [172, 276]. Studije upućuju na značajnu prevalencu astme kod pacijenata sa HRSsNP u odnosu na pacijente sa HRSbNP. Takođe je utvrđeno da postoji značajna povezanost između kasne pojave astme kod odraslih i HRSsNP, a karakterišu je teške rekurentne forme astme i polipoze, refrakterne na terapiju [34, 277]. Multicentrična studija *Khan* i saradnika utvrdila je prisustvo astme kod 49.6% pacijenata sa HRSsNP. Rezultati ove studije potvrđuju kasnu pojavu astme (poslije 12 godina života) kod pacijenata sa HRSsNP. Studije ukazuju da 19.30% do 38.64% pacijenata sa kasnom pojavom astme ima nazalne polipe [278].

Naša studija ustanovila je prevalencu astme kod gotovo polovine pacijenata sa HRSsNP, tačnije kod 47,1% pacijenata, što je u saglasnosti sa rezultatima prethodnih studija. Ali rezultati naše studije nisu u saglasnosti sa prethodnim, jer analizirajući zastupljenost astme u odnosu na demografske, subjektivne i kliničke parametre, nismo ustanovili statistički značajne razlike (Tabela 17).

Poznato je da HRS i astma dijele slične inflamatorne mehanizme i prisutne Th2 inflamatorne markere unutar sluznice ili u nazalnom i bronhijalnom sekretu [279]. Postoje brojni pokušaji da se izdvoje inflamatori markeri koji bi snažno sugerisali na pojavu astme kod pacijenata sa HRSsNP i uglavnom se svode na mjerjenje koncentracije citokina u tkivu polipa ili nazalnom sekretu. Rezultati

određenih studija snažno sugeriju da Th2 inflamatorni markeri ( IL-4, IL-5, IgE) predstavljaju prediktore razvoja astme kod pacijenata sa HRSsNP [275].

U našoj studiji nismo ustanovili statistički značajnu povezanost astme sa kliničkim, alergološkim, mikrobiološkim i biohemijskim parametrima kod pacijenata sa HRSsNP. Takođe nismo ustanovili statistički značajnu povezanost sa ekspresijom IL-5 i IgE u tkivu polipa. Na osnovu rezultata studije, ne može se sa sigurnošću odrediti dominantni klinički i inflamatorni fenotip pacijenata sa HRSsNP i astmom u komorbiditetu (Tabela 18).

Rezultati studije *Nabavi* i saradnika, koja je ispitivala koncentraciju određenih citokina kod pacijenata sa HRSsNP, dijelom su uporedivi sa našim rezultatima, jer nisu utvrdili značajne razlike u serumskoj koncentraciji IL-4, IL-13 i IFN- $\gamma$  kod pacijenata sa i bez astme [280]. Prema rezultatima studija, postoji realna osnova da bi prisustvo specifičnih IgE antitijela na enterotoksin SA mogao biti link između astme i HRSsNP, na različitim nivoima respiratornog trakta. Istražujući inflamatorni fenotip koji bi bio potencijalni link između nosnosinusne polipoze i astme, studije su dokazale da povišena ekspresija IgE i IL-5, uz pozitivna specifična IgE antitijela na stafilokokni enterotoksin kod pacijenta sa HRSsNP u podgrupi Th2 endotipa, predstavlja povišen rizik za pojavu astme [172, 260].

Rezultat naše studije nije u saglasnosti sa rezultatima prethodnih studija, jer nismo ustanovili značajnu zastupljenost serumskih specifičnih IgE na enterotoksin A *Staphylococcus aureus*-a kod pacijenata sa HRSsNP i astmom u komorbiditetu (Tabela 18). Imunoglobulin E navodi se kao najvažniji medijator udruženog oboljenja na nivou gornjih i donjih disajnih puteva, ali naša studija nije dokazala značajnu zastupljenost ukupnog serumskog IgE, serumskih specifičnih IgE na enterotoksin A *Staphylococcus aureus*-a, niti povišenu imunohistohemijsku ekspresiju IgE u tkivu polipa kod pacijenata sa HRSsNP i astmom u komorbiditetu (Tabela 18).

#### **5.4. Ukupni serumski IgE i alergijska preosjetljivost dokazana prick testom**

Epidemiološke studije ukazale su na to da je prevalenca nazalne polipoze kod pacijenata sa alergijskim rinitisom uporediva sa prevalencom u ukupnoj populaciji, ali i da je atopija u značajnom postotku prisutna kod pacijenata sa nosnosinusnom polipozom. Da uloga atopije u nosnosinusnoj polipozi nije zanemariva govori činjenica da je prisustvo atopije kod pacijenata sa HRSsNP udruženo sa većim tegobama i visokom incidencicom astme [8]. Za sada, svi konsenzusi zagovaraju značaj utvrđivanja atopijskog statusa kod pacijenata sa HRSsNP, jer je dokazano da je prisustvo

atopije kod ovih pacijenata povezano sa težim oblikom oboljenja, negativnim uticajem na kvalitet života i većom incidencu astme [281].

Naša studija je dokazala pozitivne vrijednosti ukupnog serumskog IgE kod 52,9% ispitanika eksperimentalne grupe i statistički značajnu zastupljenost u odnosu na ispitanike kontrolne grupe (Tabela 19 i Slika 20). Takođe smo dokazali prisustvo alergijske preosjetljivosti *prick* testom kod 43,7% pacijenata eksperimentalne i 10% pacijenata kontrolne grupe, te ustanovili statistički značajno češću zastupljenost alergijske preosjetljivosti kod pacijenata eksperimentalne grupe (Tabela 20 i Slika 21). Nismo utvrdili značajnu zastupljenost pojedinačnih inhalatornih alergena unutar eksperimentalne grupe. Analizirali smo zastupljenost alergijske preosjetljivosti na inhalatorne alergene u odnosu na demografske, kliničke, mikrobiološke, biohemijske i imunohistohemijske parametre, te ustanovili značajnu povezanost između pozitivnog nalaza ukupnog IgE i pozitivnog *prick* testa. Nismo dokazali značajnu povezanost između *prick* testa i imunohistohemijske ekspresije IL-5 i IgE (Tabela 22). Rezultat je dijelom u saglasnosti sa studijom koja je dokazala da nema značajne razlike u ekspresiji IL-4, IL-5 i IFN- $\gamma$  u tkivu polipa kod HRSsNP, kod pacijenata sa sezonskim alergijskim rinitisom i kod pacijenata sa infektivnim rinitisom [281].

Rezultati su dijelom podudarni i sa studijom *Philpott* i saradnika, koji su ispitivali vezu između atopije i različitih fenotipa HRS. Ova studija je uključila 221 kontrolnih ispitanika, 553 pacijenta sa HRSbNP, 651 pacijenta sa HRSsNP i 45 pacijenata sa alergijskim fungalnim rinosinuzitisom. Ustanovljena je prevalenca alergijske preosjetljivosti od 13.1, 20.3, 31.0 i 33.3%, dok je preosjetljivost na kućnu prašinu bila značajno zastupljenija kod pacijenata sa HRSsNP. Zaključak koji proističe jeste da prevalenca alergije varira od fenotipa do fenotipa HRS [29].

Rezultati su u saglasnosti i sa studijom *Mortuaire* i saradnika, koja je ispitivala ulogu alergije u kliničkom ispoljavanju i inflamatornim mehanizmima kod pacijenata sa HRSsNP. Autori su nastojali determinisati endotipove oboljenja na osnovu biomarkera (IgE, IgA, IL-5, IL-9, ECP, nazalna i sistemska eozinofilija). Zaključili su da je astma sa visokim ukupnim IgE bila povezana sa alergijom, dok za ostale parametre nije bilo statistički značajne razlike kod pacijenata sa i bez alergije [282].

U našoj studiji astma nije bila statistički značajno povezana sa nalazom *prick* testa, ali naši rezultati, kao i rezultat navedene studije, ukazuju na to da alergijska preosjetljivost nije direktno uključena u kliničku ekspresiju, niti utiče na inflamatori fenotip pacijenata sa HRSsNP (Tabela 22).

U slučaju dokazane atopije kod pacijenata sa HRSsNP, lokalni IgE može biti rezultat uobičajene stimulacije aeroalergenima. Sa druge strane, lokalna hiperimunoglobulinemija E prisutna je i kod pacijenata bez atopije [138]. Naša studija je dokazala značajnu povezanost između ukupnog serumskog IgE i vrijednosti specifičnog IgE na enterotoksin A *Staphylococcus aureus*-a (Tabela 28 i Slika 26). Nismo dokazali značajnu povezanost između ukupnog serumskog IgE i prick testa u odnosu na nivo imunoreaktivnosti IgE u tkivu polipa. Ovim su rezultati naše studije u saglasnosti sa tvrdnjama da vrijednosti serumskog IgE, kao odraza atopijskog statusa pacijenata sa HRSsNP, nisu uvijek u skladu sa ekspresijom IgE u tkivu polipa [136].

## 5.5. Mikrobiološki nalaz

HRS predstavlja heterogenu grupu oboljenja koja rezultiraju iz multiplih interakcija domaćina i faktora okruženja, te ne iznenađuje veliki broj studija koje su istraživale uticaj mikroorganizama u razvoju HRS. Postoje brojne dileme u pogledu interakcije komenzalnih mikroorganizama i sinonazalne sluznice, kao i u pogledu moguće kauzalnosti mikroorganizama u nastanku HRS [8]. Činjenica koja otežava izolovanje pojedinačnog mikrobiološkog faktora kao uzročnika HRS jeste nalaz raznolikog sinonazalnog mikrobioma u opštoj populaciji, te raznolikost mikrobioma prema anatomskoj lokalizaciji kod iste individue [283]. U sklopu izučavanja etiopatogeneze HRS i HRSsNP, ciljevi istraživanja često su bili usmjereni na izolaciju specifičnih infektivnih uzročnika, koji bi imali predisponirajuću ulogu u nastanku oboljenja. Mikrobiološki nalaz kod pacijenata sa HRS uglavnom uključuje koagulaza negativne stafilokoke, *Streptococcus species*, *Propionibacterium species*, *Corynebacterium species*, *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus species*, *Moraxella catarrhalis*, *Klebsiella species* i *Pseudomonas aeruginosa* [8]. Često izolovane bakterije kod pacijenata sa HRS su *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus sp*, *Corynebacterium sp*, *Staphylococcus epidermidis* i *Propionibacterium acnes*, a u nešto manjoj mjeri i *Haemophilus influenza*, *Escherichia coli*, *Peptostreptococcus sp*, *Klebsiella sp* i *Fusobacterium* [284].

Naše istraživanje je dokazalo pozitivan bris srednjeg nosnog hodnika kod 50.4% pacijenata eksperimentalne grupe i kod 42.9% pacijenata kontrolne grupe. Bakterije *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter*, *Streptococcus*, *Proteus mirabilis* bile su zastupljene do 10% u eksperimentalnoj grupi (Tabela 23 i 24), osim *Klebsiella spp.*, koja je bila najzastupljenija bakterija (16%). Iste ove bakterije su zastupljene do 10% i u kontrolnoj grupi, osim *Staphylococcus aureus*, koja je bila najzastupljenija (18.6%). Naši rezultati

dijelom su u saglasnosti sa studijom *Liu* i saradnika, koja je ispitivala bakterijske kulture srednjeg nosnog hodnika kod zdravih ispitanika i kod pacijenata sa HRSbP i HRSsNP, te ustanovila prisustvo koagulaza-negativnog stafilokoka u sve tri grupe pacijenata, dok su *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus*, *Haemophilus influenzae*, *Enterobacter* i *Corynebacterium specie*, bile češće zastupljene kod pacijenata sa HRSsNP [285].

Naši rezultati su dijelom u saglasnosti i sa rezultatima novije studije koja je imala za cilj izolaciju bakterija kod pacijenata sa HRS i koja je potvrdila koagulaza negativni stafilokok (28.0%), *Streptococcus species* (12.2%), *Propionibacterium species* (8.0%), *Corynebacterium species* (7.5%), *Staphylococcus aureus* (6.2%), *Haemophilus species* (5.7%), *Klebsiella species* (5.1%) i *Pseudomonas aeruginosa* (4.2%). Ova studija je ukazala na rastući trend pojave gram-negativnih bakterija, kao što su *Klebsiella species* i *Pseudomonas aeruginosa*, kod pacijenata sa HRS [286].

Naši rezultati nisu u saglasnosti sa studijom koju su sproveli *Chalermwatanachai* i saradnici i dokazali da su bakterije tipa *Haemophilus influenzae*, *Escherichia coli*, *Moraxella catarrhalis* bile zastupljenije kod pacijenata sa HRSsNP, naročito kod pacijenata sa astmom, dok su bakterije *Propionibacterium acnes* i *Corynebacterium spp.* bile prevalentnije kod zdravih ispitanika [287].

Zajednički zaključak koji proizilazi iz brojnih studija, a potvrđen je dijelom i našim rezultatima, jeste da nema dokaza o zastupljenosti uniformnog mikrobioma. Odnosno, brojne studije ukazuju na različitu zastupljenost bakterija između zdravih ispitanika i pacijenata sa HRSsNP [284]. Naši rezultati su u saglasnosti sa studijama koje su potvrdile da mikrobiološki nalaz uglavnom ne korelira pozitivno sa težinom oboljenja ili prisutnom astmom kod pacijenata sa HRS [288,289].

Prema različitim studijama, *Staphylococcus aureus* (SA) je detektovan kod pacijenata sa HRS u rasponu od 15-70%, u zavisnosti od tipa i težine oboljenja, metode i mjesta prikupljanja materijala za analizu, kao i od različitih mikrobioloških tehnika za detekciju [290]. Studija Heymans i saradnika ukazala je na to da nije bilo razlika u kolonizaciji sa SA između pacijenata sa HRSsNP i zdravih ispitanika. Takođe je ukazala na to da nije bilo značajnih razlika u pogledu kolonizacije sa SA između pacijenata sa HRSsNP i pacijenata sa HRSbNP [291]. Studija Niederfuhr i saradnika istraživala je ulogu SA kao relevantnog etiološkog faktora u nastanku HRS, sa i bez nosnosinusne polipoze, te ustanovila da su sve konvencionalne tehnike uzorkovanja dale zadovoljavajuće rezultate u smislu detekcije SA. Osim toga, prevalenca pozitivnog nalaza SA nije bila značajno povišena kod pacijenata sa HRSsNP i HRSbNP u odnosu na kontrolne ispitanike. Mjerena koncentracija različitih Th1 i Th2 citokina nisu ustanovila značajnu korelaciju između pozitivnog

nalaza SA i pomenutih vrijednosti, što predstavlja značajno odstupanje od ranijih studija koje su dovodile u vezu prisustvo SA i Th2 inflamaciju [292].

Prema rezultatima naše studije, pozitivan nalaz brisa na SA je bio statistički značajno zastupljeniji u kontrolnoj grupi (Tabela 26 i Slika 23). Nalaz nije u saglasnosti sa rezultatima navedenih studija, ali, na određen način i jeste, jer potvrđuje prisustvo SA kao normalne bakterijske flore, a ne potvrđuje značajno prisustvo i eventualnu dominantnu ulogu u patogenezi HRSsNP.

Priroda odnosa između SA i tip 2 citokinskog miljea ostaje nejasna, ali sigurno je poznato da Th2 inflamacija neovisno potencira opstanak SA kolonizacije, jer ova inflamacija suprimira imuni odgovor sinonazalne sluznice usmjerena na SA [8]. Ovu činjenicu indirektno potvrđuju rezultati molekularne studije koja nije dokazala značajnu ulogu SA kod pacijenata sa HRS, osim u slučajevima eozinofilnog HRSsNP udruženog sa astmom [293].

Kolonizacija sa SA ustanovljena je kod 33% zdravih ispitanika i pacijenata sa HRS, te u 64% slučajeva kod pacijenata sa HRSsNP. Ponavljujuća analiza nazalnog sekreta ukazala je na dugotrajnu kolonizaciju nosnog kavuma kod pacijenata sa HRSsNP [162]. Studija *Patou* i saradnika nije dokazala povećan nivo kolonizacije nosnog kavuma sa SA kod pacijenata sa HRSsP u odnosu na HRSbP i na zdrave ispitanike, ali je dokazano da kolonizacija sa SA kod pacijenata sa HRSsNP korelira sa povećanim vrijednostima ukupnog IgE, specifičnog IgE na SAE, ECP u sluznici nosnog kavuma [294].

Naši rezultati nisu u skladu sa rezultatima prethodnih studija s obzirom da nismo ustanovili povezanost SA sa kliničkim, biohemiskim i imunohistohemiskim nalazima.

## 5.6. Specifični IgE na enterotoksin A *Staphylococcus aureus*-a (SEA-IgE)

Superantigeni, kao što je enterotoksin koji produkuje *Staphylococcus aureus* (SA), mogu indukovati snažan imuni odgovor, aktivirajući nekoliko vrsta imunokompetentnih ćelija, prije svega poliklonalnu aktivaciju T limfocita [18]. Enterotoksin SA (SAE) potiče aktivaciju T limfocita direktnim vezivanjem za receptore na T-ćelijama (*T-cell receptor*), bez posredovanja antigen prezentujućih ćelija, uslijed čega dolazi do poliklonalne aktivacije humoralnog imunog odgovora, produkcije B-limfocita i sinteze IgE antitijela [295]. Uloga enterotoksina SA kao superantigena u patofiziologiji polipa prvi put se spominje 2001. godine, kada su *Bachert* i saradnici uočili prisustvo specifičnih IgE na enterotoksine A i B (SEA-IgE i SEB-IgE) u tkivu polipa kod pacijenata sa HRSsNP. Na osnovu ovog nalaza, autori su arbitrarno izdvojili fenotip HRSsNP u kome su prisutne

visoke vrijednosti ukupnog IgE, poliklonalna ekspresija IgE, prisustvo SEA-IgE i SEB-IgE [49]. Nakon ove studije i njenih obećavajućih rezultata, uslijedile su brojne studije kojima je bio cilj utemeljiti ulogu navedenih specifičnih IgE antitijela kao dugo očekivanog biomarkera u endotipizaciji nosnosinusne polipoze. Ubrzo je dokazano prisustvo specifičnih IgE antitijela na enterotoksine SA kod 27,8% pacijenata sa HRSsNP i kod 53,8% pacijenata sa HRSsNP i astmom u komorbiditetu [168]. Uslijedila je studija koja je dokazala dugotrajan i visok nivo kolonizacije srednjeg nosnog hodnika sa SA kod pacijenta sa HRSsNP u odnosu na pacijente sa HRSbNP. Ista studija ukazala je na to da je kolonizacija sa SA kod pacijenata sa HRSsNP bila povezana sa povećanim vrijednostima ukupnog IgE, specifičnog IgE na enterotoksin SA, kao i ECP u uzorcima polipa [296]. Stimulacija tkiva donje nosne školjke ili tkiva polipa superantigenom, enterotoksinom B *Staphylococcus aureus*-a, dovodi do oslobođanja Th1 i Th2 citokina (IFN- $\gamma$ , IL-2, IL-4, IL-5, IL-10, i IL-13). Ista studija ukazala na to da tkivo polipa oslobođa veće koncentracije citokina u odnosu na kontrolnu grupu. Ovo je ujedno i osnova za pretpostavku da poliklonalna specifična IgE antitijela, uz veliki broj B-limfocita i plazma ćelija, mogu stimulisati perzistentnu inflamaciju u HRSsNP [294]. Seiberling i saradnici su prezentovali visok nivo kolonizacije SA (63,6%), povećan nivo ukupnog IgE, SEA-IgE, kao i ECP u tkivu nosnih polipa. Istovremeno su ukazali na visok nivo SEA-IgE u tkivu nosnih polipa (53,8%) kod pacijenata koji su imali astmu kao komorbiditet, kao i visok nivo (80%) SEA-IgE u tkivu nosnih polipa kod pacijenta sa aspirinskom senzitivnošću [297].

Rezultat naše studije je statistički značajna razlika u srednjim detektabilnim vrijednostima specifičnog IgE na enterotoksin A *Staphylococcus aureus*-a između eksperimentalne i kontrolne grupe (Tabela 27 i Slika 24). Istina, ove vrijednosti su niske, ali činjenica da kod kontrolne grupe, u svim slučajevima, imamo skoro nedetektibilne vrijednosti (SD 0,01) čini ove razlike respektabilnim. Razlog za niske srednje vrijednosti SEA-IgE kod pacijenata sa HRSsNP u našem istraživanju vjerovatno leži u činjenici da su ova antitijela u višoj koncentraciji izolovana u homogenatu tkiva polipa, a veoma rijetko u serumu, na što, uostalom, ukazuju i prethodna istraživanja [168, 298].

Studija koja je metodološki veoma slična našoj imala je za cilj detekciju IgE antitijela na više enterotoksina SA, između ostalog i na enterotoksin A. Tačnije, studija Tripathi i saradnika ispitivala je koncentracije specifičnih IgE na enterotoksin A i B *Staphylococcus aureus* (SEA-IgE), B (SEB-IgE) i toksični šok sindrom toksin (TSST) u serumu pacijenata sa HRSsNP. Ustanovili su nedetektibilne SEA-IgE, kod 50% pacijenata je detektovan SEB-IgE, a kod 70% pacijenata TSST [299]. Iako su prvobitna istraživanja dokazala prisustvo SEA-IgE u tkivu polipa (u 50% pacijenata,

zajedno sa SEB-IgE), vjerovatno da su SEB-IgE i TSST senzitivniji markeri u odnosu na SEA-IgE, što vjerovatno predstavlja jedan od razloga za niže vrijednosti SEA-IgE u našoj studiji. Pomenuta studija *Bachert* i saradnika, prilikom istraživanja, takođe je uzela u obzir miks enterotoksina (SEA i SEB), te se porijeklo visokog titra specifičnih IgE vjerovatno odnosi na detekciju SEB-IgE [49]. Novija studija *Cui* i saradnika dokazala je značajno prisustvo SEB-IgE u serumu pacijenata sa HRSsNP u odnosu na pacijente kontrolne grupe i pacijente sa HRSbNP. Nivoi SEA-IgE nisu bili značajnije zastupljeni među grupama. Autori rezultate studije tumače činjenicom da enterotoksin B *Staphylococcus aureus* ima naročitu sposobnost (u odnosu na ostale enteroksine) prolaska kroz epitelijelu barijera i posljedičnu indukciju imunološkog odgovora [300].

Rezultati naše studije ukazali su na značajno više srednje detektibilne vrijednosti SEA-IgE kod ispitanika muškog pola, što inače nije registrovano u drugim studijama (Tabela 28). Takođe smo utvrdili najviše srednje detektibilne vrijednosti SEA-IgE kod ispitanika sa najvišim VAS skorom, a najniže kod ispitanika sa najnižim VAS skorom, potom statistički značajno srednje izraženu, pozitivnu korelaciju između viših srednjih vrijednosti SEA-IgE i višeg CT skora (Tabele 31 i 32, Slike 27 i 26). Ustanovili smo statistički značajnu prediktivnu korelaciju između vrijednosti SEA-IgE, vrijednosti VAS i CT skora, odnosno sa povećanjem vrijednosti SEA-IgE raste mogućnost da će pacijenti imati viši VAS i CT skor (Tabele 33 i 34). Ustanovljeni prediktivni značaj vrijednosti SEA-IgE na VAS i CT skor indirektno ukazuju na to da više srednje vrijednosti SEA-IgE ukazuju na teže forme HRSsNP.

Rezultati naše studije u saglasnosti su sa rezultatima meta-analize koja je uključila 12 studija (240 ispitanika eksperimentalne i 178 ispitanika kontrolne skupine), te ustanovila da je prisustvo enterotoksina *Staphylococcus aureus* kod pacijenata sa HRSsNP povezano sa težim formama oboljenja [301].

Studije koje su istraživale povezanost specifičnih IgE na enterotoksine SA i HRSsNP dokazale su direktnu povezanost ovih antitijela i kolonizacije nosnog kavuma sa SA. Ova veza je dodatno argumentovana i značajnom zastupljenosti kolonizacije na SA kod pacijenata sa HRSsNP u odnosu na zdrave ispitanike [49, 168, 294, 295]. Ipak, istraživanja ukazuju na to da još nema pravilnosti u pogledu kolonizacije SA kod pacijenata sa HRSsNP, jer je dokazano da se prevalenca kolonizacije srednjeg nosnog hodnika sa SA ne razlikuje bitno unutar ispitanika sa HRS i ispitanika kontrolne grupe. Rezultati ove studije u saglasnosti su sa savremenim stavovima, jer još uvijek nije identifikovan tačan mehanizam kojim enteroksini *Staphylococcus aureus* indukuju ili održavaju imunopatogenetske promjene kod pacijenata sa HRSsNP. Za sada se ne zna da li enterotoksini

*Staphylococcus aureus*-a predstavljaju uzročni ili modulirajući faktor koji će doprinjeti već nastalom oštećenju nosnosinusne sluznice drugim patofiziološkim mehanizmima [288].

Naša studija nije ukazala na značajan odnos između kolonizacije srednjeg nosnog hodnika sa SA kod pacijenata sa HRSsNP, kao ni na značajnu povezanost sa SEA-IgE (Tabela 28). Poslije prvobitnog entuzijazma, koji su izazvali dokazi o paralelnoj vezi kolonizacije sa SA i specifičnih IgE na enterotoksin SA, kao markera u endotipizaciji HRSsNP, novije studije su ipak podstakle razmišljanja da ova veza nije ubjedljiva u svim slučajevima HRSsNP. To je ujedno dokazala i studija *van Zele* i saradnika, koja je dokazala kolonizaciju sa SA kod 64% pacijenata sa HRSsNP, ali ne i značajnu prevalencu specifičnih IgE na enterotoksine SA. Autori su ove rezultate tumačili kao mogućnost da sama kolonizacija sa SA nije dovoljna da indukuje poliklonalnu produkciju IgE [168]. Takođe, studija *Heymans* i saradnika nije potvrdila značaj SAE u patogenezi HRSsNP. Ova multi-centrična evropska studija istraživala je korelaciju između nosnosinusne polipoze i prisutnih gena na enterotoksin *Staphylococcus aureus*-a. Rezultati ove studije nisu pokazali značajnu korelaciju između posmatranih obilježja [291]. Ovi rezultati ipak su dijelom u saglasnosti sa studijom *Takeda* i saradnika, koja je demonstrirala da lokalni IgE u tkivu polipa nije isključivo specifičan na SA, već i na druge uobičajene sinonazalne bakterije, kao što su *Streptococcus pyogenes* i *Hemophilus influenza*. Iako priroda ove pojave ostaje nejasna, ova studija je ipak preusmjerila tvrdnje da je Th imuni odgovor isključivo usmjeren na antigene SA [302]. Dokazi koji potvrđuju prethodne stavove proistekli su iz studije Wang i saradnika, koja je ustanovila prisustvo specifičnih IgE na SAE kod 55% pacijenata sa HRSsNP i kolonizaciju SA kod 7,1% pacijenata, što dijelom odgovara i rezultatima naše studije [303].

Naš rezultat, u pogledu kolonizacije sa SA i odnosa sa SEA-IgE, možda nalazi uporište u činjenici da SA ima imunomodulatorni, a ne neposredni infektivni značaj u indukovanim Th2 odgovora i poliklonalnoj produkciji IgE antitijela. Pri tumačenju naših rezultata, moramo uzeti u obzir i činjenicu da je kolonizacija nosnog kavuma dinamičan proces, te da njegova potvrda zavisi i od brojnih faktora. Kod pacijenata sa HRSsNP, u skoro polovini uzorka polipa, dokazane su poliklonalne IgE formacije specifične na enterotoksine *Staphylococcus aureus*-a [49]. Analizirajući rezultate naše statističke obrade, uočavamo izraženu heterogenost u pogledu odnosa kolonizacije srednjeg nosnog hodnika sa SA i ostalih parametara. Nismo uočili značajnu povezanost između kolonizacije SA, SEA-IgE i nivoa imunoreaktivnosti IgE, ali smo dokazali statistički značajnu prediktivnu korelaciju (Tabela 63 i 64) između kolonizacije sa *Staphylococcus aureus*, SEA-IgE i imunohistohemijske ekspresije IgE. Tačnije, vjerovatnoća da će pacijenti imati pozitivan nalaz brisa

srednjeg nosnog hodnika na *Staphylococcus aureus* i više vrijednosti SEA-IgE raste sa prisustvom izražene (3+) ekspresije IgE. Navedene predikcije ukazuju na mogućnost da enterotoksin A *Staphylococcus aureus* indukuje poliklonalnu produkciju tkivnih IgE, što je u saglasnosti sa prethodnim studijama [136, 157].

Prva istraživanja vezana za ulogu specifičnih IgE na enterotoksine SA ukazala su na zajedničko ispoljavanje sa ukupnim IgE [49]. Ovu vezu potvrđuju i rezultati evropske multicentrične studije koja je formirala klastere HRS na osnovu predominantnog inflamatornog profila, te izdvojila dva klastera sa visokim koncentracijama IgE, značajnom prevalencom astme i značajnim koncentracijama specifičnih IgE na enterotoksine *Staphylococcus aureus*-a [157].

Rezultati našeg istraživanja dijelom su u saglasnosti sa ovim studijama, jer smo ukazali na to da postoji statistički značajna pozitivna korelacija između srednjih detektabilnih vrijednosti SEA-IgE i ukupnog serumskog IgE (Tabela 28 i Slika 26). SEA-IgE ima pozitivnu prediktivnu vrijednost u odnosu na vrijednosti ukupnog serumskog IgE (Tabela 33). Dokazi proistekli iz našeg istraživanja odstupaju od rezultata studije *Zhang* i saradnika, koji su dokazali da se specifična IgE antitijela na SAE mogu identifikovati kod pacijenata sa HRSsNP, neovisno od ukupnog serumskog IgE. Autori tumače ove rezultate činjenicom da je sinteza specifičnih IgE antitijela funkcionalna i poliklonalna, neovisna o atopijskom statusu pacijenata [140]. Značajna povezanost SEA-IgE i ukupnog IgE u našem istraživanju možda ukazuje na zbirno ispoljavanje serumskih vrijednosti IgE neovisno od porijekla odnosno prirode.

Prema rezultatima određenih studija, postoji dokazana osnova za tvrdnju da prisustvo specifičnih IgE antitijela na SAE predstavlja link između astme i HRSsNP. Studija *Bachert* i saradnika imala je za cilj da utvrdi određeni inflamatori fenotip koji je potencijalni link između nosnosinusne polipoze i astme. Ovo istraživanje ukazalo je na to da povišena ekspresija IgE i IL-5, uz pozitivna specifična IgE antitijela na stafilokokni enterotoksin kod pacijenta sa HRSsNP u podgrupi Th2 endotipa, predstavlja povišen rizik za pojavu astme [260]. Nešto kasnije, isti autor je istraživao vezu između astme i specifičnih IgE na SAE, polene trave i kućnu prašinu. Specifični IgE na enterotoksine bili su značajno viših koncentracija kod pacijenata sa teškom astmom u odnosu na pacijente kontrolne grupe [304]. U našem istraživanju nismo utvrdili značajnu povezanost između astme i SEA-IgE, što nije u saglasnosti sa rezultatima prethodnih studija (Tabela 28). Povezanost HRSsNP i astme najčešće se registruje kod pacijenata sa aspirinskom senzitivnošću, koji nisu učestvovali u našem istraživanju, što donekle opravdava naše rezultate. Ujedno je ovo jedan od mogućih razloga za detektovanje niskih srednjih vrijednosti SEA-IgE u našem istraživanju, jer je

pozitivan nalaz ovih antitijela vezan za subpopulaciju HRSsNP sa aspirinskom senzitivnošću. Analizirajući rezultate studija koje su ispitivale zastupljenost SEA-IgE u različitim subpopulacijama HRSsNP, može se izvući zaključak da su ova antitijela, ipak, najčešće zastupljena kod nosnosinusne polipoze u sklopu respiratorne bolesti pogoršane aspirinom (AERD). *Seiberling* i saradnici su prezentovali visok nivo kolonizacije SA (63,6%), kao i visok nivo (80%) SEA-IgE u tkivu nosnih polipa kod pacijenta sa AERD [283]. Prisustvo specifičnih IgE na enterotoksine SA je, prema studiji *Pe rez-Novo* i saradnika, prediktor teških formi inflamacije kod pacijenata sa HRSsNP u sklopu sindroma aspirinske senzitivnosti [305]. Značajnu povezanost između specifičnih IgE na enterotoksine SA i AERD dokazala je studija *Yoo* i saradnika, koja je uključila oko 450 ispitanika i analizirala serumske vrijednosti specifičnih IgE na SEA, SEB, TSST-1. Serumske vrijednosti IgE antitijela na enterotoksine SA nisu korelirale značajno sa kliničkim parametrima (godište, atopija, teške forme astme, nosnosinusna polipoza), ali je dokazana povezanost ovih antitijela sa težim formama AERD [306]. Dokazana je povišena produkcija tkivnih eikozanoida, cisteinil leukotriena i lipokksina A4 kod pacijenata sa nosnosinusnom polipozom i visokim koncentracijama specifičnog IgE. Ista studija je utvrdila i da su vrijednosti tkivnih eikozanoida pozitivno korelirale sa koncentracijama IL-5 i ECP [307]. I *van Zele* i saradnici su ustanovili da je imuni odgovor na enterotoksin SA u formi specifičnih IgE utvrđen kod 28% pacijenata sa HRSsP, te kod 80% pacijenata sa sindromom aspirinske senzitivnosti [168].

Većina studija koje su istraživale povezanost specifičnih IgE na SAE kod pacijenata sa HRSsNP ukazale su na njihovu značajnu povezanost sa ekspresijom IL-5 u tkivu polipa. Specifična IgE antitijela na stafilokokni enterotoksin, koja su detektovana kod pacijenata sa HRSsNP, najčešće su korelirala sa nalazom IL-5, ECP i tkivne eozinofilije [49, 157, 297]. U saglasnosti sa prethodnim studijama, rezultati naše studije ukazuju na statistički značajnu prediktivnu korelaciju između srednjih vrijednosti SEA-IgE i imunohistohemijske ekspresije IL-5. Tkvna ekspresija IL-5 predstavlja prediktivni faktor za vrijednosti SEA-IgE, odnosno sa povećanjem nivoa ekspresije IL-5 povećava se šansa za detekciju viših srednjih vrijednosti SEA-IgE (Tabela 50).

## 5.7. Patohistološki nalaz

Patohistološkom analizom tkiva polipa utvrdili smo da većina uzoraka (94.1%) prema svojim karakteristikama odgovara edematoznim ili eozinofilnim polipima, što u potpunosti odgovara dominantnoj histološkoj formi HRSsNP kod evropske populacije [8, 198-200]. Patohistološkom

analizom smo obuhvatili i stepen inflamacije (izražen kao infiltrat leukocita) unutar tkiva polipa kod eksperimentalne grupe i unutar tkiva donje nosne školjke kod kontrolne skupine. U eksperimentalnoj grupi, 3,3% uzoraka imali su odsutan ili oskudan stepen inflamacije, 56,7% umjeren, a 40% izražen stepen inflamacije. U kontrolnoj grupi, 58,5% uzoraka imali su odsutan ili oskudan stepen inflamacije, 34,2% umjeren i 7,1% izražen stepen inflamacije. Drugim riječima, izražen stepen inflamacije značajno je zastupljen u uzorcima polipa u odnosu na uzorke kontrolne grupe (Tabela 35 i Slika 32). Ovi rezultati impliciraju na mogućnost daljeg istraživanja uticaja patohistoloških parametara na subjektivne i objektivne parametre HRSsNP. Jedna od studija koja je izučavala ovu temu je studija *Baudoin* i saradnika koja je analizirala prediktivnu ulogu patohistoloških parametara HRSsNP na postoperativni ukupni skor simptoma. Autori su dokazali da određeni parametri, kao što su zastupljenost peharastih ćelija, subepitelijalno inflamatorno zadebljanje sluznice i infiltracija mast-ćelijama, imaju prediktivnu ulogu na subjektivne skorove i ishod endoskopske sinusne hirurgije [308].

Ustanovili smo značajnu zastupljenost izraženog stepena inflamacije u tkivu polipa sa umjerenim (2+) nivoom imunoreaktivnosti IL-5, kao i statistički značajnu povezanost između ovih parametara (Tabela 48 i Slika 41). Na ovaj način smo dokazali značajnu povezanost IL-5 sa izraženom inflamacijom unutar tkiva polipa, a imajući u vidu prevagu eozinofilnih polipa u našem uzorku, indirektno smo potvrdili ulogu IL-5 u indukciji eozinofilne inflamacije [8, 87, 153]. Nismo dokazali značajnu zastupljenost određenog stepena inflamacije u odnosu na prisutnu alergijsku preosjetljivost (*prick test*), što možda indirektno dokazuje da alergijska preosjetljivost tipa 1 nema značajnu ulogu u indukciji hronične inflamacije HRSsNP. Nije bilo značajne povezanosti između određenog stepena inflamacije i prisutne astme, što svakako nije u saglasnosti sa prethodnim istraživanjima [9, 23, 25, 33].

Našim istraživanjem smo dokazali statistički značajnu zastupljenost umjerenog i izraženog leukocitnog infiltrata u tkivu polipa sa umjerenom (2+) i izraženom (3+) imunohistohemijskom ekspresijom IgE (Tabela 62 i Slika 45). Takođe smo dokazali i značajnu povezanost ovih parametara, što dokazuje značajnu ulogu IgE u imunopatogenezi hronične inflamacije HRSsNP [126, 128].

## **5.8. Imunohistohemijska ekspresija IL-5 u tkivu nosnosinusne polipoze**

Fenotip sa HRSsNP predstavlja heterogenu grupu sa različitim endotipovima inflamatornog obrasca i varijabilnim Th supsetovima. HRSsNP u većini slučajeva karakteriše Th2 inflamacija, dominantna uloga citokina koji promovišu produkciju IgE i eozinofilna inflamacija. Eozinofili, kao jedne od najtoksičnijih ćelija u organizmu, na mjestu inflamacije moduliraju inflamatorne procese oslobođanjem brojnih toksičnih proteina lipidnih medijatora, citokina i superoksidnih aniona. Njihova aktivacija i mobilizacija je pod uticajem brojnih hemokina i citokina, koji čine signifikantnu barijeru u svrhu prevencije specifične aktivacije ovih citotoksičnih ćelija. Upravo je IL-5 ključni citokin eozinofilopoeze, diferencijacije, migracije i aktivacije. IL-5 produžava vrijeme preživljavanja eozinofila inhibicijom apoptoze. Po svemu sudeći, izvor IL-5 su najvjerojatnije sami eozinofili, što naročito dolazi do izražaja u slučaju nosnosinusne polipoze. Eozinofili koriste autokrine mehanizme u produkciji IL-5 u svrhu sopstvene aktivacije i produženog preživljavanja u tkivu. IL-5 je, u inicijalnom stadiju oboljenja, sekretovan od strane T limfocita, dok su aktivirani eozinofili glavni izvor IL-5 u uznapredovaloj fazi [309, 310].

Istraživanja su pokazala značajno veće koncentracije ukupnog IgE, IL-5, eotaksina, ECP, u tkivu polipa u odnosu na uzorke sluznice nosa kontrolne grupe. Koncentracija IL-5 se pokazala nezavisna od atopijskog statusa pacijenta. Vrijednosti ukupnog i specifičnog IgE nisu bile u skladu sa atopijskim statusom baziranom na pozitivnom *skin prick* testu. Ista studija je istraživala vezu između nivoa ukupnih i specifičnih imunoglobulina E i eo infiltracije kod pacijenata sa HRSsNP. Na osnovu imunohistohemijske analize uzorka polipa, studija je ukazala na značajno veći nivo lokalnog IgE u odnosu na sluznicu kontrolne grupe pacijenata bez NP. Na osnovu prisustva IgE antitijela u tkivu nosnih polipa, arbitrarno su izdvojene tri grupe pacijenata. U prvoj grupi bili su pacijenti sa niskim vrijednostima ukupnog IgE, bez specifičnih IgE. U drugoj grupi bili su pacijenti sa "alergijskim" tipom ekspresije IgE, te sa povećanim vrijednostima ukupnog IgE i selektovanih specifičnih IgE na inhalatorne alergene koji se mogu dokazati u serumu i *skin prick* testom. U trećoj grupi su pacijenti sa visokim vrijednostima ukupnog IgE, poliklonalnom ekspresija IgE, prisustvom SEA i SEB. Zaključak, proistekao iz ove studije, jeste da IL-5 uz IgE predstavlja najvažniji biohemijski marker inflamacije kod HRSsNP [49].

Skorija studija koju su sproveli *Zhao* i saradnici komparirala je koncentracije IL-5 u tkivu polipa i donje nosne školjke kod pacijenata sa HRSsNP i ustanovila veće koncentracije u tkivu polipa, što implicira blisku vezu između IL-5, formiranja i daljeg razvoja polipa [311].

Naša studija je dokazala statistički značajno više pacijenata sa pozitivnom imunohistohemijskom ekspresijom IL-5 u grupi pacijenata sa HRSsNP u odnosu na ispitanike kontrolne grupe (Tabela 37 i Slika 38). Rezultat je u saglasnosti sa prethodnim studijama, a s obzirom na visok nivo značajnosti, možemo sa sigurnošću reći da tkivna ekspresija IL-5 predstavlja najsenzitivni marker Th2 inflamacije kod pacijenata sa HRSsNP. U prilog ovome ide i činjenica da smo dokazali značajnu zastupljenost izraženog stepena inflamacije u tkivu polipa sa umjerenom (2+) imunohistohemijskom ekspresijom IL-5 (Tabela 48 i Slika 41), a što je dokaz da IL-5 indukuje i vjerovatno održava Th2 inflamaciju kod HRSsNP. Takođe smo dokazali značajnu povezanost između umjerene (2+) imunohistohemijske ekspresije IL-5 (Tabela 47 i Slika 40) i umjerene (2+) i izražene (3+) ekspresije IgE. Drugim riječima, „više“ nivo ekspresije IgE možemo očekivati u „višim“ nivoima ekspresije IL-5. I ovaj rezultat je u saglasnosti sa rezultatima prethodnih studija koje su ustanovile značajnu prevagu markera Th2 inflamacije (IL-5 i IgE) u tkivu polipa, kao i njihovu signifikantnu povezanost [49, 87, 157].

Pacijenti sa HRSsNP i dominantno zastupljenim IL-5 u tkivu polipa pokazuju češće prisutnu astmu kao komorbiditet i imaju češće hirurške revizije, što ukazuje na to da tkivna ekspresija IL-5 definiše specifični fenotip sa težim formama oboljenja, te samim tim predstavlja glavni potencijalni terapijski target [157, 260]. Da IL-5 ima prediktivnu vrijednost kod težih formi oboljenja dokazuje i studija koja je dokazala pozitivnu korelaciju između nivoa IL-5 u nazalnom sekretu i stope recidiva nosnosinusne polipoze[155]. Wang i saradnici su istraživali koncentracije IL-5 kod različitih patohistoloških formi nosnosinusne polipoze i ustanovili visoke koncentracije ovog citokina kod edematoznih polipa, te niske koncentracije u adenocističnim formama. Ustanovili su visoke koncentracije IL-5 kod teških formi oboljenja [312]. Takođe je dokazano da mukozalna eozinofilija, povećane koncentracije IL-5 u nosnoj sluznici koreliraju sa težim formama oboljenja i češćim hirurškim revizijama [313]. Studija Drviš i saradnika dokazala je da ekspresija IL-5, u sinusnom lavatu kod HRS, ima pozitivnu prediktivnu korelaciju sa efikasnošću kortikosteroidne i antibiotske terapije na subjektivne skorove oboljenja [314]. Studija Grgic i saradnika analizirala je prediktivnu ulogu eozinofilne infiltracije, IL-5, IgE i vaskularnog endotelijalnog faktora rasta na postoperativni ishod liječenja pacijenata sa HRSsNP. Dokazali su značajnu prediktivnu ulogu eozinofilne infiltracije i izražene imunoreaktivnosti IL-5 na postoperativni recidiv polipoze, dok nivo IgE i vaskularnog endotelijalnog faktora rasta nije imao uticaja na pojavu recidiva oboljenja [315].

Našim istraživanjem smo dokazali da postoji statistički značajna prediktivna korelacija između endoskopskog, VAS i CT skora i imunohistohemijske ekspresije IL-5 u tkivu polipa

(Tabela 50). Sa povećanjem nivoa ekspresije IL-5 povećavaju se i navedeni skorovi što indirektno potvrđuje da IL-5 predstavlja prediktivni faktor težih formi oboljenja, čime naši rezultati potvrđuju rezultate prethodne dve studije.

Studija *Bachert* i saradnika dokazala je da povišena ekspresija IgE i IL-5, uz pozitivna specifična IgE antitijela na stafilokokni enterotoksin, kod pacijenta sa HRSsNP u podgrupi Th2 endotipa, predstavlja povišen rizik za pojavu astme [260]. Studija *Hamilos* i saradnika ispitivala je imunoreaktivnost citokina IL-5, GM-CSF i RANTES mRNA kod alergijske i nealergijske nosnosinusne polipoze. Ustanovili su povišene vrijednosti navedenih citokina u svim slučajevima, te izražene koncentracije IL-5 kod alergijske nosnosinusne polipoze, dok su kod nealergijske dijateze utvrđene više vrijednosti GM-CSF. Iz ove studije proizilazi zaključak da mehanizmi eozinofilne akumulacije kod različitih formi nosnosinusne polipoze zavise od alergijske dijateze [316]. Studija koju su sproveli *Xu* i saradnici dokazala je značajno više koncentracije IL-5 u tkivu polipa u odnosu na donju nosnu školjku. Značajno više koncentracije dokazane su kod pacijenata sa alergijskom preosjetljivošću [185].

Naše istraživanje nije dokazalo povezanost između atopije, odnosno pozitivanog *prick* testa (Tabela 22), pozitivnog nalaza ukupnih IgE antitijela i imunohistohemijske ekspresije IL-5 kod pacijenata sa HRSsNP. Ovi rezultati su u saglasnosti sa studijom *Hirschberg*, koja je takođe dokazala značajnu koncentraciju IL-5 u tkivu polipa, ali bez značajne razlike između grupe pacijenata sa atopijom i bez atopije [317].

Studija *Niederfuhr* i saradnika dokazala je značajnu koncentraciju IL-5 i IgE u nazalnom lavatu pacijenta sa HRSsNP, s tim da kolonizacija SA nije korelirala sa ovim nalazom. Odnosno, SA se nije izdvojio kao biomarker koji je uticao na koncentraciju IL-5 i IgE [292]. Rezultati ove studije su u saglasnosti sa našim rezultatima s obzirom da nismo dokazali značajno prisustvo kolonizacije SA (Tabela 46) kod pacijenata sa pozitivnom ekspresijom tkivnog IL-5, ali smo dokazali pozitivnu korelaciju između SEA-IgE i ekspresije IL-5, što je u saglasnosti sa prethodnim studijama [157, 298, 318].

## 5.9. Imunohistohemijska ekspresija IgE u tkivu nosnosinusne polipoze

Studija *Eckl-Dorna* je istraživala ulogu plazma ćelija i B limfocita u produkciji alergen-specifičnog IgE. U nizu eksperimenata sa ćelijskom separacijom provedenom negativnom deplecijom i pozitivnom selekcijom, otkrili su da većina cirkulišućih specifičnih IgE antitijela ne

potiče iz IgE-prodrukujućih ćelija u krvi. Ovaj rezultat sugerira da je produkcija vjerovatno na nivou ciljnog organa. Tako da bi i serumski IgE kod pacijenata sa AR mogao biti rezultat "preljevanja", odnosno sav serumski IgE potiče od mukoze [319]. Skorija istraživanja su ukazala na strukture slične germinalnim centrima unutar polipa, sa elementima B-ćelijske diferencijacije u IgE sekretorne plazma ćelije [320]. *Song* i saradnici dokazali su prisustvo ektopičnog limfnog tkiva u tkivu nosnosinusne polipoze, a samim tim i prisustvo folikularnih T ćelija (engl. T follicular cells - Tfh cells) koje imaju krucijalnu ulogu u regulaciji B-ćelijskog odgovora [321]. *Zhang* i saradnici su pronašli nazalne IL-4+Tfh ćelije koje indukuju IgE produkciju (*in vitro*) i čija koncentracija korelira sa lokalnom produkcijom IgE u polipima (*in vivo*) [322]. S druge strane, studija *Feldman* i saradnika nije dokazala prisustvo ektopičnog limfnog tkiva kod nosnosinusne polipoze [323]. Dokazana je značajno viša koncentracija IgE, IgG, IgA u tkivu polipa kod HRSsNP u odnosu na zdrave ispitanike. Ove koncentracije nisu potvrđene u serumu pacijenata, što, prema autorima, sugerira na lokalnu, tkivnu produkciju imunoglobulina. Ovome u prilog idu i dokazi o povećanom broju plazma ćelija u tkivu polipa u odnosu na kontrolnu grupu zdravih ispitanika [324]. Eksperimenti su ukazali na to da aktivacija IgE premoštavanja kod HRSsNP, kao i imonoglobulini slobodnih lakih lanaca (engl. *free light chains*, FLC) prisutni u polipima, mogu posredovati lokalni imuni odgovor. FLC koncentracije korelirale su sa koncentracijama IL-5, IL-6 i lokalnog IgE, a sa druge strane primjećeno je smanjenje lokalnog FLC nakon tretmana sa anti-IL-5 antitijelima [308]. U tkivu polipa otkrivena su formacije sekundarnog limfnog tkiva i hiper-imunoglobulinemija E, povezana sa prisutnim specifičnim IgE na enterotoksine SA [136]. Navedeni rezultati potkrepljuju koncept "lokalne alergije" ili "entopije" u patogenezi eozinofilnog HRSsNP [131].

Rezultati našeg istraživanja potkrepljuju prethodne dokaze s obzirom na to da smo dokazali statistički značajnu imunohistohemijsku ekspresiju IgE (Tabela 51 i Slika 42) u tkivu polipa. U slučaju IgE, ova ekspresija je ubjedljivija u odnosu na IL-5 (Tabela 36 i Slika 39), jer smo dokazali i izražene nivo ekspresije u komparaciji sa IL-5, gdje nismo detektovali izraženu (3+) ekspresiju. S obzirom na statistički značajnu prevalencu ekspresije, ovaj rezultat svakako podržava ulogu IgE kao senzitivnog markera inflamacije kod HRSsNP. Dokazali smo i značajnu zastupljenost izraženog stepena inflamacije (Tabela 62 i Slika 45) u tkivu polipa sa umjerenom (2+) i izraženom imunohistohemijskom ekspresijom IgE, što je dokaz da je IgE, zajedno sa IL-5, biomarker Th2 inflamacije kod HRSsNP. Takođe smo dokazali značajnu povezanost između "viših" nivoa ekspresija IgE (Tabela 61 i Slika 44) i "viših" nivoa ekspresije IL-5. Naši rezultati su u saglasnosti sa studijom *Hirschberg* i saradnika, koji su dokazali značajno više nivo IgE u tkivu polipa u

odnosu na zdrave ispitanike. Na istim uzorcima dokazana je i pozitivna korelacija između nivoa IL-5 i IgE [317]. Našim istraživanjem nismo dokazali značajnu zastupljenost ekspresije tkivnog IgE (Tabele 54 i 55) kod pacijenata sa atopijom (pozitivan *prick* test i pozitivan nalaz ukupnog serumskog IgE). Naši rezultati su u saglasnosti sa rezultatima studije koja je ispitivala vezu između atopije i određenih imunoloških biomarkera značajnih za NP, a koja je ukazala na to da dokazana atopija nije bila u vezi sa ukupnim IgE, IgE antitijelima u tkivu polipa, nivoom IL-5, eotaksina i tkivnom eozinofiljom [49]. Poznato je da su nivoi IgE, detektovani u tkivu polipa, u neskladu sa serumskim IgE, koji odražavaju atopiju, zbog čega se IgE u tkivu polipa nazivaju "poliklonalnim", a ne "alergičnim". Njihova se koncentracija samo parcijalno prikazuje kroz serumske vrijednosti ili rezultate kožnog *prick* testa [136]. Istraživanje *Cao* i saradnika utvrdilo je povišen nivo lokalnog IgE, lokalnog specifičnog IgE na inhalatorne alergene neovisno od atopije kod pacijenata sa eozinofilnim HRSsNP u odnosu na kontrolnu grupu i ne-eozinofilni HRSsNP. Studija je dokazala i povišen broj IgE-i Fc $\epsilon$ RI-pozitivnih ćelija (uglavnom mast-ćelija) kod eozinofilnog HRSsNP, što indirektno upućuje na dokaze o lokalnoj IgE produkciji [325]. Prema našim rezultatima imunohistohemijska ekspresija IgE kao markera Th2 inflamacije u tkivu polipa ne korelira sa prisutnom astmom u komorbiditetu. Rezultat svakako nije u skladu sa prethodnim rezultatima studija prema kojima tkivni IgE predstavlja prediktivni faktor udruženog ispoljavanja, HRSsNP i astme [172, 260, 275]. Studija *Vagic* i saradnika analizirala je zastupljenost Th1 i Th2 inflamatornog profila kod pacijenata sa HRS sa i bez astme. U tu svrhu ispitivana je zastupljenost markera inflamacije, eozinofilne infiltracije, lokalnog IgE u sinonazalnom tkivu i lavatu. Autori su dokazali značajnu zastupljenost markera aktivacije granulocita, lokalnog IgE i izraženog stepena inflamacije kod pacijenata sa HRS i astmom u komorbiditetu [326].

Našim istraživanjem dokazali smo da postoji statistički značajna pozitivna predikcija između endoskopskog, VAS i CT skora i imunohistohemijske ekspresije IgE (Tabela 64.). Sa povećanjem ekspresije IgE povećavaju se i navedeni skorovi, što indirektno potvrđuje da pozitivna ekspresija IgE u tkivu predstavlja prediktivni faktor težih formi oboljenja, čime naši rezultati potvrđuju rezultate prethodnih istraživanja [157, 260].

## **6. ZAKLJUČAK**

Na osnovu sprovedenog istraživanja može se zaključiti sljedeće:

1. Utvrdili smo značajnu zastupljenost specifičnih IgE na enterotoksin A *Staphylococcus aureus*-a u serumu pacijenata sa hroničnim rinosinuzitisom i nosnosinusnom polipozom.
2. Analizirali smo povezanost specifičnog imunoglobulina E na enterotoksin A *Staphylococcus aureus*-a i opserviranih parametara, te utvrdili:
  - a) statistički značajnu prediktivnu korelaciju između specifičnih IgE na enterotoksin A *Staphylococcus aureus*-a, imunohistohemijske ekspresije IL-5 i imunohistohemijske ekspresije IgE u tkivu polipa.
  - b) značajnu zastupljenost najsenzitivnijih markera Th2 inflamacije (IL-5 i IgE) u tkivu polipa kao i njihovu signifikantnu povezanost sa težim formama oboljenja i izraženim stepenom inflamacije.
  - c) značajnu korelaciju između specifičnih IgE na entrotoksin A *Staphylococcus aureus*-a i ukupnog serumskog IgE kod pacijenata sa hroničnim rinosinuzitisom i nosnosinusnom polipozom.
  - d) značajno više srednje detektibilne vrijednosti SEA-IgE kod ispitanika muškog pola, statistički značajnu pozitivnu korelaciju između viših srednjih vrijednosti SEA-IgE i višeg CT skora, statistički značajnu prediktivnu korelaciju između vrijednosti SEA-IgE, vrijednosti VAS i CT skora.

Sudeći prema rezultatima naše studije, specifični IgE na enterotoksin A *Staphylococcus aureus*-a predstavlja potencijalni imunopatogenetski marker HRSsNP s obzirom na značajniju zastupljenost srednjih vrijednosti kod pacijenata eksperimentalne grupe, prediktivnu povezanost sa težim formama oboljenja i pozitivnom imunohistohemijskom ekspresijom IL-5 i IgE kao odraza Th2 inflamacije u tkivu polipa. Istražujući ulogu enteroksina *Staphylococcus aureus*, dokazali smo dominantnu ulogu najbolje proučenog modela endotipa posredovanog Th2 markerima inflamacije čija priroda i intenzitet imaju ključnu ulogu u determinisanju kliničkog fenotipa, toka oboljenja, procesa remodelovanja i terapijskog odgovora. Rezultati ove studije ukazuju na prediktorne karakteristike opserviranih parametara u smislu etiopatogeneze i težine kliničke slike hroničnog rinosinuzitisa sa nosnosinusnom polipozom, a samim tim mogli bi imati i kliničku vrijednost kao prediktori uspješnosti liječenja, odabira modaliteta i trajanja liječenja.

## 7. LITERATURA

1. Vancil ME. A historical survey of treatments for nasal polyposis. *Laryngoscope* 1969;79:435–445.
2. Brain DJ. Historical background. In: Nasal polyps: epidemiology, pathogenesis and treatment. Settipane GA, Lund VJ, Bernstein JM, Tos M (eds.). Providence, RI: OceanSide Publications, 1997.
3. Stevenson, RS, Guthrie, D. A history of oto-laryngology, Edinburgh: E. & S. Livingstone, 1949.
4. Pahor AL, Kimura A. History of removal of nasal polyps. *A Folha Medica* 1991;102:183-6.
5. Zuckerkandl E. Normale und pathologische Anatomie der Nasenhöhle und ihrer Pneumatischen Anhänge.II. Wilhelm Braumüller: Wien, 1892. Onodi A. Die Nebenhöhlen der Nase beim Kinde. Curt Kabitzsch: Würzburg,1911.
6. Emani J, Baroody FM. History of nasal polyposis. In: Önerci TM, Ferguson BJ, editors. Nasal polyposis: pathogenesis, medical and surgical treatment. Berlin-Heidelberg: Springer-Verlag; 2010.
7. Fokkens WJ, Lund VJ, Mullol J, Bachert C, Allobid I, Baroody F et al. EP3OS 2012: European position paper on rhinosinusitis and nasal polyps 2012. A summary for otorhinolaryngologists. *Rhinology*. 2012;50(Suppl 23):1-299.
8. Fokkens WJ, Lund VJ, Hopkins C, Hellings PW, Kern P, Reitsma S, et al. European Position Paper on Rhinosinusitis and Nasal Polyps. *Rhinology* 2020;58:1-464.
9. Akdis CA, Bachert C, Cingi C, Dykewicz MS, Hellings PW, Naclerio RM, et al. Endotypes and phenotypes of chronic rhinosinusitis: A PRACTALL document of the European Academy of Allergy and Clinical Immunology and the American Academy of Allergy, Asthma & Immunology. *J Allergy Clin Immunol*. 2013;131:1479-90.
10. Stammberger H. The evolution of functional endoscopic sinus surgery. *EarNoseThroat J*. 1994;73(451):454–5.
11. Payne SC, Early SB, Huyett P, Han JK, Borish L, Steinkel JW. Evidence for distinct histologic profile of nasal polyps with and without eosinophilia. *Laryngoscope* 2011;121:2262–2267.
12. Grayson JW, Hopkins C, Mori E, Senior B, Richard J Harvey RJ. Contemporary Classification of Chronic Rhinosinusitis: Moving beyond CRSwNP and CRSsNP. *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg*. 2020;146(9):831-838.

13. Hastan D, Fokkens WJ, Bachert C, Newson RB, Bislimovska J, Bockelbrink A, P J Bousquet PJ, et al. Chronic rhinosinusitis in Europe-an underestimated disease. A GA<sup>2</sup>LEN study. *Allergy* 2011;66:1216-1223.
14. Allobid I, Antón E, Armengot M, Chao J, Colás C, del Cuillo A, et al. SEAIC-SEORL. Consensus Document on Nasal Polyposis. POLINA Project. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2011;21:1-58.
15. Larsen PL, Tos M. Site of origin of nasal polyps. Transcranially removed naso-ethmoidal blocks as a screening method for nasal polyps in autopsy material. *Rhinology* 1995;33:185-8.
16. Soler ZM, Mace JC, Litvack JR, Smith TL. Chronic rhinosinusitis, race, and ethnicity. *Am J Rhinol Allergy*. 2012;26:110–116.
17. Newton JR, Ah-See KW. A review of nasal polyposis. *Ther Clin Risk Manag*. 2008;4:507-512.
18. Johansson L, Akerlund A, Holmberg K, Melen I, Bende M. Prevalence of nasal polyps in adults: the Skovde population-based study. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2003;112:625-9.
19. Klossek JM, Neukirch F, Pribil C, Jankowski R, Serrano E, Chanal I, Hasnaoui AE. Prevalence of nasal polyposis in France: a cross-sectional, case-control study. *Allergy* 2005;60(2):233-7.
20. Hedman J, Kaprio J, Poussa T, Nieminen MM. Prevalence of asthma, aspirin intolerance, nasal polyposis and chronic obstructive pulmonary disease in a population-based study. *Int J Epidemiol*. 1999;28:717-22.
21. Won HK, Kim YC, Kang MG, Park HK, Lee SE, Min-Hye Kim MH, et al. Age-related prevalence of chronic rhinosinusitis and nasal polyps and their relationships with asthma onset. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2018;120:389-94.
22. Settipane RA, Peters AT, Chandra R. Chronic rhinosinusitis. *Am J Rhinol Allergy*. 2013; 27:11–15.
23. Fasano MB. Combined airways: impact of upper airway on lower airway. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg*. 2010;18:15-20.
24. Yılmaz İ, Türk M and Bahçecioğlu SN. Eosinophilic asthma with nasal polyposis march: Is aspirin-exacerbated respiratory disease the last station? *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2017; 5(6):1807-1808.
25. Bachert C, Claeys SE, Tomassen P, van Zele T, N Zhang N. Rhinosinusitis and asthma: a link for asthma severity. *Curr Allergy Asthma Rep*. 2010;10(3):194-201.
26. Hens G, Bobic S, Reekmans K, Ceuppens JL, Hellings PW. Rapid systemic uptake of allergens through the respiratory mucosa. *J Allergy Clin Immunol*. 2007;120:472-4.

27. Hens G, Raap U, Vanoirbeek J, Meyts I, Callebaut I, Verbinnen B, et al. Selective nasal allergen provocation induces substance P-mediated bronchial hyperresponsiveness. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2011;44:517-23.
28. Kim YC, Won HK, Lee JW, Sohn KH, Kim MH, Kim TB, et al. Staphylococcus aureus Nasal Colonization and Asthma in Adults: Systematic Review and Meta-Analysis. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2019;7:606-15.
29. Philpott CM, Erskine S, Hopkins C, Philpott CM, Erskine S, Hopkins C, et al. Prevalence of asthma, aspirin sensitivity and allergy in chronic rhinosinusitis: data from the UK National Chronic Rhinosinusitis Epidemiology Study. *Respiratory research* 2018;19:129.
30. Massoth L, Anderson C, McKinney KA. Asthma and Chronic Rhinosinusitis: Diagnosis and Medical Management. *Med Sci (Basel)* 2019;7(4):53.
31. Håkansson K, Konge L, Thomsen SF, Backer V, von Buchwald C. Sinonasal inflammation in COPD: a systematic review. *Eur Respir J.* 2013;42:1402-11.
32. Reddel HK, Fitzgerald JM, Bateman ED, Bacharier LB, Becker A, Brusselle G, Roland Buhl R, et al. GINA 2019: a fundamental change in asthma management: Treatment of asthma with short-acting bronchodilators alone is no longer recommended for adults and adolescents. *Eur Respir J.* 2019;53(6):1901046.
33. Pearlman AN, Chandra RK, Chang D, Conley DB, Tripathi-Peters A, Grammer LC, et al. Relationships between severity of chronic rhinosinusitis and nasal polyposis, asthma, and atopy. *Am J Rhinol Allergy.* 2009;23:145–148.
34. Promsopa C, Kansara S, Citardi MJ, Fakhri S, Porter P, Luong A. Prevalence of confirmed asthma varies in chronic rhinosinusitis subtypes. *Int Forum Allergy Rhinol.* 2016;6(4):373-377.
35. Zhang N, van Zele T, Perez-Novo C, Bruaene NV, Holtappels G, DeRuyck N, et al. Different types of T-effector cells orchestrate mucosal inflammation in chronic sinus disease. *J Allergy Clin Immunol.* 2008;122(5):961-968.
36. Håkansson K, Thomsen SF, Konge L, Mortensen J, Backer V, von Buchwald C. A comparative and descriptive study of asthma in chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *Am J Rhinol Allergy.* 2014; 28: 383-387.
37. Kambara R, Minami T, Akazawa H, Tsuji F, Sasaki T, Inohara H, Horii A. Lower Airway Inflammation in Eosinophilic Chronic rhinosinusitis as Determined by Exhaled Nitric Oxide. *Int Arch Allergy Immunol.* 2017;173(4):225-232.
38. Tsicopoulos A, Shimbara A, De Nadai P, Aldewachi O, Lamblin C, Lassalle P, et al.

- Involve ment of IL-9 in the bronchial phenotype of patients with nasal polyposis. *J Allergy Clin Immunol.* 2004;113(3):462-469.
39. Lamblin C, Bolard F, Gosset P, Lamblin C, Bolard F, Gosset P, et al. Bronchial interleukin-5 and eotaxin expression in nasal polyposis: relationship with (a) symptomatic bronchial hyperresponsiveness. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001;163(5):1226-1232.
40. Wu W, Bleeker E, Moore W, Busse WW, Castro M, Chung KF, et al. Unsupervised phenotyping of Severe Asthma Research Program participants using expanded lung data. *J Allergy Clin Immunol.* 2014;133(5):1280-8.
41. Jones C, Price CP, Weibman AR, Welch KC, David B Conley DB, Stephanie Shintani-Smith SS, et al. Asthma onset pattern and patient outcomes in a chronic rhinosinusitis population. *Int Forum Allergy Rhinol.* 2018; 8(4): 495–503.
42. Lin DC, Chandra RK , Tan BK, Zirkle W, Conley DB, Grammer LC, et al. Association between severity of asthma and degree of chronic rhinosinusitis. *Am J Rhinol Allergy.* 2011;25(4):205-208.
43. Vashishta R, Soler ZM, Nguyen SA, Schlosser RJ. A systematic review and meta-analysis of asthma outcomes following endoscopic sinus surgery for chronic rhinosinusitis. *International Forum of Allergy & Rhinology* 2013;3:788-94.
44. Kim SD, Cho KS. Samter's Triad: State of the Art. *Clin Exp Otorhinolaryngol.* 2018; 11: 71–80.
45. Dennis SK, Lam K, Luong AA. Review of Classification Schemes for Chronic Rhinosinusitis with Nasal Polyposis Endotypes. *Laryngoscope Investig Otolaryngol.* 2016;1(5): 130–134.
46. Orlandi RR, Kingdom TT, Hwang PH. International Consensus Statement on Allergy and Rhinology: Rhinosinusitis Executive Summary. *Int. Forum Allergy Rhinol.* 2016;6:3–21.
47. Tan BK, Zirkle W, Chandra RK, Linet D al. Atopic profile of patients failing medical therapy for chronic rhinosinusitis. *Int Forum Allergy Rhinol.* 2011;1(2):88–94.
48. Rondón C, Romero JJ, López S, Antúnez C, Martín-Casañez E, Torres MJ, et al. Local IgE production and positive nasal provocation test in patients with persistent nonallergic rhinitis. *J Allergy Clin Immunol.* 2007;119:899-905.
49. Bachert C, Gevaert P, Holtappels G, Johansson SG, van Cauwenbergh P. Total and specific IgE in nasal polyps is related to local eosinophilic inflammation. *J Allergy Clin Immunol.* 2001;107(4):607-14.

50. Kämpe M, Stolt I, Lampinen M, Janson C, Stålenheim G, Carlson M. Patients with allergic rhinitis and allergic asthma share the same pattern of eosinophil and neutrophil degranulation after allergen challenge. *Clin Mol Allergy*. 2011;9:3-10.
51. Ponte EV, Franco R, Nascimento HF, Souza-Machado A, Cunha S, Barreto ML, et al. Lack of control of severe asthma is associated with co-existence of moderate-to-severe rhinitis. *Allergy* 2008, 63:564–569.
52. Perić A, Vojvodić D, Vukomanović-Djurdjević B. Influence of allergy on clinical, immunological and histological characteristics of nasal polyposis. *B-ENT*. 2012; 8:25-32.
53. Kuhn FA, Javer AR. Allergic fungal rhinosinusitis: perioperative management, prevention of recurrence, and role of steroids and antifungal agents. *Otolaryngol Clin North Am*. 2000;33:419-33.
54. Lu-Myers Y, Deal AM, Miller JD, Thorp BD, Sreenath SB, Stanley M McClurg, et al. Comparison of Socioeconomic and Demographic Factors in Patients with Chronic Rhinosinusitis and Allergic Fungal Rhinosinusitis. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2015;153:137-43.
55. Ahmed MK, Ishino T, Takeno S, Hirakawa K. Bilateral allergic fungal rhinosinusitis caused by *Schizophyllum commune* and *Aspergillus niger*. *Rhinology* 2009;47:217–21.
56. Luong A, Marple BF. Allergic fungal rhinosinusitis. *Current Allergy & Asthma Reports* 2004;4:465-70.
57. Bent 3rd JP, Kuhn FA, Bent JP, Kuhn FA. Diagnosis of allergic fungal sinusitis. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 1994;111:580-8.
58. deShazo RD, Swain RE. Diagnostic criteria for allergic fungal sinusitis. *J of Allergy & Clinical Immunology*. 1995;96:24-35.
59. Schwitzguébel AJP, Jandus P, Lacroix JS, Seebach JD, Harr T. Immunoglobulin deficiency in patients with chronic rhinosinusitis: Systematic review of the literature and meta-analysis. *J of Allergy & Clinical Immunology*. 2015;136:1523-31.
60. Resnick ES, Moshier EL, Godbold JH, Cunningham-Rundles C. Morbidity and mortality in common variable immune deficiency over 4 decades. *Blood* 2012;119:1650-7.
61. Vanlerberghe L, Joniau S, Jorissen M. The prevalence of humoral immunodeficiency in refractory rhinosinusitis: a retrospective analysis. *B-ENT* 2006;2(4):161-6.
62. Hoover GE, Newman LJ, Platts-Mills TA, Phillips CD, Gross CW, Wheatley LM. Chronic sinusitis: risk factors for extensive disease. *J Allergy Clin Immunol* 1997;100(2):185-91.
63. McCusker C, Upton J, Warrington R. Primary immunodeficiency. *Allergy Asthma & Clinical Immunology*. 2018;14:61.

64. Kuruvilla M, de la Morena MT. Antibiotic Prophylaxis in Primary Immune Deficiency Disorders. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2013;1:573-82.
65. Roberts DM, Jones RB, Smith RM, Alberici F, Kumaratne DS, Burns S, et al. Rituximab-associated hypogammaglobulinemia: incidence, predictors and outcomes in patients with multi-system autoimmune disease. *J of autoimmunity.* 2015;57:60-5.
66. Bromiker R, Neeman Z, Bar-Oz B, Avital A, Bar-Ziv J, Springer C. Early diagnosis of primary ciliary dyskinesia in a newborn without situs inversus. *Acta Paediatr.* 2002; 91:1002-5.
67. Neustein HB, Nickerson B, O'Neal M. Kartagener's syndrome with absence of inner dynein arms of respiratory ciliy. *Am Rev Respir Dis.* 1980;122:979-83.
68. Bequignon E, Dupuy L, Zerah-Lancner F, Bassinet L, Honoré I, Legendre M,et al. Critical Evaluation of Sinonasal Disease in 64 Adults with Primary Ciliary Dyskinesia. *J Clinical Medicine.* 2019;8:619.
69. Cowan MJ, Gladwin MT, Shelhamer JH. Disorders of ciliary motility. *Am J Med Sci.* 2091;321:3-10.
70. Barbato A, Frischer T, Kuehni CE, Snijders D, Azevedo I, Baktai G, et al. Primary ciliary dyskinesia: a consensus statement on diagnostic and treatment approaches in children. *Eur Respir J.* 2009;34(6):1264-76.
71. Reumaux D, Duthilleul P, Roos D. Pathogenesis of diseases associated with antineutrophil cytoplasm autoantibodies. *Hum Immuno/l* 2004;65(1):1-12.
72. Cottin V, Bel E, Bottero P, Dalhoff K, Humbert M, Lazor, et al. Revisiting the systemic vasculitis in eosinophilic granulomatosis with polyangiitis (Churg-Strauss). *Autoimmunity Reviews* 2017;16:1-9.
73. Ramentol-Sintas M, Martínez-Valle F, Solans-Laqué R. Churg-Strauss Syndrome: an evolving paradigm. *Autoimmunity Reviews* 2012;12:235-40.
74. Szczeklik W, Jakieła B, Adamek D, Musiał J. Cutting edge issues in the Churg-Strauss syndrome. *Clinical reviews in allergy & immunology* 2013;44:39-50.
75. Lanham JG, Elkon KB, Pusey CD, Hughes GR. Systemic vasculitis with asthma and eosinophilia: a clinical approach to the Churg-Strauss syndrome. *Medicine (Baltimore)* 1984;63:65-81.
76. Seccia V, Baldini C, Latorre M, Gelardi M, Dallan I, Cristofani-Mencacci L, et al. Focus on the Involvement of the Nose and Paranasal Sinuses in Eosinophilic Granulomatosis with Polyangiitis

- (Churg-Strauss Syndrome): Nasal Cytology Reveals Infiltration of Eosinophils as a Very Common Feature. *International Archives of Allergy and Immunology* 2018;175:61-9.
77. Steinfeld J, Bradford ES, Brown J, Mallett S, Yancey SW, Akuthota P, et al. Evaluation of clinical benefit from treatment with mepolizumab for patients with eosinophilic granulomatosis with polyangiitis. *J Allergy Clin Immunol*. 2019;143:2170-7.
78. Miglani A, Divekar RD, Azar A, Rank MA, Devyani Lal D. Affiliations expand et al. Revision endoscopic sinus surgery rates by chronic rhinosinusitis subtype. *Int Forum Allergy Rhinol*. 2018;8:1047-51.
79. Lyczak JB, Cannon CL, Pier GB. Lung infections associated with cystic fibrosis. *Clinical microbiology reviews* 2002;15:194-222.
80. Pletcher SD, Goldberg AN, Cope EK. Loss of Microbial Niche Specificity Between the Upper and Lower Airways in Patients With Cystic Fibrosis. *Laryngoscope* 2019;129:544-50.
81. Orlandi RR, Wiggins RH. Radiological Sinonasal Findings in Adults with Cystic Fibrosis. *American J of Rhinology & Allergy* 2009;23:307-11.
82. Tumin D, Hayes D, Kirkby SE, Tobias JD, McKee C. Safety of endoscopic sinus surgery in children with cystic fibrosis. *International J of Pediatric Otorhinolaryngology* 2017;98:25-8.
83. Alanin MC, Aanaes K, Hoiby N, et al. Sinus surgery postpones chronic Gram-negative lung infection: cohort study of 106 patients with cystic fibrosis. *Rhinology* 2016;54:206-13.
84. Hsu J, and Peters AT. Pathophysiology of chronic rhinosinusitis with nasal polyp. *Am J Rhinol Allergy*. 2011;25:285–290.
85. Bachert C, Akdis CA: Phenotypes and Emerging Endotypes of Chronic Rhinosinusitis. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2016; 4(4): 621–8.
86. Kim DW, Cho SH: Emerging Endotypes of Chronic Rhinosinusitis and Its Application to Precision Medicine. *Allergy Asthma Immunol Res*. 2017;9(4): 299–306.
87. Van Zele T, Claeys S, Gevaert P et al. Differentiation of chronic sinus diseases by measurement of inflammatory mediators. *Allergy* 2006;61:1280–1289
88. Kato A. Immunopathology of chronic rhinosinusitis. *Allergol Int*. 2015;64:121–130.
89. Settipane GA, Chafee FH. Nasal polyps in asthma and rhinitis. A review of 6,037 patients. *J Allergy Clin Immunol*. 1977;59(1):17-21.
90. Robinson S, Douglas R, Wormald PJ. The relationship between atopy and chronic rhinosinusitis. *American journal of rhinology* 2006;20(6):625-8.

91. Hellings PW, Fokkens WJ. Allergic rhinitis and its impact on otorhinolaryngology. *Allergy* 2006; 61:656–64.
92. Wilson KF, McMains KC, Orlandi RR. The association between allergy and chronic rhinosinusitis with and without nasal polyps: an evidence-based review with recommendations. *International forum of allergy & rhinology* 2014;4:93-103.
93. Zhang J, Chen J, Robinson C. Cellular and Molecular Events in the Airway Epithelium Defining the Interaction Between House Dust Mite Group 1 Allergens and Innate Defences. *International journal of molecular sciences* 2018;19:3549.
94. DelGaudio JM, Loftus PA, Hamizan AW, Harvey RJ, Wise SK. Central compartment atopic disease. *Am J Rhinol Allergy*. 2017;31:228-34
95. Sivasubramaniam R, Douglas R. The microbiome and chronic rhinosinusitis. *World J Otorhinolaryngol Head Neck Surg*. 2018;4:216–21.
96. Wos-Oxley ML, Chaves-Moreno D, Jáuregui R, Oxley APA, Kaspar U, Plumeier I, et al. Exploring the bacterial assemblages along the human nasal passage. *Environ Microbiol*. 2016;18:2259-71.
97. Feazel LM, Robertson CE, Ramakrishnan VR, Frank DN. Microbiome complexity and *Staphylococcus aureus* in chronic rhinosinusitis. *The Laryngoscope* 2012;122(2):467–72.
98. Aurora R, Chatterjee D, Hentzleman J, Prasad G, Sindwani R, Sanford T. Contrasting the microbiomes from healthy volunteers and patients with chronic rhinosinusitis. *JAMA Otolaryngology Head Neck Surgery* 2013;139(12):1328–38.
99. Hoggard M, Biswas K, Zoing M, Mackenzie BW, Taylor MW, Douglas RG. Evidence of microbiota dysbiosis in chronic rhinosinusitis. *Int Forum Allergy Rhinol*. 2017;7:230-9.
100. Lal D, Keim P, Delisle J, Barker B, Rank MA, Nicholas Chia N, et al. Mapping and comparing bacterial microbiota in the sinonasal cavity of healthy, allergic rhinitis, and chronic rhinosinusitis subjects. *Int Forum Allergy Rhinol*. 2017;7:561-9.
101. Wagner MB, Waite DW, Hoggard M, Douglas RG, Taylor MW, Biswas K. Bacterial community collapse: a meta-analysis of the sinonasal microbiota in chronic rhinosinusitis. *Environ Microbiol*. 2017;19:381-92.
102. Bhattacharyya N. The role of infection in chronic rhinosinusitis. *Curr Allergy Asthma Rep*. 2002;2:500–6.

103. Macia L, Thorburn AN, Binge LC, Marino E, Rogers KE, Maslowski KM, Vieira AT, et al. Microbial influences on epithelial integrity and immune function as a basis for inflammatory diseases. *Immunol Rev.* 2012;245(1):164-76.
104. Willing BP, Russell SL, Finlay BB. Shifting the balance: antibiotic effects on host-microbiota mutualism. *Nat Rev Microbiol.* 2011;9(4):233–43.
105. Wagner MB, Waite DW, Hoggard M, Taylor MW, Biswas K, Douglas RG. Moving beyond descriptions of diversity: clinical and research implications of bacterial imbalance in chronic rhinosinusitis. *Rhinology* 2017;55(4):291-7.
106. Corriveau MN, Zhang N, Holtappels G, Roy NV, Bachert C. Detection of *Staphylococcus aureus* in nasal tissue with peptide nucleic acid-fluorescence *in situ* hybridization. *Am J Rhinol Allergy*. 2009; 23(5):461– 5.
107. Sachse F, Becker K, Von Eiff C, Metze D, Rudack C. *Staphylococcus aureus* invades the epithelium in nasal polyposis and induces IL-6 in nasal epithelial cells *in vitro*. *Allergy* 2010; 65(11):1430 –7.
108. Tan NCW, Foreman A, Jardeleza C, Douglas R, Vreugde S, Wormald PJ. Intracellular *Staphylococcus aureus*: the Trojan horse of recalcitrant chronic rhinosinusitis? *Int Forum Allergy Rhinol.* 2013;3(4):261–6.
109. Chalermwatanachai T, Zhang N, Holtappels G, Bachert C. Association of mucosal organisms with patterns of inflammation in chronic rhinosinusitis. *PLoS One.* 2015;10(8):e0136068.
110. Hoggard M, Wagner Mackenzie B, Jain R, Taylor MW, Biswas K, Richard G Douglas RG. Chronic Rhinosinusitis and the Evolving Understanding of Microbial Ecology in Chronic Inflammatory Mucosal Disease. *Clin Microbiol Rev.* 2017;30(1):321-48.
111. Zelezniak A, Andrejev S, Ponomarova O, Mende DR, Bork P, Kiran Raosaheb Patil KR. Metabolic dependencies drive species co-occurrence in diverse microbial communities. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2015;112(20):6449-54.
112. Cryer J, Schipor I, Perloff JR, Palmer JN. Evidence of bacterial biofilms in human chronic sinusitis. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec.* 2004;66:155–8.
113. Foreman A, Psaltis AJ, Tan LW, Wormald PJ. Characterization of bacterial and fungal biofilms in chronic rhinosinusitis. *Am J Rhinol Allergy.* 2009;23:556–61.
114. Wargo MJ, Hogan DA. Fungal-bacterial interactions: a mixed bag of mingling microbes. *Curr Opin Microbiol.* 2006;9(4):359 –64.

115. Singh P, Mehta R, Agarwal S, Mishra P. Bacterial biofilm on the sinus mucosa of healthy subjects and patients with chronic rhinosinusitis (with or without nasal polyposis). *J Laryngol Otol.* 2015;129(1):46–9.
116. Ponikau JU, Sherris DA, Kern EB, Homburger HA, Gaffey TA, Roberts GD. The diagnosis and incidence of allergic fungal sinusitis. *Mayo Clin Proc* 1999;74(9):877-84.
117. Ponikau JU, Sherris DA, Weaver A, Kita H. Treatment of chronic rhinosinusitis with intranasal amphotericin B: a randomized, placebo-controlled, double-blind pilot trial. *J Allergy Clin Immunol* 2005;115(1):125-31.
- .
118. Ebbens FA, Scadding GK, Badia L, Hellings PW, Jorissen M, Mullol J et al. Amphotericin B nasal lavages: not a solution for patients with chronic rhinosinusitis. *J Allergy Clin Immunol* 2006;118(5):1149-56.
119. Shin SH, Ponikau JU, Sherris DA, Congdon D, Frigas E, Henry A Homburger HA, et al. Chronic rhinosinusitis: an enhanced immune response to ubiquitous airborne fungi. *J Allergy Clin Immunol.* 2004; 114(6):1369–75.
120. Den Beste KA, Hoddeson EK, Parkos CA, Nusrat A, Wise SK. Epithelial permeability alterations in an *in vitro* air-liquid interface model of allergic fungal rhinosinusitis. *Int Forum Allergy Rhinol* 2013;3(1):19 –25.
121. Fokkens WJ, van Drunen C, Georgalas C, Ebbens F. Role of fungi in pathogenesis of chronic rhinosinusitis: the hypothesis rejected. *CurrOpin Otolaryngol Head Neck Surg.* 2012; 20(1):19 –23.
122. Abbas AK, Lichtman AH. Basic Immunology. Functions and Disorders of the Immune System. 3rd Ed Updated, Philadelphia, Saunder Elsevier 2011.
123. Geha RS, Jabara HH, Brodeur SR. The regulation of immunoglobulin E class-switch recombination. *Nat Rev Immunol.* 2003;3:721–32.
124. Poole JA, Rosenwasser LJ. The role of Immunoglobulin E and immune inflammation: Implications in allergic rhinitis. *Curr Allergy Asthma Re.p* 2005;5:252–8.
125. Oettgen HC, Fifty years later: Emerging functions of IgE antibodies in host defense, immune regulation, and allergic diseases. *J Allergy Clin Immunol.* 2016;137:1631-45.
126. De Schryver E., Devuyst L., Derycke L., Dullaers M., Van Zele T., Bachert C. Local immunoglobulin e in the nasal mucosa: clinical implications. *Allergy Asthma Immunol Res.* 2015;7:321–31.

127. Muramatsu M, Kinoshita K, Fagarasan S, Yamada S, Shinkai Y, Honjo T. Class switch recombination and hypermutation require activation-induced cytidine deaminase (AID), a potential RNA editing enzyme. *Cell* 2000;102:553-63
128. Stone KD, Prussin C, Metcalfe DD. IgE, mast cells, basophils and eosinophils. *J Allergy Clin Immunol.* 2010;125:73-80.
129. Takhar P, Corrigan CJ, Smurthwaite L, O'Connor BJ, Durham SR, Lee TH, et al. Class switch recombination to IgE in the bronchial mucosa of atopic and nonatopic patients with asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2007; 119:213-8.
130. Kang JW, Nahm DH, Suh KS, Kim HY, Park HS. Local production of specific IgE antibody to house dust mite in nasal polyp tissues. *J Asthma Allergy Clin Immunol.* 1998;18:426-33
131. Rondon C, Canto G, Blanca G. Local allergic rhinitis: A new entity, characterization and further studies. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2010;10:1-7.
132. Smurthwaite L, Walker SN, Wilson DR, Birch DS, Merrett TG, Durham SR, et al. Persistent IgE synthesis in the nasal mucosa of hay fever patients. *Eur J Immunol.* 2001;31:3422-31.
133. Cameron LA, Durham SR, Jacobson MR, Masuyama K, Juliusson S, Gould HJ, et al. Expression of IL-4, Cepsilon RNA, and Iepsilon RNA in the nasal mucosa of patients with seasonal rhinitis: effect of topical corticosteroids. *J Allergy Clin Immunol.* 1998;101:330-6
134. Neill DR, Wong SH, Bellosi A, Flynn RJ, Daly M, Langford TK, et al. Nuocytes represent a new innate effector leukocyte that mediates type-2 immunity. *Nature* 2010;464:1367-70.
135. Powe DG, Groot Kormelink T, Sisson M, Blokhuis BJ, Kramer MF, Jones NS, et al. Evidence for the involvement of free light chain immunoglobulins in allergic and nonallergic rhinitis. *J Allergy Clin Immunol.* 2010;125:139-45.
136. Gevaert P, Holtappels G, Johansson SG, Cuvelier C, Cauwenbergh P, Bachert C. Organization of secondary lymphoid tissue and local IgE formation to *Staphylococcus aureus* enterotoxins in nasal polyp tissue. *Allergy* 2005;60:71-9.
137. Marrack P, J Kappler J. The staphylococcal enterotoxins and their relatives. *Science* 1990;248 (4956):705-711.
138. Kotzin BL, Leung DY, Kappler J, Marrack P. Superantigens and their potential role in human disease. *Adv Immunol* 1993;54:99-166.
139. Kluytmans J, van Belkum A, Verbrugh H. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. *Clin Microbiol Rev.* 1997;10:505-20.

140. Zhang N, Holtappels G, Gevaert P, Patou J, Dhaliwal B, Gould H, et al. Mucosal tissue polyclonal IgE is functional in response to allergen and SEB. *Allergy* 2011;66:141-8
141. Kraft S, Kinet JP. New developments in FcepsilonRI regulation, function and inhibition. *Nat Rev Immunol.* 2007;7:365-78.
142. Macglashan D Jr. IgE receptor and signal transduction in mast cells and basophils. *Curr Opin Immunol.* 2008; 20: 717-23.
143. Gilfillan AM, Rivera J. The tyrosine kinase network regulating mast cell activation. *Immunol Rev.* 2009; 228: 149-69.
144. Jordan TR, Rasp G, Pfrogner E, Kramer MF. An approach of immunoneurological aspects in nasal allergic late phase. *Allergy Asthma Proc.* 2005;26(5):382-90.
145. Lin RY, Schwartz IB, Curry A, Pesola GR, Knight RJ, Lee HS, et al. Histamine and tryptase levels in patients with acute allergic reactions: an emergency department-based study. *J Allergy Clin Immunol.* 2000;106:65-71.
146. Kay AB. The early history of the eosinophil. *Clin Exp Allergy.* 2015;45:575–82
147. Nussbaum JC, Van Dyken SJ, von Moltke J, Cheng LE, Mohapatra A, Molofsky AB et al. Type 2 innate lymphoid cells control eosinophil homeostasis. *Nature* 2013; 502:245–8.
148. Her E, Frazer J, Austen KF, Owen WF Jr. Eosinophil hematopoietins antagonize the programmed cell death of eosinophils. Cytokine and glucocorticoid effects on eosinophils maintained by endothelial cell-conditioned medium. *J Clin Invest* 1991; 88:1982-7.
149. Stern M, Meagher L, Savill J, Haslett C. Apoptosis in human eosinophils. Programmed cell death in eosinophil leads to phagocytosis by macrophages and is modulated by IL-5. *J Immunol.* 1992;148:3543-9.
150. Jareoncharsri P, Bunnag C, Muangsomboon S, Tunsuriyawong P, Assanasane P. Clinical and Histopathological Classification of Nasal Polyps in Thais. *Siriraj Hosp Gaz.* 2002;54:689-97.
151. Bryson JM, Tasca RA, Rowe-Jones JM. Local and systemic eosinophilia in patients undergoing endoscopic sinus surgery for chronic rhinosinusitis with and without polyposis. *Clin Otolaryngol.* 2003;28:55-8.
152. Ottaviano G, Cappellessi R, Mylonakis I, Lionello M, Favaretto N, Giacomelli L, et al., Endoglin (CD105) expression in sinonasal polyposis. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2015;272(11):3367–73
153. Van Crombruggen K, Zhang N, Gevaert P, Tomassen P, Bachert C. Pathogenesis of chronic rhinosinusitis: Inflammation. Current Perspectives. *J Allergy Clin Immunol.* 2011;128:728-32.

154. Soler ZM, Sauer D, Mace J, Smith TL. Impact of mucosal eosinophilia and nasal polypsis on quality-of-life outcomes after sinus surgery. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2010;142(1): 64–71.
155. Sun D, Joo YH, Auo HJ, Kang JM. Clinical significance of eosinophilic cationic protein levels in nasal secretions of patients with nasal polypsis. *Rhinology* 2009;266:981-6.
156. Van Zele T, Holtappels G, Gevaert P, Bachert C. Differences in initial immunoprofiles between recurrent and nonrecurrent chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *Am J Rhinol Allergy.* 2014;28:192-8.
157. Tomassen P, Vandeplas G, van Zele T, Cardell LO, Arebro J, Olze H, Förster-Ruhrmann U, et al. Inflammatory endotypes of chronic rhinosinusitis based on cluster analysis of biomarkers. *J Allergy Clin Immunol* 2016 ;137(5):1449-56.
158. Stevens WW, Ocampo CJ, Berdnikovs S, Sakashita M, Mahdavinia M, Suh L, Tetsuji Takabayashi T, et al., Cytokines in Chronic Rhinosinusitis. Role in Eosinophilia and Aspirin exacerbated Respiratory Disease. *Am J Respir Crit Care Med.*2015;192(6):682–94.
159. Koennecke M, Klimek L, Mullol J, Gevaert P, Wollenberg B. Subtyping of polypsis nasi: phenotypes, endotypes and comorbidities. *Allergo Journal International.* 2018, 27(2):56-65.
160. Kern RC, Conley DB, Walsh W, Chandra R, Kato A, Tripathi-Peters A, et al. Perspectives on the etiology of chronic rhinosinusitis: an immune barrier hypothesis. *Am J Rhinol.* 2008; 22:549-59.
161. Soyka MB, Wawrzyniak P, Eiwegger T, Holzmann D, Treis A, Wanke K, et al. Defective epithelial barrier in chronic rhinosinusitis: the regulation of tight junctions by IFN- $\gamma$  and IL-4. *J Allergy Clin Immunol.* 2012; 130(5):1087–96.
162. Schleimer RP, Kato A, Kern RC, Kuperman D, Avila PC. Epithelium: At the interface of innate and adaptive immune responses. *J Allergy Clin Immunol.* 2007;120:1279-84.
163. Tieu DD, Peters AT, Carter RT, Suh L, Conley DB, Chandra R, Norton J, et al. Evidence for diminished levels of epithelial psoriasin and calprotectin in chronic rhinosinusitis. *J Allergy Clin Immunol.* 2010;25:667–75.
164. Wood AJ, Fraser JD, Swift S, Patterson-Emanuelson EAC, Amirapu S, Douglas RG. Intramucosal bacterial microcolonies exist in chronic rhinosinusitis without inducing a local immune response. *Am J Rhinol Allergy.* 2012;26:265–70.
165. Kato A, Peters A, Suh L, Carter R, Harris KE, Chandra R, Conley DB, et al. Evidence of a role for B cell-activating factor of the TNF family in the pathogenesis of chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *J Allergy Clin Immunol.* 2008;121:1385–92.

166. Laidlaw TM, Kidder MS, Bhattacharyya N, Laidlaw TM, Kidder MS, Neil Bhattacharyya N, et al. Cysteinyl leukotriene overproduction in aspirin-exacerbated respiratory disease is driven by platelet-adherent leukocytes. *Blood* 2012;119:3790–8.
167. Martinez FO, Helming L, Gordon S. Alternative activation of macrophages: an immunologic functional perspective. *Annu Rev Immunol*. 2009;27:451-83.
168. Van Zele T, Gevaert P, Watelet J. Staphylococcus aureus colonization and IgE antibody formation to enterotoxin is increased in nasal polyposis. *J Allergy Clin Immunol*. 2004;114:981-3.
169. Krysko O, Vandenabeele P, Krysko DV, Bachert C. Impairment of phagocytosis of apoptotic cells and its role in chronic airway disease. *Apoptosis* 2010;15:1137-46.
170. Feldman RE, Lam AC, Sadow PM, Bleier BS. P-glycoprotein is a marker of tissue eosinophilia and radiographic inflammation in chronic rhinosinusitis without nasal polyps. *Int Forum Allergy Rhinol*. 2013;3(8):684-7.
171. Miyake MM, Nocera A, Levesque P, Guo R, Finn CA, Goldfarb J, Stacey Gray S, et al. Double-blind placebo-controlled randomized clinical trial of verapamil for chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *J Allergy Clin Immunol*. 2017;140(1): 271–3.
172. Spits H, Artis D, Colonna M, Diefenbach A, Di Santo JP, Eberl G, et al. Innate lymphoid cells a proposal for uniform nomenclature. *Nat Rev Immunol*. 2013; 13:145–9.
173. Tian Z, van Velkinburgh JC, Wu Y, Ni B. Innate lymphoid cells involve in tumouri genesis. *Int J Cancer*. 2015;138(1):22-9.
174. Bartemes KR, Iijima K, Kobayashi T, Kephart GM, McKenzie AN, Kita H. IL-33-responsive lineage CD25+ CD44(hi) lymphoid cells mediate innate type 2 immunity and allergic inflammation in the lungs. *J Immunol*. 2012;188:1503-13.
175. Kortekaas Krohn I, Shikhagaie MM, Golebski K, Bernink JH, Breynaert C, Creyns B, et al. Emerging roles of innate lymphoid cells in inflammatory diseases: clinical implications. *Allergy* 2018;73(4):837–50.
176. Poposki JA, Klingler AI, Tan BK, Soroosh P, Banie H, Gavin Lewis G, et al. Group 2 innate lymphoid cells are elevated and activated in chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *Immun Inflamm Dis*. 2017;5(3):233–43.
177. Beck LA, Stellato C, Beall LD, Schall TJ, Leopold D, Bickel CA, Baroody F, Bochner BS, Schleime RP. Detection of the hemokine RANTES and endothelial adhesion molecules in nasal polyps. *J Allergy Clin Immunol*. 1996;98:766–80.

178. Meyer JE, Bartels J, Görögh T, Sticherling M, Rudack C, Ross DA et al. The role of RANTES in nasal polyposis. *Am J Rhinol.* 2005;19:15–20.
179. Poposki JA, Uzzaman A, Nagarkar DR, Chustz RT, Peters AT, Suh LA, et al. Increased expression of the chemokine CCL23 in eosinophilic chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *J Allergy Clin Immunol* 2011;128:73–81.
180. Fundová P, Funda DP, Kováč D, Holý R, Navara M, Tlaskalová-Hogenová H. Increased expression of chemokine receptors CCR1 and CCR3 in nasal polyps: molecular basis for recruitment of the granulocyte infiltrate. *Folia Microbiol (Praha)*. 2013;58:219–24.
181. Olze H, Forster U, Zuberbier T, Morawietz L, Luger EO. Eosinophilic nasal polyps are a rich source of eotaxin, eotaxin-2 and eotaxin-3. *Rhinology* 2006; 44:145–50.
182. Yao T, Kojima Y, Koyanagi A, Yokoi H, Saito T, Kawano K, et al. Eotaxin-1, -2, and -3 immunoreactivity and protein concentration in the nasal polyps of eosinophilic chronic rhinosinusitis patients. *Laryngoscope* 2009;119:1053–9.
183. Takabayashi T, Schleimer RP. Formation of nasal polyps: The roles of innate type 2 inflammation and deposition of fibrin. *J Allergy Clin Immunol* 2020; 145(3):740-50.
184. Bachert C, Zhang N, Hellings PW, MD, Bousquet J. Endotype-driven care pathways in patients with chronic rhinosinusitis. *J Allergy Clin Immunol*. 2018;141(5):1543-51.
185. Xu R, Li Y, Xie M, Xu G, Zhang G, Wang S. Concentration, distribution and expression of interleukin-5 in human nasal polyp tissues. *Chin Med J*. 2002;115:1386-9.
186. Schleimer RP, Sterbinsky SA, Kaiser J, Bickel CA, Klunk DA, K Tomioka K, et al. IL-4 induces adherence of human eosinophils and basophils but not neutrophils to endothelium: Association with expression of VCAM-1. *J Immunol* 1992;14(4):1086–92.
187. Finkelman FD, Urban JF. The other side of the coin: The protective role of the Th2 cytokines. *J Allergy Clin Immunol*. 2001;107:772-80.
188. De Vries JE. The role of IL-13 and its receptor in allergy and inflammatory responses. *J Allergy Clin Immunol*. 1998;102:165-9.
189. Wise SK, Laury AM, Katz EH, Den Beste KA, Parkos CA, Nusrat A. Interleukin-4 and interleukin-13 compromise the sinonasal epithelial barrier and perturb intercellular junction protein expression. *Int Forum Allergy Rhinol* 2014;4(5):361–70.
190. Lam M, Hull L, Imrie A, Snidvongs K, Chin D, Pratt E, Kalish L, et al. Interleukin-25 and interleukin-33 as mediators of eosinophilic inflammation in chronic rhinosinusitis. *Am J Rhinol Allergy*. 2015;29(3):175-81

191. Chen F, Haiyu Hong H, Sun Y, Hu X, Zhang J, Xu G, et al. Nasal interleukin 25 as a novel biomarker for patients with chronic rhinosinusitis with nasal polyps and airway hypersensitivity: A pilot study. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2017;119(4):310–16.
192. Iinuma T, Okamoto Y, Yamamoto H, Inamine-Sasaki A, Ohki Y, Toshioki Sakurai T, et al. Interleukin-25 and mucosal T cells in noneosinophilic and eosinophilic chronic rhinosinusitis. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2015;114(4):289–98.
193. Miljkovic D, Psaltis AJ, Wormald PJ, Vreugde S. Chronic rhinosinusitis with polyps is characterized by increased mucosal and blood Th17 effector cytokine producing cells. *Front Physiol.* 2017;8:898.
194. Hirschberg A, Jokuti A, Darvas Z, Almay K, Répássy G, Falus A. The pathogenesis of nasal polyposis by immunoglobulin E and interleukin-5 is completed by transforming growth factor beta1. *Laryngoscope* 2003; 113:120-4.
195. Takabayashi T, Kato A, Peters AT, Hulse KE, Suh LA, Carter R, et al. Excessive fibrin deposition in nasal polyps caused by fibrinolytic impairment through reduction of tissue plasminogen activator expression. *Am J Respir Crit Care Med.* 2013;187:49–57.
196. Benninger MS, Ferguson BJ, Hadley JA, Hamilos DL, Jacobs M, Kennedy DW, et al. Adult chronic rhinosinusitis:definitions, diagnosis, epidemiology and pathophysiology. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2003;129 (Suppl 1):S1-32.
197. Van Bruaene N, Bachert C. Tissue remodeling in chronic rhinosinusitis. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2011;11:8–11.
198. Kim JW, Hong SL, Kim YK, Lee CH, Min YG, Rhee CS. Histological and immunological features of non-eosinophilic nasal polyps. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2007;137(6):925-30.
199. Hellquist HB. Nasal polyps update. Histopathology. Allergy and Asthma Proc. 1996;17(5):237-42.
200. Salaria N, Sharma N, Garg U, Saluja SK, Agarwal R. Inflammatory Septal Nasal Polyp. *Iran J Otorhinolaryngol.* 2015;27:319-23.
201. Khan RA, Chernock RD, Lewis JS Jr. Seromucinous hamartoma of the nasal cavity: a report of two cases and review of the literature. *Head Neck Pathol.* 2011;5:241-7.
202. Hellquist HB. In Nasal Polyps: Epidemiology, Pathogenesis and Treatment. Settipane GA, Lund VJ, Bernstein JM, and Tos M (Eds). Providence, RI: OceanSide Publications, 1997:17–24.
203. Serrano E, Neukirch F, Pribil C, Jankowski R, Klossek JM, Chanal I, et al. Nasal polyposis in France: Impact on sleep and quality of life. *Journal of Laryngology & Otology.* 2005;119(7):543-9.

204. Rudmik L, Smith TL, Mace JC, Schlosser RJ, Hwang, Soler ZM. Productivity costs decrease after endoscopic sinus surgery for refractory chronic rhinosinusitis. *Laryngoscope*. 2016;126(3):570–4.
205. Rimmer J, Hellings P, Lund VJ, Allobid I, Beale T, Dassi C, et al. European position paper on diagnostic tools in rhinology. *Rhinology*. 2019;57(S28):1-41.
206. Saxena S, Orley J, WHOQOL Group. Quality of life assessment: The world health organization perspective. *Eur Psychiatry*. 1997;12 (3):263-6.
207. Soler ZM, Wittenberg E, Schlosser RJ, Mace JC, Smith TL. Health state utility values in patients undergoing endoscopic sinus surgery. *Laryngoscope*. 2011;121(12):2672–8
208. Fu QL, Ma JX, Ou CQ, Guo C, Shen SQ, Xu G, et al. Influence of self-reported chronic rhinosinusitis on health-related quality of life: a population-based survey. *PLoS ONE*. 2015;10(5):e0126881.
209. Hellings PW, Fokkens WJ, Akdis C, Bachert C, Cingi C, Dietz de Loos D, et al. Uncontrolled allergic rhinitis and chronic rhinosinusitis: where do we stand today? *Allergy*. 2013;68(1):1–7.
210. Wardas P, Markowski J, Piotrowska-Seweryn A, Slaska-Kaspera A, Latacz B, Kołodziej W. Impact of rhinosinusitis symptoms on patients' self-esteem before and after FESS. *Otolaryngol Pol*. 2014;68(6):293–7.
211. Steele TO, Mace JC, Smith TL. Does comorbid anxiety predict quality of life outcomes in patients with chronic rhinosinusitis following endoscopic sinus surgery? *Int Forum Allergy Rhinol*. 2015;5(9):829–38.
212. Rudmik L, Hopkins C, Peters A, Smith TL, et al. Patient-reported outcome measures for adult chronic rhinosinusitis: A systematic review and quality assessment. *J Allergy Clin Immunol*. 2015;136(6):1532–1540.
213. Van derVeen J, Seys SF, Timmermans M, Levie P, Jorissen M, Fokkens WJ, et al. Real-life study showing uncontrolled rhinosinusitis after sinus surgery in a tertiary referral centre. *Allergy*. 2017;72(2):282–90.
214. Toma S, Hopkins C. Stratification of SNOT-22 scores into mild, moderate or severe and relationship with other subjective instruments. *Rhinology*. 2016;54(2):129–33.
215. Doulaptsi M, Prokopakis E, Seys S, Pugin B, Steelant B, Hellings P. Visual analogue scale for sino-nasal symptoms severity correlates with sino-nasal outcome test 22: paving the way for a simple outcome tool of CRS burden. *Clin Transl Allergy*. 2018;8:32.

216. Bernstein JM. The immunohistopathology and pathophysiology of nasal polyps. (The differential diagnosis of nasal polyps.) In Nasal Polyps: Epidemiology, Pathogenesis and Treatment. Settipane GA, Lund VJ, Bernstein JM, and Tos M (Eds). Providence, RI: OceanSide Publications 1997, 85–95.
217. Fatterpekar GM, Delman BN, Som PM. Imaging the paranasal sinuses: Where we are and where we are going. *Anat Rec (Hoboken)*. 2008;291(11):1564-72.
218. Varonen H, Savolainen S, Kunnamo I, Heikkinen R, Revonta M. Acute rhinosinusitis in primary care: a comparison of symptoms, signs, ultrasound, and radiography. *Rhinology*. 2003;41(1):37–43.
219. Demeslay J, Vergez S, Serrano E, Chaynes P, Cantet P, Chaput B, et al. Morphological concordance between CBCT and MDCT: a paranasal sinus-imaging anatomical study. *Surg Radiol Anat*. 2016;38(1):71-8.
220. Badia L, Lund VJ. Topical corticosteroids in nasal polyposis. *Drugs*. 2001;61:573-8.
221. Mullol J, Obando A, Pujols L, Alobilid I. Corticosteroid treatment in chronic rhinosinusitis: the possibilities and the limits. *Immunol Allergy Clin North Am*. 2009;29:657-68.
222. Li, HB, Cai, KM, Liu, Z, Xia, JH, Zhang, Y, Xu, R, Xu, G. Foxp3+ T regulatory cells (Tregs) are increased in nasal polyps (NP) after treatment with intranasal steroid. *Clin Immunol* 2008;129:394-400.
223. Bolger WE, Joshi AS, Spear S, Nelson M, Govindaraj K. Gene expression analysis in sinonasal polyposis before and after oral corticosteroids: a preliminary investigation. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2007;137:27-33
224. Harvey RJ, Snidvongs K, Kalish LH, Oakley GM, Sacks R. Corticosteroid nasal irrigations are more effective than simple sprays in a randomized double-blinded placebo-controlled trial for chronic rhinosinusitis after sinus surgery. *Int Forum Allergy. & Rhinol.* 2018;8:461-70.
225. Schäcke H, Döcke WD, Asadullah K. Mechanisms involved in the side effects of glucocorticoids. *Pharmacol. Ther.* 2002;96(1):23-43.
226. Van Zele T, Gevaert P, Holtappels G, Beule A, Wormald PJ, Mayr S, et al. Oral steroids and doxycycline: Two different approaches to treat nasal polyps. *J Allergy Clin Immunol*. 2010;125:1069-76.
227. Sabino HA, Valera FC, Aragon DC, Sabino HA, Valera FC, Aragon DC et al. Amoxicillin-clavulanate for patients with acute exacerbation of chronic rhinosinusitis: a prospective, double-blinded, placebo-controlled trial. *Int Forum Allergy. & Rhinol.* 2017;7:135-42.

228. Shen S, Lou H, Wang C, Zhang L. Macrolide antibiotics in the treatment of chronic rhinosinusitis: evidence from a meta-analysis. *J Thorac Dis.* 2018;10:5913-23.
229. Wallwork B, Coman W, Mackay-Sim A, Greiff L, Cervin A. A double-blind, randomized, placebocontrolled trial of macrolide in the treatment of chronic rhinosinusitis. *Laryngoscope.* 2006;116:189-93.
230. Jervis-Bardy J, Boase S, Psaltis A, Foreman A, Wormald PJ. A randomized trial of mupirocin sinonasal rinses versus saline in surgically recalcitrant staphylococcal chronic rhinosinusitis. *Laryngoscope.* 2012;122:2148-53.
231. Kirtsreesakul V, Khanuengkitkong T, Ruttanaphol S. Does oxymetazoline increase the efficacy of nasal steroids in treating nasal polyposis? *American J Rhinol & Allergy* 2016;30:195-200.
232. Kennedy JL, Stoner AN, Borish L. Aspirin-exacerbated respiratory disease: Prevalence, diagnosis, treatment, and considerations for the future. *Am J Rhinol Allergy* 2019;30(6):407–13.
233. Hashemian F, Hashemian F, Molaali N, Rouini M, Roohi E, Torabian S. Clinical effects of topical antifungal therapy in chronic rhinosinusitis: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial of intranasal fluconazole. *EXCLI J* 2016;15:95-102.
234. Kroflic B, Cör A, Baudoin T, Kalogjera L. Topical furosemide versus oral steroid in preoperative management of nasal polyposis. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology.* 2006;263(8):767-71.
235. Baudoin T, Kalogjera L, Hat J. Capsaicin significantly reduces sinonasal polyps. *Acta Oto-Laryngol.* 2000;120(2):307-11.
236. Filiaci F, Zambetti G, Luce M, Ciofalo A. Local treatment of nasal polyposis with capsaicin: preliminary fndings. *Allergol Immunopathol. (Madr)* 1996;24:13-8.
237. Loehrl TA, Samuels TL, Poetker DM, Toohill RJ, Blumin JH, Johnston N. The role of extraesophageal reflux in medically and surgically refractory rhinosinusitis. *Laryngoscope.* 2012;122(7):1425–30.
238. DelGaudio JM. Direct nasopharyngeal reflux of gastric acid is a contributing factor in refractory chronic rhinosinusitis. *Laryngoscope.* 2005;115:946-57.
239. Jelavic B, Grgic M, Cupic H, Kordic M, Vasilj M, Baudoin T. Prognostic value of Helicobacter pylori sinonasal colonization for efficacy of endoscopic sinus surgery. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology.* 2012;269(10):2197-202.

240. Gevaert P, Calus L, Van Zele T, Blomme K, De Ruyck N, Bauters W, et al. Omalizumab is effective in allergic and nonallergic patients with nasal polyps and asthma. *The J Allergy Clin Immunol*. 2013;131:110-6.
241. Pinto JM, Mehta N, DiTineo M, Wang J, Baroody FM, Naclerio RM. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of anti-IgE for chronic rhinosinusitis. *Rhinology*. 2010;48:318-24.
242. Bachert C, Sousa AR, Lund VJ, Scadding GK, Gevaert P, Nasser S, et al. Reduced need for surgery in severe nasal polyposis with mepolizumab: Randomized trial. *J Allergy Clin Immunol*. 2017;140:1024-31.
243. Gevaert P, Van Bruaene N, Cattaert T, Van Steen K, Van Zele T, Acke F, et al. Mepolizumab, a humanized anti-IL-5 mAb, as a treatment option for severe nasal polyposis. *J Allergy Clin Immunol*. 2011;128:988-9.
244. Bagnasco D, Ferrando M, Varricchi G, Passalacqua G, Canonica GW. A Critical Evaluation of AntiIL-13 and Anti-IL-4 Strategies in Severe Asthma. *Int Arch Allergy Immunol*. 2016;170:122-31.
245. Bachert C, Mannent L, Naclerio RM, et al. Effect of Subcutaneous Dupilumab on Nasal Polyp Burden in Patients With Chronic Sinusitis and Nasal Polyposis: A Randomized Clinical Trial. *JAMA* 2016;315:469-79.
246. Stammberger H1, Posawetz W. Functional endoscopic sinus surgery. Concept, indications and results of the Messerklinger technique. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 1990;247(2):63-76.
247. Patel ZM, Thamboo A, Rudmik L, Nayak JV, Smith TL, Hwang PH. Surgical therapy vs continued medical therapy for medically refractory chronic rhinosinusitis: a systematic review and meta-analysis. *Int Forum Allergy Rhinol*. 2017;7(2):119-27.
248. Wynn R, Har-El G. Recurrence rates after endoscopic sinus surgery for massive sinus polyposis. *Laryngoscope*. 2004;114:811-3.
249. Calus L, Van Bruaene N, Bosteels C, Dejonckheere S, Van Zele T, Holtappels G, et al. Twelve-year follow-up study after endoscopic sinus surgery in patients with chronic rhinosinusitis with nasal polyposis. *Clin Transl Allergy*. 2019;14:9:30.
250. Siedek V, Pilzweger E, Betz C, Berghaus A, Leunig A. Complications in endonasal sinus surgery: a 5-year retrospective study of 2,596 patients. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2013;270:141-8.
251. Psaltis AJ, Li G, Vaezeafshar R, Cho KS, Hwang PH. Modification of the Lund-Kennedy endoscopic scoring system improves its reliability and correlation with patient-reported outcome measures. *Laryngoscope*. 2014;124(10):2216-23.

252. Hopkins C, Browne JP, Slack R, et al. The Lund-Mackay staging system for chronic rhinosinusitis: How is it used and what does it predict? *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2007; 137:555–561.
253. Bousquet J, Heinzerling L, Bachert C, Papadopoulos NG, Bousquet PJ, Burney PG, Canonica GW et al. Practical guide to skin prick tests in allergy to aeroallergens. *Allergy* 2012;67:18–24.
254. Lambert C, Sarrat A, Bienvenu F, Brabant S, Nicaise-Roland P, Alyanakian MA, et al. The importance of EN ISO 15189 accreditation of allergen-specific IgE determination for reliable in vitro allergy diagnosis. *Allergy* 2015;70:180-6.
255. Wang J, Godbold JH, Sampson HA. Correlation of serum allergy (IgE) tests performed by different assay systems. *J Allergy Clin Immunol* 2008;121:1219-24.
256. Hellquist HB. Nasal polyps update. Histopathology. *Allergy and Asthma Proc.* 1996;17(5):237-42.
257. Geng M, Cao YC, Chen YJ, Jiang H, Bi LQ, Liu XH. Loss of Wnt5a and Ror2 protein in hepatocellular carcinoma associated with poor prognosis. *World J Gastroenterol* 2012;18(12): 1328-38.
258. Lu C, Wang X, Zhu H, Feng J, Ni S, Huang J. Over-expression of ROR2 and Wnt5a cooperatively correlates with unfavorable prognosis in patients with non-small cell lung cancer. *Oncotarget* 2015;6(28):24912-21.
259. Wen Q, Ma Alnemah M, Luo J, Wang W, Chu S, Chen L, et al. FLOT-2 is an independent prognostic marker in oral squamous cell carcinoma. *Int J Clin Exp Pathol* 2015;8(7):8236-43.
260. Bachert C, Zhang N, Holtappels G, De Lobel L, P van Cauwenberge P, Liu S, et al. Presence of IL-5 protein and IgE antibodies to staphylococcal enterotoxins in nasal polyps is associated with comorbid asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2010; 126:962–968.
261. Tan BK, Chandra RK, Pollak J, Kato A, Conley DB, Anju T Peters AT, et al. Incidence and associated premorbid diagnoses of patients with chronic rhinosinusitis. *J Allergy Clin Immunol* 2013;131:1350-60
262. Oakley GM, Curtin K, Orb Q, Schaefer C, Orlandi RR, Alt JA. Familial risk of chronic rhinosinusitis with and without nasal polyposis: genetics or environment. *Int Forum Allergy Rhinol* 2015;5:276-82.
263. Bohman A, Oscarsson M, Holmberg K, Johansson L, Millqvist E, Nasic S, et al. Heredity of nasal polyps. *Rhinology* 2015;53:25-8

264. Dietz de Loos DA, Hopkins C, Fokkens WJ. Symptoms in chronic rhinosinusitis with and without nasal polyps. *Laryngoscope* 2013;123:57-63
265. Dávila I, Rondón C, Navarro A, Antón E, Colás C, María Teresa Dordal MT, et al. Aeroallergen sensitization influences quality of life and comorbidities in patients with nasal polyposis. *Am J Rhinol Allergy* 2012;26(5):126–31.
266. Abdalla S, Alreefy H, Hopkins C. Prevalence of Sinonasal Outcome Test (SNOT-22) symptoms in patients undergoing surgery for chronic rhinosinusitis in the England and Wales National prospective audit. *Clin Otolaryngol* 2012;37:276-82.
267. Van Agthoven M, Fokkens WJ, van De Merwe JP, van Bolhuis EM, Uyl-de Groot CA, Busschbach JJ. Quality of life of patients with refractory chronic rhinosinusitis: effects of filgrastim treatment. *Am J Rhinol*. 2001;15(4):231-7.
268. Gregurić T1, Trkulja V, Baudoin T, Grgić M, Šmigovec I, Kalogjera L. Differences in the Sino-Nasal Outcome Test 22 and visual analog scale symptom scores in chronic rhinosinusitis with and without nasal polyps. *Am J Rhinol Allergy*. 2016;30(2):107-12.
269. Hopkins C, Browne JP, Slack R, Lund V, Topham J, Reeves B, et al. The national comparative audit of surgery for nasal polyposis and chronic rhinosinusitis. *Clin Otolaryngol* 2006;31:390-8
270. Ryan WR, Ramachandra T, Hwang PH. Correlations between symptoms, nasal endoscopy, and in-office computed tomography in post-surgical chronic rhinosinusitis patients. *Laryngoscope* 2011;121: 674–8.
271. Sedaghat AR, Gray ST, Caradonna SD, Caradonna DS. Clustering of chronic rhinosinusitis symptomatology reveals novel associations with objective clinical and demographic characteristics. *Am J Rhinol Allergy*. 2015;29:100–5.
272. Hox V, Bobic S, Callebaux I, Jorissen M, Hellings PW. Nasal obstruction and smell impairment in nasal polyp disease: correlation between objective and subjective parameters. *Rhinology*. 2010;48(4):426-32.
273. Stankiewicz JA, Chow JM. Nasal Endoscopy and the Definition and Diagnosis of Chronic Rhinosinusitis. *Otolaryngol Neck Surg*. 2002;126(6):623–7.
274. Ramadhin AK. Correlations between computed tomography and nasal endoscopic findings in patients of chronic rhinosinusitis. *J Otolaryngol ENT Res*. 2018;10(6):428–43.
275. Bachert C, Zhang N. Chronic rhinosinusitis and asthma: novel understanding of the role of IgE ‘above atopy’. *J Intern Med*. 2012;272:133–43.

276. Jarvis D, Newson R, Lotvall J, Hastan D, Tomassen P, Keil T, et al. Asthma in adults and its association with chronic rhinosinusitis: the GA2LEN survey in Europe. *Allergy*. 2012;67(1):91-8.
277. Allobid I, Benitez P, Valero A et al. The impact of atopy, sinus opacification, and nasal patency on quality of life in patients with severe nasal polyposis. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2006;134:609-12.
278. Khan A, Vandeplas G, Huynh TMT, Joish VN. The Global Allergy and Asthma European Network (GALEN) rhinosinusitis cohort: a large European cross-sectional study of chronic rhinosinusitis patients with and without nasal polyps. *Rhinology*. 2019;57(1):32-42.
279. Hens G, Vanaudenaerde BM, Bullens DM, Piessens M, Decramer M, Dupont LJ et al. Sinonasal pathology in nonallergic asthma and COPD: ‘united airway disease’ beyond the scope of allergy. *Allergy* 2008;63:261-7.
280. Nabavi M, Arshi S, Bahrami A, Aryan Z, Bemanian MH, Esmaeilzadeh H, et al. Increased level of interleukin-13, but not interleukin-4 and interferon- $\gamma$  in chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *Allergol Immunopathol (Madr)*. 2014;42:465–71.
281. Georgalas C, Vlastos I, Picavet V et al. Is chronic rhinosinusitis related to allergic rhinitis in adults and children? Applying epidemiological guidelines for causation. *Allergy*. 2014;69:828–33.
282. Mortuaire G, Gengler I, Balden M et al. Impact of allergy on phenotypic and endotypic profiles of nasal polyposis. *Eur Ann Otorhinolaryngol Head Neck Dis* 2018;135(3):159-162.
283. Lee K, Pletcher SD, Lynch SV, Goldberg AN, Cope EK. Heterogeneity of Microbiota Dysbiosis in Chronic Rhinosinusitis: Potential Clin Implications and Microbial Community Mechanisms Contributing to Sinonasal Inflammation. *Front Cell Infect Microbiol*. 2018;8:168.
284. Mahdavinia M, Keshavarzian A, Tobin MC, Landay AL, Schleimer RP. A comprehensive review of the nasal microbiome in chronic rhinosinusitis (CRS). *Clin Exp Allergy* 2016;46(1):21-41.
285. Liu Q, Lu X, Bo M, Qing H, Wang X, Zhang L. The microbiology of chronic rhinosinusitis with and without nasal polyps. *Acta OtoLaryngologica* 2014;134:1251-8.
286. Kim D, Assiri AM, Kim JH. Recent Trends in Bacteriology of Adult Patients with Chronic Rhinosinusitis. *J Clin Med*. 2019;8(11):1889.
287. Chalermwatanachai T, Vilchez-Vargas R, Holtappels G, Lacoere T, Jáuregui R, Kerckhof FM, et al. Chronic rhinosinusitis with nasal polyps is characterized by dysbacteriosis of the nasal microbiota. *Sci Rep* 2018; 8:7926.

288. Ramakrishnan VR, Feazel LM, Abrass LJ, Frank DN. Prevalence and abundance of *Staphylococcus aureus* in the middle meatus of patients with chronic rhinosinusitis, nasal polyps, and asthma. *Int Forum Allergy Rhinol* 2013;3:267–71.
289. Yang HJ, LoSavio PS, Engen PA, Naqib A, Mehta A, Kota R, et al. Association of nasal microbiome and asthma control in patients with chronic rhinosinusitis. *Clin Exp Allergy* 2018;48(12):1744–7.
290. Lin A, Busaba NY. *Staphylococcus aureus* and endoscopic sinus surgery. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg* 2006;14:19–22.
291. Heymans F, Fischer A, Stow NW, Girard M, Vourexakis Z et al. Screening for staphylococcal superantigen genes shows no correlation with the presence or the severity of chronic rhinosinusitis and nasal polyposis. *PLoS One*. 2010;5(3):e9525.
292. Niederfuhr A, Kirsche H, T. Deutschle T, Poppert S, Riechelmann H, Wellinghausen N. *Staphylococcus aureus* in nasal lavage and biopsy of patients with chronic rhinosinusitis. *Allergy* 2008;63:1359–67.
293. Dong D, Yulin Z, Xiao W, Hongyan Z, Jia L, Yan X, Jia W. Correlation between bacterial biofilms and osteitis in patients with chronic rhinosinusitis. *Laryngoscope* 2014;124:1072–8.
294. Patou J, Gevaert P, Van Zele T, Holtappels G, van Cauwenberge P, Bachert C. *Staphylococcus aureus* enterotoxin B, protein A, and lipoteichoic acid stimulations in nasal polyps. *J Allergy Clin Immunol*. 2008;121(1):110–5.
295. Bachert C, van Zele T, Gevaert P, De Schrijver L, Van Cauwenberge P. Superantigens and nasal polyps. *Curr Allergy Asthma Rep*. 2003;3:523–31.
296. Bachert C, Gevaert P, Zhang N, van Zele T, Perez-Novo C. Role of staphylococcal superantigens in airway disease. In: Marone G, editor. Superantigens and superallergens. Karger; New York, 2007. 214–36.
297. Seiberling KA, Conley DB, Tripathi A, Grammer LC, Shuh L, Haines GK 3rd, et al. Superantigens and chronic rhinosinusitis: detection of staphylococcal exotoxins in nasal polyps. *Laryngoscope* 2005;115(9):1580–5.
298. Pawankar R. Nasal polyposis: an update: editorial review. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2003; 3:1–6.
299. Tripathi A, Kern R, Conley DB, Seiberling K, Klemens JC, Harris KE, et al. Staphylococcal exotoxins and nasal polyposis: analysis of systemic and local responses. *Am J Rhinol*. 2005 ;19(4):327–33.

300. Cui XY, Miao JL, Lu HQ, Qi QH, Xi Chen X, Xu J et al. Serum levels of specific IgE to *Staphylococcus aureus* enterotoxins in patients with chronic rhinosinusitis. *Exp Ther Med* 2015;9(4):1523-7.
301. Ou J, Wang J, Xu Y, Tao ZZ, Kong YG, Chen SM, Shi WD. *Staphylococcus aureus* superantigens are associated with chronic rhinosinusitis with nasal polyps: a meta-analysis. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2014;271(10):2729-36.
302. Takeda K, Sakakibara S, Yamashita K, Motooka D, Nakamura S, El Hussien MA, et al. Allergic conversion of protective mucosal immunity against nasal bacteria in patients with chronic rhinosinusitis with nasal polyposis. *J Allergy Clin Immunol* 2019;143:1163-75.
303. Wang M, Zhang D, Zhang H, Wang Z et al. A primary study about the correlation between superantigens produced by *Staphylococcus aureus* and chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *Lin Chuang Er Bi Yan Hou Ke Za Zhi* 2006;20(20):914-6.
304. Bachert C, van Steen K, Zhang N, Holtappels G, Cattaert T, Maus B, et al. Specific IgE against *Staphylococcus aureus* enterotoxins: an independent risk factor for asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2012;130(2):376-81.
305. Pe'rez-Novo CA, Kowalski ML, Kuna P, Ptasinska A, Holtappels G, van Cauwenberge P, et al. Aspirin sensitivity and IgE antibodies to *Staphylococcus aureus* enterotoxins in nasal polyposis: Studies on the relationship. *Int Arch Allergy Immunol*. 2004;133:255–60.
306. Yoo HS, Shin YS, Jing Nan Liu JN, Kim MA, Park HS. Clinical Significance of Immunoglobulin E Responses to Staphylococcal Superantigens in Patients with Aspirin-Exacerbated Respiratory Disease *Int Arch Allergy Immunol* 2013;162:340–345
307. Pe'rez -Novo CA, Claeys C, Van Zele T, Holtapples G, Van Cauwenberge P, Bachert C. Eicosanoid metabolism and eosinophilic inflammation in nasal polyp patients with immune response to *Staphylococcus aureus* enterotoxins. *Am J Rhinol* 2006;20:456–60.
308. Baudoin T, Cupic H, Geber G, Vagic D, Grgic M, Kalogjera L. Histopathologic parameters as predictors of response to endoscopic sinus surgery in nonallergic patients with chronic rhinosinusitis. *Otolaryngology-Head and Neck Surgery*. 2006;134(5):761-6.
309. Bachert C, Wagenmann M, Rudack C, Hopken K, Hillebrandt M, Wang D et al. The role of cytokines in infectious sinusitis and nasal polyposis. *Allergy* 1998; 53(1):2-13.
310. Bachert C, Wagenmann M, Hauser U, Rudack C. IL-5 synthesis is upregulated in human nasal polyp tissue. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 99(6 Pt 1):837-42.

311. Zhao A, Wang H, Wu H, Yang Y, Xu H, Wang D. Quantitative analysis of interleukin-5 mRNA and protein in nasal polyps. *Lin Chung Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi*. 2014;28:1053-6.
312. Wang Z, Wang Y, Zhang Z, Sun X. Expression of interleukin-5 in different pathologic types of nasal polyp tissues. *Int J Clin Exp Pathol* 2017;10(3):3385-92.
313. Adnane C, Adouly T, Zouak A, Mahtar M. Quality of life outcomes after functional endoscopic sinus surgery for nasal polyposis. *Am J Otolaryngol*. 2015;36(1):47–51.
314. Drviš P, Kalogjera L, Baudoin T. Prognostic value of IL-5 in sinus lavage in patients with chronic maxillary sinusitis. *Acta Clinica Croatica*. 2003;42(4):315-9.
315. Grgic MV, Cupic H, Kalogjera L, Baudoin T. Surgical treatment for nasal polyposis: predictors of outcome. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*. 2015;272(12):3735-43.
316. Hamilos DL, Leung DY, Wood R, Bean DK, Song YL, Schotman E, Hamid Q. GM-CSF, IL-5 and RANTES immunoreactivity and mRNA expression in chronic hyperplastic sinusitis with nasal polyposis (NP). *Clin Exp Allergy*. 1998;28(9):1145-52.
317. Hirschberg A, Jókúti A, Darvas Z, Almay K, Répássy G, Falus A. The pathogenesis of nasal polyposis by immunoglobulin E and interleukin-5 is completed by transforming growth factor-beta1. *Laryngoscope*. 2003;113(1):120-4.
318. Suh YJ, Yoon SH, Sampson AP, Kim HJ, Kim SH, Nahm DH, et al. Specific immunoglobulin E for staphylococcal enterotoxins in nasal polyps from patients with aspirin-intolerant asthma. *Clin Exp Allergy* 2004;34:1270-5.
319. Eckl-Dorna J, Pree I, Reisinger J, Marth K, Chen KW, Vrtala S, et al. The majority of allergen-specific IgE in the blood of allergic patients does not originate from blood-derived B cells or plasma cells. *Clin Exp Allergy* 2012;42:1347-55.
320. Gevaert P, Nouri-Aria KT, Wu H, Harper CE, Takhar P, Fear DJ, et al. Local receptor revision and class switching to IgE in chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *Allergy* 2013;68:55-63.
321. Song J, Wang H, Zhang YN, et al. Ectopic lymphoid tissues support local immunoglobulin production in chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *J Allergy Clin Immunol*. 2017;141:927–37.
322. Zhang YN, Song J, Wang H, et al. Nasal IL-4(+)CXCR5(+)CD4(+)T follicular helper cell counts correlate with local IgE production in eosinophilic nasal polyps. *J Allergy Clin Immunol*. 2016;137:462–73.
323. Feldman S, Kasjanski R, Poposki J, Hernandez D, Chen JN, Norton JE, et al. Chronic airway inflammation provides a unique environment for B cell activation and antibody production. *Clin Exp Allergy*. 2017;47:457–66.

324. Groot Kormelink T, Calus L, De Ruyck N, Holtappels G, Bachert C, Redegeld FA, et al. Local free light chain expression is increased in chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *Allergy* 2012;67:1165-72.
325. Cao PP, Zhang YN, Liao B, et al. Increased local IgE production induced by common Aeroallergens and phenotypic alteration of mast cells in Chinese eosinophilic, but not non-eosinophilic, chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *Clin Exp Allergy*. 2014; 44(5): 690–700.
326. Vagic D, Ferencic Z, Drvis P, Geber G, Dzidic S, Baudoin T, et al. Local IgE and inflammation in chronic rhinosinusitis of asthmatics and non-asthmatics. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*. 2008;265(10):1205-9.

## **8. LISTA SKRAĆENICA**

- AERD**-aspirin exacerbated respiratory disease
- AFRS**-alergijski fungalni rinosinuzitis
- ANCA**-antineutrofilna citoplazmatska antitijela
- APC**-antigen prezentujuća ćelija
- CBCT**-cone beam computed tomography
- CCAD**-central compartment atopic disease
- CF**-cistična fibroza
- CLC**-lizofosfolipaza,Charcot-Leyden crystals
- COX-2**-ciklooksigenaza-2
- CSR**- “*class switch*” rekombinacije
- CT**- kompjuterizovana tomografija
- CysLT**-cisteinil-leukotrien
- DNK**-dezoksiribonukleinska kiselina
- ECP**-eozinofilni katijonski protein
- ECP**-eozinofilni katijonski protein
- EDN**-eozinofilni neurotoksin
- Eo**-eozinofilni granulocit  
eotaksina (eotaxin),
- EPO**-eozinofilna peroksidaza
- EPOS**-European Position Paper on Rhinosinusitis and Nasal Polyps
- ESS**-endoskopska sinusna hirurgija
- FLC**- slobodni laki lanci
- GM-CSF**-faktor stimulacije granulocitno/makrofagnih kolonija
- HRSbNP**-Hronični rinosinuzitis bez nosnosinusne polipoze
- HRS**-hronični rinosinuzitis
- HRSSsNP**-Hronični rinosinuzitis sa nosnosinusnom polipozom
- IFN $\gamma$** -interferon gama
- IgE- imunoglobulin E**
- IgE**-imunoglobulin E
- ILC**-urođene imune ćelije

**IL**-interleukin  
**LT**-cisteinil-leukotrijeni  
**MBP**-glavni bazični protein (mayor basic protein-MBP)  
**MHC**- molekul glavnog histokompatibilnog kompleksa  
**MMP**-metaloproteinaza  
**MPO**-mijeloperoksidaza  
**MR**-magnetna rezonanca  
**NP**-nosnosinusna polipoza  
**NSAIL**- nesteroidni antiinflamatorni lijekovi  
**PAF**-faktor aktivacije trombocita  
**PCD**-primarna cilijarna diskinezija  
**PG**- prostaglandin  
**PLA<sub>2</sub>**-fosfolipaza A2  
**PNS**-paranasalni sinusi  
**QOD**- specifični upitnik kvalitete života kod olfaktornih poremećaja  
**RANTES**-regulated on activation, normal T-cell expressed and secreted  
**RNK**- ribonukleinska kiselina  
**SAE**- *Staphylococcus aureus* enterotoksin  
**SA**-*Staphylococcus aureus*  
**SCT**- test za kontrolu sinusitisa  
**SCUAD**-teško hronično oboljenje gornjih disajnih puteva  
**SEA-IgE**-specifični IgE na enterotoksin A *Staphylococcus aureus-a*  
**SEA**-*Staphylococcus aureus* enterotoksin A  
**SEB-IgE**-specifični IgE na enterotoksin B *Staphylococcus aureus-a*  
**SEB**-*Staphylococcus aureus* enterotoksin B  
**SHM**-somatske hipermutacije  
**SNOT-22**-specifični sino-nazalni upitnik o kvaliteti života  
**TCR**-T-ćelijski receptor  
**TGF-β**-faktor transformacije rasta β  
**Th**-pomoćnički limfocit, T helper  
**TIMP**- tkivni inhibitor metaloproteinaze  
**TNFα**-faktor nekroze tumora alfa

**TNSS**- skor ukupnih nazalnih simptoma

**TSLP**-limfopoetin timusne strome

**TSST-1**-toksin toksičnog šok sindroma-1

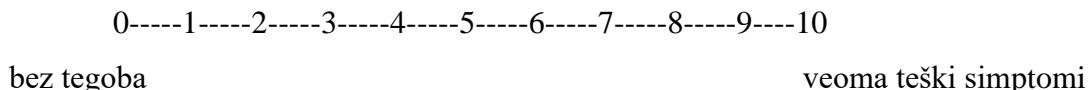
**VAS**-vizualna analogna skala

**VCAM**-adehezivne molekule vaskularnih ćelija

## **9. PRILOZI**

**Prilog br 1.** Klasifikacija oboljenja prema subjektivnoj procjeni pacijenata VAS skalom.

Pacijenti eksperimentalne grupe će ocjeniti težinu oboljenja na ponuđenoj VAS skali od 0-10.



Prema VAS skoru oboljenje klasifikujemo kao blago (VAS 0-3), umjereno (VAS 4-7), teško (VAS 8-10).

### **Prilog br 2.**

a) Klinička procjena težine oboljenja na osnovu endoskopskog skora.

Ocenjeni su sledeći parametri u nosnom kavumu:

-polipi (0-odsutni, 1-u srednjem nosnom hodniku, 2-izvan srednjeg nosnog hodnika),

-sekret (0-odsutan, 1-bistar, serozan, 2-mukozan/mukopurulentan),

-edem (0-odsutan, 1-slabo izražen, 2-jako izražen).

Rezultat endoskopskog nalaza je preoperativni endoskopski skor (oba nosna kavuma) od 0 do 12.

### **Prilog br 3.**

Nalaz CT-PNS gradiran prema Lund-Mackay skoring sistemu.

Skoring sistem obuhvata: maksilarni sinus (0, 1, 2); prednji etmoidni sinus (0, 1, 2); zadnji etmoidni sinus (0, 1, 2); sfenoidni sinus (0, 1, 2); frontalni sinus (0, 1, 2); ostiomeatalni kompleks (0,2).

Za sve paranasalne sinuse, gradacija je ista:

0 – normalan nalaz,

1 – nekompletno zasjenjenje sinusa,

2 – kompletno zasjenjenje sinusa.

Za ostiomeatalni kompleks iznosi:

0 – nema opstrukcije; 2 – opstrukcija.

CT skor može imati vrijednosti :

0-obostrano uredan nalaz,

1-unilateralno nekompletno zasjenjenje sinusa,

2-bilateralno nekompletno zasjenjenje sinusa ili unilateralno kompletno zasjenjenje sinusa,

3-unilateralno nekompletno zasjenjenje sinusa i unilateralno kompletno zasjenjenje sinusa i

4-bilateralno kompletno zasjenjenje sinusa.

Kad analiziramo ostiomeatalne komplekse, CT skor može imati vrijednosti:

0-obostrano uredan nalaz,

2-unilateralna opstrukcija i

4-bilateralna opstrukcija.

Vrijednosti ukupnog CT skora su u rasponu od 0-24.

#### **Prilog 4.**

Klasifikacija NP prema histološkim osobinama

1. edematozni eozinofilni ili polipi "alergijskog tipa", (karakteriše ih eozinofilni infiltrat, edem u stromi, hiperplazija peharastih ćelija, zadebljala bazalna membrana);
2. hronični fibroinflamatorni polipi, (karakteriše ih limfocitni infiltrat)
3. seromukozni, žlezdani polipi, (karakteriše ih hiperplazija sero-mukoznih žlezda u edematoznoj stromi);
4. polipi sa stromalnom ćelijskom atipijom, (karakterišu ih bizarre ili atipične stromalne ćelije).

#### **Prilog 5.**

Ocjene intenziteta imunološkog bojenja:

0: Bez imunološke reakcije (negativno);

1: Slabo bojenje;

2: Pozitivno bojenje srednjeg (umjerenog) intenziteta;

3: Intenzivno (izraženo) bojenje.

Za procjenu procenta obojenih ćelija korišten je sledeći sistem:

0: Bez bojenja (0%);

1: 1 – 25% ćelija pozitivne imunološke reakcije;

2: 26 – 50% ćelija pozitivne imunološke reakcije;

3: 51 – 100% ćelija pozitivne imunološke reakcije.

Nivo imunoreaktivnosti (R) = postotak obojenih ćelija pomnožen sa ocjenom intenziteta;

$R \leq 1$  - negativan (0);

$R \geq 2 \leq 4$  - Slabo pozitivan (1+);

$R \geq 6 \leq 8$  - umjereno pozitivan (2+);

$R \geq 9$  - izraženo pozitivan (3+)

## **10. BIOGRAFIJA**

Mr sc. med Aleksandra Aleksić je rođena 08.05.1973. godine u Tesliću gdje je završila Osnovnu i Srednju školu. Diplomirala je na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Banjoj Luci 1998. godine. U periodu od 2002. godine do 2006. godine zaposlena je u Klinici za bolesti uha, grla i nosa Univerzitetskog kliničkog centra Republike Srpske. Specijalistički ispit iz otorinolaringologije položila je 2006. godine na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Banjoj Luci. Supspecijalistički staž iz alergologije obavila je u Klinici za alergologiju i kliničku imunologiju Kliničkog centra Srbije, Medicinski fakultet u Beogradu, gdje je položila stručni ispit i odbranila supspecijalistički rad iz alergologije 2010. godine čime je stekla zvanje supspecijaliste alergologa. Postdiplomske studije iz područja biomedicinskih istraživanja završila je 2008.god. na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Banjoj Luci, a 01.10.2013. godine odbranila je magistarsku tezu pod nazivom: "Spirometrijski poremećaji i bronhijalna hiperreaktivnost kod pacijenata sa alergijskim rinitisom". Autor je i koautor više stručnih i naučnih publikacija prezentovanih na domaćim i međunarodnim kongresima od kojih su neke objavljene u časopisima od državnog i međunarodnog značaja. Učesnik je stručnih sastanaka, radionica i kongresa, kliničkih istraživanja i projekata. Član je domaćih i međunarodnih udruženja otorinolaringologa i alergologa. Udata je i majka dvoje djece.

## Izjava 1

### IZJAVA O AUTORSTVU

**Izjavljujem  
da je doktorska disertacija**

Naslov rada: "Značaj lokalne produkcije imunoglobulina E na enterotoksin *Staphylococcus aureus*-a u patofiziologiji hroničnog rinosinuzitisa s nosnosinusnom polipozom"

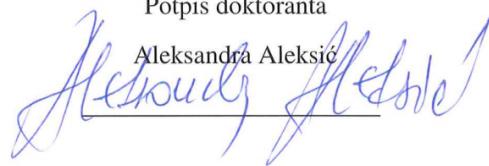
Naslov rada na engleskom jeziku: "Significance of local immunoglobulin E production against *Staphylococcus aureus* enterotoxin in pathophysiology of chronic rhinosinusitis with nasal polyps"

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada,
- da doktorska disertacija, u cijelini ili u dijelovima, nije bila predložena za dobijanje bilo koje diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova,
- da su rezultati korektno navedeni i da nisam kršila autorska prava i koristila intelektualnu svojinu drugih lica.

U Banjoj Luci, 19.05.2021. godine

Potpis doktoranta

Aleksandra Aleksić



## Izjava 2

### Izjava kojom se ovlašćuje Univerzitet u Banjoj Luci da doktorsku disertaciju učini javno dostupnom

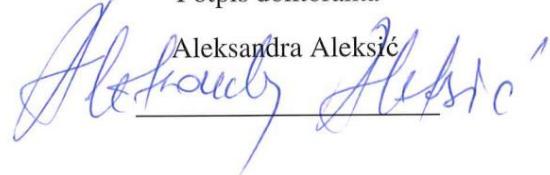
Ovlašćujem Univerzitet u Banjoj Luci da moju doktorsku disertaciju pod naslovom: "Značaj lokalne proizvodnje imunoglobulina E na enterotoksin *Staphylococcus aureus*-a u patofiziologiji hroničnog rinosinuzitisa s nosnosinusnom polipozom", koja je moje autorsko djelo, učini javno dostupnom.

Doktorsku disertaciju sa svim prilozima predala sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje. Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u digitalni repozitorijum Univerziteta u Banjoj Luci mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučila.

1. Autorstvo
2. Autorstvo – nekomercijalno
3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerade
4. Autorstvo – nekomercijalno – dijeliti pod istim uslovima
5. Autorstvo – bez prerade
6. Autorstvo – dijeliti pod istim uslovima

U Banjoj Luci, 19.05.2021. godine

Potpis doktoranta

Aleksandra Aleksić  


### Izjava 3

#### Izjava o identičnosti štampane i elektronske verzije doktorske disertacije

Ime i prezime autora : Aleksandra Aleksić

Naslov rada : "Značaj lokalne produkcije imunoglobulina E na enterotoksin *Staphylococcus aureus*-a u patofiziologiji hroničnog rinosinuzitisa s nosnosinusnom polipozom"

Mentor: Prof. dr Tomislav Baudoin

Izjavljujem da je štampana verzija moje doktorske disertacije identična elektronskoj verziji koju sam predala za digitalni repozitorijum Univerziteta u Banjoj Luci.

U Banjoj Luci, 19.05.2021.godine

Potpis doktoranta

Aleksandra Aleksić  
