



**УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ–  
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА**



**др Тијана Релић**

**Инфекција респираторним синцицијалним вирусом као  
детерминанта развоја хиперреактивности бронхијалног  
стабла код деце узраста до 2 године у односу на атопију**

**докторска дисертација**

**Крагујевац, 2015. година**

## САДРЖАЈ

<b>1. УВОД .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1. Респираторни синцицијални вирус .....</b>	<b>1</b>
1.1.1 Историјат RSV инфекције .....	1
1.1.2 Епидемиолошке карактеристике RSV инфекције .....	2
1.1.3 Структура и животни циклус вируса .....	3
1.1.4 Имуни одговор у RSV инфекцији .....	7
1.1.4.1 Урођени имуни одговор .....	7
1.1.4.2 Телијски имуни одговор .....	9
1.1.4.3 Хуморални имуни одговор .....	10
1.1.5 Клиничке манифестације RSV инфекције .....	11
1.1.6 Микробиолошка дијагностика RSV инфекције .....	12
1.1.7 Превенција RSV инфекције .....	14
<b>1.2. Бронхијална хиперреактивност .....</b>	<b>15</b>
<b>1.3. Фактори ризика који повезују RSV инфекцију, БХП/астму и атопију .....</b>	<b>16</b>
1.3.1 RSV инфекција и рекурентни визинг .....	17
1.3.2 RSV инфекција и астма .....	18
1.3.3 RSV инфекција, БХП/астма и атопија .....	18
<b>1.4. Атопија .....</b>	<b>21</b>
<b>2. ЦИЉЕВИ И ХИПОТЕЗЕ СТУДИЈЕ .....</b>	<b>25</b>
<b>3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ .....</b>	<b>27</b>
<b>3.1. Одређивање серумских концентрација специфичних антитела .....</b>	<b>28</b>
3.1.1 Узорковање серума .....	29
3.1.2 Одређивање концентрација антитела .....	29
<b>3.2. Утврђивање постојања болести дисајних путева .....</b>	<b>30</b>
<b>3.3. Утврђивање атопије .....</b>	<b>31</b>
<b>3.4 Испитивање фактора ризика .....</b>	<b>32</b>
<b>3.5. Статистичке методе .....</b>	<b>32</b>
3.5.1 Варијабле мерене у студији .....	32
3.5.2 Величина узорка .....	33
3.5.3 Статистичка обрада података .....	33
3.5.4 Снага студије .....	35

<b>4. РЕЗУЛТАТИ .....</b>	<b>38</b>
<b>4.1. Утврђивање карактеристика RSV инфекције код деце узраста до две године у односу на атопију.....</b>	<b>38</b>
4.1.1 Резултати учесталости RSV инфекције у односу на атопију .....	38
4.1.2 Резултати поређења клиничких манифестација RSV инфекције у односу на атопију .....	40
4.1.3 Резултати анализе хуморалног имунског одговора према RSV инфекцији у односу на локализацију респираторних болести и атопију.....	47
<b>4.2. Карактеристике бронхијалне хиперактивности код деце узраста до две године у односу на RSV инфекцију и атопију .....</b>	<b>53</b>
4.2.1 Резултати учесталости бронхијалне хиперактивности удружене са RSV инфекцијом код деце узраста до две године у односу на атопију .....	53
4.2.2 Резултати анализе хуморалног имунског одговора према RSV инфекцији у групи деце са БХР у односу на атопију .....	56
<b>4.3. Предвиђајући фактори за испољавање бронхијалне хиперактивности код деце узраста до 2 године .....</b>	<b>58</b>
4.3.1 Резултати учесталости бронхијалне хиперактивности у односу на RSV инфекцију и атопију према индивидуалним карактеристикама деце (узраст, пол, исхрана, годишње доба рођења) .....	58
4.3.2 Утврђивање предвиђајућих фактора за испољавање бронхијалне хиперактивности у односу на RSV инфекцију код деце узраста до 2 године .....	63
4.3.2.1 Предвиђајући фактори за испољавање бронхијалне хиперактивности у групи деце која су имала RSV инфекцију .....	63
4.3.2.2 Предвиђајући фактори за испољавање бронхијалне хиперактивности у групи деце која нису имала RSV инфекцију .....	64
4.3.3. Утврђивање предвиђајућих фактора за испољавање бронхијалне хиперактивности у односу на атопију код деце узраста до 2 године .....	65
4.3.3.1 Предвиђајући фактори за испољавање БХР у групи деце са атопијом .....	65
4.3.3.2 Предвиђајући фактори за испољавање БХР у групи деце без атопије .....	66
<b>5. ДИСКУСИЈА .....</b>	<b>68</b>
<b>5.1. Хуморални имунски одговор у RSV инфекцији.....</b>	<b>70</b>
<b>5.2. Клиничке манифестације RSV инфекције .....</b>	<b>72</b>
<b>5.3. Деца са атопијом.....</b>	<b>74</b>
<b>5.4. Деца без атопије .....</b>	<b>76</b>
<b>5.5. Бронхијална хиперреактивност .....</b>	<b>77</b>
<b>5.6. Бронхијална хиперреактивност, RSV инфекција и атопија.....</b>	<b>79</b>

5.6.1 Утицај вируса.....	79
5.6.2 Атопија .....	81
<b>5.7. Хуморални имунски одговор у БХР .....</b>	<b>81</b>
<b>5.8. Предвиђајући фактори за испољавање БХР.....</b>	<b>83</b>
5.8.1 Предвиђајући фактори за испољавање БХР у RSV инфекцији.....	83
5.8.2 Предвиђајући фактори за испољавање БХР без присутне RSV инфекције.....	86
<b>6. ЗАКЉУЧЦИ.....</b>	<b>89</b>
<b>7. ЛИТЕРАТУРА .....</b>	<b>91</b>
<b>8. ЛИСТА СКРАЋЕНИЦА .....</b>	<b>110</b>
<b>9. ПРИЛОГ 1.....</b>	<b>115</b>

## 1. УВОД

Респираторни синцицијални вирус (енг. *Respiratory syncytial virus*, RSV) је најзначајнији узрочник акутних респираторних болести, првенствено бронхиолитиса, код деце у најранијем узрасту (Kimpen и сар., 2001; Ogra, 2004; Nomaira и сар., 2012; Mikalsen и сар., 2012). RSV бронхиолитис раног детињства сматра се фактором ризика за појаву рекурентног визинга и астме (Stein и сар., 1999), али низ проспективних и ретроспективних студија указују да RSV инфекција сама по себи може бити детерминанта развоја хиперреактивности бронхијалног (БХР) стабла (Sigurs и сар., 2000; Schauer и сар., 2002). Са друге стране, поједини аутори сматрају (Mikalsen и сар., 2012) да је развој хиперреактивности бронхијалног стабла повезан са индивидуалним карактеристикама детета, а не са RSV као узрочником бронхиолитиса (Mikalsen и сар., 2012). Више од половине свих случајева астме почиње пре треће године живота, а рани почетак астме се у доба одојчета клинички најчешће манифестује појавом визинга током вирусних респираторних инфекција (Martinez, 2002; Živković, 2002.). Истакнуто је, да би ризични период за настанак ремоделовања дисајних путева могла бити друга година живота (Bush, 2008), док истовремено, овај узраст представља и ризични период за синергистичко деловање инфекције и атопије као фактора ризика за појаву астме (Holt and Sly, 2002).

### 1.1. Респираторни синцицијални вирус

#### 1.1.1 Историјат RSV инфекције

Морис и сарадници су први пут 1956. године описали агенс који је изазвао акутну респираторну болест код шимпанзи (Blount и сар., 1956), док су Шанок, Фајнберг и сарадници, годину дана касније, изоловали сличан агенс у два случаја код одојчади са тешким болестима доњег респираторног тракта (Chanock and Finberg 1957, Chanock и сар., 1957, Hilleman, 1963). Испитивањем овог вируса у култури ћелија (Jeffcoate, 1969) уочен је карактеристични цитопатогени ефекат са стварањем синцицијума, што је поред предходно констатоване респираторне манифестације инфекције, довело до настанка назива „респираторни синцицијални вирус” (Groothuis и сар., 2011).

Шездесетих година прошлог века, амерички истраживачи су забележили да је 40% деце са бронхиолитисом имало RSV инфекцију (Kim и сар., 1973), док је норвешка студија спроведена у периоду 1972-79. године показала да је RSV узрочник 58% свих

респираторних инфекција и да је 87% RSV инфекција повезано са појавом бронхиолитиса (Carlsen и сар., 1983). Бројним епидемиолошким студијама потврђен је значај RSV инфекције у развоју бронхиолитиса и визинга код одојчади и мале деце и до данашњих дана (Kim и сар., 1973; Denny и сар., 1977; Carlsen и сар., 1983; Воусе и сар., 2000; Jartti и сар., 2004; Korppi и сар., 2004; Calvo и сар., 2007), док су први подаци о учесталости RSV инфекција доњих дисајних путева, на глобалном нивоу, објављени 2010. године (Nair и сар., 2010). Према овим подацима, RSV инфекција је код деце узраста до пет година узрочник 22% акутних болести доњих дисајних путева (Nair и сар., 2010). У земљама Европске уније, учесталост RSV инфекције у раном узрасту креће се од 5,4% до 40,8% (Gioula и сар., 2008; Pavlova и сар., 2009; Meerhoff, 2010), док је у нашој популацији утврђена учесталост анти-RSV IgG код 24% деце узраста до две године (12,9% у узрасту 5-12 месеци и 47% у другој години живота) (Relić и сар., 2011.). У многим земљама у развоју, као и у појединим регионима развијених земаља, још увек недостају прецизни подаци о морбидитету и морталитету од болести доњих дисајних путева изазваних вирусима код мале деце (Nair и сар., 2010).

### ***1.1.2 Епидемиолошке карактеристике RSV инфекције***

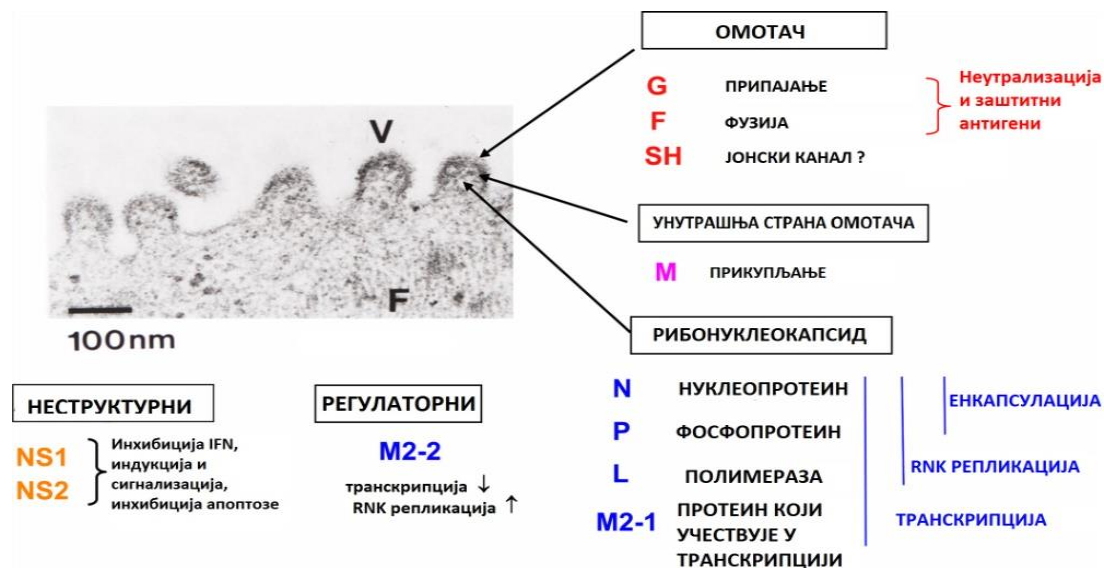
Човек је једини природни домаћин вируса, мада је забележено да у посебним условима RSV може изазвати болест и неких примата (Blount и сар., 1956; Kondgen и сар., 2008). Највише вредности стопе инциденције запажају се код одојчади узраста од два до осам месеци (Krilov, 2001). Инфекција се преноси капљичним путем и директним контактом са инфицираном особом, док је место уласка слузокожа конјунктиве, носа и уста (Paes и сар., 2011). RSV је високо контагиозан вирус и може преживети око седам сати на непорозним и порозним површинама пластичних играчака и одећи (Paes и сар., 2011). Инкубациони период износи око 3-8 дана, док се излучивање респираторним течностима може продужити на једну до три недеље (Јовановић и сар., 2008). Утврђено је да доласком у обданиште једног RSV позитивног детета, долази до инфицирања 90% присутне здраве деце (Collins and Graham, 2008). Реинфекције су честе, јављају се током читавог живота и њихова учесталост износи око 47% у другој и око 45% оболеле деце у трећој години живота (Collins and Melero, 2011). RSV инфекција се може појавити спорадично и у епидемијама. У Немачкој, Финској, Швајцарској, Шведској и Хрватској, забележене су епидемије сваке друге године са наизменичним циклусима појављивања од 23-25 месеци, док се у Великој Британији, САД-у и Аустралији, појављују на

годишњем нивоу (Mlinaric-Galinovic и сар., 2008). У областима умерене климе већина RSV инфекција забележена је између новембра и маја, док је у областима са тропском климом подједнако заступљена током целе године (Mohapatra and Boyaralle, 2008).

### 1.1.3 Структура и животни циклус вируса

Фамилија *Paramyxoviridae* из реда *Mononegavirales* (Kumaria и сар., 2011) је подељена на две потфамилије *Pneumovirinae* и *Paramyxovirinae*. Потфамилија *Pneumovirinae* обухвата два рода *Pneumovirus* и *Metapneumovirus*. Респираторни синцицијални вирус (RSV), вирус мишије пнеумоније (PVM) и говеђи респираторни синцицијални вирус (BRV) спадају у род *Pneumovirus*, док хумани метапнеумовирус (hMPV) и птичији метапнеумовирус (aMPV) спадају у род *Metapneumovirus* (Kumaria и сар., 2011).

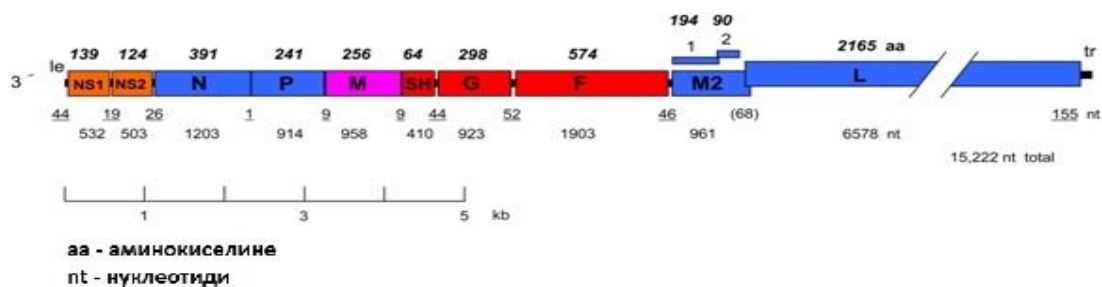
Парамиксовируси, у које спада и RSV, су велики, округли, полиморфни рибонуклеински (RNK) вируси са липопротеинским омотачем, величине 150-300 нанометара (nm) (Mohapatra and Boyaralle, 2008). Описана су два подтипа RSV вируса – А и Б, са јасно израженом антигенском варијацијом која се огледа у различитој структури површинског гликопротеина. Забележено је да су знатно теже инфекције изазване подтипом А вируса (Walsh и сар., 1997). Грађа RSV вируса приказана је на слици 1.1.



Слика 1.1. Грађа RSV вируса (према референци Collins and Melero, 2011)

Геном RSV вируса чини једноланчана RNK у форми негативног ланца величине 15,2 килобаза (kb) (Collins and Melero, 2011). Састоји се од 10 гена који кодирају 11

протеина (Gardinassi и сар., 2012). Три су гликопротеини омотача (G, F и мали хидрофобни протеин SH), четири су протеини нуклеокапсида (нуклеопротеин N, фосфопротеин P, транскрипциони елонгацијски фактор M2-1 и полимераза L) и M протеин матрикса. Сем структурних, RSV садржи и два неструктурна протеина – NS1 и NS2 (Kumaria и сар., 2011) и један регулаторни M2-2 протеин (Collins and Melero, 2011).



Слика 1.2. Схематски приказ генома RSV; Дужина гена је означена бројем аминокиселина изнад и нуклеотида испод схематског приказа појединог гена (према референци Collins and Melero, 2011)

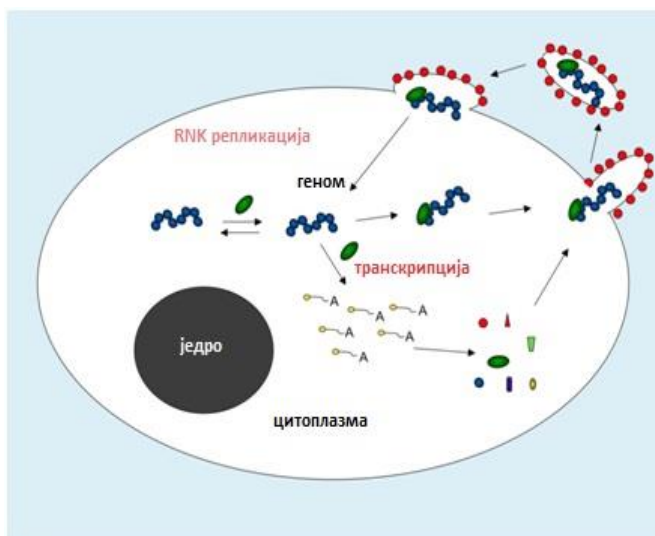
У састав липопротеинског омотача улазе три структурна протеина: G протеин, који посредује приликом адхеренције (припајања) вируса за ћелију домаћина пре његовог уласка (Levine и сар., 1987); фузиони F протеин, (Scheid and Choppin, 1977) који посредује у процесу фузије спољашњег омотача вируса и цитоплазматске мембране и SH протеин, чија је улога непозната (Kumaria и сар., 2011). Ћелијски рецептор за RSV није јасно дефинисан (Моћаратра and Воуарале, 2008), али је у експерименталним студијама *in vitro* показан значај хепарину сличних гликозаминогликана (неразгранати полисахаридни ланци на површини ћелија сисара) у интерреакцији између вирусног G протеина и таргет ћелије (Martinez and Melero, 2000; Hallak и сар., 2000). Фузиони (F) протеин је одговоран за фузионисање цитоплазматске мембране, чиме се омогућава директно ширење вируса из ћелије у ћелију (Scheid and Choppin, 1977). Овај протеин се синтетише као неактиван прекурсор Fo кога цепају екстрацелуларне протеазе на површини инфициране ћелије, на активне подјединице F1 и F2 (остају повезане дисулфидним везама) и на мали пептид p27. Хидрофобни региони који се овим цепањем појављују на N терминалном крају F1 подјединице, омогућавају фузију ћелија преко адхезионог молекула-1 (енг. *Intercellular adhesion molecule-1*, ICAM-1) (Malhotra и сар., 2003; Collins and Graham, 2008) и формирање синцицијума (Jawetz и сар., 2004).



Зрела вирусна честица се састоји од рибонуклеопротеинског комплекса (RNP) који настаје интеракцијом вирусне рибонуклеинске киселине (RNK), нуклеокапсидног протеина (N), фосфопротеина (P) и великог (L) протеина. Протеин L је у ствари ензим RNK полимеразе, који заједно са фосфопротеином P и N протеином сачињава велики полимеразе комплекс, при чему је N протеин чврсто везан за вирусну RNK. Полимераза комплекс истовремено врши и репликацију (умножавање RNK вируса) и транскрипцију (стварање информационе RNK) (Kumaria и сар., 2011). Ген M2 одговоран је за синтезу M2-1 и M2-2 протеина, који су значајни фактори транскрипције и репликације RNK (Collins and Graham, 2008). У одсуству M2-1 протеина, полимеразе неспецифично и прерано завршава процес преписивања, што доводи до смањене експресије неструктурних протеина NS1 и NS2 (Collins and Graham, 2008; Kumaria и сар., 2011; Collins and Melero, 2011). Интересантно је да M2-1 протеин хуманог метапнеумовируса (hMPV) има значајну сличност у секвенцама са RSV, али није есенцијалан за транскрипцију и живот вируса (Collins и сар., 2007, Collins and Graham, 2008).

По начину репликације, парамиксовируси припадају V класи вируса према класификацији по Балтимору (Baltimore, 1971).

Циклус репликације RSV започиње фузијом спољашњег омотача вируса и цитоплазматске мембране ћелије домаћина. Том приликом вирус у ћелију уноси вирусни капсид са RNK (плаво) и RNK полимеразу (зелено). Полимераза користи геном као матрицу за израду више информационих RNK, које се преводе у вирусне протеине на рибозомима ћелије (Cowton и сар., 2006) слика 1.3.



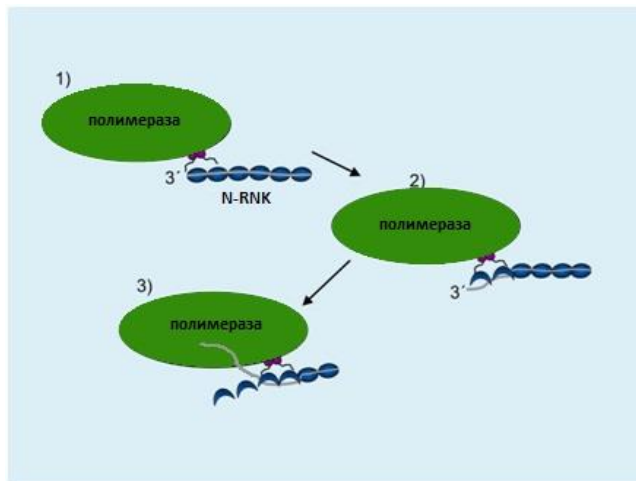
Слика 1.3. Циклус RSV репликације

[www.bumc.bu.edu](http://www.bumc.bu.edu) / (rfearns@bu.edu)

Иако је познато да

транскрипција и репликација почињу са истог промоторског региона на 3' крају вирусног генома, још увек није разјашњено на који начин полимеразе контролише ове две активности (Tremaglio и сар., 2013).

Постоји претпоставка да почетак секвенце који полимераза препознаје мора бити или близу, или на самом крају матрице RNK (Noton и сар., 2012). Полимераза би прво препознала 3' крај на геному, што би довело до процеса ремоделовања нуклеопротеина, чиме би се открила њена везна секвенца у RNK (Tremaglio и сар., 2013). Претпоставка је да би на описани начин, полимераза могла да приступи матрици и да покрене синтезу RNK (Noton и сар., 2011; Tremaglio и сар., 2013) (Слика 1.4.).



Слика 1.4. Претпостављени модел активности ензима полимеразе

[www.bumc.bu.edu/](http://www.bumc.bu.edu/) (rfearns@bu.edu)

Нови нуклеокапсиди, који се састоје из новосинтетисане RNK и новоформираних капсида вируса у цитоплазми инфициране ћелије, мигрирају ка површини ћелије (Jovanović и сар., 2008). Они се нагомилавају на оним местима унутрашње стране мембране ћелије на којима су предходно уграђени и гликолизовани делови Fo протеина (Collins and Graham, 2008; Kumaria и сар., 2011; Collins and Melero, 2011). Преко M протеина се остварује интерреакција нуклеокапсида и мембране ћелије у току пупљења вируса на површини ћелије. У току овог процеса ћелијска мембрана постаје спољашњи омотач вируса који садржи вирусне гликопротеине омотача (G, F, SH) (Grosfeld и сар., 1995; Yu Q и сар., 1995; Collins и сар., 1996; Hardy and Wertz, 1998; Fearn and Collins 1999; Jovanović и сар., 2008). У култури ћелија, цитопатогени ефекат настао као последица RSV инфекције карактерише се појавом синцицијума и ацидофилних цитоплазматских инклузија које садрже препознатљиве вирусне нуклеокапсиде и представљају место интензивне репликације RNK и синтезе вирусних протеина (Jawetz и сар., 2004; Mohapatra and Bouyapalle, 2008; Kumaria и сар., 2011). Приликом RSV инфекције у хуманом бронхијалном епителу *in vivo*, међућелијска фузија и формирање синцицијума није карактеристично, иако је увек присутно у култури ћелија. Наиме, експериментима *in vivo* је утврђено да се RSV секретује са апикалне површине цилијарних ћелија респираторног епитела (Zhang и сар., 2002) уз минимални контакт са суседним ћелијама (Collins and Graham, 2008), док се синцицијум у бронхиоларном епителу уочава само у случају постојања дефицита T лимфоцита (Collins and Graham, 2008).

### **1.1.4 Иmunски одговор у RSV инфекцији**

Компетентан имунски систем је од великог значаја за контролу RSV инфекције. Протективни имунски одговор после природне RSV инфекције у литератури се описује као слаб и краткотрајан (Falsey и сар., 1999) нарочито у раном детињству (Karron и сар., 2003). Слабији урођени и стечени имунски одговор код деце (првенствено TH-2 типа), одговоран је за осетљивост деце према респираторним вирусним инфекцијама (Tregoning and Schwarze, 2010).

#### **1.1.4.1 Урођени имунски одговор**

Природна баријера је од великог значаја у спречавању продора инфективних агенаса у унутрашњост организма. У дисајним путевима, односи се на епителну баријеру, тј. слузокожу респираторног система која облаже назалне просторе, назофаринкс, ларинкс, душник и бронхијално стабло. Главну карактеристику мукозног имунског система представља одржавање финог баланса између активације имунског система у циљу заштите против патогена и регулације имунског одговора у циљу спречавања непотребног или прејаког одговора, који би могао да оштети физиолошку функцију респираторног система (Abbas и сар., 2012a). Респираторни епител је псеудослојевит, састоји се из цилијарних ћелија и представља физичку (чврсте везе између ћелија) и хемијску баријеру (мукус и антимикуробни пептиди). Мукус у дисајним путевима задржава микробе, док цилије имају функцију избацивања мукуса и ухваћених микроба ван дисајних путева. У алвеолама, антимикуробна функција урођеног имунског одговора има за циљ првенствено превенцију инфламације, која би могла да доведе до поремећаја размене гасова. Алвеоларни простор је стерилан, али епител те регије може директно бити инфициран вирусима (Abbas и сар., 2012a).

RSV не показује велику инвазивност према респираторном епителу (Collins and Graham, 2008). Животни циклус вируса у *in vitro* моделу је релативно дуг и износи 30-48h (Collins and Graham, 2008). Инфекција се најчешће задржава на површинским ћелијама респираторног епитела (Collins and Graham, 2008) - цилијарним ћелијама, при чему цилијарни покрети ћелија могу бити поремећени, а у тежим облицима инфекције, инфициране ћелије могу бити и сљуштене (Collins and Graham, 2008). У доњим дисајним путевима главне мете вируса су цилијарне ћелије малих бронхиола и тип-1 пнеумоцити алвеола (Welliver и сар., 2007). Међутим, сматра се да су захваћене и друге нецилијарне и интраепителне дендритске ћелије, док су поштеђене само базалне ћелије епитела респираторног тракта (Johnson и сар., 2007). Патохистолошки налаз код тежих RSV

инфекција показује губитак цилијарног епитела (одумирање и десквamacија епителних ћелија) са фокалном некрозом, уз местимичну пролиферацију бронхијалног епитела, инфламацију моноцита и Т лимфоцита око бронхиоларних и пулмоналних артериола и накупљање неутрофила између васкуларних структура и малих дисајних путева у којима се налази мукус (Collins and Graham, 2008). Степен хиперреактивности дисајних путева пропорционалан је јачини инфламације која је повезана са степеном ћелијског оштећења (Garofalo и сар., 2001; Miller и сар., 2007). Студије аутопсије деце која су умрла услед RSV бронхиолитиса, показале су да се у основи инфламације и последичне опструкције дисајних путева налазе првенствено ефекти имунског одговора, а не цитопатогено дејство вируса (Mohapatra and Boyaralle, 2008).

Имунски одговор на инфекцију вирусима подразумева активност ћелија урођеног имунитета, првенствено урођеноубилачких ћелија (енг. *Natural killer cell*, NK) (које елиминишу инфициране ћелије) и ефекат интерферона тип 1 (IFN- $\alpha$ , IFN- $\beta$ , IFN- $\alpha/\beta$ ), који доводи до настанка антивирусног стања којим се онемогућава ширење инфекције (Abbas и сар., 2012b). Препознавање RSV антигена од стране ћелија епитела одвија се преко рецептора сличних Толу (енг. *Toll-like receptors*, TLR) TLR4/CD14 комплекса (присутан и на моноцитима и на дендритским ћелијама) који везује RSV F протеин, што доводи до активације главних сигналних путева урођеног имунског одговора као што су фактор одговора на интерферон (енг. *Interferon response factor*, IRF) и нуклеарни фактор капа Б (енг. *Nuclear factor kappa B*, NF- $\kappa$ B). Описано је да G протеин инхибира ово сигнализирање што за последицу има одржавање баланса у активацији TLR4 сигнализирања током RSV инфекције (Collins and Graham, 2008). G протеин, који се продукује у секреторној и мембранској форми, на екстрацелуларном крају има хемокински CX3C домен који остварује функцију хемоатрактања и адхезивног молекула и доприноси привлачењу ћелија које имају CX3C рецептор као што су NK ћелије, CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> Т-лимфоцити (Harcourt и сар., 2006). Важан хемоатрактант у плућима деце са RSV бронхиолитисом је и интерлеукин-8 (IL-8) који доводи до инфилтрације неутрофила која је карактеристична за теже облике инфекције (Hull, 2007).

Плазмоцитне дендритске ћелије (DC) су глави извор IFN тип 1 (IFN- $\alpha/\beta$ ) (Tam and Grayson, 2012). Плазмоцитна дендритска ћелија препознаје вирусни RNK преко ендозомалних TLR7 и TLR8 и активацијом цитоплазматских *RIG-like* рецептора (RLRs), које активира вирусна RNK. Ови рецептори активирају IRF транскрипторне факторе који су одговорни за транскрипцију интерферонских гена (IRF-3). Интерцитоплазматски TLR рецептори могу и преко NF- $\kappa$ B да активирају гене за хемокине, цитокине, костимулаторе

итд. (Abbas и сар., 2012b). IFN- $\alpha/\beta$  остварује свој ефекат на суседне ћелије преко JAK/STAT сигнализације (енг. *Janus kinase/ Signal transducer and activator of transcription*, JAK/STAT) и доводи до успостављања антивирусног стања. У антивирусном стању, те суседне ћелије су отпорне на вирусну инфекцију (паракрини и аутокрини ефекат), због појачања синтезе и активације протеин киназе (која блокира вирусну транслацију) и 2,5-олигоаденилат синтетазе (која промовише деградацију вирусне информационе RNK). Повећана експресија молекула главног комплекса ткивне подударности класе 1 (енг. *Major histocompatibility complex*, MHC-1), повећава вероватноћу да ће вирусом инфицирана ћелија бити препозната и убијена од стране цитотоксичних Т лимфоцита (енг. *Cytotoxic T lymphocytes*, CTL) (Abbas и сар., 2012b). RSV је најефикаснији од свих респираторних вируса у блокирању синтезе IFN- $\alpha/\beta$  у плазмочитним DC слузокоже бронхија (Hall и сар., 1978). Неструктурни протеини RSV вируса, NS1 и NS2, инхибирају индукцију IFN- $\alpha/\beta$  тако што блокирају активацију IRF-3 (интерферон регулаторног фактора 3) и JAK/STAT сигнализацију што за последицу има слаб антивирусни одговор, али и слаб TN-1 одговор (Lo и сар., 2005; Spann и сар., 2005). NS1 и/или NS2 такође активирају и NF- $\kappa$ B (појачивач активних Б ћелија) и фосфатидилинозитол 3 киназу (енг. *Phosphatidylinositol-3-kinases*, PI3K) у епителним ћелијама у одговору на RSV инфекцију, што је повезано са дужим преживљавањем инфицираних ћелија (Spann и сар., 2005; Bitko и сар., 2007; Collins and Graham, 2008). Сем NS протеина, антиапоптотски ефекат показује и вирусни SH протеин, вероватно блокирајући сигнал фактора некрозе тумора  $\alpha$  (енг. *Tumor Necrosis Factor alpha*, TNF- $\alpha$ ) (Collins and Graham, 2008).

#### 1.1.4.2 Ћелијски имунски одговор

Ефикасан ћелијски антивирусни имунски одговор подразумева активацију CD4<sup>+</sup> TN-1 ћелија која се одвија у присуству IFN- $\alpha/\beta$  и IFN- $\gamma$ , као и активацију CD8<sup>+</sup> лимфоцита у CTL, који након препознавања вирусног пептида у комплексу са MHC молекулом класе 1 на површини инфициране ћелије, убијају ту ћелију и доводе до елиминације вируса (Srikiatkachorn and Braciale, 1997; Abbas и сар., 2012b). Међутим, RSV блокира индукцију сазревања плазмочитних DC, сигнализирање преко TLR7 и TLR9 и стварање IFN- $\alpha/\beta$ . Осим тога, RSV инфицирана мијелоидна DC производи и веома мало IFN- $\gamma$  у односу на инфекцију hMPV. Утврђено је да RSV индукује другачији спектар цитокина из макрофага и DC: мање IL-12 (неопходног за индукцију IFN- $\gamma$ ), више IL-10, IL-11 и простагландина E2 (Collins and Graham, 2008; Wu and Hartert, 2011). Новија истраживања

повезују RSV инфекцију и смањење IL-15 (функција NK i CD8<sup>+</sup> меморијских ћелија) код деце са бронхијалном хиперреактивношћу и астмом (Laza-Stanca и сар., 2011). Смањена продукција IFN- $\gamma$  у RSV инфекцији доводи до смањења активације NK ћелија, и смањења TH-1 и CTL имунског одговора уз фаворизовање TH-2 имунског одговора. TH-2 ћелије продукују IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 и IL-13. IL-4 стимулише стварање IgE и IgG4; IL-13 повећава продукцију мукуса у епителним ћелијама респираторног тракта; IL-5 регрутује и активира еозинофиле (секреторне еозинофилне рибонуклеазе разграђују једноланчану RNK вируса) (Rosenberg и сар., 2009), а IL-10 додатно инхибира секрецију INF- $\gamma$  TH-1 ћелија, али потпомаже продукцију IgA (Abbas и сар., 2012a). Током RSV инфекције доминантни TH-2 одговор за последицу има присутну еозинофилију, хиперплазију пехарстих ћелија, хиперпродукцију мукуса, стварање IgE и хиперсензитивност дисајних путева (Collins and Graham, 2008; Wu and Hartert, 2011). У RSV инфекцији описана је и повећана апоптоза CD4<sup>+</sup> i CD8<sup>+</sup> Т-лимфоцита са лимфопенијом, што је повезано са тежом клиничком сликом (Collins and Melero, 2011). Оштећење епитела, секреција мукуса и акумулирани леукоцити, доприносе испољавању опструктивне респираторне болести (Collins and Graham, 2008).

#### 1.1.4.3 Хуморални имунски одговор

Јак хуморални имунски одговор према RSV забележен је код деце после примарне и секундарне инфекције, чак и код двомесечних беба које могу имати значајан пораст неутралишућих антитела када је титар мајчиних антитела низак (Collins and Graham, 2008). Б-ћелијска активација, диференцијација и измена класе имуноглобулина у IgA и IgG се првенствено дешава у тонзилама, аденоидном ткиву и у лимфним чворовима медијастинума, непосредно уз бронхије. На респираторним епителним ћелијама постоји полиимуноглобулински рецептор (поли-IgR) и неонатални Fc рецептори (енг. *Neonatal Fc receptor*, FcRn) који транспортују IgA и IgG у лумен дисајних путева. Антивирусна антитела су ефикасна само у току екстрацелуларног стадијума живота вируса који постоји на самом почетку инфекције пре него што дође до инфичирања ћелије домаћина и у тренутку када се вирус пупљењем ослобађа из инфичиране ћелије, или се након лизе ћелије ослобађа вирусни геном. Антивирусна антитела имају способност препознавања епитопа на вирусном омотачу или протеина капсида и њихова главна функција је неутрализација. Тим механизмом се превенира иницијална инфекција, али и ширење вируса са ћелије на ћелију (Abbas и сар., 2012b). Неутралишућа антитела респираторног тракта сем доприноса у одстрањивању RSV, имају важну улогу и у заштити од

реинфекције (Collins и сар., 2007). Најзначајнија класа имуноглобулина за неутрализацију вируса у респираторном тракту су секреторна IgA. IgA имунски одговор је кратак након примарне инфекције, али антитела имају дужи полуживот у реинфекцијама (Murphy, 2005). Серумска анти-RSV IgG лакше продиру у доње партије респираторног тракта где поред IgA обезбеђују значајну заштиту (Murphy, 2005). IgG су одговорна за опсонизацију вирусних партикула након чега оне бивају фагоцитоване. Фагоцитоза потпомаже и класични пут активације комплемента који је посредован антивирусним антителима. Активација комплемента на површини липидног омотача вируса може довести и до његове директне лизе (Abbas и сар., 2012b ). Титар анти-RSV IgG и IgA опада у току неколико недеља после инфекције, обично унутар три месеца, па је препоручено време узимања узорка - један месец од инфекције (када се могу детектовати антитела у свим RSV инфекцијама) (Okigo и сар., 2008). Код већине инфицираних особа постинфекциони титар нестаје за годину дана, док резидуални титар остаје прилично висок (Falsey и сар., 2006). Пасивни трансплацентарни имунитет има значајну улогу у заштити од инфекције. Титар мајчиних антитела је у позитивној корелацији са смањењем ризика од тежих RSV инфекција одојчета. Међутим, пошто титар антитела опада око 50% месечно, већ код одојчади старих 2-4 месеца могу се јавити тешке форме обољења (Nair и сар., 2010). Пасивна заштита специфичним анти-RSV имуноглобулинима (*palivizumab*) је краткотрајна, са временом полуживота антитела 21-24 дана (Collins and Graham, 2008).

### **1.1.5 Клиничке манифестације RSV инфекције**

Акутне клиничке манифестације RSV инфекције варирају у зависности од дечијег узраста и предходног здравственог статуса, мада је познато да већина инфекција пролази асимптоматски (Dawson-Caswell and Muncie, 2011.). Спектар клиничких обољења креће се од благих болести горњег респираторног тракта, упале средњег ува (*otitis media*), крупа (*laringitis*), упале ждрела (*faringitis*), до пнеумоније и бронхиолитиса (Meerhoff, 2010). Симптоми инфекције назофаринкса праћени су гушобољом, назалном конгестијом и благом грозницом. Након пар дана, инфекција може прогредирати ка нижим партијама дисајних путева са појавом кашља, диспнеје и/или тахипнеје и развојем визинга (звук чујан при дисању који настаје услед опструкције дисајних путева као последице бронхоконстрикције, едема и присуства мукуса у лумену дисајних путева) (Liu и сар., 2007; Meerhoff, 2010). За разлику од старије деце код које се јављају типични

симптоми упале горњих дисајних путева праћени кашљем, кијавицом и коњунктивитисом (Tregoning and Schwarze, 2010), одојчад и мала деца са примарном инфекцијом најчешће развијају болести доњих дисајних путева, тј. бронхиолитис и пнеумонију (Dawson-Caswell and Muncie, 2011). Болест је најчешће праћена кашљем (98%), грозницом (75%), ринорејом, визингом (65-78%), отежаним дисањем (73-95%) и повременом хипоксијом (Hall и сар., 2009; Dawson-Caswell and Muncie, 2011). Апнеја може бити први симптом, посебно код превремено рођене деце и/или одојчади (Eisenhut, 2007).

Иако је RSV инфекција најчешће блага, значај ове инфекције види се најбоље кроз број одојчади која су хоспитализована услед респираторних болести. У земљама Европске уније, 42-45% хоспитализоване деце на годишњем нивоу је имало RSV инфекцију доњих дисајних путева (Meerhoff, 2010; Collins and Melero, 2011). Такође, иако висок проценат хоспитализоване деце има RSV инфекцију, у земљама западне Европе смртност је ниска и износи у просеку 2,75 на 100 000 становника (Meijboom и сар., 2012.). Међутим, на глобалном нивоу је процењено да RSV сваке године узрокује смртни исход у око 500 000 деце (Meerhoff, 2010). Тежину RSV болести раног детињства детерминише више различитих фактора укључујући превремено рођење детета, низак титар заштитних антитела мајке (Cunningham и сар., 1991), постојање кардиопулмоналне болести, имуносупресије или имунодефицијенције, хроничне плућне болести, укључујући и бронхопулмоналну дисплазију (Mlinarić-Galinović и сар., 2012). Међутим, важно је напоменути да је више од половине случајева хоспитализација услед RSV инфекције, забележено и код предходно здраве деце (Collins and Melero, 2011).

### ***1.1.6 Микробиолошка дијагностика RSV инфекције***

Врста и квалитет клиничког узорка у великој мери утиче на сензитивност и специфичност доступних тестова за детекцију вируса. Назални испирак или назофарингеални аспират показује већу сензитивност за детекцију RSV, у односу на назофарингеални брис (Heikkinen и сар., 2002; Lambert и сар., 2008). Са друге стране, узимање назофарингеалних брисева је далеко мање непријатна процедура за пацијенте, не захтева специјализовану опрему и изводи се у амбулантним условима (Porow-Kraupp and Aberle, 2011).



Специфична дијагностика RSV инфекције (Porow-Kraupp and Aberle, 2011) обухвата:

- 1) Директну вирусолошку дијагностику: изолацију вируса, молекуларну дијагностику и детекцију антигена, и
- 2) Индиректну дијагностику – серолошку дијагностику

Током дужег времена златни стандард за потврду RSV инфекције била је директна метода изолацијом вируса у култури ћелија. Најосетљивије ћелијске културе за изоловање RSV су хетероплоидне културе хуманог порекла, Нер-2 и HeLa (Јовановић и сар., 2008). Присуство вируса у култури се доказује на основу специфичног цитопатогеног ефекта у виду синцицијума који се јавља у култури након трећег, шестог, или десетог дана. С обзиром да ћелијске културе временом могу да изгубе осетљивост према RSV, важно је континуирано праћење њихове осетљивости на вирус (Јовановић и сар., 2008; Porow-Kraupp and Aberle, 2011).

Детекција вирусног антигена изводи се: имунофлуоресцентним, имуноензимским, имунохроматографским и оптичким имунотестовима (Englund и сар., 1996). Метода директне имунофлуоресценције (DIF) користи флуоресцеином обележена антитела према вирусном антигену из респираторног секреторног материјала, чиме се инфициране ћелије могу директно открити уз помоћ флуоресцентног микроскопа. Имуноензимски тестови заснивају се на откривању RSV антигена помоћу вирус-специфичних антитела која су обележена ензимом, при чему реакција постаје видљива након додавања супстрата (Porow-Kraupp and Aberle, 2011). Код старије деце и одраслих, детекција вируса овим тестовима је изузетно ретка (сензитивност 0-20%) због брже елиминације и нижег титра вируса у групи пацијената са реинфекцијама (Englund и сар., 1996). Специфичност овог детекционог теста може бити смањена посебно када се користи ван сезоне појављивања RSV инфекције (када је преваленца ниска), што може резултирати повећањем броја лажно позитивних налаза (Hornsleth и сар., 1982; Casiano-Colón и сар., 2003). Наведене методе су мање специфичне и мање сензитивне у односу на реакцију ланчане полимеризације (eng. *Polymerase Chain Reaction*-PCR) (Porow-Kraupp and Aberle, 2011; Pérez-Ruiz и сар., 2012).

Револуционарни помак у дијагностици вирусних инфекција представља увођење PCR методе која се заснива на откривању вирусне нуклеинске киселине у клиничком узорку (Јовановић и сар., 2006). Увођењем PCR технике са реверзном транскрипцијом (eng. *Reverse transcription PCR*, RT-PCR), којом се вирусна RNK преводи у

комплементарни ДНК ланац у присуству ензима реверзне транскриптазе (Јовановић и сар., 2006), постало је могуће откривати РНК вирусе па и RSV. Применом ове методе дошло се до двоструког повећања стопе детекције RSV код одојчади са респираторним болестима (Pérez-Ruiz и сар., 2012). Код пацијената са коинфекцијама, квантитативни RT-PCR (енг. *Quantitative reverse transcription PCR*, qRT-PCR) помаже у дискриминацији вируса одговорног за акутни респираторни синдром у односу на вирусе који нису повезани са клиничком сликом пацијента (Porow-Kraupp and Aberle, 2011; Pérez-Ruiz и сар., 2012).

Међутим, још увек је нејасна права дијагностичка вредност квантификације вирусне нуклеинске киселине, са обзиром да qRT-PCR није увек позитиван на присуство вируса у узорцима назофарингеалног бриса код серопозитивних пацијената (највероватније због непостојања вируса у самом узорку бриса и/или неадекватног транспорта испитиваног материјала) (Porow-Kraupp and Aberle, 2011).

Индириктна серолошка дијагностика подразумева детекцију специфичних анти-RSV антитела имунофлуоресцентном или имуноензимском методом (Anderson и сар., 1985; Loeffelholz and Chonmaitree 2010). На овај начин се остварује ретроспективна дијагностика RSV инфекције, која се заснива на налазу сероконверзије (Johnson и сар., 1961; Murphy и сар., 1986; Porow-Kraupp и сар., 1989). Скрининг RSV специфичних антитела (At) се највише користи приликом извођења епидемиолошких истраживања и у научно-истраживачке сврхе (Anderson и сар., 1985; Porow-Kraupp and Aberle, 2011). Утврђено је да серолошка тестирања парних узорака серума (у акутној фази болести и у реконвалесценцији) у којима долази до четвороструког пораста титра антитела указују на повећану вероватноћу (за 0,4-10,7%) да ће PCR налаз RSV и других респираторних вируса из назо/орофарингеалних брисева, бити позитиван (Feikin и сар., 2013). Серолошка тестирања (иако ограничених могућности за клиничко дијагностиковање), заједно са PCR-техником, могу значајно побољшати постављање етиолошке дијагнозе вирусних респираторних инфекција у епидемиолошким истраживањима (Feikin и сар., 2013).

### **1.1.7 Превенција RSV инфекције**

За сада још увек не постоји јединствена, регистрована, специфична терапија која се може користити за РСВ инфекцију. Дилема са којом се суочавају истраживачи је недостатак антивирусних агенаса који су одобрени за употребу код деце; посебан

проблем представља недостатак специфичне вакцине против најважнијих патогена, риновируса (RV) и RSV (Holt и сар., 2012; Murray и сар., 2013).

Лоше искуство из 1960. године, након интрамускуларног давања формалином инактивиране RSV вакцине (енг. *Formalin-inactivated respiratory syncytial virus vaccine*, FI-RSV) бебама и деци, је најдраматичнији приказ утицаја имунског одговора на RSV инфекцију (Groothuis и сар., 2011). Вакцина је показала лош заштитни ефекат са чак два смртна исхода. Током времена, било је више покушаја за производњу ефикасне RSV вакцине, са знатним ограничењима.

Недавни извештаји о увођењу RSV профилаксе „*palivizumabom*“ (моноклонска анти-RSV антитела) код превремено рођене деце која немају историју породичне астме и/или атопије, указују на смањење ризика за појаву рекурентног визинга за 80% код деце узраста од 2-5 година (Simoes и сар., 2010). Национална студија спроведена у Великој Британији је показала да увођење профилаксе „*palivizumabom*“ код деце високог ризика, обезбеђује велику ефикасност и исплативост у превенцији хоспитализације, у поређењу са контролном групом (Nuijten и сар., 2007). Такође и у нашој земљи је прихваћено мишљење да је „*palivizumab*“ једини за сада доступан, ефикасан и безбедан, специфичан вид пасивне имунизације против RSV инфекције. Примењује се за профилаксу компликација RSV инфекције код дефинисаних високоризичних група деце (Feldes и сар., 2003; Janković и сар., 2009). Међутим, овакав протективни ефекат није забележен код превремено рођене деце са атопијском позадином, што указује да различити механизми могу учествовати у развоју астме која почива на атопијској позадини детета (Simoes и сар., 2010; Beigelman and Bacharier, 2013).

## 1.2. Бронхијална хиперреактивност

Значај RSV инфекције се посебно разматра у контексту развоја хиперреактивности бронхијалног стабла (БХР) и астме. Под термином бронхијалне хиперреактивности подразумева се стање у коме су дисајни путеви осетљиви на провокативне факторе, као што су: вирусне инфекције респираторног тракта (RSV, hMPV, RV, вирус параинфлуенце и инфлуенце, аденовирус), инхалаторни алергени (кућна прашина, гриње, животињски епител, буђ, полени), дувански дим, аерозагађење (озон, сумор-диоксид, мале честице, чађ, ендотоксини и микотоксини у прашини), јаки мириси (парфеми, лакови за косу, хемијска средства у домаћинству), професионални иританси (боје, лакови, формалдехиди, пестициди и инсектициди), хладан и сув ваздух,

хипервентилагаја (физичка активност, плач, смех) и коморбидитетна стања (ринитиси, синзитиси, гастроезофагеални рефлукс) (Liu и сар., 2007). Бронхијална хиперреактивност (рекурентни визинг изазван провокативним факторима) последица је постојања хроничне инфламације дисајних путева, а инфламација узрокује и патолошко ремоделовање дисајних путева у виду оштећења респираторног епитела, субепителијалне фиброзе, задебљања глатких мишића зида дисајних путева, хиперплазије мукусних ћелија и жлезда, што све заједно представља патолошки налаз карактеристичан за астму (Liu и сар., 2007). Дакле, рекурентни визинг (понављана, епизодна бронхоопсрукција) као манифестација БХР може бити транзиторна појава, за разлику од астме у којој долази до ремоделовања дисајних путева и која представља доживотну болест (Liu и сар., 2007). Наиме, рекурентни визинг у предшколском узрасту је врло честа појава и присутна је код 1/3 ове популације. Већина деце са рекурентним визингом губе симптоме током пре-пубертетског периода, а код малог броја деце симптоми су перзистентни, односно та деца имају астму и као одрасли (Liu и сар., 2007). Астма се дефинише као ремитентан инфламаторни поремећај са бронхијалном хиперреактивношћу коју прате симптоми рекурентног или хроничног визинга са кашљем и/или поремећајима у дисању, посебно у ноћним и јутарњим часовима, у чијој је основи патолошко ремоделовање дисајних путева (Global Initiative for Asthma (GINA), 2009).

### **1.3. Фактори ризика који повезују RSV инфекцију, БХР/астму и атопију**

Лонгитудиналне студије су потврдиле везу између тешких бронхиолитиса изазваних RSV и педијатријске дијагнозе астме у школском узрасту и у раном одраслом добу (Beigelman and Bacharier, 2013). Већина ових студија у својој терминологији користи израз визинг, којим се подразумева постојање полифоног звука у експиријуму који се јавља услед опструкције протока ваздуха кроз мале (периферне) дисајне путеве. Визинг је један од клиничких/дијагностичких параметара бронхиолитиса, акутних бронхитиса и астме (Watts and Goodman, 2007). Интересовање за допринос респираторних вирусних инфекција развоју астме потиче великим делом од резултата базираних на проспективним кохортним студијама од рођења до школског узраста и на даље и то посебно оних у којима је прикупљање података о инфекцијама било саставни део студијског дизајна. У овим студијама је показано да су вирусне инфекције праћене визингом у првим годинама живота фактор ризика за појаву астме, првенствено код деце са атопијом (Holt and Sly, 2002; Holt и сар., 2012).

### 1.3.1 RSV инфекција и рекурентни визинг

Кохортна Туксон студија (енг. *Tucson Children's Respiratory Study, TCRS*) (Taussig и сар., 2003) започета 1980. године обухватала је 1246 деце од тренутка рођења (са члановима породице), са циљем разјашњавања сложених односа између могућих фактора ризика и развоја акутних болести доњих дисајних путева као и хроничних респираторних поремећаја, нарочито астме, у каснијем детињству и у одраслом добу. Током студије праћено је клиничко испољавање симптома, паралелно су детектоване инфекције, а атопијски статус је одређиван кожним тестом и серумском концентрацијом укупног IgE (tIgE). RSV инфекција је дијагностикована налазом анти-RSV IgG. Утврђено је да је RSV бронхиолитис независтан фактор ризика за развој рекурентног визинга код деце узраста до 11 година, али да не представља ризик за испољавање астме у 13. години живота. Наиме, у овој студији дефинисана су три типа визинга у дечијем узрасту:

- 1) **Транзиторни визинг одојчади:** јавља се у пар епизода код деце до треће године живота. У ову категорију спада више од 80% деце са визингом у првој години, 60% у другој и 30% до 40% деце са визингом у трећој години живота. Ова деца немају податак о постојању астме у породици, немају атопијски дерматитис као ни еозинофилију, немају висок ниво tIgE, нити друге параметре алергије. Основни фактори ризика за испољавање транзитивног визинга је слабија функција плућа пре испољене болести доњих дисајних путева, односно мали калибар дисајних путева (мушки пол), изложеност кисеонику на рођењу и изложеност дуванском диму. Ова деца не испољавају визинг после треће године живота.
- 2) **Неатопијски визинг:** јавља се код деце и после треће године живота и најчешће је последица вирусних инфекција. Деца без атопије која су имала болест доњих дисајних путева са дијагностикованом RSV инфекцијом, су три до пет пута чешће имала визинг до шесте године живота, али овај ризик је значајно опадао са годинама и практично, RSV инфекција није имала значај за појаву визинга у 13. години живота. Деца са RSV изазваним болестима доњих дисајних путева имала су и мању плућну функцију у шестој и у 11. години живота.
- 3) **Атопијски визинг:** јавља се код деце која имају атопију у првих шест година живота као први симптом касније настале астме. Код ове деце утврђена је

сензибилизација на инхалаторне алергене (првенствено *Alternaria*). Деца са атопијским визингом су била подељена у две групе: прву групу чинила су деца која су имала визинг у прве три године живота, а другу групу деца која су имала први визинг у узрасту од три до шест година. Сва деца су била сензибилисана на инхалаторне алергене у шестој години живота, али деца са атопијом која су имала први визинг у прве три године живота имала су лошију функцију плућа и више концентрације укупног IgE у серуму у узрасту између шесте и 11. године живота.

Туксон студија је и дефинисала критеријуме за утврђивање постојања ризика за развој астме – АПИ индекс (eng. *Asthma Predictive Index*, АПИ), који је нешто касније модификован и којим се утврђује да ризик за развој астме имају деца са три и више визинга која су имала позитиван бар један од три мајор критеријума (астма родитеља, екцем/атопијски дерматитис и сензибилизација на инхалаторне алергене), или један/два минор критеријума (визинг без прехладе, еозинофилија >4%, алергијски ринитис и сензибилизација на алергене хране) (Тауссиг и сар., 2003).

### **1.3.2 RSV инфекција и астма**

Студија RSV бронхиолитиса раног доба (eng. *RSV bronchiolitis early life study*, RBEL студија) (Bacharier и сар., 2012), проспективна кохортна студија одојчади хоспитализоване због тешког RSV бронхиолитиса, фокусира се на препознавање фактора ризика за појаву астме након тешке RSV инфекције и то за период од шест година после примарне инфекције. Од 206. деце са тешким RSV бронхиолитисом током прве године живота, 48% је добило дијагнозу астме од стране свог лекара до навршене седме године живота. Фактори ризика за развој астме били су препознатљиви већ у првој години живота и односили су се на постојање астме код мајке, као и на изложеност алергенима пса, док је припадност одређеној етничкој групи и коришћење дневних центара за чување деце, било повезано са смањеним ризиком за развој астме. Постојање алергијске сензибилизације у узрасту до три године, је такође било повезано са повећаним ризиком за постављање дијагнозе астме (Bacharier и сар., 2012).

### **1.3.3 RSV инфекција, БХП/астма и атопија**

У шведској кохортној студији (Sigurs и сар., 2010), испитивано је 47 одојчади са клиничком сликом тешког RSV бронхиолитиса (епизода бронхиолитиса довољно тешка да захтева хоспитализацију) узраста до годину дана. Контролну групу је чинило 93

одојчета. Деца са тешким RSV бронхиолитисом, имала су већу преваленцу астме/рекурентног визинга (са три и више епизода) и постојања алергијске сензибилизације у узрасту од три, седам, 13. година, као и у раном одраслом добу у односу на контролну кохортну групу. Такође, у узрасту од 18. година, у испитиваној кохорти је забележена знатно већа преваленца астме/рекурентног визинга (39% vs. 9%), алергијског ринокоњунктивитиса (43% vs. 17%) и сензибилизације на више алергена (41% vs. 14%) у поређењу са контролном кохортном групом (Sigurs и сар., 2010). Дошло се до закључка да су код одојчади главни предвиђајући фактори за развој астме/рекурентног визинга, тежак бронхиолитис и алергијски ринокоњунктивитис. Такође, запажено је да пацијенти са историјом болести о прележаном RSV бронхиолитису, у својој 18. години имају смањену пулмоналну функцију (енг. *Forced expiratory volume*, FEV<sub>1</sub> и FEV<sub>1</sub>/FVC ratio – спирометријски индекс), хиперреактивност дисајних путева и јачи одговор на бронходилататоре. Ови показатељи опструкције дисајних путева могу бити детектовани већ у седмој и 13. години. Иако су смањени спирометријски индекси код RSV пацијената били независни од дијагнозе астме и рекурентног визинга, функција малих дисајних путева је била снижена код пацијената са дијагнозом астме. Резултати ове студије показују да је тежак RSV бронхиолитис раног детињства у вези са повећаним ризиком за развој астме, са развојем бронхијалне хиперреактивности и алергијском сензибилизацијом и да ова повезаност може трајати до раног одраслог доба (Sigurs и сар., 2010).

За разлику од радова који подржавају директну узрочну везу вирусног бронхиолитиса у патогенези астме, изведене су епидемиолошке студије монозиготних близанаца неусклађене по тежини RSV бронхиолитиса прележаног у доба одојчета, које не подржавају теорију да RSV бронхиолитис доприноси развоју астме (Thomsen и сар., 2009; Poorisrisak и сар., 2010). Poorisrisak et al. (2010) није пронашао разлику између монозиготних близанаца хоспитализованих услед RSV бронхиолитиса различите тежине у следећим параметрима: плућној функцији, нивоу издахнутог азот оксида, преваленци астме и коришћењу медикамената за астму у току периода праћења од шест до седам година (Poorisrisak и сар., 2010). Друга група аутора (Thomsen и сар., 2009) је на 8280 парова близанаца користила узрочни модел генетске варијансе, на основу кога су закључили да тешки RSV бронхиолитис највероватније представља генетску предиспозицију за астму (Thomsen и сар., 2009). Такође, у епидемиолошким студијама које су обухватиле само децу са високим ризиком за алергију, показано је да алергијска сензибилизација и/или дисфункција дисајних путева представља предиспонирајући

фактор за повећану осетљивост на вирусне респираторне инфекције, односно вирусом индуковани визинг (који представља маркер развоја астме), наглашавајући да вирусне инфекције нису узрочни фактори астме (Beigelman and Bacharier, 2013). Данска проспективна студија на високо ризичној кохорти одојчади мајки са астмом, је сугерисала да је тежак бронхиолитис резултат реакције већ постојеће осетљивости дисајних путева на вирусну инфекцију (Sigurs и сар., 2010). COAST студија (eng. *Childhood Origins of ASThma*, COAST ) (Lemanske, 2002) је обухватила 238 деце од рођења до осме године живота са високим ризиком за развој алергијске болести и/или астме, на основу података о постојању респираторних алергија код родитеља и/или дијагностиковане астме од стране лекара. У овој студији је показано да RSV инфекција у прве три године живота није повезана са дисфункцијом малих дисајних путева у узрасту од пет до осам година. Са друге стране, алергијска сензибилизација на инхалаторне алергене током прве године живота је идентификована као сигнификантни фактор ризика за појаву визинга узрокованог RV (старија деца са позитивном породичном анамнезом за астму), али не и RSV инфекцијом (Lemanske, 2002; Jackson and Lemanske, 2010). Такође, друга група аутора (*Tennessee Children's Respiratory Initiative*, TCRI) (Hartert и сар., 2010; Carroll и сар., 2012) је истакла да је постојање астме код мајке било удружено са повећаним ризиком одојчади за већу учесталост и теже облике RV инфекције у поређењу са RSV инфекцијом. Ови налази су подржали хипотезу да постоји већа вероватноћа да одојчад којој је дијагностикована RV инфекција има атопијску конституцију, у поређењу са децом код које је откривена RSV инфекција (Hartert и сар., 2010; Carroll и сар., 2012).

Из свих ових студија се може закључити да код деце са атопијском конституцијом вирусне инфекције могу бити маркер предиспозиције за астму, док вирусни бронхиолитис може предходити развоју дисфункције дисајних путева код деце без атопијске предиспозиције. Ова два сценарија се међусобно не искључују, нарочито уколико се вирусне инфекције разматрају појединачно у односу на узраст (Beigelman and Bacharier, 2013; Escobar и сар., 2013). У COAST студији је показано да се разликују одојчад са визингом изазваним риновирусном инфекцијом, од оне са RSV визингом: старија су и постоји већа вероватноћа да имају личну и породичну историју о постојању астме ( Jackson and Lemanske, 2010; Kieninger and Regamey, 2012). Разлике у основи атопијске позадине утичу на вероватноћу појаве визинга у контексту различитих вирусних инфекција и сугеришу на постојање два различита пута: RV индуковани визинг (најчешће се може јављати код амбулантних пацијената, старијег узраста и са



породичном анамнезом за астму) може бити маркер за тенденцију развоја астме, док RSV визинг (нарочито теже болести које захтевају хоспитализацију) може имати више узрочну улогу у патогенези болести. Оваква претпоставка може бити подржана успешном превенцијом RSV визинга употребом "*palivizumab*" само код деце која немају атопију, указујући на другачије последице вирусне инфекције у зависности од атопијске предиспозиције (Simoes и сар., 2007; Simoes и сар., 2010).

#### 1.4. Атопија

Алергија је имунолошки посредована реакција преосетљивости на једну или више супстанци, тј. алергена. Назив води порекло од грчке речи *άλλος* (алос) што значи други, измењен и речи *έρω* (ерго) што значи рад, одговор, реакција. Алергија означава другачији (измењени) одговор имунског система, док се супстанце које могу изазвати алергијске реакције називају алергени. Алергени су антигени који стимулишу алергијску преосетљивост и формирање IgE антитела (Кау, 2001; Abbas and Lichtman, 2008).

Атопија је подгрупа алергијских хиперсензитивности која се дефинише као генетска предиспозиција за продукцију IgE у одговору на излагање алергену. Појава специфичних IgE антитела на алергене лежи у основи развијања клиничког поремећаја (фенотипа) атопијске болести (Abbas and Lichtman, 2008). Под појмом „алергијски марш“, подразумева се прогресија клиничких манифестација атопије, од појаве екцема/атопијског дерматитиса, алергије на храну и отежаног дисања у току респираторне инфекције у најранијем узрасту, преко појаве сензибилизације на инхалаторне алергене са клиничком манифестацијом респираторних болести, као што је алергијски ринитис и у најтежим случајевима - астма (Carrol и сар., 2012).

Код генетски предиспонираних особа за стварање IgE на уобичајене алергене средине (атопија), приликом првог контакта са алергеном долази до сензибилизације која подразумева синтезу специфичних IgE према том алергену (ТН-2 имунски одговор) и њихово везивање за Fcε рецепторе високог афинитета на мастоцитима. Поновљена изложеност алергену доводи до испољавања прво ране фазе преосетљивости (после 20-так минута), у којој премошћавање више специфичних IgE на површини маст ћелија узрокује њихову дегранулацију и ослобађање медијатора запљења (биогени амини - хистамин; липидни медијатори - леукотриени, простагландини; цитокини - IL-4, IL-5, IL-13, TNF-α, G-CSF (енг. *Granulocyte colony-stimulating factor*, фактор стимулације

колонија гранулоцита) итд.) (Abbas and Lichtman, 2008). У касној фази одговора (после 3-6 сати) присутна је еозинофилна инфламација. У случају инхалаторних алергена, хронична инфламација која настаје након дуже изложености алергену удружена је са хиперреактивношћу бронхијалног стабла, а исто тако може узроковати и структурна и функционална оштећења ткива дисајних путева тј. ремоделовање, које је карактеристично за астму (Høst and Halken, 2003). Сензибилизација на храну откривена у раном детињству, као и сензибилизација на кућну прашину, помињу се као предвиђајући фактори за развој астме (Høst and Halken, 2000).

Поставља се питање, да ли постојање генетске предиспозиције за атопију само по себи креира осетљивост за настанак астме после вирусних инфекција, или је потребна активна експресија атопијског фенотипа током раног детињства са сензибилизацијом на алергене околине. У интернационалној студији о алергији и астми у дечјем узрасту (енг. *ISAAC study*, ISAAC студија), дефинисани су различити фенотипови визинга у оквиру „синдрома астме“ (ISAAC sampling phases: <http://isaac.auckland.ac.nz/phases/phases.html>). Једну групу чинила су деца чија је изложеност поновљеним инфекцијама у раном детињству довела до појаве „инфективне астме“, док су другу групу чинила деца са „атопијском астмом“ (Høst and Halken, 2000; Kusel и сар., 2007). Код деце са атопијом, појачана улога инфективног агенса у механизму настанка егзацербације астме, надовезује се на оштећење епитела дисајних путева услед предходног излагања алергенима (Papadopoulos и сар., 2007). Обрнуто, инфекцијом оштећени епител може резултирати појачаном апсорпцијом аероалергена, чиме се појачава утицај алергена као тригера за егзацербацију астме (Papadopoulos и сар., 2007). Сходно томе, показало се да је алергијска сензибилизација важан фактор ризика за појаву визинга који прати RSV инфекцију (Neumann и сар., 2004).

Веза између повећане осетљивости према респираторним вирусним инфекцијама у раном детињству и каснији развој астме, предмет је актуелних базичних истраживања (Holt и сар., 2012). Новија истраживања су открила прикривени механизам који се заснива на транслокацији (егзацербацијом удружених) цитокинских сигнала (посебно IL-4/IL-13 и IFN тип1) у коштану срж, што резултује "алтернативном активацијом" мијелоидне лозе која укључује незреле дендритичне ћелије заједно са повећаном експресијом FcεRI рецептора (Subarta и сар., 2009; Holt and Sly, 2011). Претпоставља се, да замена дендритичних ћелија слузокоже дисајних путева ћелијама коштане сржи (тј. незрелим дендритичним ћелијама) које садрже FcεRI рецепторе, представља основу за ангажовање TH-2 имунског одговора на аероалергене, у инфламаторном миљеу

вирусних болести дисајних путева (Holt and Sly, 2011). Овакав вид олакшане IgE презентације алергена је препознат као главни узрок инфламације посредоване ТН-2 имунским одговором и код атопијских дерматитиса (Novak и сар., 2003). Новија истраживања су показала да респираторне вирусне инфекције раног живота могу да измене баланс цитокина у плућима одојчади, што би могло имати утицај на развој астме (Macaubas и сар., 2003). Додатна последица вирусне инфекције може бити атенуација (слабљење) локалног ТН-1 имунског одговора путем имунске "девијације", што директно доприноси вирусној перзистенцији. Са друге стране, наведени механизам (посредован активацијом коштане сржи) се може уочити и током активације алергијске болести независно од присуства вируса (Semper и сар., 2003; Holt and Sly, 2011).

Више од половине свих случајева астме почиње пре треће године живота, а 80% пре шесте године (Martinez, 2002). Иако су клиничке манифестације астме прилично очигледне (визинг, кашаљ, респираторни дистрес), ипак нису специфичне и могу се јављати и у другим патолошким ентитетима као што су: инфекције дисајних путева, бронхиолитис, акутни визинг, визинг након бронхиолитиса, *laryngomalacia/tracheomalacia*, примарна цилијарна дискинезија, структурне абнормалности горњих и доњих дисајних путева, механичка опструкција, цистична фиброза итд. (Papadopoulos и сар., 2012). Потешкоћа у илустровању механизма дечије астме додатно отежава разумевање болести у овој старосној групи, због континуираног раста и развоја детета током кога долази до преклапања или надовезивања различитих атопијских фенотипова (Papadopoulos и сар., 2007; Guibas и сар., 2012).

Иако се астма данас разматра као хетерогено стање организма које се манифестује великим бројем фенотипова који осликавају различите патогенетске механизме, или као синдром, у чију је патогенезу укључено мноштво имунолошких, механичких и структурних фактора (Guibas и сар., 2012), ипак се сматра да у основи етиологије и патогенезе дечије астме (слика 1.5.) стоји ефекат окружења (алергени, инфекције, аерозагађење, стрес) на дете са



Слика 1.5. Схематски приказ патогенезе дечије астме

одређеним генетским и биолошким карактеристикама (имунски одговор, развој плућа, репарација ткива) (Liu и сар., 2007). Постојање атопије у дечијем узрасту дефинише и одређени образац развоја урођеног и адаптивног имунског одговора, који у току вирусних респираторних инфекција приликом изложености аероалергенима или аерозагађењу доводи до оштећења доњих дисајних путева, што се манифестује аберантном репарацијом удруженом са перзистентном инфламацијом, хиперреактивношћу бронхијалног стабла, ремоделовањем и поремећајем у расту и диференцијацији дисајних путева, што све укупно представља патогенезу астме (Liu и сар., 2007).

## 2. ЦИЉЕВИ И ХИПОТЕЗЕ СТУДИЈЕ

### Главни циљеви

- ❖ Утврдити карактеристике RSV инфекције код деце узраста до две године у односу на атопију.
- ❖ Утврдити карактеристике бронхијалне хиперреактивности код деце узраста до две године у односу на RSV инфекцију и атопију.
- ❖ Утврдити предвиђајуће факторе за развој бронхијалне хиперреактивности код деце узраста до две године.

### Специфични циљеви

- Утврдити учесталост RSV инфекције у односу на атопију.
- Упоредити клиничке манифестације RSV инфекције у односу на атопију.
- Анализирати хуморални имунски одговор према RSV инфекцији у односу на локализацију респираторних болести и атопију.
- Утврдити учесталост бронхијалне хиперреактивности удружене са RSV инфекцијом код деце узраста до две године у односу на атопију.
- Анализирати хуморални имунски одговор према RSV инфекцији у групи деце са БХР у односу на атопију.
- Утврдити учесталост бронхијалне хиперреактивности у односу на RSV инфекцију и атопију према индивидуалним карактеристикама деце.
- Утврдити предвиђајуће факторе за развој бронхијалне хиперреактивности у односу на RSV инфекцију код деце узраста до две године.
- Утврдити предвиђајуће факторе за развој бронхијалне хиперреактивности у односу на атопију код деце узраста до две године.

### Хипотезе истраживања

- ✓ RSV инфекција је чешћа код деце са атопијом.
- ✓ Рецидивантни облици респираторних болести су чешћи код деце са RSV инфекцијом без обзира на атопију.

- ✓ RSV инфекција је удружена са акутним бронхијалним болестима код деце без атопије, док је код деце са атопијом удружена са хроничним бронхијалним болестима.
- ✓ Деца са атопијом имају високе серумске концентрације анти-RSV IgA без обзира на локализацију респираторне болести.
- ✓ Деца без атопије имају високе серумске концентрације анти-RSV IgA и IgG уколико испољавају болести доњих дисајних путева.
- ✓ Деца са атопијом имају чешће БХР удружен са RSV инфекцијом.
- ✓ Деца са атопијом која развијају БХР имају више серумске концентрације анти-RSV IgA и ниже концентрације tIgE у односу на децу са атопијом без БХР.
- ✓ Деца без атопије која развијају БХР имају више серумске концентрације анти-RSV IgA и IgG и више концентрације tIgE у односу на децу без атопије и без БХР.
- ✓ Предвиђајући фактори за испољавање бронхијалне хиперреактивности удружене са RSV инфекцијом су атопија и ларингитис.

### 3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

#### **Врста студије**

Истраживање представља епидемиолошку студију преваленце и клиничку опсервациону студију пресека са експерименталним делом на материјалу хуманог порекла *in vitro*.

#### **Испитивана популација**

У истраживање су била укључена здрава деца узраста од 5 до 24 месеца са територије града Крагујевца и околине.

Истраживање је спроведено у оквиру пројекта „Утврђивање утицаја респираторних инфекција на појаву атопије код деце узраста до две године“ Института за јавно здравље Крагујевац и Градског завода за јавно здравље Београд, који представљају потпројекат главног, истраживачко-интервентног пројекта „Кад порастем бићу здрав“ Института за јавно здравље, Крагујевац.

#### **Величина испитиваног узорка**

Пројектом „Кад порастем бићу здрав“, који је реализован од стране Института за јавно здравље Крагујевац у сарадњи са Централним дечијим диспанзером Дома здравља у Крагујевцу је обухваћено 500 деце узраста до две године, у периоду 2009-2011. године на територији града Крагујевца и околине. Метод случајног узорка обезбеђен је укључивањем деце у истраживање у току дефинисаног једног дана у недељи, петка, за децу која су на редовне систематске превентивне прегледе долазила у Централни дечији диспанзер у Крагујевцу и понедељка, за децу која су долазила у Саветовалиште за превенцију алергијских болести и астме у Институту за јавно здравље Крагујевац.

На овај начин је селектирано 175 деце. На основу виталних демографских података броја рођених у Крагујевцу 2008. год. (1647 живорођених) (Republički zavod za statistiku, 2009) претпостављени број деце узраста до две године износио је 2745, те је узорак од 175 деце чинио 6,37% испитиване популације на територији града Крагујевца, што га чини репрезентативним узорком испитиване популације.

Родитељи су информисани о сврси, циљевима и начинима спровођења истраживања, након чега су давали писмену сагласност за укључивање њихове деце у истраживање потписивањем информативног листа.

### **Етички принципи**

Испитивање је спроведено у складу са етичким стандардима Хелсиншке декларације из 1975. године, ревидиране 1983. године. Студија је у оквиру плана превенције алергијских болести код деце Института за јавно здравље Крагујевац, одобрена од стране Етичког одбора Института за јавно здравље у Крагујевцу, као и од Етичког одбора Медицинског факултета у Крагујевцу (број 01-3980, од 13.09.2011. године). Узимање биолошког материјала деци (серуми) вршено је у здравственој установи под надзором педијатра, у узрасту у коме се по педијатријском протоколу стандардно проверавају хематолошки параметри крвне слике детета, а уз сагласност родитеља који су предходно информисани о начину извођења и циљевима истраживања.

### **Испитиване групе**

Испитивање је обухватило почетни узорак од 175 деце. Подаци о деци су потицали из анкета које су родитељи попуњавали у саветовалишту, а затим су упоређивани са подацима из базе података Дома здравља.

Испитивана популација је подељена у две групе: испитивану групу и контролну групу. Испитивану групу чинила су деца са налазом једног специфичног анти-RSV IgA и/или IgG антитела, што се сматрало доказом акутне или прележане RSV инфекције. Контролну групу, без RSV инфекције, чинила су деца у чијем серуму нису нађена антитела специфична за овај вирус.

### **Методологија**

У оквиру методологије истраживања, вршено је анкетање родитеља, систематски преглед деце, утврђивање постојања предходне RSV инфекције и болести дисајних путева, као и *in vitro* дијагностика атопије. За сву децу, подаци о испитивним индивидуалним, социо-демографским обележјима и карактеристикама стања здравља детета добијени су из анкетног упитника, док су подаци о постојању болести дисајних путева добијени из базе података Дома здравља у Крагујевцу (пр. бр. 1.).

### **3.1. Одређивање серумских концентрација специфичних антитела**

Одређивање серумских концентрација анти-RSV IgA и IgG извршено је на узорку од 175 деце.



### 3.1.1 Узорковање серума

Венска крв је узимана деци у јутарњим часовима, након два сата на собној температури је центрифугирана, а серум чуван на  $-75^{\circ}\text{C}$  до  $-80^{\circ}\text{C}$  до извођења теста.

### 3.1.2 Одређивање концентрација антитела

Серумске концентрације имуноглобулина (Ig) класе IgA и IgG према RSV одређиване су квантитативним имуноензимским тестом ELISA, (*Enzyme linked immunosorbent assay*, ELISA), према упутству произвођача (*SERION ELISA classic, Institut Virion/Serion GmbH, Вирзбург, Немачка*).

Пре извођења теста серуми су разблажени пуфером (фосфатни пуфер и Tween 20):

- 1) за одређивање IgG, 5 $\mu\text{l}$  серума је разблажено са 500  $\mu\text{l}$  пуфера, а затим је у 25  $\mu\text{l}$  разблаженог узорка додато 500  $\mu\text{l}$  пуфера, што чини укупно разблажење од 1+2000
- 2) за одређивање IgA, 5 $\mu\text{l}$  серума је разблажено са 500  $\mu\text{l}$  пуфера, а затим је у 50  $\mu\text{l}$  разблаженог узорка додато 200  $\mu\text{l}$  пуфера, што чини укупно разблажење од 1+500

Као контролни серуми (стандардни серум и негативна контрола), коришћени су серуми произвођача из оригиналног паковања, одмах спремни за употребу (хумани серуми у фосфатном пуферу са протеином, негативни на присуство анти-HIV антитела, анти-HBs-антигена и анти-HCV антитела).

У базенчиће плоча за микротитрацију које су обложене RSV антигенима, додати су разблажени узорци, стандардни серум и контролни серум у количини од 100  $\mu\text{l}$  који су инкубирани (60 мин на  $37^{\circ}\text{C}$  у влажној комори), како би дошло до везивања специфичних антитела из узорка за антиген RSV. После аутоматског испирања (раствором натријум хлорида и Tween 20, 30 mM Tris; растворен у дестилованој води 1:30; 4x300  $\mu\text{l}$ ), вршено је уклањање невезаног материјала, а затим је додато по 100  $\mu\text{l}$  анти-хуманог IgG и IgA за који је везан коњугован ензим (анти-хумани IgG и IgA поликлонски антисерум козе коњугован са алкалном фосфатазом), који реагује са имунским комплексом у току инкубације од 30 мин на  $37^{\circ}\text{C}$  у влажној комори. Након уклањања вишка коњугата испирањем (4x300  $\mu\text{l}$ ), додат је одговарајући супстрат (пара-нитро-фенил-фосфат) у количини од 100  $\mu\text{l}$ , са којим у току инкубације од 30 мин на  $37^{\circ}\text{C}$  у влажној комори, реагује коњугат ензима и производи обојени дериват супстрата. На

крају, додато је 100  $\mu$ l раствора (натријум хидроксид) за заустављање реакције, којом се добија жута боја. Интензитет боје био је пропорционалан нивоу везивања специфичних антитела и одређиван је фотометријски. Оптичка густина очитавана је на 405nm са референтном таласном дужином од 620nm.

Серумске концентрације специфичних анти-RSV антитела израчунате су на основу вредности оптичких густина, 4PL методом (*Single-point quantification using the 4PL method*) уз помоћ софтверског програма *SERION easy base 4PL-Softwarey evaluate*.

Према упутству произвођача, *cut off* вредности за анти-RSV IgG и IgA биле су следеће: за позитиван резултат  $>15$  U/ml; за гранични резултат 10-15U/ml; за негативан резултат  $<10$  U/ml. У случају добијања граничне вредности анализа је понављана. За анти-RSV IgG, два гранична резултата су била критеријум за искључивање детета из истраживања (због постојања могућности трансплацентарног преношења антитела), па је IgG серопозитивност дефинисана искључиво концентрацијом  $\geq 15$  U/ml. За анти-RSV IgA, са обзиром да наведене *cut off* вредности произвођача нису дефинисане за дечији узраст (а услед незрелог IgA хуморалног имунског одговора одојчета) (Fujihashi и сар., 2013), у овом истраживању су се позитивним сматрали и гранични налази, па је IgA серопозитивност дефинисана концентрацијом  $\geq 10$  U/ml.

### 3.2. Утврђивање постојања болести дисајних путева

Присуство болести дисајних путева код деце пре укључивања у истраживање, утврђено је на основу дијагноза по Међународној класификацији болести (МКБ) у бази података Дома здравља у Крагујевцу (таб. бр. 1 у пр. бр. 1.).

Методологија уноса података у Дому здравља подразумева уношење болести горњих дисајних путева према терапијским захтевима по следећем обрасцу: Н10- запаљење вежњаче ока (*Conjunctivitis*); J00 акутно запаљење носног дела ждрела (*Nasopharyngitis acuta*)< J02 акутно запаљење ждрела (*Pharyngitis acuta*)< J03 акутно запаљење крајника (*Tonsillitis acuta*)< J04 акутно запаљење душника (*Laryngitis acuta et tracheitis acuta*). Н65 - негнојно запаљење средњег ува (*Otitis media non suppurativa*) и J30 - вазомоторна и алергијска кијавица (*Rhinitis vasomotoria et rhinitis allergica*) су дијгностиковане на специјалистичком оториноларинголошком (ОРЛ) прегледу. Под рецидивантним болестима горњих дисајних путева подразумевали смо постојање три и више првих куративних прегледа у Дому здравља.

Болести доњих дисајних путева подељене су на болести бронхија (акутне и хроничне) и болести плућа. У групу деце са акутним бронхијалним болестима сврстана су деца која су имала дијагнозу J20–акутни бронхитис (*Bronchitis acuta*) и J21–акутни бронхиолитис (*Bronchiolitis acuta*). У групу деце са хроничним бронхијалним болестима сврстана су деца са дијагнозама J44.9-хронична обструктивна болест плућа (*Morbus pulmonis obstructivus chronicus alius*) и J45-астма (*Asthma bronchiale*). У групу деце са упалама плућа сврстана су деца са дијагнозама J12-18–вирусне, бактеријске и неклассификоване упале плућа (*Pneumonia viralis, bacterialis, alios et non specificatus*).

Хиперреактивност бронхијалног стабла (БХР) је дефинисана као постојање хроничне бронхијалне болести (J44 или J45) и/или три и више првих куративних прегледа под дијагнозом акутне бронхијалне болести (J20 или J21).

Под критеријумима за астма предвиђајући индекс (АПИ) сматрали смо: екцем/атопијски дерматитис детета, постојање астме у породици и сензибилизацију на било који алерген – *Phadiatop infant* позитиван тест.

### 3.3. Утврђивање атопије

Постојање атопије утврђено је детекцијом серумских специфичних IgE квантитативним вишеструким *Phadiatop infant* и изражен је као концентрација специфичних јединица алергена у јединици запремине (concentration of Allergen specific Units, kUA/L) (cut off  $\geq 0,35$  kUA/L). Алергени, на које се *Phadiatop infant* – тестом утврђује присуство специфичних IgE су протеини: беланца, крављег млека, кикирикија, рачића, длаке мачке и пса, гриње, полена сребрне брезе, мачијег репка, амброзије и коприве (Halvorsen и сар., 2009). *Phadiatop infant* тест је рађен *in vitro* имуофлуоресцентном техником (Fluorescent Immunassay) на Immunocap-100 апарату (Phadia AB, Uppsala, Sweden). Истом техником су одређене и серумске концентрације укупних IgE (total, tIgE). Референтне вредности за tIgE по узрасту према упутству произвођача за систем Immunocap 100 (Phadia AB, Uppsala, Sweden) су:  $\leq 7,3$  kU/L за узраст 6 месеци,  $\leq 10$  kU/L за узраст 9 месеци,  $\leq 13$  kU/L за узраст 12 месеци,  $\leq 23$  kU/L за узраст 24 месеца.

У групу деце са атопијом су сврстана деца са позитивним *Phadiatop infant*-тестом, тј. деца код којих је утврђена серумска концентрација специфичних IgE  $\geq 0,35$  kUA/L. У групу деце без атопије су сврстана деца код којих специфична IgE антитела у серуму нису доказана, односно код којих је *Phadiatop infant*-тест био негативан.

### 3.4 Испитивање фактора ризика

Анкетним упитником (прилог бр.1.) добијени су подаци о испитиваним индивидуалним, социо-демографским обележјима и карактеристике стања здравља детета.

Испитиване индивидуалне и социодемографске карактеристике су обухватале: пол (0=мушки; 1=женски), узраст (0=5-6 месеци; 1=7-9 месеци; 2=10-12 месеци; 3=13-18 месеци; 4=19-24 месеца), ток трудноће (0=нормална; 1=одржавана), начин порођаја (0=природним путем, 1=царским резом), телесну масу (ТМ) на рођењу (0=<3000g; 1=3001-3749g; 2= $\geq$ 3750g), годишње доба рођења детета 0=пролеће (март, април, мај), 1=лето (јун, јул, август), 2=јесен (септембар, октобар, новембар), 3=зима (децембар, јануар, фебруар), начин исхране у тренутку испитивања (0=дојено; 1=није дојено), дужину дојења код деце која нису на природној исхрани у тренутку испитивања (0=није дојено; 1=дојено 1-2,5 месеца; 2=дојено 3-5,5 месеци; 3=дојено 6 и више месеци), место живљења (0=град; 1=село). Телесна маса на рођењу је подељена у категорије на основу вредности 25-ог и 75-ог перцентила. Подаци су добијени анкетирањем родитеља/старатеља (пр. бр. 1.).

### 3.5. Статистичке методе

#### 3.5.1 Варијабле мерене у студији

Болести дисајних путева које су дијагностиковане у Дому здравља од стране педијатра (пр. бр. 1.) у периоду од рођења до најмање три недеље пре истраживања, приказане су номиналним варијаблама (0=нема, 1=има) и ординалним варијаблама које су дефинисане бројем првих куративних прегледа у Дому здравља (0=нема, 1=1-2 пута, 2= $\geq$ 3 пута), при чему контролни прегледи нису узимани у обзир. Акутне болести доњих дисајних путева (J20 и J21) сумиране су у заједничку номиналну и ординалну варијаблу. Дијагнозе које су указивале на постојање хроничног тока (J44 и J45) сумиране су у заједничку номиналну варијаблу. Бактеријске, вирусне и упале плућа непознатог узрочника сврстане су у једну заједничку варијаблу „упала плућа“. Хиперреактивност бронхијалног стабла приказана је номиналном варијаблом (0=нема, 1=има) и ординалном варијаблом (0=нема; 1=само  $\geq$  J20,J21; 2=само J44,J45; 3= $\geq$ 3 J20,J21+J44,J45).

Одређивање серумских концентрација tIgE и утврђивање атопије вршени су током самог истраживања. Прављење категорија за tIgE засновано је на основу вредности 25-ог и 75-ог перцентила. Подаци о постојању алергијских болести у виду номиналних варијабли (0=нема, 1=има) обухватили су: алергијску болест у ужој породици (мајка, отац, браћа, сестре), у широј породици (бабе, деде, стричеви, ујаци, тетке), постојање астме у породици, постојање алергијског ринитиса у породици, алергијска болест мајке и алергијска болест оца.

Проблематичне варијабле настале су због недостатка података у анкети или неусаглашених података између анкете и педијатријског картона. За ток трудноће и начин порођаја истраживање је обухватило 113, за место живљења 139 испитаника, а за дувански дим само 38 испитаника.

### **3.5.2 Величина узорка**

Медијане серумских концентрација специфичних анти-RSV антитела у популацији деце узраста до две године израчунате су на узорку од 175 деце.

### **3.5.3 Статистичка обрада података**

За статистичку обраду добијених резултата коришћен је комерцијални програмски пакет *SPSS 13.0 for Windows*. Подаци о присуству анти-RSV антитела описани су дескриптивним статистичким параметрима ( $\bar{X}$ –средња вредност, SD–стандардна девијација, Md–медијана, n–број испитаника) и учесталосту RSV инфекције у категоријама индивидуалних, социо-демографских обележја, као обележја болести дисајних путева.

За испитивање разлике у учесталости зависне варијабле у односу на категоријске променљиве коришћен је  $\chi^2$  тест. Таблицом контингенција утврђена је разлика у учесталости између варијабли са више од две категорије (3x2,4x2...).

За утврђивање повезаности између варијабли коришћен је тест корелације (*Spearman*). За упоређивање концентрација серумских анти-RSV IgA и IgG између категорија наведених обележја коришћени су непараметријски тестови, Mann-Whitney U тест и Kruskal-Wallis тест. У приказивању резултата Mann-Whitney теста коришћене су следеће детерминанте:

- ❖ U – разлика суме ранкова,

- ❖  $z$  – резултат апроксимације са корекцијом веза између података,
- ❖  $p$  – ниво значајности,
- ❖  $r$  – јачина утицаја.

*ROC* (engl. *Receiver Operator Characteristic*, *ROC*) крива је употребљена да се види да ли концентрација серумских анти-RSV антитела може да буде маркер испољавања одерђене категорије испитиваног обележја код деце узраста до 2 године.

Логистичком регресијом утврђени су модели повезаности између зависне варијабле и сетова обележја као независних варијабли. У циљу утврђивања предсказујућих фактора за настанак RSV инфекције испитивана обележја смо издвојили на основу већ утврђеног утицаја у једнофакторској анализи и на основу повезаности обележја у факторској анализи.

Модел логистичке регресије је дефинисан вредностима:  $B$ –коэффициент вероватноће,  $SE$ –стандардна грешка,  $W$ –допринос променљиве,  $\text{Exp}(B)$ –количник вероватноће.

Статистичка значајност модела заснована је на разлици између модела у блоку 0 (очекивани резултати анализе без иједне независне променљиве од којих се модел састоји) и блока 1 (добити резултати анализе у коју су укључена испитивана обележја), а дефинисана је вредностима  $\chi^2 - c^2$  при одређеном броју степени слободе и броју случајева укључених у модел, као и  $p$ -нивом значајности.

Распон процента варијансе зависне променљиве, који објашњава модел логистичке регресије дефинисан је вредностима  $r^2$  по *Cox*, *Snell* и *Nagelkerke*. Резултат логистичке регресије приказан је вредностима односа вероватноће (*Odds Ratio*, *OR*) и интервалом поузданости (*Confidence Interval*, *CI*) за тачност тврдње од 95% (*CI* 95%).

Линеарном регресијом испитан је утицај независних променљивих на концентрацију серумских анти-RSV IgA и IgG. Значајност модела линеарне регресије дефинисана је вредностима  $F$  (вредност која дефинише одступање збирова квадрата резултата од њихове средње вредности при одређеном броју степени слободе и броју случајева укључених у модел), као и вредношћу  $p$  (нивом значајности).

Предсказујући фактори објашњени су вредностима:  $p$  (ниво значајности јединственог статистичког доприноса варијанси зависне променљиве) и  $r^2$  (процентом варијансе који је објашњен само тим фактором). Промена зависне варијабле израчуната је на основу коефицијента *beta* за континуирану независну варијаблу која има статистички значајан допринос варијанси. Коефицијент *beta* је стандардизовани

коефицијент који показује број стандардних одступања за које би се вредности зависне променљиве промениле да се предвиђајући фактор промени за једну јединицу стандардног одступања.

### 3.5.4 *Снага студије*

Снага студије је вероватноћа да се открије разлика између испитиваних група, која заиста постоји и израчуната је коришћењем статистичког програма *G\*Power3*.

*Снага студије за  $\chi^2$  тестове:*

- на узорку од 175 испитаника у којима је постигнута статистичка значајност са вероватноћом грешке ( $p$ ) $<0,05$  и умереном јачином везе испитиваних варијабли ( $w \geq 0,30$ ) снага студије износила је 97,8% за број степени слободе (df) 1 (учесталост атопије у односу на RSV инфекције, учесталост дијагноза респираторних болести у односу на RSV инфекцију); 95,3% за df 2 (учесталост RSV инфекције у односу на локализацију респираторних болести, учесталост RSV инфекције у односу на узрастне категорије);
- на узорку од 82 испитаника (учесталост болести доњих дисајних путева у односу на атопију или RSV инфекцију) у којима је постигнута статистичка значајност  $p < 0,05$  снага студије је износила:  $\geq 88,7\%$  за df 1 и  $w \geq 0,35$ ;
- на узорку од 46 испитаника (учесталост RSV инфекције у односу на болести дисајних путева, пол, природну исхрану итд.), у којима је постигнута статистичка значајност  $p < 0,05$  снага студије је износила:  $\geq 81\%$  за df 1 и  $w \geq 0,42$ , а 80,4% за df 2 и  $w \geq 0,46$  (RSV инфекција у односу на узрастне категорије);
- на узорку од 30 испитаника (учесталост атопије у односу на болести дисајних путева) у којима је постигнута статистичка значајност  $p < 0,05$  снага студије је износила:  $\geq 80,4\%$  за df 1 ( $w \geq 0,57$ );
- на узорку од 33 испитаника (учесталост БХР у односу на узраст, пол, природну исхрану итд.) у којима је постигнута статистичка значајност  $p < 0,05$  снага студије је износила:  $\geq 82\%$  за df 1 ( $w \geq 0,5$ );

*Снага студије за т-тестове (Mann-Whitney U тест)*

- Разлика у концентрацији tIgE између деце са RSV инфекцијом (n=46) и без RSV инфекције (n=129) у којима је постигнута статистичка значајност  $p < 0,05$  снага студије је  $\geq 83\%$  за јачину везе између варијабли за т-тестове ( $d \geq 0,43$ );
- Разлика у концентрацији tIgE између деце без атопије и без RSV инфекције (n=112) и деце без атопије са RSV инфекцијом (n=33) у којима је постигнута статистичка значајност  $p < 0,05$  снага студије је  $\geq 83,4\%$  за  $d \geq 0,5$ ;
- Разлика у концентрацији анти-RSV IgA између деце са атопијом без болести дисајних путева (n=5) и деце са атопијом и респираторним болестима (n=25), за  $p < 0,05$ , снага студије износила је  $\geq 70,7\%$  за јачину везе између варијабли за т-тестове ( $d \geq 0,89$ );
- Разлика у концентрацији анти-RSV IgG између деце са атопијом без болести доњих дисајних путева (n=15) и деце са атопијом и са болестима доњих дисајних путева (n=15), за  $p < 0,05$ , снага студије износила је  $\geq 80\%$  за јачину везе између варијабли за т-тестове ( $d \geq 0,75$ );
- Разлика у концентрацији анти-RSV IgA између деце без атопије са болестима горњих дисајних путева (n=61) и деце са атопијом и са болестима доњих дисајних путева (n=67), за  $p < 0,05$ , снага студије износила је  $\geq 90\%$  за јачину везе између варијабли за т-тестове ( $d \geq 0,5$ );
- Разлика у концентрацији tIgE између деце са болестима доњих дисајних путева која имају атопију (n=15) и немају атопију (n=67), за  $p < 0,05$ , снага студије износила је  $\geq 81\%$  за јачину везе између варијабли за т-тестове ( $d \geq 0,7$ );
- Разлике у концентрацијама tIgE, анти-RSV IgA и IgG у групи деце са БХР која имају атопију (n=9) и деце са БХР која немају атопију (n=28) за  $p < 0,05$ , снага студије износила је  $\geq 81\%$  за јачину везе између варијабли за т-тестове ( $d \geq 0,8$ );

*Снага студије за z тестове:*

1) корелације

- на узорку од 175 испитаника у којима је постигнута статистичка значајност повезаности серумских концентрација специфичних анти-RSV антитела и tIgE  $p < 0,05$ , снага студије је износила  $\geq 80,4\%$  (јачина везе између варијабли за z-тестове ( $q \geq 0,27$ )); на узорку од 145 (деца без атопије)  $\geq 81,1\%$  за  $q \geq 0,3$ ; на



узорку 30 (деца са атопијом)  $\geq 82,3\%$  за  $q \geq 0,7$ ; на узорку 46 (деца са RSV инфекцијом)  $\geq 80,4\%$  за  $q \geq 0,54$ ;

2) логистичке регресије

- на узорку од 175 деце у којима је постигнута статистичка значајност  $p < 0,05$  при дефинисању предвиђајућих фактора за испољавање БХР као што је пол са  $OR=3,4$  снага студије је  $95,5\%$ ;
- На узорку од 46 деце са RSV инфекцијом у којима је постигнута статистичка значајност  $p < 0,05$  при дефинисању предвиђајућих фактора за испољавање БХР као што је атопија са  $OR=5,7$  снага студије је  $69\%$ , а за ларингитис са  $OR=5,7$  снага студије је  $98,7\%$ ;
- на узорку од 129 деце без RSV инфекције у којима је постигнута статистичка значајност  $p < 0,05$  при дефинисању предвиђајућих фактора за испољавање БХР за обележја са  $OR \geq 3,0$  снага студије је  $80\%$  (пол са  $OR=6,3$  са снагом студије  $99,7\%$ , упала ува  $OR=0,15$  снага студије  $78,4\%$ ; категорије узраста  $OR=2,4$  снага студије је  $98,7\%$ );
- на узорку од 30 деце са атопијом у којима је постигнута статистичка значајност  $p < 0,05$  при дефинисању предвиђајућих фактора за испољавање БХР као што је анти-RSV IgA  $\geq 2,86$  U/ml са  $OR=17,6$  снага студије је  $88,5\%$ , а за категорије узраста са  $OR=6,7$  снага студије је  $77\%$ ;
- на узорку од 145 деце без атопије у којима је постигнута статистичка значајност  $p < 0,05$  при дефинисању предвиђајућих фактора за испољавање БХР за обележја са  $OR \geq 3,0$  снага студије је  $84\%$  (пол  $OR=5,8$ ; анти-RSV IgA  $\geq 2,2$  U/ml са  $OR=3,2$ ; ринитис са  $OR=3,3$ ).

## 4. РЕЗУЛТАТИ

### 4.1. Утврђивање карактеристика RSV инфекције код деце узраста до две године у односу на атопију

Индивидуалне карактеристике испитиване групе деце са учесталошћу RSV инфекције и атопије приказане су у табели 4.1.

**Табела 4.1. Карактеристике испитиване групе деце са учесталошћу RSV инфекције и атопије**

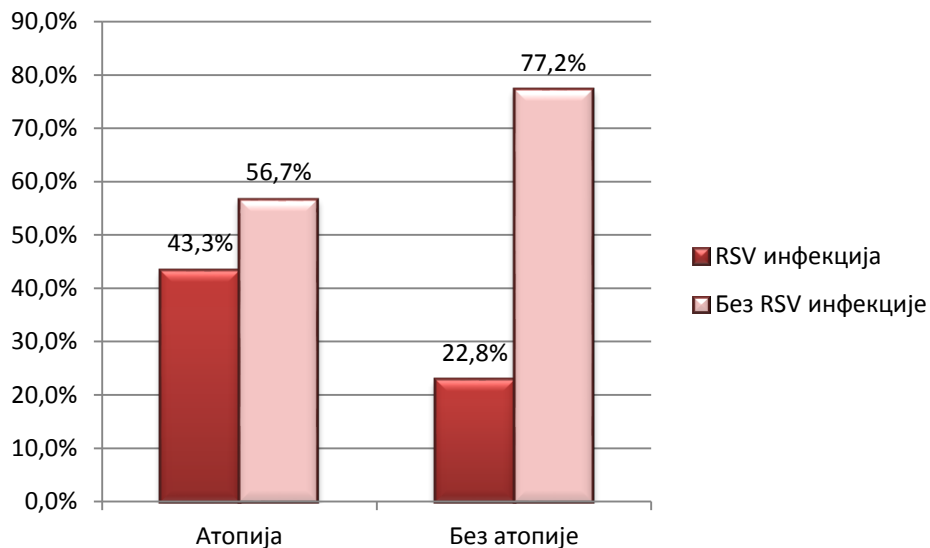
Обележје	Категорије обележја	Укупно n=175 n у кат (%)	RSV инфекција % (n RSV поз./n у кат)	<i>p</i>	Атопија % (n атопија/ n у кат)	<i>p</i>
Узраст (месеци)	5-6	59 (33,7)	20,3 (12/59)	<b>0,000</b>	11,9 (7/59)	<i>p</i> =0,163
	7-12	74 (42,3)	14,9 (11/74)		16,2 (12/74)	
	13-24	42 (24,0)	54,8 (23/42)		26,2 (11/42)	
Пол	Мушки	101 (57,7)	27,7 (28/101)	0,614	18,8 (19/101)	<i>p</i> =0,494
	Женски	74 (42,3)	24,3 (18/74)		14,9 (11/74)	
Природна исхрана	Није дојено	114 (65,1)	28,1 (32/114)	0,463	15,8 (18/114)	<i>p</i> =0,516
	Дојено	61 (34,1)	23 (14/61)		19,7 (12/61)	
Годишње доба рођења	Пролеће	39 (22,3)	38,5 (15/39)	<b>0,059</b>	25,6 (10/39)	<i>p</i> =0,162
	Лето	40 (22,9)	32,5 (13/40)		12,5 (5/40)	
	Јесен	59 (33,7)	22 (13/59)		20,3 (12/59)	
	Зима	37 (21,1)	13,5 (5/37)		8,1 (3/37)	

RSV, респираторни синцицијални вирус; *p*, ниво значајности; n, број случајева; кат, категорија.

#### 4.1.1 Резултати учесталости RSV инфекције у односу на атопију

У испитиваној групи деце узраста до 2 године (n=175) утврђено је присуство анти-RSV антитела код 46 деце (26,3%, n=46/175), док је код 30 деце утврђено постојање атопије (17,1%, n=30/175). Истовремено, RSV инфекцију и атопију у целој испитиваној групи је имало 13 деце (7,4%, n=13/175).

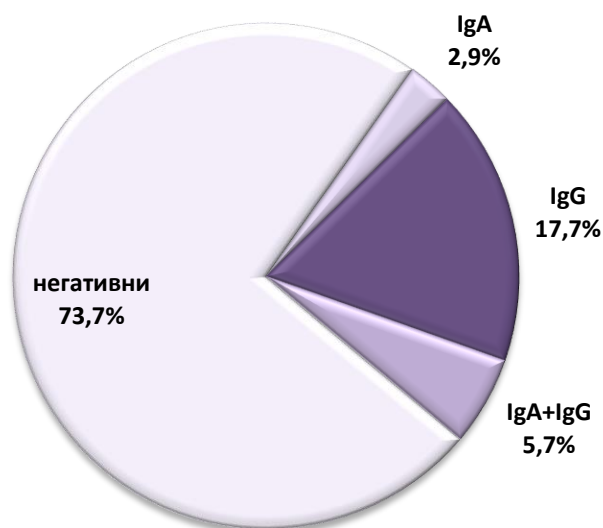
Деца са атопијом су чешће имала позитиван налаз анти-RSV антитела (43,3%, n=13/17) у односу на децу без атопије (22,8%, n=33/145), *p*=0,020 (граф. 4.1.).



RSV, респираторни синцицијални вирус.

**Графикон 4.1. Учесталост RSV инфекције у односу на атопију**

У групи деце са RSV инфекцијом најчешће је утврђено присуство позитивних налаза анти-RSV IgG (67,4%, n=31/46), затим комбинација IgA+IgG (21,7%, n=10/46), а најређе присуство само IgA (10,9%, n=5/46). Учесталост позитивних налаза анти-RSV антитела према изотипу имуноглобулина у целој испитиваној групи, приказан је на графикону 4.2.

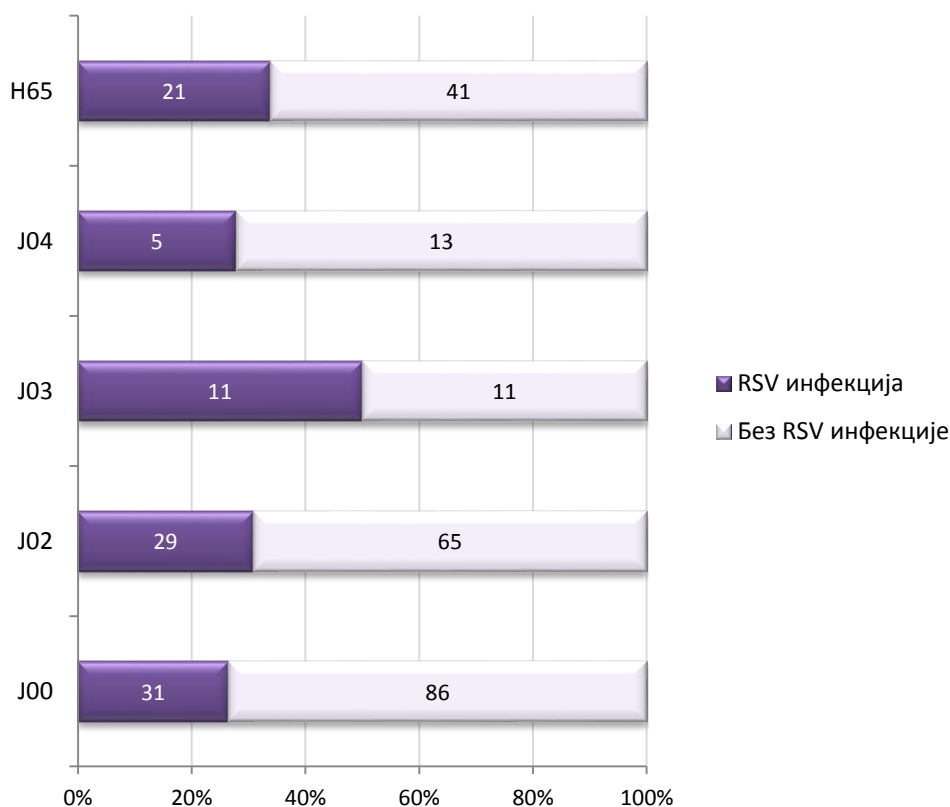


IgA, имуноглобулин А; IgG, имуноглобулин Г.

**Графикон 4.2. Учесталост позитивних налаза анти-RSV антитела у целој испитиваној групи**

#### 4.1.2 Резултати поређења клиничких манифестација RSV инфекције у односу на атопију

Деца која су испољила респираторну болест (n=153) су имала просечно 4,2 прва педијатријска прегледа због болести горњих дисајних путева, а у просеку свако дете је имало 2,2 дијагнозе. Анализа учесталости RSV инфекције код деце са дијагнозом болести горњих дисајних путева приказана је на графикону 4.3.

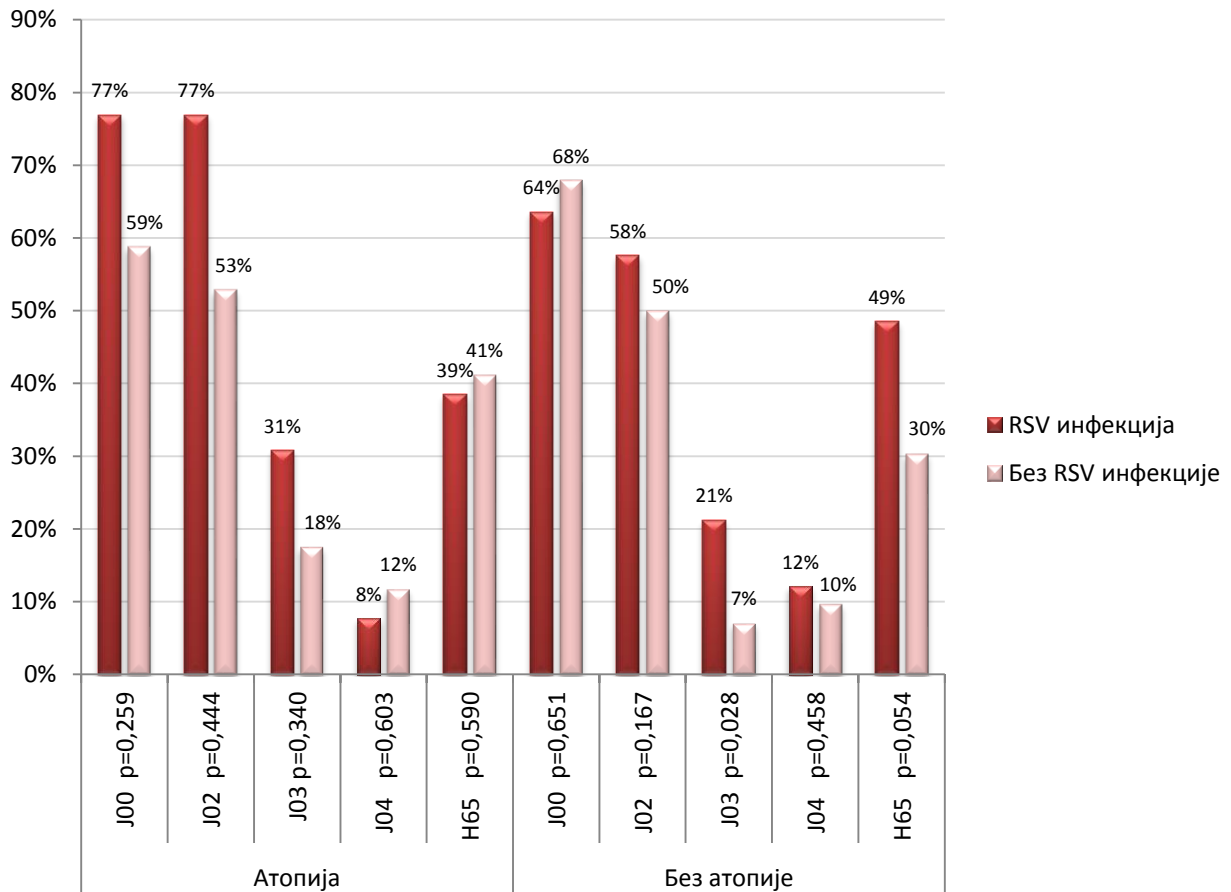


H65, негнојно запаљење средњег ува; J04, акутно запаљење душника; J03, акутно запаљење крајника; J02, акутно запаљење ждрела; J00, акутно запаљење носног дела ждрела; RSV, респираторни синцицијални вирус.

#### Графикон 4.3. Учесталост RSV инфекције код деце са дијагнозом болести горњих дисајних путева

Није утврђена већа учесталост дијагноза болести горњих дисајних путева код деце са атопијом у односу на децу без атопије ни у групи деце са RSV инфекцијом (J00 77% vs. 64%; J02 77% vs. 58%; J03 31% vs. 21%; J04 8% vs. 12%, H65 39% vs. 49%), ни у групи деце без RSV инфекције (J00 68% vs. 59%; J02 53% vs. 50%; J03 18% vs. 7%; J04 12% vs. 10%, H65 41% vs. 30%).

У групи деце без атопије RSV инфекција је чешће утврђена код деце која су имала тонзилитис и отитис (граф. 4.4.).



J00, акутно запаљење носног дела ждрела; J02, акутно запаљење ждрела; J03, акутно запаљење крајника; J04, акутно запаљење душника; H65, негнојно запаљење средњег ува; RSV, респираторни синцицијални вирус.

#### Графикон 4.4. Учесталост RSV инфекције у болестима горњих дисајних путева у групи деце са атопијом и без атопије

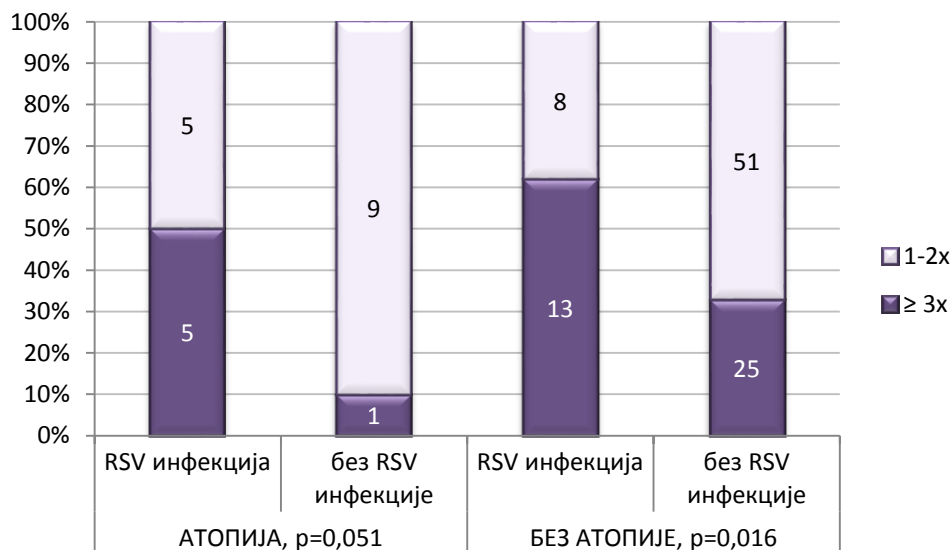
Код деце са RSV инфекцијом рецидивирање ринитиса, фарингитиса и отитиса је било чешће у односу на децу без RSV инфекције (таб. 4.2.).

**Табела 4.2. Учесталост рецидивирања болести горњих дисајних путева у односу на RSV инфекцију**

RSV	Број болести	Болести горњих дисајних путева; n(%)				
		J00	J02	J03	J04	H65
RSV инфекција	1-2x	13 (41,9)	17 (58,6)	11 (100)	5 (100)	14 (66,7)
	≥ 3x	18 (58,1)	12 (41,4)	0 (0)	0 (0)	7 (33,3)
	укупно	31	29	11	5	21
Без RSV инфекције	1-2x	60 (69,8)	50 (76,9)	11 (100)	13 (100)	35 (85,4)
	≥ 3x	26 (30,2)	15 (23,1)	0 (0)	0 (0)	6 (14,6)
	укупно	86	65	11	13	41
<i>p</i>		<i>p=0,006</i>	<i>p=0,060</i>			<i>p=0,085</i>

J00, акутно запаљење носног дела ждрела; J02, акутно запаљење ждрела; J03, акутно запаљење крајника; J04, акутно запаљење душника; H65, негнојно запаљење средњег ува; RSV, респираторни синцицијални вирус; *p*, ниво значајности; *n*, број случајева.

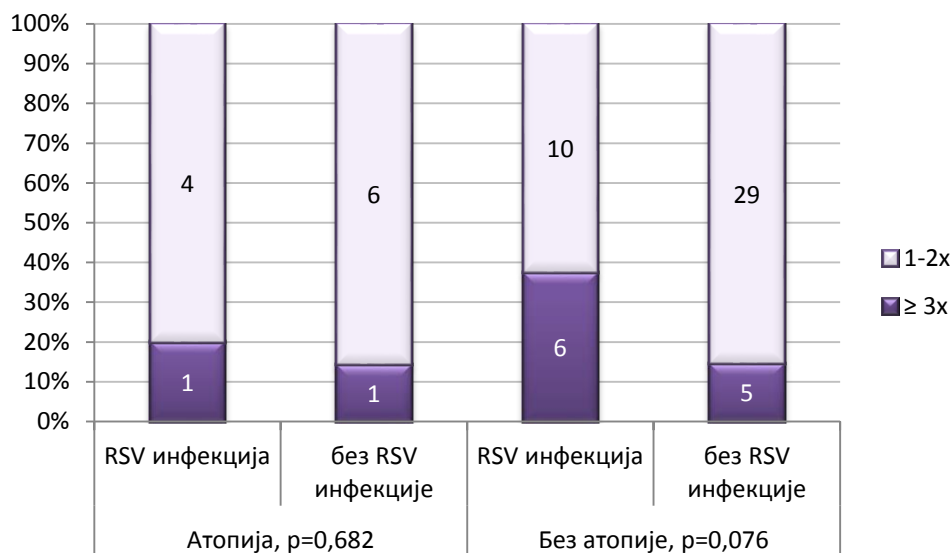
Деца која су имала позитиван налаз анти-RSV антитела чешће су имала рецидивантне ринитисе и у групи atopичара и у групи деце без atopије (граф. 4.5.).



1-2x, деца која су 1-2 пута имала ринитис; ≥3x, деца која су 3 и више пута имала ринитис; *p*, ниво значајности; RSV, респираторни синцицијални вирус.

**Графикон 4.5. Учесталост рецидивантних ринитиса у односу на RSV инфекцију у групи деце са atopијом и без atopије**

Анализом рецидивантног отитиса у односу на RSV инфекцију уочено је да се у групи деце без атопије рецидивантни отитис чешће јављао код деце која су имала позитиван налаз анти-RSV антитела, док то није био случај у групи деце са атопијом (граф. 4.6.).



1-2x, деца која су 1-2 пута имала отитис;  $\geq 3x$ , деца која су 3 и више пута имала отитис; RSV, респираторни синцицијални вирус;  $p$ , ниво значајности.

#### Графикон 4.6. Учесталост рецидивантних отитиса у односу на RSV инфекцију у групи деце са атопијом и без атопије

Дијагнозе болести горњих дисајних путева (без податка о постојању болести доњих дисајних путева) утврђене су код 40,6% деце ( $n=71/175$ ), од којих је 18,3% ( $n=13/71$ ) имало позитиван налаз анти-RSV антитела.

Деца која су имала податак о постојању болести доњих дисајних путева чинила су 46,9% испитиване групе деце ( $n=82/175$ ), а од њих РСВ инфекцију имало је 31,7% ( $n=26/82$ ).

У групи деце која су испољила болести респираторног система ( $n=153$ ) позитиван налаз анти-RSV антитела је чешће био утврђен код деце са болестима доњих дисајних путева (31,7%,  $n=26/82$ ) у односу на децу са испољеним само болестима горњих дисајних путева (18,3%,  $n=13/71$ ),  $p=0,058$ .

Учесталост појединих болести горњих дисајних путева и њихових рецидива у односу на постојање болести доњих дисајних путева приказане су у табели 4.3.

**Табела 4.3. Учесталост појединих болести горњих дисајних путева и њихових рецидива у односу на постојање болести доњих дисајних путева**

Болести горњих дисајних путева	Категорије болести	Укупно n 175(%)	Само бол. ГОРЊИХ дис. путева, n(%)	Са бол. ДОЊИХ дис. путева, n (%)	p
Акутно запаљење носног дела ждрела – J00	Нема	58 (33,1)			p=0,012
	Има	117 (66,9)	52/117 (44,4)	65/117 (55,6)	
	1-2 пута	73 (41,7)	39/73 (53,4)	34/73 (46,6)	
	≥ 3 пута	44 (25,1)	13/44 (29,5)	31/44 (70,5)	
Акутно запаљење ждрела- J02	Нема	81 (46,3)			p=0,083
	Има	94 (53,7)	40/94 (42,6)	54/94 (57,4)	
	1-2 пута	67 (38,3)	32/67 (47,8)	35/67 (52,2)	
	≥ 3 пута	27 (15,4)	8/27 (29,6)	19/27 (70,4)	
Акутно запаљење крајника – J03	Нема	153 (87,4)			
	Има	22 (12,6)	8/22 (36,4)	14/22 (63,6)	
	1-2 пута	22 (12,6)			
	≥ 3 пута	0 (0)			
Акутно запаљење душника J04	Нема	157 (89,7)			
	Има	18 (10,3)	7/18 (38,9)	11/18 (61,1)	
	1-2 пута	18 (10,3)			
	≥ 3 пута	0 (0)			
Негнојно запаљење средњег ува – H65	Нема	113 (64,6)			p=0,065
	Има	62 (35,4)	33/62 (53,2)	29/62 (46,8)	
	1-2 пута	49 (28,0)	29/49 (52,2)	20/49 (40,8)	
	≥ 3 пута	13 (7,4)	4/13 (30,8)	9/13 (69,2)	

1-2х, деца која су 1-2 пута имала болест горњих дисајних путева; ≥3х, деца која су 3 и више пута имала болест горњих дисајних путева; p, ниво значајности; n, број случајева.

Просечни узраст у коме је дошло до испољавања прве болести доњих дисајних путева био је шест месеци. Просечан број болести доњих дисајних путева био је већи код деце са атопијом у односу на децу без атопије (Md=3 пута vs. Md=2 пута), p=0,081. Просечно време које је протекло од постављања дијагноза болести доњих дисајних путева до тренутка извођења студије било је два месеца (код деце са атопијом 1 месец, n=15; код деце без атопије 2 месеца, n=67).

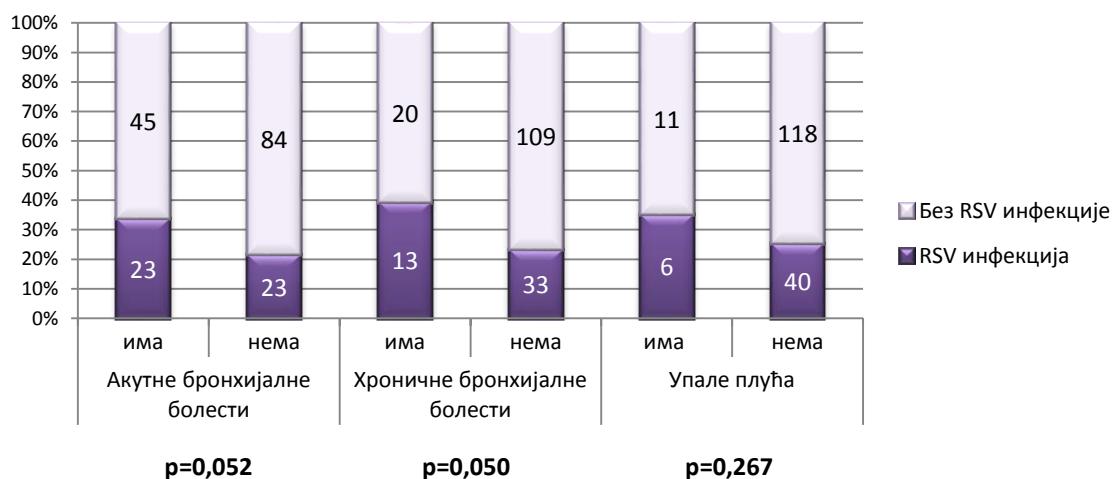
Код 82 детета код којих је постојала испољена болест доњих дисајних путева утврђено је 118 дијагноза од стране педијатра (дијагнозе J20 – *Bronchitis acuta*, J21 – *Bronchiolitis acuta*, J44.9 - *Morbus pulmonis obstructivus chronicus alius*, J45 - *Asthma bronchiale*, J12-18 – *Pneumonia viralis, bacterialis, alios et non specificatus*). Већина деце



(59,8%, n=49/82) је имала једну дијагнозу болести доњих дисајних путева, 28% (n=23/82) две дијагнозе, 11% (n=9/82) три дијагнозе и 1,2% (n=1/82) деце, четири дијагнозе. Учесталост појединачних дијагноза акутних болести бронхија (J20 и/или J21) била је 38,86% (n=68/175), дијагноза хроничних болести бронхија (J44.9 и/или J45) била је 18,86% (n=33/175) и упала плућа 9,71% (n=17/175).

Од 46 деце са позитивним налазом анти-RSV антитела, податак о хоспитализацији услед болести доњих дисајних путева имало је 8,7% (n=4/46), док код остале деце тежина инфекције није захтевала стационарно лечење. Овај податак указује да је 2,3% деце хоспитализовано због RSV болести доњих дисајних путева у целој испитиваној групи.

Утврђена је статистички значајно већа учесталост RSV инфекције код деце која су имала дијагнозу акутних (n=68) и дијагнозу хроничних болести бронхија (n=33) у односу на децу без ових дијагноза, што није био случај у групи деце која су имала упалу плућа (n=17) (граф. 4.7.).



RSV, респираторни синцицијални вирус; *p*, ниво значајности.

#### Графикон 4.7. Учесталост RSV инфекције у односу на различите болести доњих дисајних путева

Није било статистички значајне разлике у учесталости атопије у групи деце са болестима доњих дисајних путева у односу на децу без ових болести (18,3%, n=15/82 vs. 16,1%, n=15/93, p=0,705). Није било статистички значајне разлике у учесталости акутних бронхијалних болести између деце са атопијом и без атопије (36,7%, n=11/30 vs. 39,3%, n=57/145, p=0,787), али су хроничне бронхијалне болести биле чешће код деце са атопијом (30%, n=9/30 vs. 16,6%, n=21/145, p=0,087) као и упале плућа (23,3%, n=7/30 vs. 6,9%, n=10/145, p=0,012).

Забележена је већа учесталост RSV инфекције код деце са атопијом у односу на децу без атопије у групама испитаника који су имали дијагнозе акутних бронхијалних болести (54,5% vs. 29,8%) и у групи испитаника који су имали дијагнозу хроничних бронхијалних болести (77,8% vs. 25%), док у групи деце са упалама плућа то није био случај (42,9% vs. 30%) (граф. 4.8).



RSV, респираторни синцицијални вирус;  $p$ , ниво значајности.

**Графикон 4.8. Учесталост RSV инфекције у односу на атопију код деце са дијагнозом болести доњих дисајних путева**

У групи деце која су имала позитиван налаз анти-RSV антитела ( $n=46$ ), утврђена је већа учесталост хроничних болести бронхија код деце са атопијом (53,8%,  $n=7/13$ ) у односу на децу без атопије (18,2%,  $n=6/33$ ,  $p=0,022$ ). Између деце са атопијом и РСВ инфекцијом и деце без атопије са РСВ инфекцијом није утврђена статистички значајна разлика у испољавању акутних бронхијалних болести (46,2%  $n=6/13$  vs. 51,5%  $n=17/33$   $p=0,743$ ) и упале плућа (23,1%,  $n=3/13$  vs. 9,1%  $n=3/33$   $p=0,212$ ). У групи деце без RSV инфекције ( $n=129$ ) утврђена је већа учесталост упале плућа код деце са атопијом (23,5%  $n=4/17$ ) у односу на децу без атопије (6,3%  $n=7/112$   $p=0,039$ ), док то није био случај за акутне бронхијалне болести (29,4%  $n=5/17$  vs. 35,7%  $n=40/112$ ,  $p=0,611$ ) и за хроничне бронхијалне болести (11,8%  $n=2/17$  vs. 16,1%  $n=18/112$ ,  $p=0,487$ ).

#### 4.1.3 Резултати анализе хуморалног имунског одговора према RSV инфекцији у односу на локализацију респираторних болести и атопију

Због великог броја могућих комбинација дијагноза болести дисајних путева, анализа хуморалног имунског одговора према RSV извршена је по категоријама: 0=без болести, 1=само са болестима горњих дисајних путева, 2=са болестима доњих дисајних путева (таб. 4.4.).

**Табела 4.4. Учесталост присуства анти-RSV антитела у односу на постојање и локализацију болести дисајних путева**

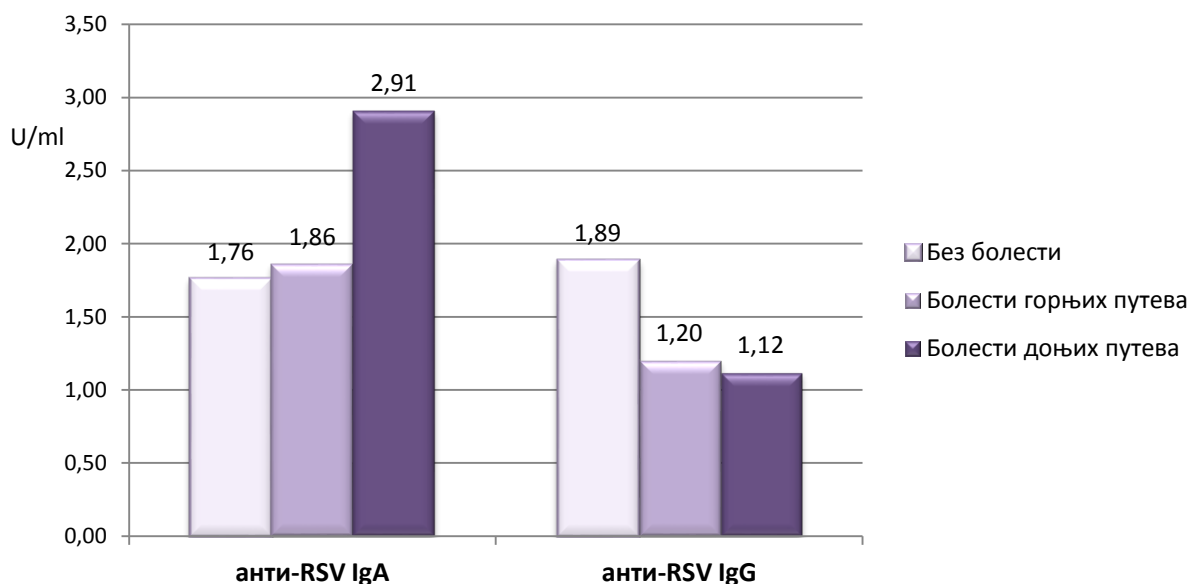
Обележје	Број (%)	Локализација болести дисајних путева		
		Број (%)		
		Без болести	Горњи дисајни путеви	Доњи дисајни путеви
Поз. налаз анти-RSV антитела	46 (26,3)	7 (31,8)	13 (18,3)	26 (31,7)
Без RSV антитела	129 (73,7)	15 (68,2)	58 (81,7)	56 (68,3)
Укупно	175 (100)	22 (100)	71 (100)	82 (100)

RSV, респираторни синцицијални вирус.

Анализом учесталости симптома болести респираторног система код деце узраста до две године утврђено је да 12,6% деце ( $n=22/175$ ) није испољавало симптоме болести дисајних путева. Од наведених испитаника, 31,8% деце је имало позитиван налаз анти-RSV антитела, што је чинило 4% деце у испитиваној популацији ( $n=7/175$ ). Ову групу, чинила су деца код којих је утврђен налаз само анти-RSV IgG (100%,  $n=7/7$ ), која су била узраста 5-6 месеци (100%,  $n=7/7$ ) и која су била на природној исхрани 71,4% ( $n=5/7$ ).

Анализом концентрација специфичних анти-RSV антитела између категорија локализације болести (0=без респираторне болести; 1=болест горњих дисајних путева; 2=болест доњих дисајних путева) утврђена је статистички значајна разлика у серумским концентрацијама IgA (*Kruskal Wallis test* -  $c_2(2,175)=10,38$ ,  $p=0,006$ ), при чему је највиша концентрација измерена у групи деце која су имала податак о постојању болести доњих дисајних путева (граф. 4.9.).

Серумске концентрације анти-RSV IgG нису се статистички значајно разликовале између наведених категорија ( $p=0,226$ ). Медијане серумских концентрација IgA и IgG у наведеним категоријама приказане су на графикону 4.9.



RSV; респираторни синцицијални вирус; IgA, имуноглобулин А; IgG, имуноглобулин Г.

**Графикон 4.9. Медијане серумских концентрација анти-RSV антитела у односу на болести дисајних путева**

Позитиван налаз анти-RSV антитела је чешће утврђен код деце која су имала атопију у односу на децу без атопије и у групи деце која су имала само болести горњих дисајних путева и у групи деце са болестима доњих дисајних путева (таб. 4.5.).

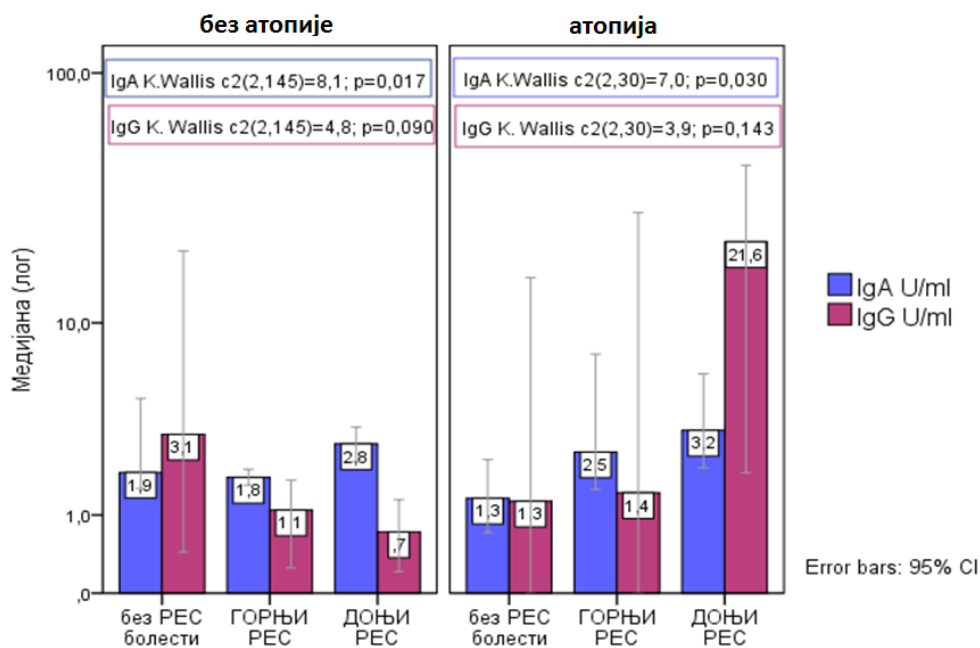
**Табела 4.5. Учесталост присуства анти-RSV антитела код деце са болестима дисајних путева у односу на атопију**

Болест	Без болести дисајних путева		Болести горњих дисајних путева		Болести доњих дисајних путева	
	Атопија	Без атопије	Атопија	Без атопије	Атопија	Без атопије
Укупно	5 (100%)	17 (100%)	10 (100%)	61 (100%)	15 (100%)	67 (100%)
Поз. налаз анти-RSV антитела	1 (20%)	6 (35,3%)	4 (40%)	9 (14,8%)	8 (53,3%)	18 (26,9%)
Без RSV антитела	4 (80%)	11 (64,7%)	6 (60%)	52 (85,2%)	7 (46,7%)	49 (73,1%)
$\chi^2$ тест - <i>p</i>	0,477		0,077		0,046	

*p*, ниво значајности; RSV, респираторни синцицијални вирус.

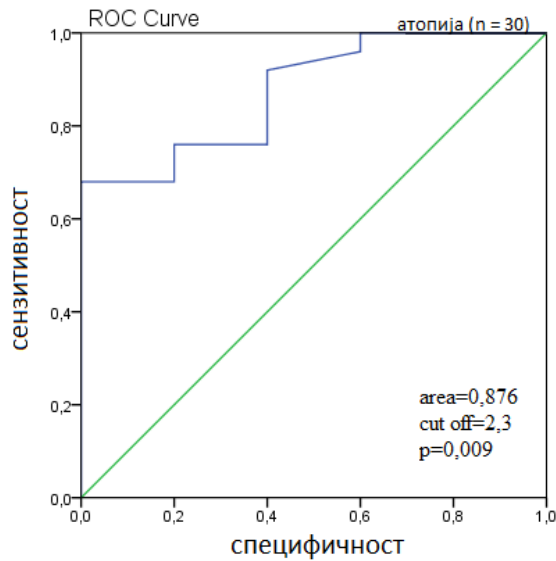
Анализа серумских концентрација специфичних имуноглобулина према RSV у односу на болести дисајних путева (граф. 4.10.) показала је да у групи деце са атопијом

( $n=30$ ) постоји статистички значајно виша концентрација анти-RSV IgA код деце са болестима само горњих дисајних путева у односу на децу без испољених болести респираторног система (Mann Whitney  $U=7,0$ ;  $z=2,2$ ,  $p=0,027$ ). Није било статистички значајне разлике у серумској концентрацији анти-RSV IgA између деце са атопијом и болестима горњих ( $n=10$ ) и доњих дисајних путева ( $n=15$ ),  $p=0,677$ , па су сва деца са атопијом која су испољила било коју респираторну болест, груписана у једну категорију ( $10+15=25$ ). ROC крива је употребљена за израчунавање *cut off* вредности серумске концентрације анти-RSV IgA, за утврђивање специфичности и сензитивности овог маркера у серолошком дијагностиковању болести респираторног система код деце са атопијом. Према овим резултатима, концентрација анти-RSV IgA може бити маркер испољавања болести респираторног система код деце са атопијом узраста до 2 године ( $p=0,009$ ) за *cut off*  $\geq 2,3$  U/ml, са специфичношћу од 100% и сензитивношћу од 68% (граф. 4.11., таб. 4.6.).



Горњи Рес, болести горњих респираторних путева; Доњи Рес, болести доњих респираторних путева; CI 95%, интервал поузданости; лог, логаритам;  $c^2$  број степени слободe; IgA, имуноглобулин А; IgG, имуноглобулин Г;  $p$ , ниво значајности.

**Графикон 4.10. Серумске концентрације анти-RSV IgA и IgG у односу на болести дисајних путева код деце са атопијом и без атопије**



p, ниво значајности.

**Графикон 4.11. ROC крива сензитивности и специфичности серумске концентрације анти-RSV IgA као маркер испољавања болести респираторног тракта код деце са атопијом**

Серумске концентрације анти-RSV IgG су у групи деце са атопијом биле највише код деце која су испољила болести доњих дисајних путева (Md=21,6 U/ml, n=15) и статистички значајно виша концентрација утврђена је уколико се поређење изврши са групом коју су чинила деца без респираторних симптома и групом деце која су испољила болести горњих дисајних путева (Md=1,26 U/ml, n=15) (Mann W. U=67, z=1,9, p=0,059). Серумске концентрације анти-RSV IgG могу бити маркер испољавања болести доњих дисајних путева код деце са атопијом за cut off  $\geq 20,4$  U/ml, када сензитивност теста износи 53,3%, а специфичност 86,7% (area=0,702, p=0,059) (таб. 4.6.).

За разлику од деце са атопијом, у групи деце без атопије (n=145) није било статистички значајне разлике у серумској концентрацији анти-RSV IgA између деце која нису имала респираторне болести (n=17) и деце која су имала болести горњих дисајних путева (n=61), p=0,490. Међутим, у групи деце без атопије, утврђена је разлика у серумској концентрацији анти-RSV IgA између деце која су имала болести горњих дисајних путева и деце која су имала и болести доњих дисајних путева (n=67) (граф. 4.10., таб. 4.6.). Због тога анти-RSV IgA може бити маркер испољавања болести доњих дисајних путева код деце без атопије узраста до 2 године за cut off  $\geq 2,2$  U/ml са

специфичношћу од 73,1% и сензитивношћу од 62,7% (area 0,633,  $p=0,006$ ). Анализирањем повезаности серумске концентрације анти-RSV IgA и времена које је протекло од последње болести доњих дисајних путева, утврђено је да код деце са атопијом не постоји корелација ( $p=0,820$ ), док код деце без атопије постоји позитивна корелација ( $r=0,285$ ,  $p=0,020$ ).

**Табела 4.6. Cut off вредности серумских концентрација специфичних анти-RSV антитела које указују на постојање и локализацију респираторне болести код деце са атопијом и деце без атопије**

Са атопијом	Категорије	Md (U/ml)	Cut off (U/ml) $\geq$	Сенз.	Спец.	Area	<i>p</i>
анти-RSV IgA	Без PEC болести, n=5	1,3	<b>2,3</b>	68%	100%	0,876	0,009
	Болест горњих + доњих PEC, n=25	2,9					
анти-RSV IgG	Без болести + болест горњих PEC, n=15	1,3	<b>20,4</b>	53,3%	86,7%	0,702	0,059
	Болест доњих PEC, n=15	21,6					
Без атопије	Категорије	Md (U/ml)	Cut off (U/ml) $\geq$	Сенз.	Спец.	Area	<i>p</i>
анти-RSV IgA	Болест горњих PEC, n=61	1,8	<b>2,2</b>	62,7%	73,1%	0,633	0,006
	Болест доњих PEC, n=67	2,8					

Рес болести, болести респираторних путева; Горњи Рес, болести горњих респираторних путева; доњи Рес, болести доњих респираторних путева; IgA, имуноглобулин А; IgG, имуноглобулин Г; RSV, респираторни синцицијални вирус; Сенз, сензитивност; Спец, специфичност; Md, медијана; *p*, ниво значајности; n, број случајева.

#### tIgE и локализација респираторне болести

У групи деце без атопије серумске концентрације tIgE су биле више код деце са позитивним налазом анти-RSV антитела у односу на децу без анти-RSV антитела (Md=7,85 kU/L, n=33 vs. 5,4 kU/L, n=112,  $p=0,091$ ), док код деце са атопијом није

достигнута статистичка значајност те разлике (Md=102 kU/L, n=13 vs. 7 0,9 kU/L, n=17, p=0,408).

Тестом корелације, у групи деце без атопије је утврђена позитивна повезаност tIgE и анти-RSV IgA (r=0,212, p=0,010, n=145), док у групи деце са атопијом ова повезаност није утврђена (r=0,194, p=0,305, n=30). Није утврђена статистички значајна повезаност tIgE са анти-RSV IgG (r=0,101, p=0,185, n=175).

Није постојала статистички значајна разлика између категорија 0=без респираторне болести, 1=са болестима горњих дисајних путева и 2=са болестима доњих дисајних путева, у серумској концентрацији tIgE ни у групи деце са атопијом (Kruskal Wallis test  $\chi^2(2,30)=1,18$ ; p=0,554), ни у групи деце без атопије (Kruskal Wallis test  $\chi^2(2,145)=3,53$ ; p=0,171). Серумска концентрација tIgE је маркер постојања атопије код деце узраста до 2 године, а медијане и *cut off* вредности tIgE код деце са атопијом и без атопије у односу на испољавање респираторних болести приказане су у табели 4.7.

**Табела 4.7. *Cut off* вредности серумских концентрација tIgE које указују на постојање атопије**

Група	Атопија	Md tIgE (U/ml)	<i>Cut off</i> tIgE (U/ml) $\geq$	Сенз.	Спец.	area	p
Деца до 2 године, n=175	Налаз атопије n=30	72,1	<b>14,5</b>	86,7%	80%	0,921	0,000
	Без атопије, n=145	5,5					
Деца без РЕС болести, n=22	Налаз атопије, n=5	161	<b>15,5</b>	100%	70,6%	0,929	0,004
	Без атопије, n=17	12,4					
Деца са болестима горњих РЕС, n=71	Налаз атопије, n=10	84,4	<b>19,8</b>	80%	88,5%	0,925	0,000
	Без атопије, n=61	5,1					
Деца са болестима доњих РЕС, n=82	Налаз атопије, n=15	71,4	<b>11,3</b>	100%	73%	0,922	0,000
	Без атопије, n=67	5,4					

Рес болести, болести респираторних путева; горњи Рес, болести горњих респираторних путева; доњи Рес, болести доњих респираторних путева; Md, медијана; tIgE, укупни имуноглобулин класе Е; Сенз, сензитивност; Спец, специфичност; p, ниво значајности.



## 4.2. Карактеристике бронхијалне хиперактивности код деце узраста до две године у односу на RSV инфекцију и атопију

### 4.2.1 Резултати учесталости бронхијалне хиперактивности удружене са RSV инфекцијом код деце узраста до две године у односу на атопију

Код деце узраста до две године забележена је велика варијабилност у комбиновању болести доњих дисајних путева.

Анализа врсте и броја болести доњих дисајних путева показала је постојање 11 фенотипова. У табели 4.8. приказана је учесталост комбинација различитих дијагноза у групи деце која су клинички испољила болест доњих дисајних путева ( $n=82$ ), као и учесталост рецидивирања болести доњих дисајних путева у односу на дијагнозу болести.

**Табела 4.8. Учесталост комбинација различитих болести доњих дисајних путева код деце узраста до две године**

Врста болести доњих дисајних путева	Укупно n (%)	Број болести	Хроничне болести бронхија (J44.9, J45)		p
			Има n (%)	Нема n (%)	
Акутне бронхијалне болести (J20, J21)		1-2x	3 (3,7)	39 (47,6)	0,000
		≥ 3x	13 (15,9)	3 (3,7)	
		<i>Укупно</i>	16 (19,5)	42 (51,2)	
Упала плућа (J12-J18)		1-2x	1 (1,2)	3 (3,7)	0,114
		≥ 3x	3 (3,7)	0 (0)	
		<i>Укупно</i>	4 (4,9)	3 (3,6)	
Акутне бронхијалне болести + упала плућа		1-2x	0 (0)	3 (3,7)	0,033
		≥ 3x	6 (7,3)	1 (1,2)	
		<i>Укупно</i>	6 (7,3)	4 (4,9)	
Хроничне бронхијалне болести (J44.9, J45)		1-2x	7 (8,5)	0	
		≥ 3x	0 (0)	0	
		<i>Укупно</i>	7 (8,5)	0 (0,0)	
<b>Укупно</b>	<b>82 (100)</b>		<b>33 (40,2)</b>	<b>49 (59,8)</b>	

J20, акутно запаљење душница; J21, акутно запаљење крајњих огранака душница; J12-J18 запаљење плућа; J44.9, друга хронична опструктивна болест плућа; J45, астма; 1-2x, деца која су 1-2 пута имала болест доњих дисајних путева; ≥3x, деца која су 3 и више пута имала болест доњих дисајних путева; p, ниво значајности; n, број случајева.

БХР, дефинисан као присуство хроничне болести бронхија ( $n=33$ ) и/или 3 и више акутних болести или упала плућа ( $n=4$ ), утврдили смо код 21,1% деце ( $n=37/175$ ).

Анализа присуства АПИ критеријума (енг. *Asthma Prediktive Index*) (сензибилизација на било који алерген, постојање екцема, астма у породици) у испитиваној групи деце показала је:

- деца која су испољила 1-2 пута болест доњих дисајних путева (са дијагнозом хроничне бронхијалне болести) чинила су 29,7% деце са БХР ( $n=11/37$ ), односно 6,3% деце у целој испитиваној групи ( $n=11/175$ ).
- без АПИ ризика - деца која су испољила три и више болести доњих дисајних путева без АПИ критеријума чинила су 35,1% деце са БХР ( $n=13/37$ ), односно 7,4% деце у целој испитиваној групи ( $n=13/175$ )
- са АПИ ризиком за развој астме - деца која су испољила три и више болести доњих дисајних путева са појединим позитивним АПИ критеријумима чинила су 35,1% деце са БХР ( $n=13/37$ ), односно 7,4% деце у целој испитиваној групи ( $n=13/175$ ). У овој групи деце 76,9% ( $n=10/13$ ) имало је позитиван један критеријум, а 23,9% ( $n=3/13$ ) два позитивна критеријума. Ни једно дете са БХР-ом није имало позитивна сва три АПИ критеријума.

Групу деце без БХР ( $n=138$ ) чинила су деца која нису имала болести доњих дисајних путева ( $n=93$ ) и деца која су један до два пута имала болести доњих дисајних путева и то; само акутну бронхијалну болест ( $n=39$ ), само упалу плућа ( $n=3$ ) и акутну болест са упалом плућа ( $n=3$ ).

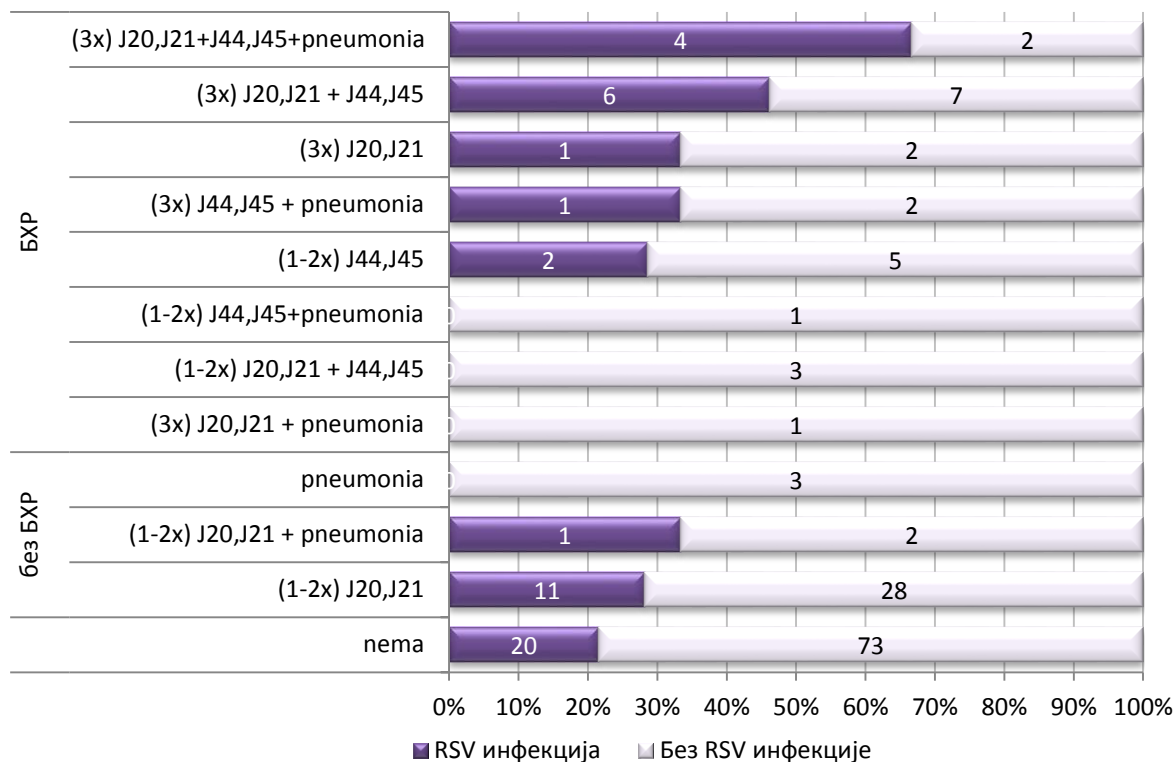
Однос критеријума АПИ индекса и присуства БХР приказан је у табели 4.9.

**Табела 4.9. Однос критеријума АПИ индекса и присуства БХР**

Обележје	Категорије обележја	Укупно $n=175(\%)$	БХР $n=37(\%)$	Без БХР $n=138(\%)$	<i>p</i>
Атопија	Има	30(17,1)	9(24,3)	21(15,2)	$p=0,145$
	Нема	145(82,9)	28(75,7)	117(84,8)	
Екцем	Има	32(18,3)	8(21,6)	24(17,4)	$p=0,353$
	Нема	143(81,7)	29(78,4)	114(82,6)	
Астма у породици	Има	8(4,6)	1(2,7)	7(5,1)	$p=0,466$
	Нема	167(95,4)	36(97,3)	131(94,9)	

БХР, бронхијална хиперреактивност; *p*, ниво значајности; *n*, број случајева.

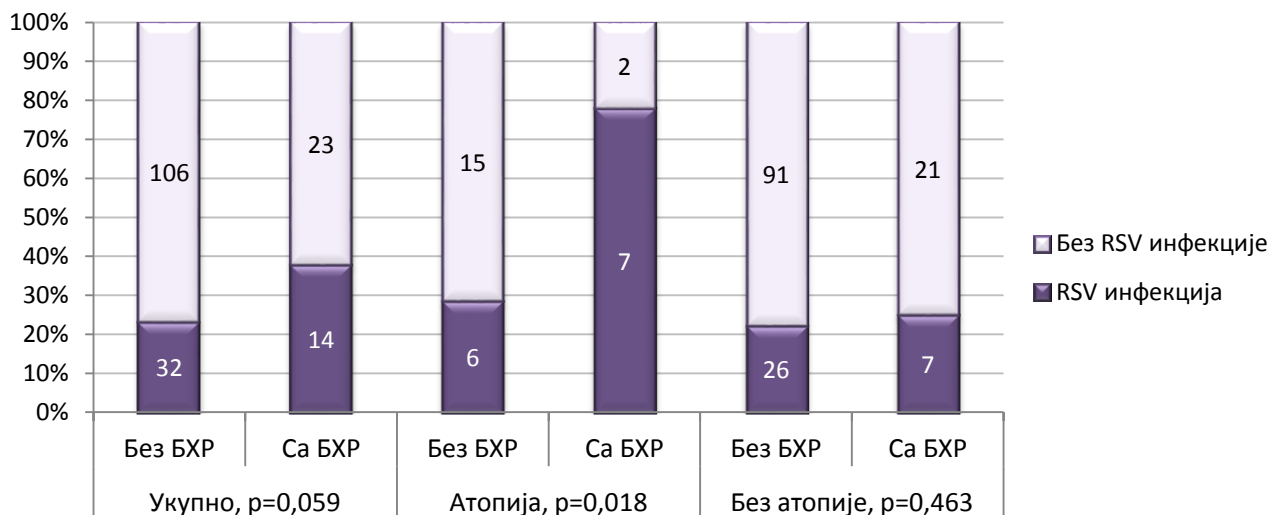
RSV инфекција је чешће била присутна код деце која су имала БХР (37,8%, n=14/37) у односу на децу без БХР (23,2%, n=32/138), p=0,059. Учесталост RSV инфекције код деце која су испољила БХР и деце без БХР са комбинацијама и бројем болести доњих дисајних путева (фенотиповима) је приказана на графикону 4.12.



J20, акутно запаљење душница; J21, акутно запаљење крајњих огранака душница; pneumonia, запаљење плућа; J44.9, друга хронична опструктивна болест плућа; J45, астма; 1-2x, деца која су 1-2 пута имала болест доњих дисајних путева;  $\geq 3x$ , деца која су 3 и више пута имала болест доњих дисајних путева; RSV, респираторни синцицијални вирус; БХР, бронхијална хиперреактивност.

**Графикон 4.12. Учесталост RSV инфекције у фенотиповима болести доњих дисајних путева (према броју и врсти болести)**

Статистички значајна разлика веће учесталости RSV инфекције код деце која су имала БХР у односу на децу без БХР забележена је само у групи атопичара (77,8%, n=7/9 vs. 28,6%, n=6/21; p=0,018), док у групи деце без атопије није утврђена статистичка значајност те разлике (p=0,463) (граф. 4.13.).



БХР, бронхијална хиперреактивност; RSV, респираторни синцицијални вирус;  $p$ , ниво значајности

**Графикон 4.13. Учесталост RSV инфекције у односу на постојање БХР у групи деце са атопијом и без атопије**

#### 4.2.2 Резултати анализе хуморалног имунског одговора према RSV инфекцији у групи деце са БХР у односу на атопију

У групи деце која су испољила болест доњих дисајних путева ( $n=82$ ) са БХР ( $n=37$ ), уочена је виша серумска концентрација анти-RSV IgA и IgG, као и tIgE код деце која су имала атопију и БХР, у односу на децу која су имала БХР али која нису имала атопију. Код деце која су испољила болести доњих дисајних путева без БХР утврђена је виша концентрација tIgE код атопичара у односу на децу без атопије (таб. 4.10.).

**Табела 4.10. Разлике у медијанама серумских концентрација анти-RSV IgA, анти-RSV IgG и tIgE између деце у односу на атопију и БХР**

Атопија	<i>IgA U/ml (n)</i>		<i>IgG U/ml (n)</i>		<i>tIgE kU/ml (n)</i>	
	БХР	Без БХР	БХР	Без БХР	БХР	Без БХР
Атопија	4,45 (9)	2,07 (6)	39,96 (9)	2,67 (6)	57,6 (9)	72,10 (6)
Без атопије	2,52 (28)	2,94 (39)	0,49 (28)	0,94 (39)	5,57 (28)	4,77 (39)
<i>Mann W. p</i>	<b>0,037</b>	<i>0,404</i>	<b>0,025</b>	<i>0,374</i>	<b>0,000</b>	<b>0,001</b>

БХР, бронхијална хиперреактивност; IgA, имуноглобулин А; IgG, имуноглобулин Г; tIgE, укупни имуноглобулин Е;  $p$ , ниво значајности.

Серумске концентрације анти-RSV IgA и IgG, као и tIgE могу бити маркери постојања атопије код деце која имају БХР (таб. 4.11.), док се у групи деце са болестима доњих дисајних путева без БХР једино tIgE може сматрати маркером атопије ( $\text{cut off} \geq 68,2 \text{ kU/L}$ , сензитивност 83,3%, специфичност 97,44 %,  $\text{area } 0,932$ ,  $p=0,001$ ).

**Табела 4.11. Cut off вредности серумских концентрација анти-RSV IgA, анти-RSV IgG и tIgE које указују на постојање атопије код деце која имају БХР**

Маркер	Cut off $\geq$	Сензитивност	Специфичност	Area	p
анти-RSV IgA (U/ml)	3,72	66,7%	71,4%	0,734	0,037
анти-RSV IgG (U/ml)	19,33	77,8%	92,9%	0,750	0,026
tIgE (kU/L)	10,44	100%	82,14%	0,948	0,000

IgA, имуноглобулин А; IgG, имуноглобулин Г; tIgE, укупни имуноглобулин Е; p, ниво значајности.

У групи деце са атопијом постојала је статистички значајна разлика између деце која су имала БХР и деце која нису имала БХР, како у серумској концентрацији анти-RSV IgA ( $Md=4,45 \text{ U/ml}$ ,  $n=9$  vs.  $Md=1,7 \text{ U/ml}$ ,  $n=21$ ),  $p=0,013$ , тако и у серумској концентрацији анти-RSV IgG ( $Md=39,96 \text{ U/ml}$ ,  $n=9$  vs.  $Md=1,87 \text{ U/ml}$ ,  $n=21$ ),  $p=0,021$ . Није било статистички значајне разлике у серумској концентрацији tIgE ( $Md=57,6 \text{ kU/L}$ ,  $n=9$  vs.  $Md=72,8 \text{ kU/L}$ ,  $n=21$ ),  $p=0,769$ , између деце која су имала и која нису имала БХР.

**Табела 4.12. Cut off вредности серумских концентрација анти-RSV IgA и анти-RSV IgG које указују на постојање БХР код деце са атопијом**

Маркер	Cut off $\geq$	Сензитивност	Специфичност	Area	p
анти-RSV IgA (U/ml)	2,86	88,9%	76,2%	0,791	0,013
анти-RSV IgG (U/ml)	20,4	77,8%	85,7%	0,767	0,022

IgA, имуноглобулин А; IgG, имуноглобулин Г; p, ниво значајности.

У групи деце без атопије, није утврђена статистички значајна разлика у серумским концентрацијама анти-RSV IgA ( $p=0,142$ ), анти-RSV IgG ( $p=0,538$ ) и tIgE ( $p=0,501$ ) између деце која су имала и која нису имала БХР.

### 4.3. Предвиђајући фактори за испољавање бронхијалне хиперреактивности код деце узраста до 2 године

#### 4.3.1 Резултати учесталости бронхијалне хиперреактивности у односу на RSV инфекцију и атопију према индивидуалним карактеристикама деце (узраст, пол, исхрана, годишње доба рођења)

Индивидуалне карактеристике деце са БХР које су праћене у истраживању приказане су у табели 4.13.

**Табела 4.13. Учесталост БХР у односу на индивидуалне карактеристике деце**

Обележје	Категорије обележја	Укупно n=175(%)	БХР n=37(%)	Без БХР n=138 (%)	<i>p</i>
Узраст (месеци)	5-6	59 (33,7)	6 (16,2)	53 (38,4)	<b><i>p=0,003</i></b>
	7-12	74 (42,3)	15 (40,5)	59 (42,8)	
	13-24	42 (24,0)	16 (43,2)	26 (18,8)	
Пол	Мушки	101 (57,7)	29 (78,4)	72 (52,2)	<b><i>p=0,004</i></b>
	Женски	74 (42,3)	8 (21,6)	66 (47,8)	
Ток трудноће	Нормална	63 (55,8)	12 (57,1)	51 (55,4)	<i>p=0,887</i>
	Одржавана	50 (44,2)	9 (42,9)	41 (44,6)	
Порођај	Природни	96 (85,0)	20 (95,2)	76 (82,6)	<i>p=0,127</i>
	Царски рез	17 (15)	1 (4,8)	16 (17,4)	
ТМ на рођењу	≤ 3000g	42 (24)	5 (13,5)	37 (26,8)	<i>p=0,167</i>
	3001-3750g	91 (52)	20 (54,1)	71 (51,4)	
	> 3750g	42 (24)	12 (32,4)	30 (21,7)	
Годишње доба рођења	Пролеће	39 (22,3)	10 (27)	29 (21)	<i>p=0,234</i>
	Лето	40 (22,9)	12 (32,4)	28 (20,3)	
	Јесен	59 (33,7)	10 (27)	49 (35,5)	
	Зима	37 (21,1)	5 (13,5)	32 (23,2)	
Природна исхрана у тренутку тестирања	Није дојено	114 (65,1)	29 (78,4)	85 (61,6)	<b><i>p=0,057</i></b>
	Дојено	61 (34,1)	8 (21,6)	53 (38,4)	
Место живљења	Град	89 (64)	19 (67,9)	70 (63,1)	<i>p=0,637</i>
	Село	50 (36,0)	9 (32,1)	41 (36,9)	
Мајка са алергијом	Нема	142 (81,1)	29 (78,4)	113 (81,9)	<i>p=0,628</i>
	Има	33 (18,9)	8 (21,6)	25 (18,1)	

БХР, бронхијална хиперреактивност; *p*, ниво значајности; N, број случајева; g, грам.

Ризичне групе деце која испољавају БХР су: деца узраста 13-24 месеца, мушког пола и деца на вештачкој исхрани.

Логистичком регресијом обухваћена су обележја код којих је утврђена статистички значајно већа учесталост БХР и то: узраст (у месецима), пол (0=женски, 1=мушки), исхрана (0=није на природној исхрани, 1=природна исхрана) и присуство анти-RSV антитела (0=нема, 1=има). Добијен је статистички значајан модел ( $\chi^2(4,175)=22,56$ ,  $p=0,000$ ), који у целој испитиваној групи деце разликује децу која су имала БХР, а који објашњава 12,1-18,8% варијансе. Овим моделом је утврђено да јединствени статистички допринос класификацији деце са БХР дају: 1) узраст, при чему се са сваким месецом старости повећава ризик за појаву БХР за 12% почевши од петог месеца живота и 2) пол, при чему деца мушког пола имају 3,4 пута већи ризик да развију БХР у односу на девојчице (таб. 4.14.).

**Табела 4.14. Модел логистичке регресије који издваја најбитније предвиђајуће факторе за испољавање БХР**

Обележје	B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)	95,0% интервал поузданости	
							Доња	Горња
Узраст (мес)	0,11	0,04	7,55	1	0,006	1,112	1,03	1,20
Мушки пол	1,22	0,45	7,25	1	0,007	3,404	1,40	8,30
Step 1 <sup>a</sup> Исхрана	-0,29	0,49	0,36	1	0,549	0,744	0,28	1,95
RSV инфекција	0,20	0,45	0,19	1	0,661	1,221	0,50	2,98
Constant	-3,27	0,65	25,58	1	0,000	0,038		

B, коефицијент вероватноће; SE, стандардна грешка; Wald, допринос промелјиве; df, број степени слободе; Exp(B), количник вероватноће.

#### *Узраст*

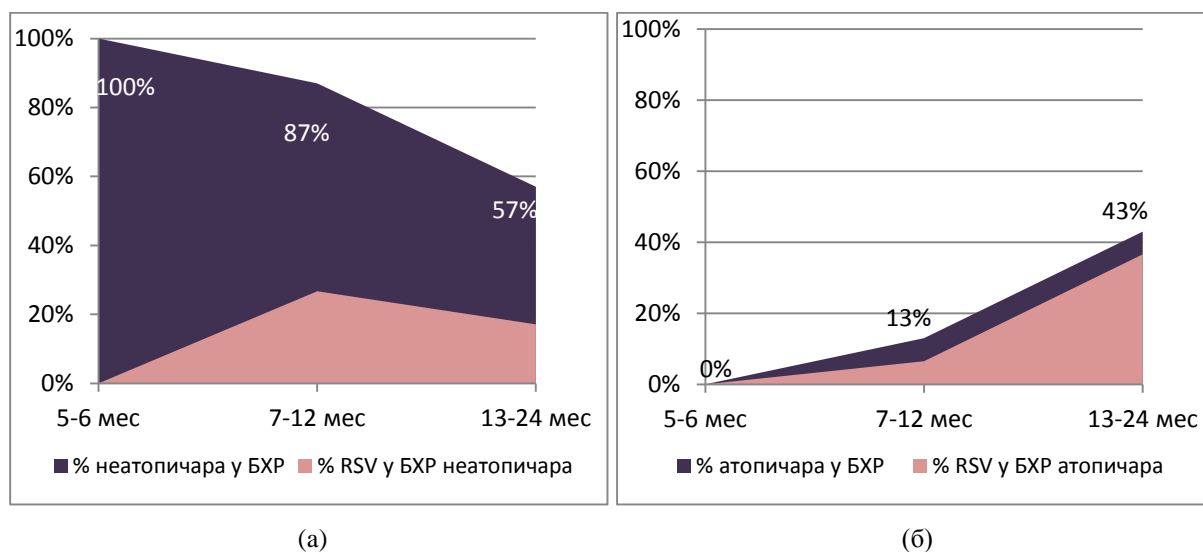
Код деце која су имала БХР у узрасту од 5-6 месеци ни у једном случају није доказан позитиван налаз анти-RSV антитела (0%,  $n=0/6$ ); у узрасту од 7-12 месеци доказан је позитиван налаз анти-RSV антитела у 33,3% ( $n=5/15$ ), а у узрасту од 13-24 месеца у 56,25% ( $n=9/16$ ) ( $p=0,048$ ). Учесталост БХР у групи деце са и без RSV инфекције у односу на узраст приказана је у табели 4.15.

**Табела 4.15. Учесталост БХР у односу на узраст у групама деце са и без RSV инфекције**

Обележје	БХР	Број (%)	Узраст, број (%)			<i>p</i>
			5-6 мес	7-12 мес	13-24 мес	
RSV инфекција	БХР	14 (30,4)	0 (0)	<b>5 (45,5)</b>	9 (39,1)	<i>p</i> =0,027
	Без БХР	32 (69,6)	12 (100)	6 (54,5)	14 (60,9)	
	Укупно	46 (100)	12 (100)	11 (100)	23 (100)	
Без RSV инфекције	БХР	23 (17,8)	6 (12,8)	<b>10 (15,9)</b>	7 (36,8)	<i>p</i> =0,059
	Без БХР	106 (82,2)	41 (87,2)	53 (84,1)	12 (63,2)	
	Укупно	129 (100)	47 (100)	63 (100)	19 (100)	
<i>p</i> =0,039						

БХР, бронхијална хиперреактивност; *p*, ниво значајности; RSV, респираторни синцицијални вирус.

Анализа RSV инфекције и атопије по узрастним групама је показала да се са узрастом у групи деце која су имала БХР смањује учесталост деце без атопије (графикон 4.14.а), а повећава број атопичара са БХР (графикон 4.14.б). Код неатопичара, RSV инфекција као узрок БХР одржавала се на 30-33%, док је код атопичара са БХР у другој години живота RSV инфекција била присутна у 85,7% (графикони 4.14.а и 4.14.б).



Мес, месец; БХР, бронхијална хиперреактивност; RSV, респираторни синцицијални вирус.

**Графикон 4.14. а) Процент неатопичара у односу на узраст у групи деце са БХР који је удружен са RSV инфекцијом; б) Процент атопичара у односу на узраст у групи деце са БХР који удружен са RSV инфекцијом**



*Пол*

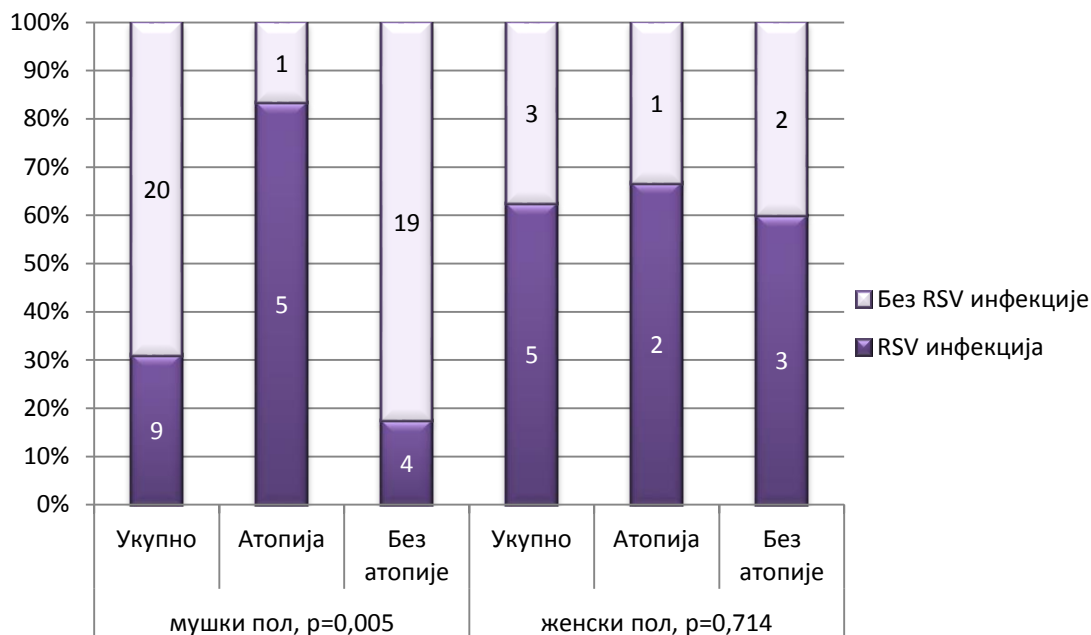
Учесталост БХР у групи деце која су имала и која нису имала RSV инфекцију у односу на пол приказана је у табели 4.16. Групу деце са БХР без RSV инфекције сачињавало је 87% дечака ( $n=20/23$ ). У групи деце женског пола БХР је био чешће удружен са RSV инфекцијом ( $n=5/8$ ).

**Табела 4.16. Учесталост БХР у односу на пол у групама деце са RSV инфекцијом и без RSV инфекције**

Обележје	БХР	Број (%)	Пол , број (%)		<i>p</i>
			мушки	женски	
RSV инфекција	Са БХР	14 (30,4)	9 (32,1)	5 (27,8)	<i>p</i> =0,510
	Без БХР	32 (69,6)	19 (67,9)	13 (72,2)	
	Укупно	46 (100)	28	18	
Без RSV инфекције	Са БХР	23 (17,8)	20 (27,4)	3 (5,4)	<i>p</i> =0,001
	Без БХР	106 (82,2)	53 (72,7)	53 (94,6)	
	Укупно	129 (100)	73	56	
			<i>p</i> =0,405	<i>p</i> =0,018	

RSV, респираторни синцицијални вирус; БХР, бронхијална хиперреактивност; *p*, ниво значајности.

Када је анализирана група деце која је имала БХР ( $n=37$ ), није утврђена статистички значајна разлика у учесталости атопије између деце мушког (20,7%,  $n=6/29$ ) и женског пола (37,5%,  $n=3/8$ ),  $p=0,292$ . Анализа деце са БХР је показала да је код девојчица БХР био удружен са RSV инфекцијом у 62,5%, са подједнаком прерасподелом и у групи деце са атопијом и без атопије. Код дечака код којих је утврђено постојање атопије, RSV инфекција је била удружена са БХР у 83,3%, док је код мушке деце без атопије БХР била повезана са RSV инфекцијом у само 17,4% случајева (графикон 4.15. и табела 4.16.).



RSV, респираторни синцицијални вирус; БХР, бронхијална хиперреактивност.

**Графикон 4.15. Учесталост RSV инфекције у односу на пол и постојање атопије код деце која су имала БХР**

#### *Исхрана*

Анализирајући децу која су имала БХР уочено је да чак 78,4% деце (n=29/37) није било на природној исхрани, односно није дојено. Деца која нису дојена у тренутку испитивања и која су имала позитиван налаз анти-RSV антитела чешће су развијала БХР (37,5%) у односу на децу која нису имала RSV инфекцију (20,7%), p=0,056. Удруженост БХР и RSV инфекције код деце са атопијом која нису била на природној исхрани је забележена у 75% (n=6/8) случајева, док је код деце која нису имала атопију и која такође нису била дојена, забележена у 28,6% (n=6/21), p=0,033.

#### *Годишње доба рођења*

Деца са атопијом која су рођена у пролеће и лето имала су БХР у 53,3% (n=8/15), док је код деце која су рођена у јесен и зиму то био случај у 6,7% (n=1/15), p=0,007. Код деце без атопије није утврђена разлика у учесталости БХР у односу на годишње доба рођења, p=0,487. Деца са атопијом која су рођена у пролеће/лето и која су развила БХР имала су RSV инфекцију у 75% (n=6/8).

### 4.3.2 Утврђивање предвиђајућих фактора за испољавање бронхијалне хиперреактивности у односу на RSV инфекцију код деце узраста до 2 године

#### 4.3.2.1 Предвиђајући фактори за испољавање бронхијалне хиперреактивности у групи деце која су имала RSV инфекцију

У групи деце која су имала RSV инфекцију 30,4% је имало и БХР (n=14/46). У групи деце која су имала и RSV инфекцију и БХР, у односу на децу која су имала само RSV инфекцију, утврђена је већа учесталост деце у узрасту 13-24 месеца (64,3%, n=9/14 vs. 43,8%, n=14/32; p=0,027), чешће постојање атопије (50%, n=7/14 vs. 18,8%, n=6/32, p=0,037) и ларингитиса (28,6%, n=4/14 vs. 3,1%, n=1/32, p=0,025).

Логистичком регресијом обухваћена су обележја са статистички значајном разликом у учесталости БХР у групи деце са RSV инфекцијом и то: атопија (0=без атопије, 1=са атопијом), ларингитис (0=нема, 1=има) и узраст (0=5-6 месеци, 1=7-12 месеци, 2=13-24 месеци). Добијен је статистички значајан модел ( $\chi^2(3,46)=14,84$ , p=0,002), који у групи деце са RSV инфекцијом разликује децу која су имала БХР, а који објашњава 27,6-39% варијансе. Овим моделом је утврђено да јединствени статистички допринос класификацији деце са БХР у групи са RSV инфекцијом (табела 4.17.) дају: 1) атопија која повећава ризик 5,7 пута за појаву БХР у RSV инфекцији и 2) постојање ларингитиса повећава ризик 17,7 пута за појаву БХР у RSV инфекцији.

**Табела 4.17. Модел логистичке регресије који издваја најбитније предвиђајуће факторе за испољавање БХР удружене са RSV инфекцијом**

Обележје	В	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)	95,0 % интервал поузданости	
							Доња	Горња
Атопија	1,74	0,81	4,54	1	0,033	5,69	1,15	28,13
Ларингитис	2,87	1,27	5,08	1	0,024	17,67	1,45	214,53
Узраст (кат)	0,82	0,52	2,44	1	0,118	2,27	0,81	6,36
Constant	-2,91	0,95	9,31	1	0,002	0,05		

В, коефицијент вероватноће; S.E., стандардна грешка; Wald, допринос променљиве; df, број степени слободe; Exp(B), количник вероватноће.

#### 4.3.2.2 Предвиђајући фактори за испољавање бронхијалне хиперреактивности у групи деце која нису имала RSV инфекцију

У групи деце која нису имала RSV инфекцију, 19,4% је имало БХР (n=20/103). У групи деце која нису имала RSV инфекцију било је 27,4% (n=20/73) дечака и 5,5% (n=3/56) девојчица са БХР (p=0,001). БХР без RSV инфекције је била најчешће присутна код деце узраста 13-24 месеци 36,8% (n=7/19), затим у узрасту 7-12 месеци (15,9%, n=10/63) и најређе у групи деце 5-6 месеци (12,8%, n=6/47), p=0,059. У групи деце без RSV инфекције утврђено је да су деца која су имала отитисе ређе имала БХР (7,3%, n=3/41) у односу на децу која нису имала отитисе (22,7%, n=20/80), p=0,033.

Логистичком регресијом обухваћена су обележја са статистички значајном разликом у учесталости БХР у групи деце која нису имала RSV инфекцију и то: пол (0=женско, 1=мушко), узраст (0=5-6 мес, 1=7-12 месеци, 2=13-24 месеци) и дијагноза Н65 (0=нема, 1=има). Добијен је статистички значајан модел ( $\chi^2(3,129)=23,2$ , p=0,000), који у групи деце без RSV инфекције разликује децу која су имала БХР, а који објашњава 16,5-27% варијансе. Овим моделом је утврђено да три фактора дају јединствени статистички допринос класификацији деце са БХР у групи без RSV инфекције (табела 4.18.) и то: 1) деца мушког пола имају 6,3 пута већи ризик да развију БХР без RSV инфекције, 2) деца која су имала упалу ушију 6,5 пута ређе развијају БХР без RSV инфекције и 3) са повећањем узраста долази и до повећања ризика за појаву БХР без RSV инфекције и то за 2,4 пута по категоријама узраста у односу на узраст од 5-6 месеци.

**Табела 4.18. Модел логистичке регресије који издваја најбитније предвиђајуће факторе за испољавање БХР код деце која нису имала RSV инфекцију**

Обележје	В	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)	95,0 % интервал поузданости	
							Доња	Горња
Мушки пол	1,84	0,67	7,61	1	0,006	6,300	1,70	23,29
Отитис	-1,88	0,72	6,87	1	0,009	0,153	0,04	0,62
Узраст (кат)	0,89	0,40	5,03	1	0,025	2,432	1,12	5,29
Constant	-3,16	0,68	21,89	1	0,000	0,042		

В, коефицијент вероватноће; S.E., стандардна грешка; Wald, допринос промјеливе; df, број степени слободе; Exp(B), количник вероватноће.

### **4.3.3. Утврђивање предвиђајућих фактора за испољавање бронхијалне хиперреактивности у односу на атопију код деце узраста до 2 године**

#### *4.3.3.1 Предвиђајући фактори за испољавање БХР у групи деце са атопијом*

У групи деце са атопијом било је 30% деце са БХР (n=9/30). Како би се испитао предикторни значај хуморалног имунског одговора према RSV инфекцији на појаву БХР код деце са атопијом, а с обзиром на постојање разлике у серумским концентрацијама анти-RSV IgA у односу на БХР код атопичара (табела 4.12.), ово обележје је категорисано као 0= < 2,86 U/ml и 1= ≥ 2,86 U/ml. Обележје анти-RSV IgG је категорисано по истом принципу на 0= < 20,4 U/ml и 1= ≥ 20,4 U/ml.

Обележја код којих је утврђена разлика у учесталости БХР у групи деце са атопијом су:

- Код деце са атопијом БХР је чешће присутан уколико су серумске концентрације анти-RSV IgA ≥ 2,86 U/ml (61,5%, n=8/13) у односу на децу са анти-RSV IgA < 2,86 U/ml (5,9%, n=1/17), p=0,002, као и код деце са серумским концентрацијама анти-RSV IgG ≥ 20,4 U/ml (66,7%, n=6/9) у односу на децу са анти-RSV IgG < 20,4 U/ml (14,3%, n=3/21), p=0,008.
- БХР се код деце са атопијом испољавала чешће у старијем узрасту и то: у узрасту од 5-6 месеци није било случајева БХР код деце са атопијом, у узрасту 7-12 месеци то је био случај код 16,7% (n=2/12) и у узрасту 13-24 месеца код 63,6% (n=7/11), p=0,007.
- Деца са атопијом која су дојена у тренутку испитивања имала су ређе БХР (8,3%, n=1/12) у односу на децу која нису била на природној исхрани (44,4%, n=8/18), p=0,004.
- Деца са атопијом која су рођена у пролеће или лето су чешће имала БХР (53,3%, n=8/15) у односу на децу која су рођена у зимским месецима (6,7, n=1/15), p=0,007.

Логистичком регресијом обухваћена су обележја; узраст (0=5-6 месеци, 1=7-12 месеци, 2=13-24 месеци) и анти-RSV IgA (0= < 2,86 U/ml и 1= ≥ 2,86 U/ml). Добијен је статистички значајан модел (с2(2,30)=17,6, p=0,000), који у групи деце са атопијом разликује децу која су имала БХР, објашњава 44,3-62,8% варијансе, тачно класификује 83,3% случајева са сензитивношћу од 66,7% и специфичношћу од 90,5%. Овим моделом је утврђено да два фактора дају јединствени статистички допринос класификацији деце

са БХР у групи атопичара (табела 4.19.) и то: 1) деца са анти-RSV IgA  $\geq 2,86$  U/ml су у 17,6 пута већем ризику да имају БХР и 2) са повећањем узраста долази и до повећања ризика за појаву БХР код деце са атопијом и то за 6,7 пута по категоријама узраста у односу на узраст од 5-6 месеци.

**Табела 4.19. Модел логистичке регресије који издваја најбитније предвиђајуће факторе за испољавање БХР у групи деце са атопијом**

Обележје	B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)	95,0 % интервал поузданости	
							Доња	Горња
анти- RSV IgA $\geq 2,86$ U/ml	2,86	1,29	4,95	1	0,026	17,55	1,40	219,16
Step 1 <sup>a</sup> Узраст (кат)	1,91	0,94	4,08	1	0,043	6,73	1,06	42,82
<i>Constant</i>	<i>-5,14</i>	<i>1,82</i>	<i>7,99</i>	<i>1</i>	<i>0,005</i>	<i>0,006</i>		

B, коефицијент вероватноће; S.E., стандардна грешка; Wald, допринос промелјиве; df, број степени слободe; Exp(B), количник вероватноће.

#### 4.3.3.2 Предвиђајући фактори за испољавање БХР у групи деце без атопије

У групи деце без атопије било је 19,3% деце са БХР (n=28/145). Како би се испитао предикторни значај хуморалног имунског одговора према RSV инфекцији на појаву БХР код деце без атопије, а с обзиром на постојање разлике у серумским концентрацијама анти-RSV IgA у односу на испољавање болести доњих дисајних путева код деце без атопије (табела 4.6.), ово обележје је категорисано као 0= < 2,2 U/ml и 1=  $\geq 2,2$  U/ml.

Обележја код којих је утврђена разлика у учесталости БХР у групи деце без атопије су:

- У групи деце без атопије са серумским концентрацијама анти-RSV IgA  $\geq 2,2$  U/ml чешће је утврђен БХР (26,6%, n=17/64) у односу на децу са анти-RSV IgA < 2,2 U/ml (13,6%, n=11/81), p=0,049.
- Деца мушког пола без атопије чешће су имала БХР (28%, n=23/82) у односу на девојчице без атопије (7,9%, n=5/63), p=0,002.
- Деца без атопије која су имала дијагнозу ринитиса (J00) чешће су имала БХР (23,7%, n=23/97) у односу на децу без атопије и без ове дијагнозе (10,4%, n=5/48), p=0,056.
- Од све деце без атопије која су испољила БХР, без упале ува било је 78,6% (n=22/28). Деца са једном до две упале ува чинила су 7,1% (n=2/28) групе деце са БХР и 31,6%

(n=37/117) деце без БХР, док су деца са три и више упала чинила 14,3% (n=4/28) деце са БХР и 6,0% (n=7/117) деце без БХР, p=0,018.

Логистичком регресијом су обухваћена обележја: анти-RSV IgA (0= < 2,2U/ml и 1=  $\geq$  2,2U/ml), пол (0=женско, 1=мушко), Ј00-ринитис (0=нема, 1=има) и број куративних прегледа под дијагнозом Н65. Добијен је статистички значајан модел ( $\chi^2(4,145)=21,85$ , p=0,000), који у групи деце без атопије разликује децу која су имала БХР и објашњава 14-22,4% варијансе. Овим моделом је утврђено да три фактора дају јединствени статистички допринос класификацији деце са БХР у групи деце без атопије (табела 4.20.) и то: 1) деца мушког пола имају око 6 пута већи ризик за развој БХР; 2) деца са анти-RSV IgA  $\geq$  2,2U/ml су у 3,2 пута већем ризику да имају БХР; 3) деца са ринитисом су у 3,3 пута већем ризику за развој БХР уколико су неатописари.

**Табела 4.20. Модел логистичке регресије који издваја најбитније предвиђајуће факторе за испољавање БХР у групи деце без атопије**

Обележје	В	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)	95,0 % интервал поузданости	
							Доња	Горња
Мушки пол	1,76	0,55	10,06	1	0,002	5,81	1,96	17,23
анти-RSV IgA $\geq$ 2,2 U/ml	1,16	0,49	5,67	1	0,017	3,19	1,23	8,29
Step 1 <sup>a</sup> Ринитис	1,2	0,57	4,35	1	0,037	3,32	1,07	10,23
Број упала у ва	-0,40	0,23	2,97	1	0,085	0,67	0,42	1,06
<i>Constant</i>	<i>-3,845</i>	<i>,751</i>	<i>26,239</i>	<i>1</i>	<i>,000</i>	<i>,021</i>		

В, коефицијент вероватноће; S.E., стандардна грешка; Wald, допринос променљиве; df, број степени слободе; Exp(B), количник вероватноће.

## 5. ДИСКУСИЈА

Резултати истраживања у области ране детекције ризика за појаву астме и значаја RSV и других вирусних инфекција у раном детињству, као и присуства атопије на појаву хиперреактивности бронхијалног стабла, често су контрадикторни. Неусаглашеност резултата пристиче из више разлога:

- Астма се данас разматра као клинички синдром који је условљен различитим патоимунолошким механизмима;
- Студије које су се бавиле утицајем RSV инфекције на развој хиперреактивности и астме у највећем броју су узимале у обзир само децу која су хоспитализована због тешких бронхиолитиса, не узимајући у обзир велики број деце која су имала блаже облике RSV инфекције и која су амбулантно лечена (Carroll and Hartert, 2008);
- У овим студијама су се користиле различите методе за детекцију вирусне инфекције код деце;
- Лонгитудиналне кохортне студије које су пратиле децу од рођења а које су започете пре више деценија, узимале су у обзир симптоме атопије (као што су: алергијски ринитис, бронхитис и бронхиолитис) изостављајући симптоме који се могу повезати са алергијом у раном детињству, а за које је много касније утврђено да представљају главну манифестацију атопије у раном детињству - сензибилизација и клиничка манифестација алергије на храну;
- Неусаглашеност у детекцији атопије у раном узрасту; са једне стране, кожни тест се сматра нерепродуцибилним (због изостанка стандардизације раствора) (Pić и сар., 2011), а са друге стране већина лонгитудиналних популационих студија су користиле управо кожни тест за детекцију атопије (Taussig и сар., 2003);
- Статистичком обрадом података у кохортним студијама није могуће утврђивање разлика и/или повезаности фактора са малом и средњом јачином утицаја, уколико је испитивана група деце у ризику мала. Савремена литература указује да се израз „фенотипови“ све мање користи за дефинисање испољених алергијских болести у дечијем узрасту, при чему је актуелизован индивидуални приступ у утврђивању ризика, раној дијагностици и примени профилактичке терапије код деце у ризику од астме.



Ово истраживање је првенствено засновано на детекцији атопије у најранијем детињству, у циљу примене превентивних мера којима ће се смањити учесталост тежих облика болести. Студија је заснована на поузданој методологији, којом се превазилазе дилеме и неусаглашеност у терминологији које прате студије из области дечијих респираторних болести. Број испитаника представља репрезентативни узорак деце узраста 5-24 месеца у нашој популацији, тако да се резултати утицаја праћених детерминанти могу применити на општу популацију деце. Сем тога, уместо термина визинг који се може тумачити на различите начине, у дијагностиковању респираторних симптома коришћен је шифарник Међународне класификације болести, који омогућава упоредивост резултата и разумљивост података. Дијагностиковањем атопије на основу одређивања *in vitro* специфичних IgE антитела, превазилазе се несугласице око постављања дијагнозе алергије у најранијем узрасту. Термин алергије се последњих година разматра и из аспекта симптома који се могу повезати са атопијом (астма, уртикарија, екцем) и оних, за које је последњих година утврђена све већа учесталост неалергијске етиологије. У највећем броју студија које су се бавиле атопијом и астмом у дечијем узрасту, дијагноза атопије била је заснована на кожном тесту (чији резултати у нашим условима и у овом узрасту могу бити непоуздани и нерепродуцибилни) и анамнестичким подацима о постојању алергије у породици (који постају невалидни уколико се узме у обзир повећање броја неатопијских стања). Серолошко дијагностиковање RSV инфекције после 1-2 месеца од испољавања болести доњих дисајних путева код деце, омогућило је не само утврђивање постојања инфекције, већ и увид у специфични хуморални имунски одговор деце према овом вирусу.

У испитиваној групи деце узраста до 2 године у Шумадијском округу, утврђено је постојање атопије код 17% деце, док је позитиван налаз анти-RSV антитела забележен у 26,3%. У другим земљама проценат позитивних RSV налаза се креће од 5,4% у Грчкој, 8,46% у Бугарској, 12,5% у Јордану и 9%-16,8% у Ирану (Al-Toum и сар., 2006; Gioula 2008; Pavlova 2009; Nikfar и сар., 2013). Деца са атопијом у овој испитиваној групи, имала су чешће RSV инфекцију у односу на децу без атопије. Познато је да RSV инфекција удружена са ТН-2 имунским одговором условљава патолошке промене које су директно повезане са ослобађањем локалних цитокина (Stensballe, 2002). Дакле, постоји вероватноћа да ТН-2 профил олакшава инфекцију и имунопатогенезу болести и/или ограничава заштитни имунски одговор. Деца су посебно осетљива на RSV инфекцију с обзиром на то да имају имунски систем базиран на ТН-2 профили, чиме се делимично објашњава и тежина RSV инфекције у првих шест месеци живота (Stensballe, 2002). Са

друге стране и атопија је повезана са ТН-2 имунским профилом, чиме се може објаснити и њена повезаност са тешком RSV инфекцијом. RSV бронхиолитис током прве године живота представља важан фактор ризика не само за појаву астме, већ и за сензибилизацију на уобичајене алергене, посебно код деце са генетском предиспозицијом за атопију. У последњих неколико деценија дошло је до повећања броја оболелих од атопијске болести, за коју се сматра да је у вези са доминацијом ТН-2 имунског профила који повећава морбидитет од RSV, а на који могу имати утицај и различити фактори средине. У сваком случају, морбидитет од RSV болести се мора посматрати са више аспеката (Stensballe, 2002).

### 5.1. Хуморални имунски одговор у RSV инфекцији

Према подацима овог истраживања, RSV инфекција је у узрасту 5-24 месеца утврђена у 67,4% позитивним налазом анти-RSV IgG, у 21,7% комбинацијом IgA+IgG, а најређе позитивним налазом анти-RSV IgA (10,9%). У студији *Stranegård* и сарадника (1997), која је обухватила 45 одојчади просечног узраста четири месеца хоспитализованих због RSV бронхиолитиса, такође је утврђена доминација анти-RSV IgG која су откривена код 89% деце, док су анти-RSV IgA постојала код 11% деце (*Stranegård* и сар., 1997). Протективни имунски одговор после природне RSV инфекције у литератури се описује као слаб и краткотрајан (*Welliver* и сар., 1980; *Falsey* и сар., 1999), нарочито у раном детињству (*Karppon* и сар., 2003). Због тога су реинфекције честе и њихова учесталост износи око 47% у другој и око 45% деце у трећој години живота (*Collins* and *Melero*, 2011). Протективни хуморални имунски одговор у дисајним путевима, доминантно чине секреторна IgA. Око 98% секретованих IgA ствара се локално у мукозном ткиву, а серумска фракција представља само четвртину укупно створених IgA. Количина секретованих IgA достиже ниво одраслих врло рано у животу (1 месец до две године), док је концентрација серумских IgA на нивоу одраслих тек после десете године живота (*Corry* и сар., 2013). С друге стране, доминантна серумска антитела су анти-RSV IgG која се највише стварају у секундарном имунском одговору (*Corry* и сар., 2013). Бразилски аутори су испитивали серумске концентрације и субкласе анти-RSV IgG код 65 деце узраста до 12 месеци и утврдили су најчешће присуство субкласе IgG1 (*Queiróz* и сар., 2002). Мајчина антитела су била присутна код све деце узраста до три месеца, након чега је уочено да убрзано падају. Код деце која су имала доказану RSV инфекцију најчешће у узрасту 9-12 месеци, уочен је висок титар анти-RSV IgG1, док ни

једно дете са инфекцијом није имало субкласе анти-RSV IgG2 и IgG4. Аутори су показали, да код деце у првој години живота након инфекције постоји двоструки пораст титра анти-RSV IgG у периоду краћем од два месеца, који се одржава у наредна два месеца (Queirós и сар., 2002). Просечно време које је протекло од болести доњих дисајних путева, у овој испитиваној групи, било је управо два месеца за децу без атопије, при чему је утврђено постојање позитивне корелације тог времена са серумским концентрацијама анти-RSV IgA. Код деце са атопијом, просечно време које је протекло од болести доњих дисајних путева до тренутка узимања серума за детекцију специфичних анти-RSV антитела било је један месец, при чему није утврђено постојање корелације између овог времена и серумских концентрација мерених антитела (серумске концентрације анти-RSV IgA су расле и код болести горњих дисајних путева - види даље). Намеће се закључак, да у оквиру овог временског интервала не само да не долази до разградње специфичних антитела према RSV, већ и да имунски систем још увек активно сазрева у специфичном анти-RSV одговору. И у ранијим истраживањима хуморалног имунског одговора према RSV инфекцији утврђена је висока концентрација специфичних IgA, чије је стварање, слично као и IgE, зависно од ТН-2 имунског одговора (Stranegård и сар., 1997). Настанак IgA изотипа директно је индукован присуством фактора трансформације раста  $\beta$ -1 (енг. *Transforming growth factor  $\beta$ -1*, TGF $\beta$ -1) порекла из Т-регулаторних ћелија у лимфном ткиву слузокожа, или из алтернативно активираних алвеоларних макрофага под дејством ТН-2 цитокина (IL-4 и IL-13). У културама ћелија, IL-5 потенцира ефекат TGF $\beta$ -1 на синтезу IgA у присуству липополисахарида. У овом истраживању концентрације tIgE код деце са атопијом нису повезане са RSV инфекцијом, првенствено због системске природе појачаног стварања tIgE у одговору на све алергене из околине, а не у одговору на RSV као појединачну инфекцију. Међутим, резултати овог истраживања указују да постоји повезаност серумске концентрације tIgE са анти-RSV IgA, али само у групи деце без атопије. Сагласно томе, серумске концентрације tIgE су биле више код деце са RSV инфекцијом у односу на децу без RSV инфекције у групи деце без атопије, док код деце са атопијом није достигнута статистичка значајност те разлике.

Многобројна истраживања која су показала удруженост ТН-2 имунског одговора са RSV инфекцијом у раном узрасту (Renzi и сар., 1997; Roman и сар., 1997; Bendelja и сар., 2000; Pala и сар., 2002; van der Sande и сар., 2002; Joshi и сар., 2003; Legge and Braciale, 2003; Kristjansson и сар., 2005), могла би првенствено да се односе на децу без атопије. Наиме, са једне стране имунски систем током раног детињства карактерише

управо физиолошки ТН-2 имунски одговор (Tregoning and Schwarze, 2010), док са друге стране у бронхијалном епителу постоји висока концентрација тимусног лимфопоетина (енг. *Thymic stromal lymphopoietin*, TSLP) који индукује локалну доминацију ТН-2 имунског одговора приликом оштећења епитела (Abbas и сар., 2012а). Такође, високе концентрације TGF $\beta$ -1 (присутне током развоја ткива у раном детињству) у присуству IL-6 (повишеног код одојчади у односу на старију децу) (Tregoning JS 2010), могу да индукују ТН-17 имунски одговор што за последицу има инфилтрацију ткива неутрофилима (Abbas и сар., 2012а), а што је управо карактеристично за тешке облике RSV инфекције (Hull, 2007).

## 5.2. Клиничке манифестације RSV инфекције

У највећем броју случајева RSV инфекције се описују као благе (Berger и сар., 2009). Резултати овог истраживања су показали да је присуство RSV инфекције у групи деце која су испољила само болести горњих дисајних путева утврђено код 18,3%. Miller и сарадници (2013) су такође утврдили постојање RSV инфекције у групи деце са болестима горњих дисајних путева у 14% (Miller и сар., 2013). Код деце са атопијом, није утврђено чешће јављање ни једне болести горњих дисајних путева у односу на децу без атопије. Са друге стране, деца са атопијом су развијала болести горњих дисајних путева и у RSV инфекцији и без ње са истом учесталошћу, за разлику од деце без атопије код којих је вирус био чешћи етиолошки фактор развоја тонзилитиса и отитиса. Тонзиларне Б-ћелије код људи у одговору на респираторне вирусе стварју велику количину IgA, а у том процесу синергистички делују како TGF $\beta$ -1 тако и IL-10 порекла из ТН-2 ћелија (Abbas и сар., 2012а). С обзиром на то да је рано детињство повезано са повећаном осетљивошћу према RSV, при чему у том узрасту доминира ТН-2 имунски одговор и повишене концентрације TGF $\beta$ -1 (Collins and Graham, 2008), стимулација тонзиларних Б ћелија доводи до испољавања тонзилитиса. Такође, познато је да IL-10 чији ниво расте после RSV инфекције, делује антиинфламаторно (Corne and Holgate, 1997).

Рецидивантне болести горњих дисајних путева у овом истраживању праћене су чешће RSV инфекцијом, с тим што је рецидивантни ринитис био чешће повезан са RSV инфекцијом и код деце са и без атопије, а рецидивантни отитис се чешће јављао код деце са инфекцијом, без атопије. Познато је да кратки и широки дисајни путеви омогућују лако и брзо ширење етиолошког фактора (који узрокује и болест доњих дисајних путева) нарочито код деце са понављаним инфекцијама горњих дисајних путева (Liu и сар.,

2007). Такође, рецидивантне болести горњих дисајних путева у овој студији праћене су чешћом појавом болести доњих дисајних путева. Рецидивантни ринитис, фарингитис и отитис су у око 70% испитаника били праћени испољеном болешћу доњих дисајних путева. Ни једно дете у испитиваној групи није имало рецидивирање тонзилитиса и ларингитиса, али су се болести доњих дисајних путева код ове деце јављале у око 60%.

Болести доњих дисајних путева утврђене су код 46,8% деце узраста до 2 године. Подаци из литературе углавном говоре о учесталости RSV инфекције у групи деце која су испољила болест доњих дисајних путева, при чему се RSV наводи као узрочник у 16,8% - 76% (Wright и сар., 1989; Kusel и сар., 2006; Miller и сар., 2013). У овом истраживању, учесталост RSV инфекције у групи деце са болестима доњих дисајних путева износила је 31,7%. Са друге стране, у групи деце која су имала позитиван налаз анти-RSV антитела, 85% деце је испољило симптоме респираторне болести. Утврдили смо да се ова инфекција испољила као болест горњих дисајних путева у 28,3% деце, као болест доњих дисајних путева у 56% деце, док је у другим истраживањима тај проценат достигао и више од 80% (Kim и сар., 2010). RSV инфекција је чешће дијагностикована код деце са атопијом у односу на децу без атопије, без обзира да ли су имала само болести горњих дисајних путева или удружено са болестима доњих дисајних путева.

У литератури се описују две врсте визинга које могу пратити RSV бронхиолитис; један лакши са акутним током и други озбиљнији који се може повезати са хиперреактивношћу, односно астмом (Sigurs и сар., 2000). Током RSV инфекције атопија може бити важан фактор предиспозиције за развој акутног бронхиолитиса (Guilbert and Denlinger, 2010). Резултати овог истраживања указују да деца која су имала и акутне и хроничне болести доњих дисајних путева чешће су имала RSV инфекцију, што није био случај у групи деце која су имала упалу плућа. Постојање атопије код деце са акутним бронхијалним болестима било је удружено са чешћом RSV инфекцијом у односу на децу без атопије (54% vs. 30%), али је та разлика била још израженија уколико је дете испољило хроничну болест бронхија (78% vs. 25%). Иако се у литератури RSV наводи као узрочник упале плућа код деце (El-Hajje и сар., 2008), у овом испитивању упале плућа су се чешће јављале код деце са атопијом у односу на децу без атопије, али RSV инфекција није била повезана са њеним испољавањем.

У Швајцарској, у просеку, 1,36% од сваке годишње кохорте рођених, бива примљено у болницу због RSV инфекције (Berger и сар., 2009). Слични подаци су забележени и у Великој Британији (1,1% - 1,9%), Холандији (0,9% - 1,1%), САД (1,7%) (Berger и сар., 2009). Према истраживањима *von Linstow* и сарадника (2008), у просеку се

хоспитализује 1-3% деце која су имала RSV инфекцију (von Linstow и сар., 2008). Резултати овог истраживања указују да 2,3% популације деце узраста до две године има податак о хоспитализацији због болести доњих дисајних путева уз постојање RSV инфекције. При томе, од све деце са RSV инфекцијом 8,7% је имало тежак облик болести који је захтевао хоспитализацију. Уколико се посматра популација деце узраста до 2 године, може се очекивати да ће свако шесто дете имати бар једну болест доњих дисајних путева као симптом RSV инфекције, док ће свако дванаесто дете са RSV инфекцијом бити хоспитализовано.

Анализом хуморалног имунског одговора према RSV инфекцији у групи деце која од рођења до дана испитивања нису имала симптоме респираторних болести (ни горњих ни доњих дисајних путева), утврђено је присуство анти-RSV антитела код око 30% испитиване популације. Ова деца су била узраста 5-6 месеци, имала су само позитиван налаз антитела класе IgG и у 2/3 су била на природној исхрани. Постоји могућност да су ова деца била заштићена мајчиним анти-RSV антителима.

### 5.3. Деца са атопијом

Анализа серумских концентрација специфичних анти-RSV имуноглобулина у односу на локализацију болести дисајних путева, показала је различит образац хуморалног имунског одговора између деце са атопијом и деце без атопије. У групи деце са атопијом утврдили смо сличне серумске концентрације анти-RSV IgA између деце која су испољила болести горњих (средњи узраст 7 месеци) и болести доњих дисајних путева (средњи узраст 13 месеци), при чему су биле значајно више од серумских концентрација IgA деце без симптома респираторне болести (средњи узраст 6 месеци). Дакле, анти-RSV IgA хуморални имунски одговор код деце са атопијом повезан је са испољавањем било које респираторне болести без обзира на локализацију и узраст, па анти-RSV IgA у групи деце са атопијом може бити маркер испољавања било које респираторне болести (cut off  $\geq 2,20$  U/ml). Поставља се питање зашто анти-RSV IgA, која се код деце са атопијом синтетишу и у случају RSV инфекције горњих дисајних путева, нису ефикасна у заштити од тежих инфекција и реинфекција. У организованом лимфоидном ткиву бронхопулмоналног тракта (енг. *Bronchus-associated lymphoid tissue*, БАЛТ), TSLP из оштећених епителних ћелија може да индукује друге епителне и дендритске ћелије на продукцију А пролиферишућег индукујућег лиганда (енг. *A proliferation inducing ligand*, APRIL) и фактора активације Б-ћелија (енг. *B-cell activating*

*factor*, BAFF), који су главни цитокини Т независне продукције IgA (Abbas и сар., 2012a). Т независна продукције IgA у мукози респираторног тракта ствара нискоафинитетна IgA недовољно ефикасна у неутрализацији инфективног агенса на површини слузокоже (Delgado и сар., 2009). Са друге стране, TSLP се сматра главним индуктором ТН-2 ћелијског имунског одговора и фактором који је одговоран за развој бронхијалне хиперреактивности код деце са атопијским дерматитисом (Tregoning and Schwarze, 2010), што би указивало да повећано ослобађање TSLP из било ког епитела доводи до развоја ТН-2 имунитета, односно повећане синтезе IgA.

Међутим, анализа анти-RSV IgG хуморалног имунског одговора показала је да деца са атопијом само у случају испољавања болести доњих дисајних путева развијају веће концентрације серумских IgG, при чему *cut off* вредности  $\geq 20,4U/ml$ , указују и на вирусну етиологију болести (RSV) доњих дисајних путева код деце са атопијом. Мало је вероватно да се ради о IgG4 субкласи (која је индукована IL-4 као ТН-2 цитокином) (Abbas и сар., 2012a), с обзиром да у истраживању Queiróz и сарадника (2002) на 65 деце праћене до годину дана нису утврђени детектабилни нивои ни анти-RSV IgG4 ни IgG2, чак ни код деце код које је током истраживања RSV био изолован из назалног секрета (Queiróz и сар., 2002). С обзиром на то да деца са атопијом која су испољила само болести горњих дисајних путева нису развила анти-RSV IgG одговор, могло би се закључити да је млађи узраст ове групе деце (просечни узраст 7 месеци) повезан са смањеном продукцијом IgG, због смањеног капацитета имунског одговора одојчета да у стању доминантног ТН-2 одговора, продукује специфичне анти-RSV IgG (Queiróz и сар., 2002). Могуће је да код деце са атопијом само у случају присуства вируса у епителу бронхија долази до индукције IgG имунског одговора, односно да су болести доњих дисајних путева узроковане RSV реинфекцијама код деце са атопијом ипак праћене стимулацијом и ТН-1 имунског одговора (просечан узраст 13 месеци). Утврђено је да инфекција живим RSV вирусом код деце изазива стварање ТН-1 меморијског имунског одговора (Brandenburg и сар., 2000), а да се ТН-2 имунски одговор развија само током имунизације формалин-инактивираном RSV вакцином (Graham, 1995). Не искључује се могућност да су евентуално заостала антитета мајке (која имају инхибиторни ефекат на развој анти-RSV IgG имунског одговора одојчета али су без утицаја на IgA) (Tsutsumi и сар., 1995; Ogra, 2004), у узрасту детета од 7 месеци, допринела доминантном анти-RSV IgA имунском одговору код деце са болестима горњих дисајних путева.

#### 5.4. Деца без атопије

За разлику од деце са атопијом, у групи деце без атопије утврђена је слична концентрација анти-RSV IgA између деце која нису испољила респираторну болест (средњи узраст 6 месеци) и деце која су имала болест горњих дисајних путева (средњи узраст 7 месеци), а та концентрација је била значајно нижа у односу на децу без атопије која су имала болести доњих дисајних путева (средњи узраст 9 месеци). Наиме, код деце без атопије, анти-RSV IgA је искључиво маркер испољавања болести доњих дисајних путева у концентрацији  $\geq 2,3\text{U/ml}$  (док је код деце са атопијом ово био маркер испољавања било које респираторне болести, укључујући и само болести горњих дисајних путева). Овакав налаз указивао би на могућност да код деце без атопије тек присуство RSV вируса у епителу бронхија изазива значајнији IgA хуморални имунски одговор (који је у случају атопичара био присутан и код болести горњих дисајних путева). У литератури је описан значај микрофлоре и бактеријске колонизације респираторног тракта у инхибицији вирусом изазване инфламације (Holt и сар., 2012), при чему је вероватно да деца без атопије због присуства бактеријске колонизације у горњим дисајним путевима, развијају RSV инфламацију само у доњим дисајним путевима. С обзиром на то да је показана позитивна повезаност анти-RSV IgA са серумским концентрацијама tIgE искључиво код деце без атопије, не искључује се могућност да RSV инфекција стимулише ТН-2 имунски одговор (са повећаном синтезом IgA) код деце без атопије у одређеном узрасту, али само у случају испољених болести доњих дисајних путева (средњи узраст 9 месеци). ТН-2 имунски одговор се и у већини студија повезује са појавом БХП након RSV инфекције (Collins and Graham, 2008), јер блокира продукцију IFN- $\alpha/\beta$  из плазмоцитоеидних ћелија и смањује продукцију IL-12, тј. IFN- $\gamma$  (Collins and Graham, 2008; Wu and Hartert, 2011). Није познато да ли је овај ефекат RSV присутан само код деце која имају предиспозицију за смањење продукције ТН-1 цитокина. У овом истраживању утврђено је да су серумске концентрације анти-RSV IgG (које се индукују у ТН-1 имунском одговору) најниже у групи деце без атопије, са болестима доњих дисајних путева. Могуће је да се код ове деце без атопије ради и примарно о слабости ТН-1 имунског одговора, због чега ова деца и развијају теже облике RSV инфекције. У литератури се описују тешки RSV бронхиолитиси раног детињства који су удружени са ТН-2 имунским одговором или са опадањем ТН-1 имунског одговора (Joshi и сар., 2003; Okayama, 2013). Слабост ТН-1 одговора, са смањеним капацитетом одојчета да продукује IgG у узрасту од 6-9 месеци (у коме су мајчина анти-RSV IgG разграђена) карактерише и стање транзиторне хипогамаглобулинемије (Liu и



сар., 2007), па није искључено да ово физиолошко стање лежи у основи веће учесталости визинга код деце без атопије, током прве године живота.

### **5.5. Бронхијална хиперреактивност**

Већ више од једног века под астмом се сматра понављана бронхоопструкција. Више од 50 година се зна да у њеној основи постоји бронхијална хиперреактивност. Две до три деценије уназад се хронична инфламација у дисајним путевима разматра као узрок БХР, док се последњих година указује на структуралне промене у виду ремоделовања дисајних путева што се сматра примарним, кључним фактором постојања астме (Basek и сар., 2005). Препоручени приступ у дијагностици и праћењу астме подразумева комбиновано праћење учесталости и степена опструкције, као и степена бронхијалне преосетљивости, инфламације и ремоделовања дисајних путева (Basek и сар., 2005).

Деца млађа од пет година не могу да сарађују приликом испитивања степена бронхоопструкције (PEF - највећи експираторни проток; FEV1 - форсирани експираторни волумен у првој секунди), самим тим не може да се прати ни бронхоопструкција (односно БХР) приликом излагања провокативним факторима. На жалост, друге дијагностичке методе су скупе, компликоване и непримењиве у свакодневној пракси. Испитивање степена ремоделовања у смислу патохистолошког налаза је беспредметно из етичких разлога. Дијагностика астме мале деце и даље остаје изазов због тога што се заснива на евалуацији симптома, односно испољавању визинга. Визинг код мале деце је честа појава. Представља клиничку манифестацију хетерогене групе стања и његова преваленца у дечијој популацији расте током последњих деценија (Basek и сар., 2005). Не сме се изгубити из вида да у тренутку испољавања визинга није могуће утврдити да ли је он последица транзиторне епизоде опструкције дисајних путева (најчешће у вирусној инфекцији), или се ради о почетку астме која има тенденцију перзистирања и у одраслом добу (Basek и сар., 2005). У литератури се описују термини краткорочног и дугорочног прогностичког значаја степена опструкције дисајних путева. Са једне стране, краткорочно гледано, деца са већом опструкцијом дисајних путева (мали калибар дисајних путева, реинфекције, коинфекције, перзистентне инфекције) развијају два пута чешће нападе бронхоопструкције у наредним годинама, у односу на децу са нормалном плућном функцијом (Castro-Rodríguez и сар., 2000). У периоду од неколико година ова деца могу да имају већи број и теже нападе бронхоопструкције, што их дефинише као децу са БХР, док у клиничкој пракси врло често ова деца добијају

дијагнозу астме (Basek и сар., 2005). Лонгитудиналне кохортне студије од рођења и студије хоспитализованих пацијената са астмом су показале прогностички значај степена бронхоопструкције, у дугорочном смислу. Дугорочно гледано, код деце која имају астму показано је смањење плућне функције динамиком смањења FEV1 од 1% годишње (Brown и сар., 1984; Peat и сар., 1987; Jenkins и сар., 1994, Roorda и сар., 1994, Grol и сар., 1996, Rasmussen и сар., 2002) што настаје услед структуралних промена, односно ремоделовања дисајних путева (Basek и сар., 2005).

Додатну тешкоћу ствара чињеница да се болести доњег респираторног тракта тракта не могу често посматрати појединачно, да се бронхоопструкције јављају у склопу упала плућа, да вирусне инфекције могу да дају хронични ток респираторне болести, или да дете са понављаним акутним бронхоопструкцијама добија дијагнозу хроничне болести. У испитиваној групи ове студије, само акутне запаљенске болести бронхија имало је 24% деце, 13,1% деце је имало (поред акутних) и хроничну болест бронхија, док је 9,7% деце имало упалу плућа са или без захваћености бронха. Утврђено је да је 32% деце имало само 1-2 пута болест доњих дисајних путева, док је 14,9% деце имало три и више пута болести доњих дисајних путева. Комбиновањем врсте и броја болести доњих дисајних путева утврђено је постојање 11 фенотипова. Најчешће утврђени фенотипови били су: у 47,6% појава 1-2 пута акутне бронхијалне болести, затим у 15,9% деце три и више болести доњих дисајних путева које су дијагностиковане као акутне и са бар једном дијагнозом хроничне бронхијалне болести и 7,3% деце која су поред дијагнозе акутне и хроничне бронхијалне болести имала и упалу плућа.

Клиничким прегледом је немогуће раздвојити рани, транзиторни визинг, од перзистентне астме. Утврђивање природног, стварног тока хроничне болести бронхија кроз праћење функције плућа практично је неизводљиво у раном детињству, тако да се дијагноза, терапија и прогноза БХР у дечијем узрасту заснива на основу субјективних изјава родитеља о учесталости и тежини визинга, физикалних прегледа педијатра (Basek и сар., 2005) и утврђивања постојања узрочних или доприносићих фактора као што су атопија, инфекције, аерозагађење итд.

У досадашњим студијама утврђено је постојање рекурентног визинга (који би се могао разматрати као БХР) у 16-34% деце у раном детињству, док је у овом испитивању БХР (дефинисан као присуство хроничне болести бронхија и/или 3 и више било којих болести доњих дисајних путева) утврђен код 21,1% деце (Martinez, 2002; Nøst and Halken, 2000; Grootendorst and Rabe, 2004). Наиме, у овом истраживању децу са БХР су у 89% чинила деца са већ постављеном дијагнозом хроничне опструктивне болести плућа,

док је само 11% деце још увек разматрано као рецидивантни визинг са три и више испољавања болести доњих дисајних путева. Стиче се утисак, да се приликом постављања дијагнозе хроничне бронхијалне болести занемарује чињеница, да се тек после три болести доњих дисајних путева може говорити само о ризику за астму, а не о већ постојећој болести. Истраживање је показало да је реални ризик за развој астме (три и више болести доњих дисајних путева са позитивним бар једним АПИ критеријумом) имало 7,4% деце у испитиваној групи, тј. 15,8% деце са болестима доњих дисајних путева, односно 35% деце са БХР.

Светски тренд постављања дијагнозе хроничне опструктивне болести плућа код деце, последица је тенденције ране примене фармакопрофилактичке терапије астме. Међутим, утврђено је да фармакопрофилактика инхалаторним гликокортикоидима смањује хронични инфламаторни процес у бронхјама, чиме редукује учесталост визинга (The Childhood Asthma Management Program Research Group, 2000), али да после 4-6 година и поред ове терапије долази до развоја ремоделовања дисајних путева, односно настанка астме (Basek и сар., 2005).

## **5.6. Бронхијална хиперреактивност, RSV инфекција и атопија**

С обзиром на то да се на основу клиничке слике и анамнестичких података о броју и тежини болести доњих дисајних путева не може закључити да ли је дете имало транзиторни визинг или перзистентну болест бронхија, која ће се у наредном периоду од четири до шест година развити у астму (Basek и сар., 2005), неопходно је да се акценат стави на утврђивање постојања атопије и/или вирусних инфекција у циљу исправне етиолошке дијагнозе визинга.

### **5.6.1 Утицај вируса**

Разматрањем утицаја RSV инфекције на испољавање БХР код деце узраста до 2 године, утврђено је да је RSV инфекција чешће присутна код деце са БХР у односу на децу без БХР. Већ неколико деценија уназад познато је да вирусне инфекције доњих дисајних путева (на првом месту бронхиолитиси) могу предходити појави и развоју визинга, БХР и/или астме током детињства (Sigurs и сар., 1995; Stein и сар., 1999; Bont и сар., 2000; Martinez, 2003; Sigurs и сар., 2005; Henderson и сар., 2005; Carroll and Hartert, 2008; Mohapatra and Bouyapalle, 2008; Carroll и сар., 2009; Escobar и сар., 2010; Escobar и сар., 2013). Подаци из литературе говоре да око 30% деце хоспитализоване због акутног

бронхиолитиса, имају поновљене респираторне симптоме у будућем периоду (Sigurs и сар., 2000, Sigurs, 2002, Sigurs и сар., 2005). Повећање инциденције визинга након RSV инфекције примећено је не само код деце са тешким RSV бронхиолитисом, већ и код деце која су имала благе RSV инфекције, која нису захтевала хоспитализацију (Mohapatra and Bouyapalle, 2008). И у овом истраживању утврђена је већа учесталост RSV инфекције код деце са БХР, иако је преко 90% деце са RSV инфекцијом имало блаже облике инфекције која нису захтевала хоспитализацију. Механизми којима RSV индукује БХР нису познати (Schauer и сар., 2002). На експерименталним, животињским моделима утврђена је дуготрајна перзистенција вируса у респираторном епителу (Mohapatra and Bouyapalle, 2008) која доводи до њеног оштећења и иницира појаву едема са екскрецијом серумских протеина у лумен дисајних путева, што доводи до њихове опструкције са појавом визинга. Такође, вирусом индукован имунски одговор (уз прилив инфламаторних ћелија) доприноси појави симптома респираторне болести и хиперреактивности дисајних путева (Guilbert and Denlinger, 2010). Међутим, већи број студија је показао да 50-70% деце губи симптоме бронхијалне хиперреактивности пре адолесцентног периода (Grol и сар., 1996). Ову групу деце у ствари чини фенотип БХР код деце без атопије, који се у Туксон студији дефинише као неатопијски визинг са добром прогнозом (Stein и сар., 1999; von Mutius и сар., 1999; Taussig и сар., 2003), али се у литератури за овај фенотип често користи и контраверзни термин „вирусом индукована астма“ (Stevenson и сар., 1997). Потврђено је да вирусне инфекције респираторног тракта могу изазвати транзиторну хиперреактивност бронхијалног стабла и код особа које немају астму. На експерименталним моделима (мишеви) је показано да током RSV инфекције долази до раног губитка цилијарних и нецилијарних ћелија трахеалног епитела, при чему је за њихову регенерацију било потребно најмање две недеље (Corne and Holgate, 1997). Сличне студије су показале и ефекат других респираторних вируса (вирус инфлуенце тип А, параинфлуенце тип-1) на дисрупцију респираторног епитела, појаву мултифокалне некрозе епитела са огољавањем базалне мембране, њено задебљавање, појаву хијалинизације и измену структуре дисајних путева (Corne and Holgate, 1997). У вирусној инфекцији утврђена је смањена сензитивност  $\beta$ -адренергичких рецептора (одговорних за бронходилатацију), као и повећана функција холинергичких нерава (одговорних за бронхоконстрикцију), што би могао бити механизам настанка вирусом индуковане бронхијалне хиперреактивности. Вирусна инфекција појачава холинергичку активност изазивајући дисфункцију мускаринских ацетилхолинских рецептора (M2 рецептора) јер утиче на парасимпатичке модулаторе као

што су хистамин, тромбоксан, серотонин и тахикинини (супстанца П) (Corne and Holgate, 1997). У вирусној инфекцији утврђено је смањење неутралних ендопептидаза које имају функцију у разграђивању супстанце П. Смањена активност неутралних пептидаза у респираторном епителу доводи до потенцирања ефекта супстанце П на холинергичку неуротрансмисију, настанак неурогене инфламације услед екстравазације, адхезију еозинофила и неутрофила на ендотел, секрецију субмукозних жлезда, што се манифестује појавом кашља и бронхоконстрикцијом (Corne and Holgate, 1997).

### **5.6.2 Атопија**

У овом истраживању није установљена већа учесталост атопије, екцема и астме у породици код деце са БХР, у односу на децу која нису развила БХР. У групи деце са БХР, свако пето дете је имало екцем, свако четврто дете је имало атопију, а само 2,7% деце са БХР у узрасту до 2 године је имало податак о постојању астме у породици. Међутим, када се разматра удруженост БХР и RSV инфекције резултати ове студије су указали да је свако треће дете са доказаном атопијом у узрасту до 2 године имало БХР, при чему је 77,8% деце атопичара са БХР имало и RSV инфекцију. Чини се вероватним да деца која већ имају атопију развијају и БХР удружен са RSV инфекцијом. До скоро се сматрало да се у случају дечије астме у 80-90% случајева ради о алергијској астми, али је временом установљено повећавање учесталости неалергијске астме у дечијем узрасту, које износи 6,9% до 46,8% (Arshad и сар., 2001; Basek и сар., 2005; Xiang и сар., 2006; Пић и сар., 2011). Фенотип - БХР удружен са RSV инфекцијом у овом истраживању је имало 8% деце, при чему су деца са атопијом и деца без атопије била подједнако заступљена (4% vs. 4%). Међутим, у групи деце са атопијом овај фенотип се јављао код 23% деце, док је код деце без атопије био заступљен са 5%.

### **5.7. Хуморални имунски одговор у БХР**

Деца са атопијом која су испољила БХР, имала су сем виших концентрација tIgE и више серумске концентрације анти-RSV IgA и IgG у односу на децу без атопије са БХР. Ово истраживање је показало да уколико дете развије БХР, концентрације анти-RSV IgA  $\geq 3,72\text{U/ml}$ , анти-RSV IgG  $\geq 19,33\text{U/ml}$  и/или tIgE  $\geq 10,44\text{kU/L}$  се могу сматрати поузданим маркерима постојања атопије.

*Cut off* вредност за tIgE који указује да дете са БХР има атопију је у референтним границама за узраст детета. У свакодневној клиничкој пракси, у ситуацији у којој су повишене вредности анти-RSV IgA и IgG уз нормалне концентрације tIgE, могло би се протумачити да се ради о БХР који је последица само RSV инфекције, без ризика за могући развој астме у каснијем узрасту. Како би се избегла могућност недијагностиковања атопије због ниских концентрација tIgE, намеће се закључак да је у свим ситуацијама постојања БХР, поред дијагностике вирусне етиологије, потребно одређивање и специфичних IgE као маркера атопије. Значај ране дијагнозе атопије лежи у чињеници да излагање алергенима доприноси развоју сензибилизације детета које има актуелну RSV инфекцију. Резултати добијени експериментима *in vivo* показују да вирусна инфекција ствара одговарајући про-алергијски миље и уколико се у одређеном временском интервалу експериментална животиња изложи инхалаторним алергенима, може се развити алерген-специфична упала дисајних путева (Wu and Hartert, 2011). Једна од студија која указује на RSV бронхиолитис као узрок настанка астме рађена је у Шведској, на малој кохорти деце која су била хоспитализована због тешког RSV бронхиолитиса. У овој студији утврђена је већа учесталост астме у одраслом добу, при чему је алергијска сензибилизација чешће била присутна већ у узрасту од три, седам, 13 година, као и у раном одраслом добу, у односу на контролну кохортну групу (Sigurs и сар., 2010). Суштина раног дијагностиковања атопије и вирусне инфекције лежи у правовременом спровођењу мера превенције које обухватају елиминацију алергена из околине детета са атопијом, како не би дошло до ране сензибилизације на инхалаторне алергене, односно испољавања астме.

Са друге стране, у овом истраживању је показано да иако без статистички значајне разлике, серумске концентрације tIgE су биле најниже код деце атопичара која су развила БХР (57,6 kU/L), у односу на децу атопичаре са болестима доњих дисајних путева без БХР (72,1 kU/L) и децу атопичаре само са болестим горњих дисајних путева (84,4 kU/L). Ниже концентрације tIgE код деце са атопијом и БХР у односу на децу атопичаре без БХР, могле би бити повезане са slabим и ТН-1 и ТН-2 имунским одговором (Chung и сар., 2007). Постоје подаци да су код RSV инфекције концентрације ТН-2 цитокина веома ниске или се не могу детектовати (Bont и сар., 2001; Garofalo и сар., 2001; Bennett и сар., 2007; Garcia и сар., 2012). Инфекција се у литератури наводи као фактор повећања серумске концентрације tIgE код деце са атопијом (Jovanovic и сар., 2015), па би ниже концентрације tIgE могле бити показатељ и смањеног капацитета ТН-2 имунског одговора у инфекцији код ове деце. Међутим, пошто су у исто време серумске

концентрације анти-RSV IgA и IgG високе, ниже вредности tIgE би могле бити примарно повезане са стимулацијом ТН-1 имунског одговора у RSV реинфекцијама (које се манифестују као БХР). Једно од могућих објашњења нижег нивоа tIgE код деце са атопијом и клиничком манифестацијом БХР могло би бити ТН-1 зависно слабљење ТН-2 атопијског имуног одговора, а што је у складу са хипотезом хигијене. Међутим, генетски условљен, снажан ТН-2 одговор код деце са атопијом представљао би океан, а ТН-1 одговор индукован вирусом био би тек кап воде у океану, због чега дете са атопијом ипак развија алергијску астму (Breindahl и сар., 2012).

### **5.8. Предвиђајући фактори за испољавање БХР**

У испитиваној популацији деце Шумадијског округа, ризичне групе за појаву БХР су деца старија од седам месеци, мушког пола, деца на вештачкој исхрани и она са доказаном RSV инфекцијом. Предвиђајући фактори за испољавање БХР су узраст и пол. Са сваким месецом живота, почевши од петог месеца, ризик за појаву БХР се повећава за 11%, док је код деце мушког пола тај ризик већи за 3,4 пута у односу на девојчице. Овај модел није обухватио атопију (зато што није показана већа учесталост БХР у односу на атопију), а RSV инфекција се није показала као фактор који даје јединствени статистички допринос испољавању БХР код деце узраста до 2 године.

Међутим, када је одвојено анализирана група деце са атопијом и без атопије, утврђено је да се код атопичара удруженост БХР и RSV инфекције јављала у 78% деце, док је то био случај у 25%, код деце без атопије.

#### **5.8.1 Предвиђајући фактори за испољавање БХР у RSV инфекцији**

Да би се дефинисали предвиђајући фактори који доводе до удруженог испољавања БХР и RSV инфекције, анализирана је учесталост овог фенотипа у односу на испитивана обележја. Већа учесталост БХР и RSV инфекције утврђена је код деце у другој години живота, код деце са атопијом и у подгрупи деце без атопије која су имала ларингитис.

Ларингитис представља главни предвиђајући фактор за испољавање БХР у групи деце са RSV инфекцијом, при чему деца која су испољила ларингитис су у 17,7 пута већем ризику да равију удружени БХР са RSV инфекцијом у односу на децу која нису имала ларингитис. Према подацима из литературе, деца са дијагнозом ларингитиса имају већи ризик од развоја астме. Деца која су боловала од ларингитиса удруженог са болестима доњих дисајних путева имала су 3 до 4 пута чешће каснији перзистентни

визинг и лошију спирометрију у првој, шестој и једанаестој години, у поређењу са децом без ларингитиса (Taussig и сар., 2003). У овој испитиваној групи, ларингитис се као анаменстички податак појавио у узрасту од 11,5 месеци и код деце која у 83,3% случајева нису била дојена. Деца која су имала удружен ларингитис, БХР и RSV инфекцију су у 80% била без атопије.

Други предвиђајући фактор за развој БХР у RSV инфекцији је атопија. Према резултатима овог истраживања атопија представља предиспозицију за удружено испољавање БХР и RSV инфекције и повећава ризик за појаву БХР код деце са RSV инфекцијом 5,7 пута. Многе студије су изнеле запажање да је присуство атопије код одојчади која су прележала вирусне болести праћене визингом, важан фактор ризика за развој БХР и/или астме (Lee и сар., 2007; Guilbert and Denlinger, 2010). Деца која имају визинг у раном детињству и атопијску конституцију (на пр. алергијску сензибилизацију, атопијски дерматитис, еозинофилију, односно алерген специфични IgE), уједно имају највећи ризик за развој астме у старијем узрасту (Guilbert and Denlinger, 2010).

Вирусне инфекције генерално (Martinez и сар., 1998) и посебно инфекција RSV (Openshaw, 2005; Openshaw and Trgoning, 2005; Culley и сар., 2006) могу да врше модулацију имунских механизма током постнаталног сазревања (Chung и сар., 2007). Вирусом индукована модулација имунског одговора највише долази до изражаја током акутне инфекције и пар недеља након ње (Schauer и сар., 2002). Подаци о перзистентној RSV инфекцији у епителу бронхија код атопичара (Guilbert and Denlinger, 2010) као и ефекат еозинофила на смањење инфективности RSV (Soukup and Becker, 2003), указују на ТН-2 окружење у ткиву плућа атопичара које омогућава перзистирање вируса. У случају да се код атопичара локално развије довољно ефикасни ТН-1 одговор (потребан за елиминацију вируса), јавиће се честе реинфекције овим вирусом.

Значај вирусне инфекције као иницијатора за стварање алергијске инфламације дисајних путева, демонстрирана је на експерименталним моделима код којих је анализиран урођени имунски одговор и улога и значај инваријантних Т-ћелија природних убица (енг. *invariant natural killer T cells*, iNKT) (Kim и сар., 2008; Holtzman и сар., 2009). Резултати добијени експериментима *in vivo* расветљавају значај интеракције између вирусне инфекције и изложености инхалаторним алергенима. Наиме, вирусна инфекција је у могућности да подеси одговарајући про-алергијски миље и уколико се у неком наредном временском интервалу експериментална животиња изложи утицају инхалаторних алергена, може се развити алерген специфична упала дисајних путева (Beigelman and Bacharier, 2013). Вирусне инфекције могу да оштете незрела плућа у



раном детињству или да покрену имунски одговор који ће даље покренути инфламацију дисајних путева и допринети њиховом ремоделовању. С друге стране деца која имају евиденту предиспозицију могу бити у опасности за развој тежих болести (Lowe и сар., 2004). Највероватнији сценарио би био да дете са атопијом и оштећеним епителом услед RSV инфекције (у одређеном узрасту), због генетске склоности да ствара IgE у одговору на алергене/антигене, развија и сензибилизацију управо на алергене којима је у том тренутку изложено. То за последицу има рану сензибилизацију на инхалаторне алергене из окружења. У старијем узрасту исти ефекат ће имати RV (Saglanı, 2013). Утврђено је да је код мале деце (узраста до три године) плућна функција знатно сиромашнија међу сензибилисаном децом (чак иако није праћена визингом), указујући на директан, штетан утицај саме атопије на плућну функцију (која је потпуно независна од астме) (Lowe и сар., 2002). Степен до ког атопијска конституција детерминише осетљивост на вирусну инфекцију још увек је предмет истраживања (Kusel MMH 2007). Једно од претпостављених објашњења указује на могућност да инфекција у ткиву са генетски детерминисаним доминантним ТН-2 имунским одговором има компензаторну улогу у смислу стимулације ТН-1 одговора, али да у једном тренутку долази до неефикасности описане ТН-1 стимулације услед могуће сензибилизације на вирус који почиње да делује као алерген (Ogra 2004; Kusel и сар., 2007). Kusel и сарадници (2007) сматрају да удружено дејство вирусне и алергијске инфламације у периоду брзог развоја плућа доводе до поремећаја диференцијације ткива са почетком развоја ремоделовања дисајних путева, које детерминише каснији настанак перзистентног визинга односно астме (Kusel и сар., 2007). Забележено је да скретање ка ТН-2 имунском одговору (као основном одговору на алергене код атопичара) доводи до слабљења имунског антимикуробног одговора атопичара услед наведене имунске девијације (Хатзипсалти и сар., 2008; Holt и сар., 2012). Такође, примарно лош и ТН-1 и ТН-2 имунски одговор код подгрупе деце са атопијом може да детерминише осетљивост на инфекцију односно испољавање имунодефицијенције кроз БХР.

БХР удружен са RSV инфекцијом који се карактерише постојањем атопије, код половине деце би спадао у групу атопијског визинга који је дефинисан у Туксон студији. Деца са атопијским визингом деле се у две групе: прву групу чине деца која су имала визинг у прве три године живота, а другу групу деца која су имала први визинг у узрасту од три до шест година. Сва деца су била сензибилисана на инхалаторне алергене у шестој години живота, али деца са атопијом која су имала први визинг у прве три године живота, имала су лошију функцију плућа и више концентрације укупног IgE у серуму у узрасту

између шесте и једанаесте године живота (Taussig и сар., 2003). Неатопијски визинг (визинг изазван вирусним инфекцијама - првенствено RSV) који се обично јавља током прве три године живота и на даље, има добру прогнозу код деце без атопије и није удружен са постојањем перзистентног визинга у 13. години живота. (Taussig и сар., 2003). Према резултатима овог истраживања, „неатопијски визинг“ из Туксон студије би могао да се односи само на другу половину деце са БХР и RSV инфекцијом која немају атопију, а која се у 40% карактерише испољавањем неатопијског ларингитиса.

### **5.8.2 Предвиђајући фактори за испољавање БХР без присутне RSV инфекције**

Ризичне групе деце која су испољила БХР без присутних анти-RSV антитела су деца мушког пола, узраста старијег од седам месеци и деца која нису имала упалу ува. Сва три обележја показала су се као предвиђајући фактори који независно доприносе развоју БХР без присутне RSV инфекције.

Деца мушког пола имају 6,3 пута већи ризик да развију БХР без присутних анти-RSV антитела у односу на женску децу. Међутим повезаност БХР са RSV инфекцијом уочен је само код мушке деце са атопијом (у 83,3%), што се може повезати са већом учесталашћу мушког пола у обољевању од RSV инфекције (Stensballe, 2002; Taussig и сар., 2003; Tsolia и сар., 2003). Са друге стране, мушка деца без атопије развијају БХР независно од RSV инфекције. Према резултатима ове студије, од 23 детета која су испољила БХР и нису имала анти-RSV антитела, 91,3% деце је било без атопије, при чему су ову групу у 82,6% чинили дечаци (19/23). Просечан узраст деце која су испољила БХР без RSV инфекције био је осам месеци. Због свега наведеног, БХР без присутних анти-RSV антитела у првој години живота код деце мушког пола без атопије, се може сматрати транзиторним визингом према дефиницији Туксон студије (Taussig и сар., 2003). Наиме, овај фенотип визинга (у раном узрасту) карактерише испољавање неколико епизода визинга током прве три године живота код деце без атопије која имају слабију функцију плућа (пре испољавања болести доњих дисајних путева), односно која имају мали калибар дисајних путева (што је карактеристично за децу мушког пола) или су примала терапију кисеоником на рођењу и била изложена дуванском диму. Ова деца не испољавају визинг после треће године живота (Taussig и сар., 2003).

У овој групи (са БХР без RSV инфекције), утврђено је да се код деце са акутном упалом ува смањује ризик од испољавања БХР за 6,5 пута у односу на децу која нису имала упалу ува. Постулати „хипотезе хигијене“ говоре да благе инфекције раног

детињства стимулишу сазревање имунског система према адултном ТН-1 имунском одговору (Friedlander и сар., 2005). „Хипотеза хигијене” је заснована на епидемиолошким подацима, али се као један од могућих патогенетских механизма разматра могућност да се код деце која су изложена антигенима микроорганизама током раног детињства развија ТН-1 имунски одговор који супримира ТН-2, доминантно алергијски имунски одговор. Са друге стране, изостанак инфекција узрокује доминацију ТН-2 имунског одговора. Међутим, показано је да уколико се деца без атопије изложе алергенима (гриње) увек долази до пада ТН-2 цитокина (IL-4), а повећања ТН-1 (IFN- $\gamma$ ) (Chung и сар., 2007). У исто време, уколико се деца са атопијом изложе утицају антигена из спољашње средине, увек долази до повећања ТН-2 имунског одговора (Chung и сар., 2007; Jovanovic и сар., 2015). Овим испитивањем је показано да је отитис протективни фактор за развој БХР, односно да постојање отитиса код деце смањује испољавање БХР без RSV инфекције. Ипак, мишљења смо да ова протективна улога отитиса није повезана са постулатима „хипотезе хигијене”, с обзиром на то да је његова протективна функција утврђена првенствено у групи деце са БХР без RSV инфекције и у групи деце са БХР без атопије, а што карактерише транзиторни визинг. Са друге стране, описана је удруженост упале ува са колонизацијом респираторног тракта бактеријама рода *Haemophilus* и *Streptococcus sp.* (Hollams и сар., 2010). Ове бактерије ослобађају антигене у облику партикула које су непогодне за унакрсно везивање и премошћавање IgE рецептора на мастоцитима. Детекција IgE према *Haemophilus* и *Streptococcus sp.* није удружена са ризиком за појаву бактеријске инфекције и инфламације дисајних путева, већ обратно, са смањеним ризиком за појаву астме (Hollams и сар., 2010). Претпоставља се да ова IgE имају антиинфламаторни ефекат према инфекцији (Holt и сар., 2012). Постоје и подаци о улози физиолошке микрофлоре бронхијалног стабла у протекцији епитела од хроничне инфламације (Ege и сар., 2011). Оригинални концепт „хипотезе хигијене” се усавршава и редефинише на основу великог броја података о томе на који начин се укрштају и интерреагују имунски одговор према микробиолошким агенсима и алергенима и посебно на који начин имунски одговор према једном агенсу, може утицати на отпорност према другом (Holt и сар., 2012; Weber и сар. 2015).

За сада још увек нема адекватног лека за RSV инфекцију и ефекти постојећих терапијских могућности су ограничени. Тренутно доступне, најефикасније мере у лечењу RSV инфекције односе се на укључивање кисеоника, спровођење честих аспирација секрета, адекватну исхрану и хидратацију одојчета. Мали је број деце са RSV инфекцијом која захтева хоспитализацију у јединици интензивне неге (Berger и сар.,

2009). Посебну пажњу захтевају деца са атопијом у првој години живота која су испољила тешке инфекције доњег респираторног тракта узроковане RSV, а које указују на могући каснији настанак перзистентног визинга и астме после пете године живота (Kusel и сар., 2007).

Мере спречавања нежељеног ефекта RSV на испољавање перзистентног визинга код деце са атопијом подразумевају неколико нивоа превенције:

- Примарна превенција подразумева спречавање настанка вирусне инфекције код деце са атопијом (избегавање боравка у обдаништима, проветравање просторија, избегавање контакта са болесном децом, смањење аерозагађења, смањење излагања дуванском диму, итд.). Дилема са којом се суочавају истраживачи је тренутни недостатак антивирусних агенаса који су одобрени за употребу код деце; посебан проблем представља недостатак специфичне вакцине против најважнијих патогена RV и RSV (Holt и сар., 2012). Област од посебног интереса у погледу решавања датог проблема алтернативним путем, односи се на повећање ендогених анти-инфламаторних механизма у плућима давањем оралних имуномодулатора (Holt и сар., 2012).
- Секундарна превенција подразумева са једне стране, да се код детета које има атопију и RSV инфекцију са оштећењем респираторног епитела, смањи дужина трајања инфекција, а са друге стране, спречи настанак ране сензибилизације на инхалаторне алергене кроз оштећени епител. Мере којима би се утицало да се смањи излагање детета уобичајеним алегенима као што су кућна прашина, гриње, полени, буђ, првенствено се морају применити у хоспиталним установама у којима се налазе најтеже оболела деца, али је неопходна и стална едукација родитеља у циљу исправне неге болесног детета у кућним условима. Утврђен је значај пробиотика у смањењу интензитета и дужини трајања респираторних симптома (de Vrese и сар., 2006), као и оралних бактеријских екстраката који смањују интензитет и дужину трајања визинга за 40%, код вирусне болести доњих дисајних путева (Razi и сар., 2010; Holt и сар., 2012).
- Терцијална превенција подразумева смањење тежине RSV инфекцијом изазваних егзарцербација већ настале астме. У овом делу разматра се увођење витамина Д деци са атопијом у школском узрасту, са циљем спречавања вирусом изазваних погоршања астме (Shin и сар., 2013; Weiss and Litonjua, 2015).

## 6. ЗАКЉУЧЦИ

1. Деца са атопијом су чешће имала позитиван налаз анти-RSV антитела у односу на децу без атопије.
2. У групи деце која су имала позитиван налаз анти-RSV антитела утврђена је већа учесталост хроничних болести бронхија код деце са атопијом у односу на децу без атопије.
3. Серумска концентрација анти-RSV IgA  $\geq 2,3$  U/ml може бити маркер испољавања болести респираторног система код деце са атопијом узраста до 2 године, док серумска концентрација анти-RSV IgA  $\geq 2,2$  U/ml може бити маркер испољавања болести доњих дисајних путева код деце без атопије ове узрасне категорије.
4. Серумске концентрације анти-RSV IgG  $\geq 20,4$  U/ml могу бити маркер испољавања болести доњих дисајних путева код деце са атопијом.
5. У групи деце без атопије, серумске концентрације tIgE су биле више код деце са позитивним налазом анти-RSV антитела у односу на децу без анти-RSV антитела, док у групи деце са атопијом није достигнута статистичка значајност те разлике.
6. Бронхијална хиперреактивност је утврђена код 21,1% деце.
7. RSV инфекција је чешће била присутна код деце која су имала БХР у односу на децу без БХР.
8. Статистички значајна разлика веће учесталости RSV инфекције код деце која су имала БХР у односу на децу без БХР забележена је само у групи атопичара, док у групи деце без атопије није утврђена статистичка значајност те разлике.
9. Серумске концентрације анти-RSV IgA  $\geq 3,72$  U/ml и анти-RSV IgG  $\geq 19,33$  U/ml, као и tIgE  $\geq 10,44$  U/ml могу бити маркери постојања атопије код деце која имају БХР, док у групи деце са болестима доњих дисајних путева без БХР, једино се tIgE  $\geq 68,2$  kU/L може сматрати маркером атопије.

10. Вредности серумских концентрација анти-RSV IgA  $\geq 2,86$  U/ml и анти-RSV IgG  $\geq 20,4$  U/ml указују на постојање БХР код деце са атопијом.
11. Ризичне групе деце која испољавају БХР су: деца узраста 13-24 месеца, мушког пола и деца на вештачкој исхрани, док као главне предвиђајуће факторе за испољавање БХР препознајемо: узраст, при чему се са сваким месецом старости повећава ризик за појаву БХР за 12% почевши од петог месеца живота и пол, при чему деца мушког пола имају 3,4 пута већи ризик да развију БХР у односу на девојчице.
12. Анализа RSV инфекције и атопије по узрастним групама је показала да се са узрастом у групи деце која су имала БХР смањује учесталост деце без атопије, а повећава број атопичара са БХР. Код неатопичара, RSV инфекција као узрок БХР одржавала се на 30-33%, док је код атопичара са БХР у другој години живота RSV инфекција била присутна у 85,7%.
13. Код дечака који су имали атопију RSV инфекција је била удружена са БХР у 83,3%, док је код мушке деце без атопије, БХР била повезана са RSV инфекцијом у само 17,4% случајева. У групи девојчица са БХР, RSV инфекција је била присутна код 2/3 испитаница, без обзира на атопију.
14. Предвиђајући фактори за испољавање БХР удружене са RSV инфекцијом су: атопија која повећава ризик 5,7 пута за појаву БХР код деце са RSV инфекцијом и дијагноза ларингитиса која повећава ризик 17,7 пута за појаву БХР код деце са RSV инфекцијом.
15. Предвиђајући фактори за испољавање БХР код деце која нису имала RSV инфекцију су: деца мушког пола - имају 6,3 пута већи ризик да развију БХР без RSV инфекције, деца која су имала упалу ушију - 6,5 пута ређе развијају БХР без RSV инфекције и узраст – односно са повећањем узраста долази и до повећања ризика за појаву БХР без RSV инфекције и то за 2,4 пута по категоријама узраста (у односу на узраст од 5-6 месеци).

## 7. ЛИТЕРАТУРА

Abbas AK, Lichtman AH. Osnovna imunologija: funkcije i poremećaji imunskog sistema, треће издање. Beograd: Data Status, Novi Sad: SPPrint, 2008; p. 205-47.

Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Mucosal Immunity in the Respiratory system. In: Cellular and molecular immunology. 7<sup>th</sup> ed. Elsevier Saunders, Philadelphia, 2012a; p. 308-9.

Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. The antiviral response. In: Cellular and molecular immunology. 7<sup>th</sup> ed. Elsevier Saunders, Philadelphia, 2012b; p. 353-56.

Al-Toum R, Bdour S, Ayyash H. Epidemiology and clinical characteristics of respiratory syncytial virus infections in Jordan. J Trop Pediatr 2006; 52(4):282-7.

Anderson LJ, Hierholzer JC, Bingham PG, Stone YO. Microneutralization test for respiratory syncytial virus based on an enzyme immunoassay. J Clin Microbiol 1985; 22(6):1050-2.

Arshad SH, Tariq SM, Matthews S, Hakim E. Sensitization to common allergens and its association with allergic disorders at age 4 years: a whole population birth cohort study. Pediatrics 2001; 108(2):E33.

Bacharier LB, Cohen R, Schweiger T, Yin-Declue H, Christie C, Zheng J et al. Determinants of asthma after severe respiratory syncytial virus bronchiolitis. J Allergy Clin Immunol 2012; 130(1):91-100.e3.

Baltimore D. Expression of animal virus genomes. Bacteriological reviews 1971; 35(3):235-41.

Basek P, Straubb D, Wildhaber JH. Childhood Asthma and Wheezing Disorders. In: Hammer J, Eber E (eds): Paediatric Pulmonary Function Testing. Prog Respir Res Basel, Karger, 2005, vol 33, p. 204–14.

Beigelman A, Bacharier BL. The role of early life viral bronchiolitis in the inception of asthma. Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology 2013; 13(2):211-6.

Bendelja K, Gagro A, Bace A, Lokar-Kolbas R, Krsulovic-Hresic V, Drazenovic V et al. Predominant type-2 response in infants with respiratory syncytial virus (RSV) infection demonstrated by cytokine flow cytometry. Clin Exp Immunol 2000; 121:332–38.

Bennett BL, Garofalo RP, Cron SG, Hosakote YM, Atmar RL, Macias CG et al. Immunopathogenesis of respiratory syncytial virus bronchiolitis. J Infect Dis 2007; 195(10):1532-40.

Berger TM, Aebi C, Duppenhaler A, Stocker M; Swiss Pediatric Surveillance Unit. Prospective population-based study of RSV-related intermediate care and intensive care unit admissions in Switzerland over a 4-year period (2001-2005). *Infection* 2009; 37(2):109-16.

Bitko V, Shulyayeva O, Mazumder B, Musiyenko A, Ramaswamy M, Look DC et al. Nonstructural proteins of respiratory syncytial virus suppress premature apoptosis by an NF-kappaB-dependent, interferon-independent mechanism and facilitate virus growth. *J Virol* 2007; 81(4):1786-95.

Blount Re Jr, Morris JA, Savage RE. Recovery of cytopathogenic agent from chimpanzees with coryza. *Proc Soc Exp Biol Med* 1956; 92(3):544-9.

Bont L, Aalderen WM, Kimpen JL. Long-term consequences of respiratory syncytial virus (RSV) bronchiolitis. *Paediatr Respir Rev* 2000; 1(3):221-7.

Bont L, Heijnen CJ, Kavelaars A, van Aalderen WM, Brus F, Draaisma JM et al. Local interferon-gamma levels during respiratory syncytial virus lower respiratory tract infection are associated with disease severity. *J Infect Dis* 2001; 184(3):355-8.

Boyce TG, Mellen BG, Mitchel EF Jr, Wright PF, Griffin MR. Rates of hospitalization for respiratory syncytial virus infection among children in medicaid. *J Pediatr* 2000; 137(6):865-70.

Brandenburg AH, Kleinjan A, van Het Land B, Moll HA, Timmerman HH, de Swart RL et al. Type 1-like immune response is found in children with respiratory syncytial virus infection regardless of clinical severity. *J Med Virol*. 2000; 62(2):267-77.

Breindahl M, Rieneck K, Nielsen C, Justesen T, Bendtzen K, Müller K. Cytokine responses in infants infected with respiratory syncytial virus. *Open Journal of Immunology* 2012; 2:40-8.

Brown PJ, Greville HW, Finucane KE. Asthma and irreversible airflow obstruction. *Thorax* 1984; 39:131-6.

Bush A. How Early do Airway Inflammation and Remodeling Occur? *Allergol Int* 2008; 57:11-9.

Calvo C, García-García ML, Blanco C, Pozo F, Flecha IC, Pérez-Breña P. Role of rhinovirus in hospitalized infants with respiratory tract infections in Spain. *Pediatr Infect Dis J* 2007; 26(10):904-8.

Carlsen KH, Orstavik I, Halvorsen K. Viral infections of the respiratory tract in hospitalized children. A study from Oslo during a 90 months' period. *Acta Paediatr Scand* 1983; 72(1):53-8.



Carroll KN, Hartert TV: The impact of respiratory viral infection on wheezing illnesses and asthma exacerbations. *Immunol Allergy Clin North Am* 2008; 28(3):539–61.

Carroll KN, Wu P, Gebretsadik T, Griffin MR, Dupont WD, Mitchel EF et al. The severity-dependent relationship of infant bronchiolitis on the risk and morbidity of early childhood asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2009; 123(5):1055-61.

Carroll KN, Gebretsadik T, Minton P, Woodward K, Liu Z, Miller EK et al. Influence of maternal asthma on the cause and severity of infant acute respiratory tract infections. *J Allergy Clin Immunol* 2012; 129:1236–42.

Casiano-Colón AE, Hulbert BB, Mayer TK, Walsh EE, Falsey AR. Lack of sensitivity of rapid antigen tests for the diagnosis of respiratory syncytial virus infection in adults. *J Clin Virol* 2003; 28(2):169-74.

Castro-Rodríguez JA, Holberg CJ, Wright AL, Martinez FD. A clinical index to define risk of asthma in young children with recurrent wheezing. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162:1403-6.

Chanock R, Roizman B, Myers R. Recovery from infants with respiratory illness of a virus related to chimpanzee coryza agent (CCA). I. Isolation, properties and characterization. *Am J Hyg* 1957; 66:281-90.

Chanock R, Finberg L. Recovery from infants with respiratory illness of a virus related to chimpanzee coryza agent (CCA). II. Epidemiologic aspects of infection in infants and young children. *Am J Hyg* 1957; 66:291-300.

Chung EK, Miller RL, Wilson MT, McGeady SJ, Culhane JF. Antenatal risk factors, cytokines and the development of atopic disease in early childhood. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2007; 92(1):F68-73.

Collins PL, Hill MG, Cristina J, Grosfeld H. Transcription elongation factor of respiratory syncytial virus, a nonsegmented negative-strand RNA virus. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93(1):81-5.

Collins PL, Crowe JE Jr, Knipe DM, Howley PM. Respiratory syncytial virus and Metapneumovirus. In: *Fields virology*. 5th ed. Lippincot W&W-Wolters Kluwer, Philadelphia; 2007. p. 1601-46.

Collins PL, Graham BS. Viral and Host Factors in Human Respiratory Syncytial Virus Pathogenesis. *J Virol* 2008; 82(5):2040-55.

Collins PL, Melero JA. Progress in understanding and controlling respiratory syncytial virus: still crazy after all these years. *Virus Res* 2011; 162(1-2):80–99.

Corne JM, Holgate ST. Mechanisms of virus induced exacerbations of asthma. *Thorax* 1997; 52(4):380-9.

Corry DB, Kheradmand F, Luong A, Pandit L. Immunological mechanisms of airway diseases and pathways to therapy. In: Rich RR. *Clinical Immunology Principles and practice*. 4th ed. Elsevier Saunders; 2013. p. 491-505.

Cowton VM, McGivern DR, Fearn R. Unravelling the complexities of respiratory syncytial virus RNA synthesis. *J Gen Virol* 2006; 87:1805-21.

Culley FJ, Pennycook AM, Tregoning JS, Hussell T, Openshaw PJ. Differential chemokine expression following respiratory virus infection reflects Th1- or Th2-biased immunopathology. *J Virol* 2006; 80(9):4521-7.

Cunningham CK, McMillan JA, Gross SJ. Rehospitalization for respiratory illness in infants of less than 32 weeks' gestation. *Pediatrics* 1991; 88(3):527-32.

Dawson-Caswell M, Muncie HL Jr. Respiratory syncytial virus infection in children. *Am Fam Physician* 2011; 83(2):141-6.

de Vrese M, Winkler P, Rautenberg P, Harder T, Noah C, Laue C et al. Probiotic bacteria reduced duration and severity but not the incidence of common cold episodes in a double blind, randomized, controlled trial. *Vaccine* 2006; 24(44-46):6670-4.

Delgado MF, Coviello S, Monsalvo AC, Melendi GA, Hernandez JZ, Batalle JP et al. Lack of antibody affinity maturation due to poor Toll-like receptor stimulation leads to enhanced respiratory syncytial virus disease. *Nat Med* 2009; 15(1):34-41.

Denny FW, Collier AM, Henderson FW, Clyde WA Jr. The epidemiology of bronchiolitis. *Pediatr Res* 1977; 11(3 Pt 2):234-6.

Ege MJ, Mayer M, Normand AC, Genuneit J, Cookson WO, Braun-Fahrlander C et al; GABRIELA Transregio 22 Study Group. Exposure to environmental microorganisms and childhood asthma. *N Engl J Med* 2011; 364(8):701-9.

Eisenhut M. Cerebral involvement in respiratory syncytial virus disease. *Brain Dev* 2007; 29(7):454.

El-Hajje MJ, Lambe C, Moulin F, Suremain Nd, Pons-Catalano C, Chalumeau M et al. The burden of respiratory viral disease in hospitalized children in Paris. *Eur J Pediatr* 2008; 167(4): 435-6.

Englund JA, Piedra PA, Jewell A, Patel K, Baxter BB, Whimbey E. Rapid diagnosis of respiratory syncytial virus infections in immunocompromised adults. *J Clin Microbiol* 1996; 34: 1649-53.

Escobar GJ, Ragins A, Li SX, Prager L, Masaquel AS, Kipnis P. Recurrent wheezing in the third year of life among children born at 32 weeks' gestation or later: relationship to laboratory-confirmed, medically attended infection with respiratory syncytial virus during the first year of life. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2010; 164(10):915-22.

Escobar GJ, Masaquel AS, Li SX, Walsh EM, Kipnis P. Persistent recurring wheezing in the fifth year of life after laboratory-confirmed, medically attended respiratory syncytial virus infection in infancy. *BMC Pediatr* 2013; 13:97.

Falsey AR, Walsh EE, Looney RJ, Kolassa JE, Formica MA, Criddle MC et al. Comparison of respiratory syncytial virus humoral immunity and response to infection in young and elderly adults. *J Med Virol* 1999; 59(2):221-6.

Falsey AR, Singh HK, Walsh EE. Serum antibody decay in adults following natural respiratory syncytial virus infection. *J Med Virol* 2006; 78(11):1493-7.

Fearn R, Collins PL. Role of the M2-1 transcription antitermination protein of respiratory syncytial virus in sequential transcription. *J Virol* 1999; 73(7):5852-64.

Fearn R, Peeples ME, Collins PL. Mapping the transcription and replication promoters of respiratory syncytial virus. *J Virol* 2002; 76(4):1663-72.

Feikin DR, Njenga MK, Bigogo G, Aura B, Gikunju S, Balish A et al. Additional diagnostic yield of adding serology to PCR in diagnosing viral acute respiratory infections in Kenyan patients 5 years of age and older. *Clin Vaccine Immunol* 2013; 20:113-4.

Feltes TF, Cabalka AK, Meissner HC, Piazza FM, Carlin DA, Top FH et al. Palivizumab prophylaxis reduces hospitalization due to respiratory syncytial virus in young children with hemodynamically significant congenital heart disease. *J Pediatr* 2003; 143:532-40.

Friedlander SL, Jackson DJ, Gangnon RE, Evans MD, Li Z, Roberg KA et al. Viral infections, cytokine dysregulation and the origins of childhood asthma and allergic diseases. *Pediatr Infect Dis J* 2005; 24:S170-6.

Fujihashi K, Boyaka PN, McGhee JR. Host defenses at mucosal surfaces. In: Rich RR. *Clinical Immunology Principles and practice*. 4th ed. Elsevier Saunders, Philadelphia, 2013; p. 239-51.

García C, Soriano-Fallas A, Lozano J, Leos N, Gomez AM, Ramilo O et al. Decreased innate immune cytokine responses correlate with disease severity in children with respiratory syncytial virus and human rhinovirus bronchiolitis. *Pediatr Infect Dis J* 2012; 31(1):86-9.

Gardinassi LG, Simas PV, Gomes DE, do Bonfim CM, Nogueira FC, Garcia GR et al. Diversity and adaptation of human respiratory syncytial virus genotypes circulating in two distinct communities: public hospital and day care center. *Viruses* 2012; 4(11):2432-47.

Garofalo RP, Patti J, Hintz KA, Hill V, Ogra PL, Welliver RC. Macrophage inflammatory protein-1alpha (not T helper type 2 cytokines) is associated with severe forms of respiratory syncytial virus bronchiolitis. *J Infect Dis* 2001; 184(4):393-9.

Gioula G, Melidou A, Exindari M, Chatzidimitriou D, Kyriazopoulou-Dalaina V. Contribution of RSV and hMPV to patients with influenza-like infections during 2006-2007 season in northern Greece, 2008; Abstract. 18th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Barcelona, Spain.

Global Initiative for Asthma (GINA). Global strategy for asthma management and prevention, 2009. <http://www.ginasthma.org> приступљено сајту 12.03.2011.

Graham BS. Pathogenesis of respiratory syncytial virus vaccine-augmented pathology. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 152(4 Pt 2):S63-6.

Grol MH, Gerritsen J, Postma DS. Asthma: from childhood to adulthood. *Allergy* 1996; 51:855-69.

Grootendorst DC and Rabe KF. Mechanisms of bronchial hyperreactivity in asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Proc Am Thorac Soc* 2004; 77-87.

Groothuis JR, Hoopes JM, Hemming VG. Prevention of Serious Respiratory Syncytial Virus –Related Illnes. I: Disease Pathogenesis and Early Attempts at Prevention. *Adv Ther* 2011; 28(2):91-109.

Grosfeld H, Hill MG, Collins PL. RNA replication by respiratory syncytial virus (RSV) is directed by the N, P, and L proteins; transcription also occurs under these conditions but requires RSV superinfection for efficient synthesis of full-length mRNA. *J Virol* 1995; 69:5677-86.

Guibas VG, Makris M, Papadopoulos GN. Acute Asthma Exacerbations in Childhood. Risk Factors, Prevention and Treatment. *Expert Rev Resp Med* 2012; 6(6):629-38.

Guilbert TW, Denlinger LC. Role of infection in the development and exacerbation of asthma. *Expert Rev Resp Med* 2010; 4:71–83.

Hall CB, Douglas RG Jr, Simons RL, Geiman JM. Interferon production in children with respiratory syncytial, influenza, and parainfluenza virus infections. *J Pediatr* 1978; 93(1):28-32.

Hall CB, Weinberg GA, Iwane MK, Blumkin AK, Edwards KM, Staat MA et al. The burden of respiratory syncytial virus infection in young children. *N Engl J Med* 2009; 360(6):588–98.

Hallak LK, Collins PL, Knudson W, Peeples ME. Iduronic acid-containing glycosaminoglycans on target cells are required for efficient respiratory syncytial virus infection. *Virology* 2000; 271(2):264-75.

Halvorsen R, Jenner A, Hagelin EM, and Borres M. Phadiatop Infant in the Diagnosis of Atopy in Children with Allergy-Like Symptoms. *Int J Pediatr* 2009; 2009:460737.

Harcourt J, Alvarez R, Jones LP, Henderson C, Anderson LJ, Tripp RA. Respiratory syncytial virus G protein and G protein CX3C motif adversely affect CX3CR1+ T cell responses. *J Immunol* 2006; 176(3):1600-8.

Hardy RW, Wertz GW. The product of the respiratory syncytial virus M2 gene ORF1 enhances readthrough of intergenic junctions during viral transcription. *J Virol* 1998; 72:520-6.

Hartert TV, Carroll K, Gebretsadik T, Woodward K, Minton P; Vanderbilt Center for Asthma and Environmental Health Research Investigators and Collaborators. The Tennessee Children's Respiratory Initiative: Objectives, design and recruitment results of a prospective cohort study investigating infant viral respiratory illness and the development of asthma and allergic diseases. *Respirology* 2010; 15(4):691-9.

Heikkinen T, Marttila J, Salmi AA, Ruuskanen O. Nasal swab versus nasopharyngeal aspirate for isolation of respiratory viruses. *J Clin Microbiol* 2002; 40:4337-9.

Henderson J, Hilliard TN, Sherriff A, Stalker D, Al Shammari N, Thomas HM. Hospitalization for RSV bronchiolitis before 12 months of age and subsequent asthma, atopy and wheeze: a longitudinal birth cohort study. *Pediatr Allergy Immunol* 2005; 16(5):386-92.

Heymann PW, Carper HT, Murphy DD, Platts-Mills TA, Patrie J, McLaughlin AP et al. Viral infections in relation to age, atopy, and season of admission among children hospitalized for wheezing. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 114(2):239-47.

Hilleman MR. Respiratory syncytial virus. *Am Rev Respir Dis* 1963; 88:181–97.

Hollams EM, Hales BJ, Bachert C, Huvenne W, Parsons F, de Klerk NH et al. Th2-associated immunity to bacteria in teenagers and susceptibility to asthma. *Eur Respir J* 2010; 36(3):509-16.

Holt PG, Sly PD. Interactions between RSV infection, asthma, and atopy: unraveling the complexities. *J Exp Med* 2002; 196:1271-5.

Holt PG, Sly PD. Interaction between adaptive and innate immune pathways in the pathogenesis of atopic asthma: operation of a lung/bone marrow axis. *Chest* 2011; 139:1165–71.

Holt PG, Strickland DH, Sly PD. Virus infection and allergy in the development of asthma: what is the connection? *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2012; 12(2):151-7.

Holtzman MJ, Byers DE, Benoit LA, Battaile JT, You Y, Agapov E et al. Immune pathways for translating viral infection into chronic airway disease. *Adv Immunol* 2009; 102:245-76.

Homaira N, Luby SP, Petri WA, Vainionpaa R, Rahman M, Hassain K et al. Incidence of respiratory virus-associated pneumonia in urban poor young children of Dhaka, Bangladesh, 2009-2011. *PLoS One* 2012; 7(2):e32056.

Hornsleth A, Friis B, Andersen P, Brenøe E. Detection of respiratory syncytial virus in nasopharyngeal secretions by ELISA: comparison with fluorescent antibody technique. *J Med Virol* 1982; 10(4):273-81.

Høst A, Halken S. The role of allergy in childhood asthma. *Allergy* 2000; 55:600-8.

Høst A, Halken S. Practical aspects of allergy-testing. *Paediatr Respir Rev* 2003; 4(4):312-8.

Hull, J. Genetic susceptibility to RSV disease. In PA Cane (ed.), *Respiratory syncytial virus*, vol. 14. Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, 2007; p. 115–40.

Ilić N, Veličković V, Djokić D, Ranković N, Kostić G, Marina Petrović M et al. Clinical manifestations of atopy in children up to two years of age. *Vojnosanit Pregl* 2011; 68(8):690–5.

ISAAC sampling phases: <http://isaac.auckland.ac.nz/phases/phases.html> приступљено сајту 15.03.2012.

Jackson DJ, Lemanske RF Jr. The role of respiratory virus infections in childhood asthma inception. *Immunol Allergy Clin North America* 2010; 30:513–22.

Janković B, Minić P, Maglajić-Đukić S, Prekajski N. Recommendations for the prevention of respiratory syncytial virus in high-risk pediatric groups. *Vojnosanit Pregl* 2009; 66(10):827–29.

Jartti T, Lehtinen P, Vuorinen T, Osterback R, van den Hoogen B, Osterhaus AD et al. Respiratory picornaviruses and respiratory syncytial virus as causative agents of acute expiratory wheezing in children. *Emerg Infect Dis* 2004; 10(6):1095-101.

Jawetz, Melnick, and Adelberg's medical Microbiology, twenty third edition by Brooks GF, Butel JS, Morse SA. Eds. McGraw-Hill Medical, 2004; p. 407-27.

Jeffcoate TN. Vaccine against respiratory syncytial virus. *Lancet* 1969; 2(7615):311.

Jenkins MA, Hopper JL, Bowes G, Carlin JB, Flander LB, Giles GG. Factors in childhood as predictors of asthma in adult life. *BMJ* 1994; 309:90–3.

Johnson JE, Gonzales RA, Olson SJ, Wright PF, Graham BS. The histopathology of fatal untreated human respiratory syncytial virus infection. *Mod Pathol* 2007; 20(1):108-19.

Johnson KM, Chanock RM, Rifkind D, Kravetz HM, Knight V. Respiratory syncytial virus. IV. Correlation of virus shedding, serologic response, and illness in adult volunteers. *JAMA* 1961; 176:663-7.

Joshi P, Shaw A, Kakakios A, Isaacs D. Interferon-gamma levels in nasopharyngeal secretions of infants with respiratory syncytial virus and other respiratory viral infections. *Clin Exp Immunol* 2003; 131:143–7.

Jovanovic D, Ilic N, Miljković-Selimović B, Djokić D, Relić T, Tambur Z et al. *Campylobacter jejuni* infection and IgE sensitization in infant up to two years of age. *Vojnosanit Pregl* 2015; 72 (2):119-210.

Jovanović T, Ćupić M, Stanojević M, Knežević A, Lazarević I. *Osnove molekularne virusologije*. Beograd: Medicinski fakultet Univerziteta, Quark, Beograd, 2006.

Jovanović T, Marković LJ et al. *Virusologija: udžbenik za studente medicine* Beograd: Medicinski fakultet Univerziteta, Institut za mikrobiologiju i imunologiju, Valjevo print, Valjevo, 2008; p. 123-32.

Karron RA, Belshe RB, Wright PF, Thumar B, Burns B, Newman F et al. A live human parainfluenza type 3 virus vaccine is attenuated and immunogenic in young infants. *Pediatr Infect Dis J* 2003; 22(5):394-405.

Kay AB. Allergy and allergic diseases. First of two parts. *N Engl J Med* 2001; 344(1):30-7.

Kieninger E, Regamey N. Rhinoviruses: markers of, or causative for, recurrent wheeze and asthma? *Eur Respir J* 2012; 39:238–9.

Kim CK, Choi J, Callaway Z, Kim HB, Chung JY, Koh YY et al. Clinical and epidemiological comparison of human metapneumovirus and respiratory syncytial virus in seoul, Korea, 2003-2008. *J Korean Med Sci* 2010; 25(3):342-7.

Kim EY, Battaile JT, Patel AC, You Y, Agapov E, Grayson MH et al. Persistent activation of an innate immune response translates respiratory viral infection into chronic lung disease. *Nat Med* 2008; 14(6):633-40.

Kim HW, Arrobio JO, Brandt CD, Jeffries BC, Pyles G, Reid JL et al. Epidemiology of respiratory syncytial virus infection in Washington, D.C. I. Importance of the virus in different

respiratory tract disease syndromes and temporal distribution of infection. *Am J Epidemiol* 1973; 98(3):216–25.

Kimpen JL, Simoes EA. Respiratory Syncytial Virus and Reactive Airway Disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163:1-2.

Kondgen S, Kuhl H, N'Goran PK, Walsh PD, Schenk S, Ernst N et al. Pandemic human viruses cause decline of endangered great apes. *Curr Biol* 2008; 18(4):260–64.

Korppi M, Kotaniemi-Syrjänen A, Waris M, Vainionpää R, Reijonen TM. Rhinovirus-associated wheezing in infancy: comparison with respiratory syncytial virus bronchiolitis. *Pediatr Infect Dis J* 2004; 23(11):995-9.

Krilov LR. Respiratory Syncytial Virus: Update on Infection, Treatment, and Prevention. *Curr Infect Dis Rep* 2001; 3(3):242-46.

Kristjansson S, Bjarnarson SP, Wennergren G, Palsdottir AH, Arnadottir T, Haraldsson A et al. Respiratory syncytial virus and other respiratory viruses during the first 3 months of life promote a local TH2-like response. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 116:805–11.

Kumaria R, Iyer LR, Hibberd ML, Simões EA, Sugrue RJ. Whole genome characterization of non-tissue culture adapted HRSV strains in severely infected children. *Virology* 2011; 8:372.

Kusel MM, de Klerk NH, Holt PG, Keadze T, Johnston SL, Sly PD. Role of respiratory viruses in acute upper and lower respiratory tract illness in the first year of life: a birth cohort study. *Pediatr Infect Dis J* 2006; 25(8):680–86.

Kusel MM, de Klerk NH, Keadze T, Vohma V, Holt PG, Johnston SL et al. Early-life respiratory viral infections, atopic sensitization, and risk of subsequent development of persistent asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2007; 119(5):1105-10.

Lambert SB, Whitley DM, O'Neill NT, Andrews EC, Canavan FM, Bletchly C et al. Comparing nose-throat swabs and nasopharyngeal aspirates collected from children with symptoms for respiratory virus identification using real-time polymerase chain reaction. *Pediatrics* 2008; 122: e615-20.

Laza-Stanca V, Message SD, Edwards MR, Parker HL, Zdrenghea MT, Keadze T, et al. The role of IL-15 deficiency in the pathogenesis of virus-induced asthma exacerbations. *PLoS Pathog* 2011; 7(7):e1002114.

Lee KK, Hegele RG, Manfreda J, Wooldrage K, Becker AB, Ferguson AC et al. Relationship of early childhood viral exposures to respiratory symptoms, onset of possible asthma and atopy in high risk children: the Canadian Asthma Primary Prevention Study. *Pediatr Pulmonol* 2007; 42(3):290-7.



Legge KL and Braciale TJ. Accelerated migration of respiratory dendritic cells to the regional lymph nodes is limited to the early phase of pulmonary infection. *Immunity* 2003; 18:265–77.

Lemanske RF Jr. The childhood origins of asthma (COAST) study. *Pediatr Allergy Immunol* 2002; 13( Suppl 15):38-43.

Levine S, Klaiber-Franco R, Paradiso PR. Demonstration that glycoprotein G is the attachment protein of respiratory syncytial virus. *J Gen Virol* 1987; 68:2521–24.

Liu AH, Covar RA, Spahn JD, Leung DYM. Childhood asthma. In: Kliegman RM, Behrman RE, Jenson HB, Stanton BF. *Nelson Textbook of Pediatrics*. 18th ed. Saunders Elsevier, Philadelphia, 2007; p. 953-69.

Lo MS, Brazas RM, Holtzman MJ. Respiratory syncytial virus nonstructural proteins NS1 and NS2 mediate inhibition of Stat2 expression and alpha/beta interferon responsiveness. *J Virol* 2005; 79(14):9315-9.

Loeffelholz M, Chonmaitree T. Advances in diagnosis of respiratory virus infections. *Int J Microbiol* 2010; 2010:126049.

Lowe L, Murray CS, Custovic A, Simpson BM, Kissen PM, Woodcock A; NAC Manchester Asthma and Allergy Study Group. Specific airway resistance in 3-year-old children: a prospective cohort study. *Lancet* 2002; 359(9321):1904-8.

Lowe L, Custovic A, Woodcock A. Childhood asthma. *Current Allergy and Asthma Reports* 2004; 4:159-65.

Macaubas C, de Klerk H, Holt B J, Wee C, Kendall G, Firth M et al. Association between antenatal cytokine production and the development of atopy and asthma at age 6 years. *Lancet* 2003; 362:1192–97.

Malhotra R, Ward M, Bright H, Priest R, Foster MR, Hurlle M et al. Isolation and characterisation of potential respiratory syncytial virus receptor(s) on epithelial cells. *Microbes Infect* 2003; 5(2):123-33.

Martinez FD, Stern DA, Wright AL, Taussig LM, Halonen M. Differential immune responses to acute lower respiratory illness in early life and subsequent development of persistent wheezing and asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1998; 102:915-20.

Martinez FD. Development of wheezing disorders and asthma in preschool children. *Pediatr* 2002; 109:362-7.

Martinez FD. Respiratory syncytial virus bronchiolitis and the pathogenesis of childhood asthma. *Pediatr Infect Dis J* 2003; 22:S76-82.

Martinez I, Melero JA. Binding of human respiratory syncytial virus to cells: implication of sulfated cell surface proteoglycans. *J Gen Virol* 2000; 81:2715-22.

Meerhoff TJ. Respiratory Syncytial Virus. Improving surveillance and diagnostics in Europe. Nederlandse titel: Respiratoir syncytieel virus. Het verbeteren van surveillance en diagnostiek in Europa. 2010. <http://www.nivel.nl> приступљено сајту 05.02.2012.

Meijboom MJ, Rozenbaum MH, Benedictus A, Luytjes W, Kneyber MC, Wilschut JC et al. Cost-effectiveness of potential infant vaccination against respiratory syncytial virus infection in The Netherlands. *Vaccine* 2012; 30(31):4691-700.

Mikalsen IB, Halvorsen T, Øymar K. The outcome after severe bronchiolitis is related to gender and virus. *Pediatric Allergy and Immunology* 2012; 23:391-8.

Miller EK, Lu X, Erdman DD, Poehling KA, Zhu Y, Griffin MR et al; New Vaccine Surveillance Network. Rhinovirus-associated hospitalizations in young children. *J Infect Dis* 2007; 195(6):773-81.

Miller EK, Gebretsadik T, Carroll KN, Dupont WD, Mohamed YA, Morin LL et al. Viral etiologies of infant bronchiolitis, croup and upper respiratory illness during 4 consecutive years. *Pediatr Infect Dis J* 2013; 32(9):950-5.

Mlinaric-Galinovic G, Welliver RC, Vilibic-Cavlek T, Ljubin-Sternak S, Drazenovic V, Galinovic I et al. The biennial cycle of respiratory syncytial virus outbreaks in Croatia. *Virol J* 2008; 5:18.

Mlinarić-Galinović G, Jović M, Knezović I, Tešović G, Čepin-Bogović J, Ivković-Jureković I et al. Epidemiološke osobine infekcija respiratornim sincicijskim virusom tijekom 2009. i 2010. godine u Zagrebu i Zagrebačkoj županiji. *Medicina Fluminensis* 2012; Vol. 48, No. 1, p.79-8.

Mohapatra SS, Boyapalle S. Epidemiologic, experimental, and clinical links between respiratory syncytial virus infection and asthma. *Clin Microbiol Rev* 2008; 21(3):495-504.

Murphy BR, Alling DW, Snyder MH, Walsh EE, Prince GA, Chanock RM et al. Effect of age and preexisting antibody on serum antibody response of infants and children to the F and G glycoproteins during respiratory syncytial virus infection. *J Clin Microbiol* 1986; 24(5):894-8.

Murphy BR. Mucosal immunity to viruses. In: Mestecky J, Lamm ME, Strober W, Bienenstock J, McGhee JR, Mayer L. *Mucosal immunity*. 3rd ed. Elsevier Academic Press, Amsterdam, The Netherlands; 2005. p. 799-815.

Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Paramixoviruses. IN: *Medical microbiology*. 7th ed. Elsevier Saunders, Philadelphia, 2013; p. 512-24.

Nair H, Nokes DJ, Gessner BD, Dherani M, Madhi SA, Singleton RJ et al. Global burden of acute lower respiratory infections due to respiratory syncytial virus in young children: a systematic review and meta-analysis. *Lancet* 2010; 375(9725):1545-55.

Nikfar R, Shamsizadeh A, Makvandi M, Khoshghalb A. Detection of Respiratory Syncytial Virus in Hospitalized Children With Acute Lower Respiratory Tract Infections, Using RT PCR in Ahvaz, Iran. *Arch Pediatr Infect Dis* 2013; 1(3):118-21.

Noton SL, Fearn R. The first two nucleotides of the respiratory syncytial virus antigenome RNA replication product can be selected independently of the promoter terminus. *RNA* 2011; 17:1895-906.

Noton SL, Deflubé LR, Tremaglio CZ, Fearn R. The respiratory syncytial virus polymerase has multiple RNA synthesis activities at the promoter. *PLoS Pathogens* 2012; 8:e1002980.

Novak N, Kraft S, Bieber T. Unraveling the mission of FcεRI on antigenpresenting cells. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 111:38–44.

Nuijten MJ, Wittenberg W, Lebmeier M. Cost effectiveness of palivizumab for respiratory syncytial virus prophylaxis in high-risk children: a UK analysis. *Pharmacoeconomics* 2007; 25(1):55-71.

Ogra PL. Respiratory syncytial virus: the virus, the disease and the immune response. *Paediatr Respir Rev* 2004; 5:119-26.

Okayama Y. Cellular and humoral immunity of virus-induced asthma. *Front Microbiol* 2013; 4(252):1-7.

Okiro EA, Sande C, Mutunga M, Medley GF, Cane PA, Nokes DJ. Identifying infections with respiratory syncytial virus by using specific immunoglobulin G (IgG) and IgA enzyme-linked immunosorbent assays with oral-fluid samples. *J Clin Microbiol* 2008; 46(5):1659-62.

Openshaw PJ. Antiviral immune responses and lung inflammation after respiratory syncytial virus infection. *Proc Am Thorac Soc* 2005; 2(2):121-5.

Openshaw PJM and Tregoning JS. Immune Responses and Disease Enhancement during Respiratory Syncytial Virus Infection. *Clin Microbiol Rev* 2005; 18:541-55.

Paes BA, Mitchell I, Banerji A, Lanctôt KL, Langley JM. A decade of respiratory syncytial virus epidemiology and prophylaxis: translating evidence into everyday clinical practice. *Can Respir J* 2011; 18(2):e10-9.

Pala P, Bjarnason R, Sigurbergsson F, Metcalfe C, Sigurs N, Openshaw PJ. Enhanced IL-4 responses in children with a history of respiratory syncytial virus bronchiolitis in infancy. *Eur Respir J* 2002; 20:376–82.

Papadopoulos NG, Xepapadaki P, Mallia P, Brusselle G, Watelet JB, Xatzipsalti M et al. Mechanisms of virus-induced asthma exacerbations: state-of-the-art. A GA2LEN and InterAirways document. *Allergy* 2007; 62(5):457-70.

Papadopoulos NG, Arakawa H, Carlsen KH, Custovic A, Gern J, Lemanske R et al. International consensus on (ICON) pediatric asthma. *Allergy* 2012; 67(8):976-97.

Pavlova S, Hadzhiolova T, Abadjieva P, Kotseva R. Application of RT-PCR for diagnosis of respiratory syncytial virus and human metapneumovirus infections in Bulgaria, 2006-7 and 2007-8. *Euro Surveill* 2009; 14(23):19233.

Peat JK, Woolcock AJ, Cullen K. Rate of decline of lung function in subjects with asthma. *Eur J Respir Dis* 1987; 70:171–9.

Pérez-Ruiz M, Pedrosa-Corral I, Sanbonmatsu-Gámez S, Navarro-Marí M. Laboratory detection of respiratory viruses by automated techniques. *Open Virol J* 2012; 6:151-9.

Pooririsak P, Halkjaer LB, Thomsen SF, Stensballe LG, Kyvik KO, Skytthe A et al. Causal direction between respiratory syncytial virus bronchiolitis and asthma studied in monozygotic twins. *Chest* 2010; 138(2):338-44.

Popow-Kraupp T, Lakits E, Kellner G, Kunz C. Immunoglobulinclass- specific immune response to respiratory syncytial virus structural proteins in infants, children, and adults. *J Med Virol* 1989; 27:215-23.

Popow-Kraupp T, and Aberle JH. Diagnosis of Respiratory Syncytial Virus Infection. *The Open Microbiology Journal* 2011; 5:128-34.

Queiróz DA, Durigon EL, Botosso VF, Ejzemberg B, Vieira SE, Mineo JR, et al. Immune response to respiratory syncytial virus in young Brazilian children. *Braz J Med Biol Res.* 2002; 35(10):1183-93.

Rasmussen F, Taylor DR, Flannery EM, Cowan JO, Greene JM, Herbison GP et al. Risk factors for hospital admission for asthma from childhood to young adulthood: a longitudinal population study. *J Allergy Clin Immunol* 2002; 110:220–7.

Razi CH, Harmancı K, Abacı A, Özdemir O, Hızlı S, Renda R et al. The immunostimulant OM-85 BV prevents wheezing attacks in preschool children. *J Allergy Clin Immunol* 2010; 126(4):763-9.

Relić T, Ilić N, Đokić D, Kostić G, Veličković V, Jovanović D. RSV Infekcija kod dece uzrasta do 2 godine. *Med čas* 2011; 45(3):9-15.

Renzi PM, Turgeon JP, Yang JP, Drblik SP, Marcotte JE, Pedneault L et al. Cellular immunity is activated and a TH-2 response is associated with early wheezing in infants after bronchiolitis. *J Pediatr* 1997; 130:584–93.

Republički zavod za statistiku. *Saopštenje* CH40. 163 LIX, 2009. (Републички завод за статистику. Саопштење CH40. 163 LIX, 2009.)

Roman M, Calhoun WJ, Hinton KL, Avendano LF, Simon V, Escobar AM et al. Respiratory syncytial virus infection in infants is associated with predominant Th-2-like response. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 1997; 156:190-95.

Roorda RJ, Gerritsen J, van Aalderen WMC, Schouten JP, Veltman JC, Weiss ST et al. Follow up of asthma from childhood to adulthood: influence of potential childhood risk factors on the outcome of pulmonary function and bronchial hyperresponsiveness in adulthood. *J Allergy Clin Immunol* 1994; 93:575–84.

Rosenberg HF, Dyer KD, Domachowske JB. Respiratory viruses and eosinophils: exploring the connections. *Antiviral Res* 2009; 83(1):1-9.

Saglani S. Viral infections and the development of asthma in children. *Ther Adv Infect Dis* 2013; 1(4):139–50.

Schauer U, Hoffjan S, Bittscheidt J, Köchling A, Hemmis S, Bongartz S et al. RSV bronchiolitis and risk of wheeze and allergic sensitisation in the first year of life. *Eur Respir J* 2002; 20(5):1277-83.

Scheid A, Choppin PW. Two disulfide-linked polypeptide chains constitute the active F protein of paramyxoviruses. *Virology* 1977; 80:54–66.

Semper AE, Heron K, Woollard AC, Kochan JP, Friedmann PS, Church MK et al. Surface expression of Fc epsilon RI on Langerhans' cells of clinically uninvolved skin is associated with disease activity in atopic dermatitis, allergic asthma, and rhinitis. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 112:411–9.

Shin YH, Shin HJ, Lee Y-J. Vitamin D status and childhood health. *Korean J Pediatr* 2013; 56(10):417-23.

Sigurs N, Bjarnason R, Sigurbergsson F, Kjellman B, Björkstén B. Asthma and immunoglobulin E antibodies after respiratory syncytial virus bronchiolitis: a prospective cohort study with matched controls. *Pediatrics* 1995; 95(4):500-5.

Sigurs N, Bjarnason R, Sigurbergsson F, Kjellman B. Respiratory syncytial virus bronchiolitis in infancy is an important risk factor for asthma and allergy at age 7. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161:1501-7.

Sigurs N. A cohort of children hospitalised with acute RSV bronchiolitis: impact on later respiratory disease. *Paediatr Respir Rev* 2002; 3:177–83.

Sigurs N, Gustafsson PM, Bjarnason R, Lundberg F, Schmidt S, Sigurbergsson F et al. Severe respiratory syncytial virus bronchiolitis in infancy and asthma and allergy at age 13. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 171(2):137-41.

Sigurs N, Aljassim F, Kjellman B, Robinson PD, Sigurbergsson F, Bjarnason R et al. Asthma and allergy patterns over 18 years after severe RSV bronchiolitis in the first year of life. *Thorax* 2010; 65(12):1045-52.

Simoes EA, Groothuis JR, Carbonell-Estrany X, Rieger CH, Mitchell I, Fredrick LM et al. Palivizumab prophylaxis, respiratory syncytial virus, and subsequent recurrent wheezing. *J Pediatr* 2007; 151:34–42,42.e31.

Simoes EA, Carbonell-Estrany X, Rieger CH, Mitchell I, Fredrick L, Groothuis JR. The effect of respiratory syncytial virus on subsequent recurrent wheezing in atopic and nonatopic children. *J Allergy Clin Immunol* 2010; 126:256–62.

Soukup JM, Becker S. Role of monocytes and eosinophils in human respiratory syncytial virus infection in vitro. *Clin Immunol* 2003; 107(3):178-85.

Spann KM, Tran KC, Collins PL. Effects of nonstructural proteins NS1 and NS2 of human respiratory syncytial virus on interferon regulatory factor 3, NF-kappaB, and proinflammatory cytokines. *J Virol* 2005; 79(9):5353-62.

Srikiatkachorn A, Braciale TJ. Virus-specific CD8+ T lymphocytes downregulate T helper cell type 2 cytokine secretion and pulmonary eosinophilia during experimental murine respiratory syncytial virus infection. *Exp Med* 1997; 186(3):421-32.

Stein RT, Sherrill D, Morgan WJ, Holberg CJ, Halonen M, Taussig LM et al. Respiratory syncytial virus in early life and risk of wheeze and allergy by age 13 years. *Lancet* 1999; 354(9178):541-5.

Stensballe LG. An epidemiological study of respiratory syncytial virus associated hospitalizations in Denmark. *Respir Res* 2002; 3:S34-9.

Stevenson EC, Turner G, Heaney LG, Schock BC, Taylor R, Gallagher T et al. Bronchoalveolar lavage findings suggest two different forms of childhood asthma. *Clin Exp Allergy* 1997; 27(9):1027-35.

Strannegård O, Cello J, Bjarnason R, Sigurbergsson F, Sigurs N. Association between pronounced IgA response in RSV bronchiolitis and development of allergic sensitization. *Pediatr Allergy Immunol* 1997; 8(1):1-6.

Subrata LS, Bizzantino J, Mamessier E, Bosco A, McKenna KL, Wikström ME et al. Interactions between innate antiviral and atopic immunoinflammatory pathways precipitate and sustain asthma exacerbations in children. *J Immunol* 2009; 183(4):2793-800.

Tam JS, Grayson MH. Dendritic cells, viruses, and the development of atopic disease. *J Allergy (Cairo)* 2012; 2012:936870.

Taussig LM, Wright AL, Holberg CJ, Halonen M, Morgan WJ, Martinez FD. Tucson Children's Respiratory Study: 1980 to present. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 111(4):661-75.

The Childhood Asthma Management Program Research Group: Long-term effects of budesonide or nedocromil in children with asthma. *N Engl J Med* 2000; 343:1054–63.

Thomsen SF, van der Sluis S, Stensballe LG, Posthuma D, Skytthe A, Kyvik KO et al. Exploring the association between severe respiratory syncytial virus infection and asthma: a registry-based twin study. *Am J Respir Crit Care Med* 2009; 179(12):1091-7.

Tregoning JS, Schwarze J. Respiratory viral infections in infants: causes, clinical symptoms, virology, and immunology. *Clin Microbiol Rev* 2010; 23(1):74-98.

Tremaglio CZ, Noton SL, DeFlube LR, Fearn R. The Respiratory syncytial virus polymerase can initiate transcription from position 3 of the leader promoter. *J Virol* 2013; 87:3196-207.

Tsolia MN, Kafetzis D, Danelatou K, Astral H, Kallergi K, Spyridis P et al. Epidemiology of respiratory syncytial virus bronchiolitis in hospitalized infants in Greece. *Eur J Epidemiol* 2003; 18(1):55-61.

Tsutsumi H, Matsuda K, Yamazaki H, Ogra PL, Chiba S. Different kinetics of antibody responses between IgA and IgG classes in nasopharyngeal secretion in infants and children during primary respiratory syncytial virus infection. *Acta Paediatr Jpn* 1995; 37(4):464-8.

van der Sande MA, Kidd IM, Goetghebuer T, Martynoga RA, Magnusen A, Allen S et al. Severe respiratory syncytial virus infection in early life is associated with increased type 2 cytokine production in Gambian children. *Clin Exp Allergy* 2002; 32:1430–35.

von Linstow ML, Høgh M, Nordbø SA, Eugen-Olsen J, Koch A, Høgh B. A community study of clinical traits and risk factors for human metapneumovirus and respiratory syncytial virus infection during the first year of life. *Eur J Pediatr* 2008; 167(10):1125-33.

von Mutius E, Illi S, Hirsch T, Leupold W, Keil U, Weiland SK. Frequency of infections and risk of asthma, atopy and airway hyperresponsiveness in children. *Eur Respir J* 1999; 14(1):4-11.

Walsh EE, McConnochie KM, Long CE, Hall CB. Severity of respiratory syncytial virus infection is related to virus strain. *J Infect Dis* 1997; 175(4):814-20.

Watts KD, and Goodman DM. Wheezing in infants: Bronchiolitis In: Kliegman RM, Behrman RE, Jenson HB, Stanton BF. Nelson Textbook of Pediatrics. Ed 18<sup>th</sup>, Saunders Elsevier, Philadelphia, 2007; p. 1773-7.

Weber J, Illi S, Nowak D, Schierl R, Holst O, von Mutius E et al. Asthma and the Hygiene Hypothesis: Does Cleanliness Matter? *Am J Respir Crit Care Med.* 2015; 191(5):522-9.

Weiss ST, Litonjua AA. Vitamin D, the gut microbiome, and the hygiene hypothesis. How does asthma begin? *Am J Respir Crit Care Med.* 2015; 191(5):492-3.

Welliver RC, Kaul TN, Putnam TI, Sun M, Riddlesberger K, Ogra PL. The antibody response to primary and secondary infection with respiratory syncytial virus: Kinetics of class-specific responses. *J Pediatr* 1980; 96:808–13.

Welliver TP, Garofalo RP, Hosakote Y, Hintz KH, Avendano L, Sanchez K et al. Severe human lower respiratory tract illness caused by respiratory syncytial virus and influenza virus is characterized by the absence of pulmonary cytotoxic lymphocyte responses. *J Infect Dis* 2007; 195(8):1126-36.

Wright AL, Taussig LM, Ray CG, Harrison HR, Holberg CJ. The Tucson Children's Respiratory Study. II. Lower respiratory tract illness in the first year of life. *Am J Epidemiol* 1989; 129(6):1232-46.

Wu P, Hartert T. Evidence for a causal relationship between respiratory syncytial virus infection and asthma. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2011; 9(9):731–45.

Xatzipsalti M, Psarros F, Konstantinou G, Gaga M, Gourgiotis D, Saxoni-Papageorgiou P et al. Modulation of the epithelial inflammatory response to rhinovirus in an atopic environment. *Clin Exp Allergy* 2008; 38:466–72.

Xiang L, Shen KL, Zhang Q, Xiong ZY. Atopy spectrum and its relationship with clinical characteristics in asthmatic children under 4 years of age. *Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi* 2006; 8(6):457-60.

Yu Q, Hardy RW, Wertz GW. Functional cDNA clones of the human respiratory syncytial (RS) virus N, P, and L proteins support replication of RS virus genomic RNA analogs and define minimal trans-acting requirements for RNA replication. *J Virol* 1995; 69(4):2412–19.

Zhang L, Peeples ME, Boucher RC, Collins PL, Pickles RJ. Respiratory syncytial virus infection of human airway epithelial cells is polarized, specific to ciliated cells, and without obvious cytopathology. *J Virol* 2002; 76(11):5654-66.



Živković Z. Učestalost astme, rinitisa i ekcema kod dece u Beogradu i Srbiji. Deč Pulm  
2002; 10:27-43.

## 8. ЛИСТА СКРАЋЕНИЦА

### А

API (АПИ) индекс - *Asthma Prediktive Index*, Индекс за утврђивање постојања ризика за развој астме

AIDS - *Acquired Immune Deficiency Syndrome* - Синдром стечене имунодефицијенције

Alternaria - *Alternaria* - врста гљиве

aMVP – *Avian metapneumovirus*, Птичији метапнеумовирус

ANOVA - *Analysis of Variance* - Анализа варијансе

APRIL - *A proliferation inducing ligand* - А пролиферишући индукујући лиганд

At – антитела

### В

BAFF - *B-cell activating factor* - Фактор активације Б-ћелија

BALT, БАЛТ - *Bronchus-associated lymphoid tissue*, Организовано лимфоидно ткиво бронхопулмоналног тракта

BCR - *B cell receptor* - Рецептор за антиген на површини Б-ћелија

*beta* – Стандардизовани коефицијент независне варијансе у линеарној регресији који се користи за израчунавање варијансе зависне променљиве

BHR, БХР – *Bronhijalna hiperreaktivnost*, Бронхијална хиперреактивност

BRSV- *Bovine respiratory syncytial virus*, Говеђи респираторни синцицијални вирус

В-лимфоцити – Б лимфоцити који који код човека сазревају у костној сржи, а код птица у *Bursa fabricii*, па отуда и скраћеница води порекло.

### С

CI 95% - *Confidence interval*, Интервал поузданости (за вероватноћу тачности налаза на нивоу 95%)

COAST студија - *Childhood Origins of ASThma*, COAST студија

°C – Температурна скала према Celsius-у

CTL – *Cytotoxic T lymphocytes*, Цитотоксични Т лимфоцити

## D

DC - *Dendritic Cell* - Дендритска ћелија

DIF - Метода директне имуофлуоресценције

df - *Degrees of freedom* – Степени слободе

## E

ELISA - *Enzyme linked immunosorbent assay* - Иmunски тест обележен ензимом

## F

FcRn - *Neonatal Fc receptor* , Неонатални Fc рецептор

FcεRI receptor – *Fc epsilon RI - The high-affinity IgE receptor*, Рецептор високог афинитета за IgE

FEV1 - *Forced expiratory volume*, Форсирани волумен експиријума, користи се за оцену пролазности дисајних путева

FEV<sub>1</sub>/FVC ratio – Спирометријски индекс; вредности добијене током спирометријских тестова пореде се са референтним вредностима за одређен пол, узраст, висину и тежину и изражавају се у процентима остварења предвиђених вредности. Тумачењем резултата спирометрије разликује се нормално дисање од опструктивног или рестриктивног типа дисања.

FI-RSV - *Formalin-inactivated respiratory syncytial virus vaccine*, Формалин инактивирана RSV вакцина

FVC – *Forced vital capacity*, Форсирани витални капацитет

## G

g - *gram* – Грам

G-CSF – *Granulocyte colony-stimulating factor* - Фактор стимулације колонија гранулоцита

## H

HBsAg – *Hepatitis B surface antigen* – Површински хепатитис Б антиген

HCV – *Hepatitis C virus* – Хепатитис Ц вирус

HIV - *Human immunodeficiency virus* – Вирус хумане имунодефицијенције

hMPV – *Human metapneumovirus* - Хумани метапнеумовирус

## I

ICAM-1 – *Intercellular adhesion molecule-1* - Интерцелуларни адхезивни молекул-1

IFN  $\alpha$  - *Interferon Alpha* - Алфа интерферон

IFN  $\beta$  - *Interferon Beta* - Бета интерферон

IFN $\gamma$  - *Interferon Gamma* - Гама интерферон

Ig - *Immunoglobulin* – Имуноглобулин

IgA - *Immunoglobulin class A* - Имуноглобулин класе А

IgE - *Immunoglobulin class E* - Имуноглобулин класе Е

IgG - *Immunoglobulin class G* - Имуноглобулин класе Г

IL - *Interleukin* - Интерлеукин

iNKT - *Invariant natural killer T cells* - Инваријантне Т-ћелије природне убице

IP - *Confidence interval* - CI - Интервал поузданости

IRF- *Interferon response factor* - Фактор одговора на интерферон

ISAAC студија – *The International Study of Asthma and Allergies in Childhood, ISAAC study* - Интернационална студија о алергији и астми у дечјем узрасту

## J

JAK – *Janus kinase* - Јанус киназа

## K

kb – Килобаза

## L

Laringomalација – *Laryngomalacia* - Недовољна чврстина хрскавице гркљана

LPS - *Lipopolysaccharide* – ЛПС- Липополисахарид

## M

MHC-1 - *Major histocompatibility complex-1* - Молекули главног комплекса ткивне подударности класе I

MKB (МКБ) шифре – Међународна класификација болести

## N

NF- $\kappa$ B - *Nuclear factor kappa B* - Нуклеарни фактор капа Б

NK - *Natural killer cell* - Урођеноубилачка ћелија

nm – Нанометар ( $1 \times 10^{-9} \text{m}$ )

## О

OR - *odds ratio* - Показатељ односа вероватноће

ORL, ОРЛ - Оториноларингологија

## Р

P – перцентил

p - *Probability* - Вероватноћа процене грешке

PCR- *Polymerase Chain Reaction* - Реакција ланчане полимеризације

*Phadiatop infant* – Вишеструки тест за детекцију специфичних имуноглобулина класе Е

PI3K - *Phosphatidylinositol-3-kinase* - Фосфатидилинозитол 3 киназа

PVM – *The pneumonia Virus of Mice* - Вирус мишије пнеумоније

## Q

qRT-PCR - *Quantitative reverse transcription PCR* - Квантитативни RT-PCR

## R

r - *Spearman's rho* - Коефицијент корелације

RBEL студија – *RSV bronchiolitis early life study*, Студија RSV бронхиолитиса раног доба

RLRs - *RIG-like receptors* - Интрацелуларни рецептори за препознавање вирусних патогена у урођеном имунском одговору

RNK (RNA) – *Ribonucleic Acid* - Рибонуклеинска киселина

RNP – *Ribonuclear protein* - Рибонуклеински протеин

ROC крива - *Receiver Operator Characteristic* - ROC крива је дијаграм стварног позитивног процента (тј. осетљивости-сензитивности) на у или вертикалној оси у односу на лажан позитиван проценат (специфичност) на x или хоризонталној оси, за вишеструке тачке граничне вредности дијагностичког испитивања.

RSV - *Respiratory syncytial virus* - Респираторни синцицијални вирус

RT-PCR - *Reverse transcription PCR* - PCR техника са реверзном транскрипцијом

RV - *Rhinovirus* - Риновирус

## **S**

SE - *Standard Error* - Стандардна грешка

SAD (САД) - Сједињене Америчке Државе

STAT – *Signal transducer and activator of transcription* - Трансдуктор сигнала и активатор транскрипције

Sp. - *species* - Врста

## **T**

TCRS студија - *Tucson Children's Respiratory Study* - Туксон студија

TCRI студија - *Tennessee Children's Respiratory Initiative* - Тенеси студија

TGF- $\beta$  - *Transforming growth factor  $\beta$*  - Фактор трансформације раста  $\beta$

TH-1 - субпопулација 1 T-helper лимфоцита

TH-2 – субпопулација 2 T-helper лимфоцита

tIgE - *Total serum IgE* - Концентрација укупних имуноглобулина класе Е у серуму

TLR - *Toll-like receptors* - Рецептор сличан протеину кодираном Toll - геном који је идентификован код винске мушице *Drosophila*

TM - Телесна маса

TNF- $\alpha$  - *Tumor Necrosis Factor alpha* - Фактор некрозе тумора алфа

Traheomalација – *Tracheomalacia* - Малформација душника

TSLP – *Thymic stromal lymphopoietin* - Лимфопоетин строма тимуса

## **U**

U - *units/ml* - јединице/ml

U – Разлика суме ранкова

## **Z**

z – Резултат апроксимације са корекцијом веза између података

## 9. ПРИЛОГ 1

### АНКЕТА (лични подаци)

Име и презиме детета \_\_\_\_\_

ЈМБГ детета \_\_\_\_\_

Датум рођења \_\_\_\_\_ Место рођења \_\_\_\_\_

Адреса становања и МЗ \_\_\_\_\_

Да ли је трудноћа оржавана ? ДА НЕ

Порођај ПРИРОДНИ ЦАРСКИ РЕЗ ВАКУУМ ФОРЦЕПС

Телесна маса на рођењу \_\_\_\_\_

Колико је месеци дојено? \_\_\_\_\_

У колико месеци је почето са мешовитом исхраном? \_\_\_\_\_

**Да ли је дете било у болници ? Ако јесте, колико пута, због чега и у ком узрасту?**

---

Табела 1. Болести дисајних путева по МКБ из базе података Дома здравља

Болести доњих дисајних путева које су праћене визингом		
J20	Акутно запаљење душница	Bronchitis acuta
J21	Акутно запаљење крајњих огранака душница	Bronchiolitis acuta
J44	Друга хронична опструктивна болест плућа	Morbus pulmonis obstructivus chronicus alius
J45	Астма- заптивање	Asthma bronchiale
Упале плућа		
J12	Запаљење плућа узроковано вирусима	Pneumonia viralis
J13	Запаљење плућа, узрочник <i>Streptococcus pneumoniae</i>	Pneumonia pneumococcica
J15	Запаљење плућа узроковано бактеријама	Pneumonia bacterialis
J16	Запаљење плућа узроковано другим заразним организмима	Pneumonia propter organismos infectivos alios
J18	Запаљење плућа, микроорганизам неозначен	Pneumonia, microorganismus non specificatus
Болести горњих дисајних путева		
J00	Акутно запаљење носног дела ждрела	Nasopharyngitis acuta
J30	Вазомоторна и алергијска кијавица	Rhinitis vasomotoria et rhinitis allergica
H65	Негнојно запаљење средњег ува	Otitis media non suppurativa
H02	Друге болести капка ока	Morbi palpebrae alii
H10	Запаљење вежњаче ока	Conjunctivitis
J02	Акутно запаљење ждрела	Pharyngitis acuta
J03	Акутно запаљење крајника	Tonsillitis acuta
J04	Акутно запаљење душника	Laryngitis acuta et tracheitis acuta