

UNIVERZITET U BEOGRADU

MEDICINSKI FAKULTET

KATARINA J. MILOŠEVIĆ

**ZNAČAJ GENETSKIH I FAKTORA SREDINE U
NASTANKU IDIOPATSKIH
BRONHIEKTAZIJA KOD DECE**

DOKTORSKA DISERTACIJA

Beograd, 2015.

UNIVERSITY OF BELGRADE
MEDICAL FACULTY

KATARINA J. MILOŠEVIĆ

**SIGNIFICANCE OF GENETIC AND
ENVIRONMENTAL FACTORS IN
CHILDHOOD IDIOPATHIC
BRONCHIECTASIS**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2015.

Mentor: Prof. dr sc. med Branimir Nestorović, *Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet*

Komentor: Dr Aleksandra Nikolić, *Naučni Saradnik, Institut za molekularnu genetiku i genetičko inženjerstvo, Univerzitet u Beogradu*

Članovi Komisije:

1. Prof. dr sc. med Vesna Škodrić Trifunović, *Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet*
2. Prof. dr sc. med Ljudmila Nagorni Obradović, *Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet*
3. Dr sc. Dragica Radojković, *Naučni Savetnik, Institut za molekularnu genetiku i genetičko inženjerstvo, Univerzitet u Beogradu*

Datum odbrane:

Disertacija je urađena na Univerzitetnoj dečijoj klinici u Beogradu i u Institutu za molekularnu genetiku i genetičko inženjerstvo Univerziteta u Beogradu

Mentori: prof dr. sc. Branimir Nestorović i dr Aleksandra Nikolić

Zahvaljujem se prof. dr. sc. Branimiru Nestoroviću mentoru ovog rada i mom učitelju od koga je potekao predlog o temi ovog rada.

Dr Aleksandri Nikolić mom komentoru i prijatelju, dugujem najveću zahvalnost za nesebičnu pomoć i stalnu podršku koju mi pruža od početka mog rada. Svakodnevna saradnja sa njom za mene predstavlja istinsku privilegiju.

Dr Dragici Radojković zahvaljujem na veoma korisnim sugestijama prilikom izrade i korekcija ovog rada.

Osoblju službe za pulmologiju i alergologiju, osoblju imunološke ambulante i osoblju službe za radiološku, biohemijsku i mikrobiološku dijagnostiku Univerzitetske dečije klinike jer bez njih ovaj rad ne bi bio moguć.

Podrška, pomoć i podsticaj Sneške u toku izrade ovog rada bili su za mene od najvećeg značaja. Zahvalnost je najmanje što joj dugujem.

I na kraju, svojoj porodici koja svemu daje smisao.

*Mom sinu Ognjenu,
posvećujem ovaj rad sa ljubavlju*

ZNAČAJ GENETSKIH I

FAKTORA SREDINE U NASTANKU IDIOPATSKIH

BRONHIEKTAZIJA KOD DECE

Sažetak

Cilj: U ovoj studiji ispitivan je uticaj mutacija u genima za regulator transmembranske provodljivosti u cističnoj fibrozi (CFTR) i neutrofilnu elastazu (ELANE) i uticaj faktora sredine (sekundarno pušenje, uslovi stanovanja i socioekonomski status) na pojavu ne CF-bronhiektazija kod dece.

Metodologija: Analizom je obuhvaćeno 48 ispitanika, starosti od 5 do 17 godina, kod kojih je dijagnoza idiopatskih bronhiektazija ustanovljena na osnovu skenera visoke rezolucije pluća. Kod svih pacijenata su primenjeni antibiotici, anti-inflamatorni lekovi, ekspektoransi i posturalna drenaža. Odgovor na terapiju praćen je promenom izdahnutog azot monoksida (NO) pre i posle terapije. Za analizu gena CFTR i ELANE korišćena je DNK izolovana iz uzoraka venske krvi, a analiza je vršena metodologijom zasnovanom na PCR (polymerase chain reaction) tehnici. Prisustvo promena u odabranim segmentima gena CFTR i ELANE vršeno je direktnim sekvenciranjem DNK.

Rezultati: Mutacija c.1521_1523delCTT (F508del) je otkrivena sa učestalošću od 1.0%, Zastupljenost genotipova koji sadrže varijantu c.1210-12T[5] (IVS8-5T) je viša nego u opštoj populaciji (10.4% vs. 5.0%, $P = 0.0302$). Postoji statistički značajna razlika u vrednosti inicijalnog NO između dece sa niskom/srednjom i visokom ELANE promotorskom aktivnošću ($t=2,906; p=0,006$). Deca sa visokom aktivnošću imaju značajno višu inicijalnu vrednost NO. Takođe postoji statistički značajna razlika u vrednosti promene

NO između dece sa niskom/srednjom i visokom promotorskom aktivnošću ELANE gena ($t=3,329$; $p=0,002$). Deca sa visokom aktivnošću imaju značajno veću promenu NO. Utvrđeno je i da postoji statistički značajna povezanost promene NO i promotorske aktivnosti ELANE gena ($r=0,350$; $p=0,015$).

Zaključak: Ovo je prvo istraživanje u svetu koje se bavi ulogom mutacija u genu ELANE u bronhiektazijama. Rezultati dobijeni u ovoj studiji ukazuju na učešće dve CFTR genske varijante, c.1210-12T [5] i c.1408A, u idiopatskim bronhiektazijama kod dece. Međutim ovo zapažanje bi trebalo dodatno potvrditi u opsežnom analizom CFTR gena u većoj grupi pacijenata. Pacijenti sa genotipom sa predviđenom visokom aktivnošću ELANE imali su bolji terapijski odgovor u odnosu na pacijente sa genotipovima za koje je karakteristična niska/srednja aktivnost, što ukazuje na potencijalnu ulogu ELANE genskih varijanti u modulatornoj terapiji u bronhiektazijama.

Ključne reči: deca, bronhiektazije, neutrofilna elastaza, genski polimorfizmi, pluća, inflamacija

SIGNIFICANCE OF GENETIC AND ENVIRONMENTAL FACTORS IN CHILDHOOD IDIOPATHIC BRONCHIECTASIS

Abstract

Aim: This study has investigated a potential role of common Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator (CFTR) and neutrophil elastase (ELANE) gene variants and the impact of environmental factors (secondary smoking, living conditions and socioeconomic status) in the etiology of non-cystic fibrosis bronchiectasis in children.

Methods: The study included 48 children between 5 and 17 years old who were diagnosed with idiopathic bronchiectasis based on high-resolution computed tomography of the thorax. In all patients therapy included administration of antibiotics, anti-inflammatory drugs, expectorants, and postural drainage. Response to therapy was evaluated by the change in NO levels before and after administration of therapy. The CFTR and ELANE gene analysis was performed on genomic DNA extracted from peripheral blood samples of patients by polymerase chain reaction (PCR) method. The CFTR and ELANE promoter region variants were analyzed by PCR-direct DNA sequencing.

Results: Mutation c.1521_1523delCTT (F508del) was detected with an allelic frequency of 1.0%, and c.224G > A (R75Q) variant. Carriers of c.1210-12T[5] (IVS8-5T) allele were significantly more common than in the general population (10.4% vs. 5.0%, $P = 0.0302$).

Subjects in the group with high-activity genotype had higher initial FeNO levels and this difference was statistically significant ($t = 2.906$; $p = 0.006$). The difference between FeNO levels before and after therapy was also statistically significantly higher in children with high-activity genotype ($t = 3.329$; $p = 0.002$). Statistically significant correlation was observed between the change in FeNO levels and ELANE genotypes ($r = 0.350$; $p = 0.015$).

Conclusion: The results obtained in this study indicate involvement of two common CFTR variants, c.1210-12T[5] and c.1408A, in idiopathic bronchiectasis in children, but this observation should be further confirmed by more extensive analysis of the CFTR gene in a larger group of patients. This is the first study of ELANE gene variants in bronchiectasis. Patients with predicted high-activity ELANE genotypes responded significantly better to therapy than patients with predicted low/intermediate- activity genotypes, indicating a potential role of ELANE gene polymorphisms as therapy modulators in bronchiectasis.

Keywords: children, bronchiectasis, neutrophil elastase, gene variants lung, inflammation

Sadržaj

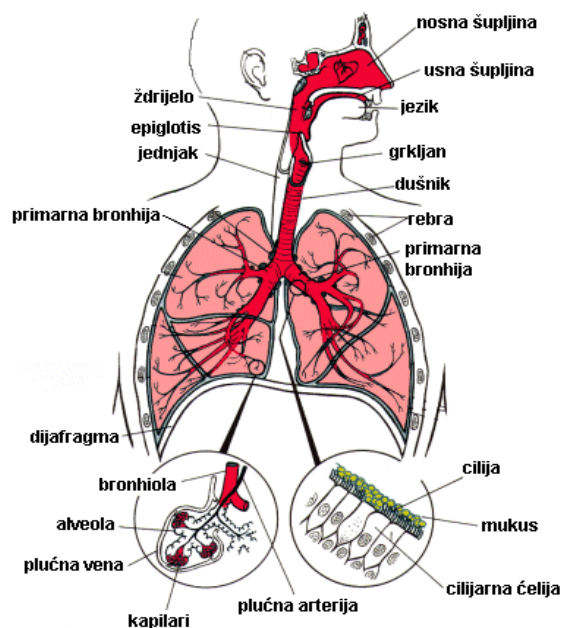
1. UVOD	1
1.1. RESPIRATORNI SISTEM	1
1.2. BRONHIEKTAZIJE	2
1.2.1. Definicija i klasifikacija bronhiektazija	2
1.2.2. Incidenca bronhiektazija	4
1.2.3. Patofiziologija bronhiektazija	5
1.2.4. Inflamatorni odgovor u bronhiektazijama	7
1.2.5. Etiologija bronhiektazija.....	8
1.2.6. Prognoza kod pacijenata sa dijagnostikovanim bronhiektazijama.....	10
1.3. KLINIČKA PROCENA BRONHIEKTAZIJA I DIJAGNOSTIČKE PROCEDURE	10
1.3.1. Indikacije.....	10
1.3.2. Klinička slika	12
1.3.3. Analize krvi	13
1.3.4. Imunološki testovi.....	14
1.3.5. Testovi funkcije pluća	14
1.3.6. Bronhoskopija.....	15
1.3.7. Mikrobiologija ispljuvka	16
1.3.8. Radiografija pluća.....	18
1.3.9. Skener visoke rezolucije (HRCT)	18
1.3.10. Isključivanje cistične fibroze	19
1.3.11. Isključivanje primarne cilijarne diskinezije	20
1.4. TERAPIJA BRONHIEKTAZIJA.....	21
1.4.1. Antibiotici	23
1.4.2. Antizapaljenski lekovi.....	24
1.5. REGULATOR TRANSMEMBRANSKE PROVODLJIVOSTI U CISTIČNOJ FIBROZI (CFTR)	24
1.5.1 Mutacije u genu CFTR	26
1.5.2 Klinička slika i korelacija CFTR genotipa i fenotipa	27
1.6. NEUTROFILNA ELASTAZA	29
1.6.1. Promotor gena za neutrofilnu elastazu.....	30
1.6.2. Uloga neutrofilne elastaze u bronhiektazijama	31
2. CILJ RADA.....	33

3. ISPITANICI, MATERIJAL I METODE	34
3.1. ISPITANICI	34
3.2. KLINIČKE I LABORATORIJSKE ANALIZE	34
3.2.1. Uzorkovanje sputuma	35
3.2.2. Mikrobiološki pregled indukovano sputuma	36
3.2.3. Spirometrija	36
3.2.4. Merenje izdahnutog NO	36
3.3. ANALIZA GENA CFTR i ELANE	37
3.4. STATISTIČKA ANALIZA	38
4. REZULTATI	39
4.1 KLINIČKE I DEMOGRAFSKE KARAKTERISTIKE GRUPE ISPITANIKA	39
4.2. ANALIZA GENA CFTR	46
4.3. ANALIZA GENA ELANE	48
5. DISKUSIJA	52
5.1. DEMOGRAFSKE I KLINIČKE KARAKTERISTIKE ISPITANIKA	52
5.2. UTICAJ SOCIOEKONOMSKIH FAKTORA I SEKUNDARNOG PUŠENJA	53
5.3. INFLAMACIJA KOD ISPITANIKA SA IDIOPATSKIM BRONHIEKTAZIJAMA	55
5.3. MIKROBIOLOŠKE KARAKTERISTIKE ISPITANIKA	58
5.4. ULOGA GENA CFTR U IDIOPATSKIM BRONHIEKTAZIJAMA	61
5.3. ULOGA GENA ELANE U ODGOVORU NA TERAPIJU U IDIOPATSKIM BRONHIEKTAZIJAMA	64
6. ZAKLJUČAK	67
7. LITERATURA	69
SPISAK SKRAĆENICA	95
BIOGRAFIJA AUTORA	96

1. UVOD

1.1. RESPIRATORNI SISTEM

Respiratorni sistem čoveka sastoji se od disajnih puteva i pluća (Slika 1) (1). Disajni putevi se mogu podeliti na gornje (nos i nosna duplja, ždrelo i usna duplja) i donje (grkljan i dušnik).



Slika 1. Respiratorni sistem čoveka

Na dušnik se nastavljaју две primarne bronhije (*bronchus principalis*) koje ulaze u levo i desno plućno krilo i grananjem daju lobarne bronhije (*bronchi lobares*), prečnika 3-6 mm. Lobarne bronhije se dalje granaju i formiraju segmentalne bronhije (*bronchus segmentalis*). Segmentalne bronhije se dihotomo granaju još 20 do 25 puta, a poslednjih 10 do 15 grananja daju bronhiole, sprovodne delove respiratornog sistema čiji je dijametar oko 1 mm. Na bronhiole se nastavljaју terminalne bronhiole dijametra 0,3 do 0,5 mm, a na

njih respiratorne bronhiole koje vode do alveolarnog stabla. Svi elementi od primarnih bronhija do plućnih alveola čine bronhijalno stablo.

Histološka slika bronhijalnog stabla se postepeno menja idući od primarnih ka respiratornim bronhijama (2). Zid primarnog bronha izgrađuju sluznica, podsluznica, hrskavica, glatki mišići i vezivno tkivo. Epitel je pseudoslojevit cilindričan. Peharaste ćelije epitela, kao i žlezde prisutne u podsluznici, formiraju sloj mukusa sa zaštitnom ulogom, u koji su uronjene cilije epitela. Cilijarne ćelije epitela radom cilija na apikalnoj površini pomeraju sloj mukusa prema ždrelu, omogućavajući nesmetan protok vazduha. Manje bronhiole u svom zidu nemaju hrskavičavih elemenata, dok epitel postepeno postaje jednoredan cilindričan, bez peharastih ćelija i žlezda podsluznice (3). Uprkos malom dijametru bronhiola, koji je često manji od 1,5 mm, one ne prave veliki otpor proticanju vazduha upravo zbog svoje velike brojnosti, koja se procenjuje na oko 65000 kada su u pitanju terminalne bronhiole (4). Ipak, u patološkim stanjima bronhiole imaju veću ulogu u formiranju prepreka za protok vazduha jer se i lakše zatvore usled kontrakcije mišića zida, edema ili nagomilavanja mukusa. Razmena gasova obavlja se u plućnim alveolama, brzom pasivnom difuzijom kroz respiratornu membranu debljine oko 0,5 μm zahvaljujući razlici parcijalnih pritisaka gasova u krvi i alveolarnom vazduhu (5).

1.2. BRONHIEKTAZIJE

1.2.1. Definicija i klasifikacija bronhiektazija

Pojmom bronhiektazija obuhvaćena su sva patološka stanja u kojima dolazi do dilatacije bronhijalnog stabla (6). Karakteriše ih narušavanje epitela sa pojavom fibroze kao i neadekvatno regulisan inflamatorni odgovor. Više faktora dovodi do pojave bronhiektazija, ali se kao najvažniji javljaju oštećenje epitela i infekcija. Patološki putevi koji dovode do ovog stanja su brojni: obstrukcija disajnih puteva stranim telom ili rastućim tumorom, oštećenja izazvana infekcijama (tuberkuloza, male boginje, pertusis), cistična fibroza, narušeni odbrambeni mehanizmi domaćina (sindrom nepokretnih cilija, hipogamaglobulinemija, infekcija virusom humane imunodeficijencije) i autoimune bolesti

(reumatoidni artritis) (6,7,8) Približno polovina slučajeva bronhiektazija se vodi kao idiopatska, jer je pravi uzrok stanja teško odrediti (9).

Morfološku klasifikaciju na cilindrične, vretenaste i saćaste bronhiektazije a data je u tabeli 1. je ustanovio Reid (1950.), (6).

Tabela 1. Klasična klasifikacija bronhiektazija (Reid)

Vrsta bronhiektazija	Karakteristike
Cilindrične	Bronhijalno stablo uniformno dilatirano, sa zadebljalim zidom, dilatacija do perifernih disajnih puteva, bez redukcije broja (na bronhogramu izgleda kao da je smanjen, jer su periferni disajni putevi ispunjeni mukusom, pa se ne prikazuju).
Vretenaste	Lokalizovana mreža suženja naizmenično sa proširenjima, slično varikoznim venama. Broj generacija disajnih puteva redukovan na polovinu.
Saćaste	Bronhi dilatirani, liče na grozdove cista ispunjenih vazduhom ili tečnošću. Broj grana sveden na oko četvrtinu normalnog.

Witwell (1952) daje nešto drugačiju klasifikaciju koja ukazuje u izvesnoj meri i na etiologiju. Tako po njegovoj klasifikaciji postoje folikularne i atelektatične (trakcione) bronhiektazije. Folikularne se tako nazivaju, jer se neposredno oko bronha nalaze brojni limfoidni folikuli. Postoji predilekcija za levi lobus. Može se desiti da bude zahvaćen samo jedan izolovan bronhopulmonalni segment. Epitel na bronhiektatičnim područjima je obično intaktan, a povremeno se nalaze plitke ulceracije, prekrivene granulacionim tkivom. U zidu bronha dominira fibroza, sa uništenjem submukoznih žlezda i hrskavice. U nekim slučajevima limfocitni infiltrat okružuje bronhiolu, a na tom mestu dolazi do stenoze disajnog puta (6).

Atelektatične (trakcione) bronhiektazije se viđaju u pacijenata koju su imali atelektazu, bilo usled kompresije disajnog puta spolja ili procesa u samom parenhimu (npr. pneumonija). Stoga se češće javljaju u desnom plućnom krilu, a posebno u desnom

srednjem lobusu. Fibrozne trake koje nastaju, povlače i deformišu zid bronha, tako da se ovaj tip bronhiektazija nikad ne javlja u slučaju kada je atelektaza prouzrokovana kompresijom parenhima izlivom ili vazduhom u pleuralnom prostoru. Ovo se posebno često događa u srednjem desnom režnju (sindrom srednjeg režnja). Razlog je u anatomsom položaju ovog bronha, koji je dug i uzan, sa malom količinom hrskavičavog tkiva u zidu i okružen je limfnim čvorovima. Stoga veoma lako kolabira pri kompresiji. Kod primarne tuberkuloze, kompresija od strane uvećanih limfnih čvorova dovodi do kolapsa lobusa. Ukoliko atelektaza dugo traje, dolazi do sekundarne infekcije i nastajanja bronhiektazija. Ponekad se one otkriju godinama kasnije i jedini znak koji ukazuje na etiologiju je prisustvo kalcifikovane limfne žlezde u hilusu. U pogođenom lobusu su dilatirani svi disajni putevi. Histološke promene zavise od vremena proteklog od atelektaze (6).

Plućna mikrobiološka flora kod osoba sa bronhiektazijama se razlikuje u zavisnosti od starosnog doba. Najčešći patogeni donjih respiratornih puteva su: *Haemophilus influenzae* (sojevi bez kapsule), *Streptococcus pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis* i *Pseudomonas aeruginosa* (12). Osim što pospešuju inflamaciju, bakterije u donjim respiratornim putevima oštećuju epitel i onemogućavaju rad cilija formiranjem biofilma i produkcijom toksina, što omogućava uspostavljanje dugotrajne infekcije. Kod približno jedne trećine pacijenata prisutna je hronična infekcija sa *P. aeruginosa* koja se povezuje sa bržim gubitkom plućne funkcije i češćim akutnim pogoršanjem zdravstvenog stanja (13).

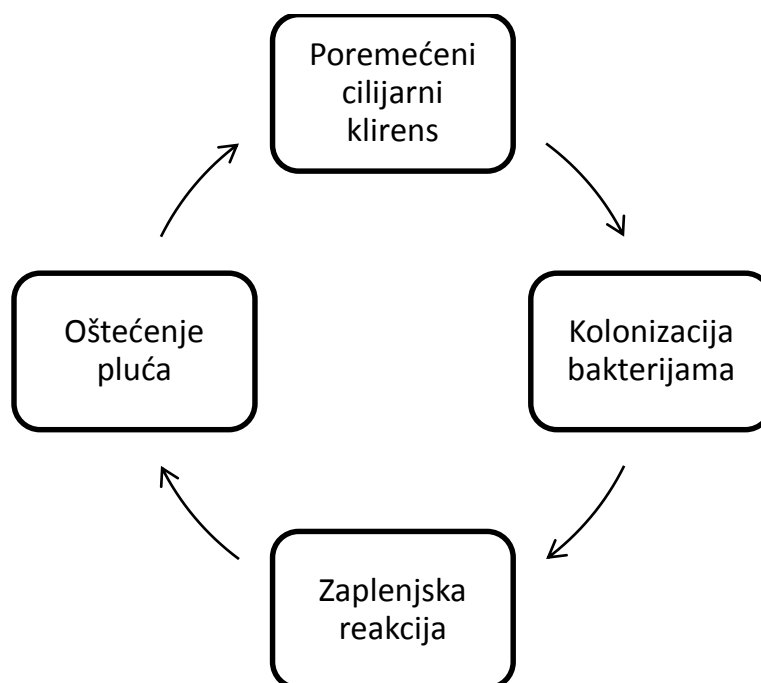
1.2.2. Incidenca bronhiektazija

Incidenca pojave bronhiektazija većinom je nepoznata. Nekoliko studija je pokazalo da se 1950godine do danas, smanjio broj prijema u bolnice. Većinom se ovo pripisuje uvođenju antibiotika i zbog toga se bronhiektazije više ne smatraju jednim od čestih uzroka hospitalizacije. Procenjuje se da prevalenca bronhiektazija varira od 3.7/100000 dece na Novom Zelandu do 52/100000 odraslih u SAD. Kod dece su bronhiektazije koje nisu povezane sa cističnom fibrozom (ne-CF bronhiektazije) uočene kod 1 % svih slučajeva u populaciji Engleske. U Engleskoj dugi niz godina nije bilo studija iako je prisustvo

bronhiektazija na rendgenskim snimcima tokom 1950-tih godina sugerisalo učestalost od 100/100000. Učestalost se povećavala sa godinama, jer starije studije nisu uključivale moderne dijagnostičke tehnike a pogotovo skener visoke rezolucije (HRCT) (23). Stvarna važnost ovog problema je u ozbiljnosti oboljenja, egzarcerbacijama i većoj učestalosti, iako nažalost prava učestalost pojave bronhiektazija u većini zemalja ostaje nepoznata.

1.2.3. Patofiziologija bronhiektazija

Patofiziološki gledano bronhiektazije su i dalje nedovoljno poznate. Najšire prihvaćena hipoteza o samom procesu bolesti je hipoteza začaranog kruga (slika 2): inicijalno oštećenje epitela praćeno infekcijom i nedovoljno regulisan inflamatorni proces koji omogućava pojavu novih infekcija (10). Biopsija bronhijalne mukoze pacijenata pokazuje infiltraciju neutrofila i T limfocita, a u sputumu se mogu detektovati povišene koncentracije elastaze i hemoreaktanata interleukina 8 (IL-8), faktora nekroze tumora alfa (TNF- α) i prostanoida (11).



Slika 2. Hipoteza „začaranog kruga”

Bronhiektazije su uporno i progresivno stanje koje se prepoznaje po suženim bronhijama “debelih zidova”. Simptomi infekcije pluća variraju od povremenih do svakodnevnih ekspektoracija, često praćenih obilnim, gnojnim ispljuvkom. Bronhiektazije se često mogu povezati sa drugim nespecifičnim respiratornim simptomima koji uključuju postojanje dispneje, bolova u grudima, hemoptizija i mogu napredovati ka razvoju respiratorne insuficijencije (24).

Suštinski patološki proces je oštećenje disajnih puteva što je rezultat postojanja inflamacije kao centralnog procesa. Ovo se lako može objasniti hipotezom “začaranog kruga” koja se javlja u bronhiektazijama i jedan je od glavnih faktora koji utiče na lečenje. Pluća se stalno izlažu patogenima koji se udišu i aerozagađivačima iz prirodne sredine. Pluća imaju sofisticirani primarni i sekundarni odbrambeni sistem koji održava njihovu sterilnost. Ako se ovaj odbrambeni sistem naruši kao kod oštećenja mukocilijarnog klirensa ili drugih specifičnih oboljenja, pluća postaju podložna infekciji, dolazi do kolonizacije (prisustvo bakterija u donjem respiratornom traktu), a potom inflamacije koja prouzrokuje oštećenje disajnih puteva što dalje oslabljuje odbrambeni sistem domaćina. Kada dođe do inicijalnog oštećenja odbrambenog sistema dolazi do ponavljanja ciklusa koji olakšavaju kolonizaciju bakterijama i sterilnost disajnih puteva postaje nemoguća (25-27).

Primarni defekti kod odbrambenih sistema pluća odraslih pacijenata koji su ispitivani su ili jedva vidljivi ili ne utiču na primarni događaj. Nedostatak imuniteta je češće prisutan kada se bronhiektazije pojave u detinjstvu. Epizode koje prouzrokuju oštećenje pluća kao što su prethodne upale pluća, gastrične aspiracije ili virusna oboljenja u detinjstvu mogla bi da izazovu početne slučajeve bronhiektazija iako skorašnji dokazi ukazuju da je to možda manje uobičajeno. Oštećenja disajnih puteva takvim epizodama bi naročito oštetila normalnu mukocilijarnu funkciju i čišćenje udahnutih patogena koji započinju ciklus inflamacije (28-31). Međutim, uprkos brojnim studijama koje su sprovedene tokom godina još uvek i do 40 % pacijenata nema jasan uzrok koji određuje kada proces nastanka bronhiektazija započinje (32,33).

Kod cistične fibroze, koja je najčešći uzrok bronhiektazija, dolazi do narušavanja sekrecije i reapsorpcije jona i vode, što dovodi do formiranja hiperviskoznog mukusa koji onemogućava mukocilijarni transport, a pogodan je za razvoj bakterija kao što su *Pseudomonas* i *Stafilococcus* (6). Razlog su mutacije u CFTR genu koji kodira membranski

transportni protein, sa ulogom u transportu brojnih jona, od čega je transport jona hlora naročito značajan.

1.2.4. Inflamatorni odgovor u bronhiektazijama

Kod pacijenata sa bronhiektazijama prisutan je karakterističan neutrofilni inflamatorni odgovor sa povećanom koncentracijom neutrofilne elastaze i mijeloperoksidaze u bronhijalnom stablu (14). Proinflamatorni medijatori IL-8, interleukin 1 β (IL-1 β) i TNF- α su najverovatnije uključeni u migraciju neutrofila kroz zid bronhija u lumen, na šta ukazuje jasna pozitivna korelacija između koncentracije ovih faktora i količine patogenih mikroorganizama koji se mogu izolovati iz pluća obolelih. Neutrofili poseduju sposobnost fagocitoze, produkcije reaktivnih kiseoničnih medijatora i antimikrobnih supstanci, a kada su aktivirani vrše sekreciju više proteza, uključujući neutrofilnu elastazu, katepsin G i proteazu 3 (15). Pored neutrofila, u održavanju inflamacije učestvuju i makrofagi, T limfociti i eozinofili. Oslobođajući brojne inflamatorne medijatore, ove ćelije privlače neutrofile u bronhijalno stablo i regulišu imuni odgovor. Pokazano je da čak i ćelije respiratornog epitela sekretuju proinflamatorne medijatore i na taj način održavaju lokalnu inflamaciju.

Molekul humanog C reaktivnog proteina (CRP) je pentamerne strukture, sastavljen od 5 identičnih polipeptidnih subjedinica koje sadrže 206 amino kiselina (16). Ovaj protein pripada pentraksinskoj porodici kalcijum-zavisnih ligand vezujućih plazma proteina, uglavnom se sintetiše u jetri i predstavlja jedan od proteina akutne faze imunog odgovora, sa poluživotom u serumu od oko 19 sati (17). Najveći afinitet vezivanja pokazuje za fosfolipidske rezidue, ali može vezivati i druge ligande. Među biološke strukture koje CRP vezuje spadaju lipoproteini plazme, oštećene ćelijske membrane, ćelije u fazi apoptoze, komponente membrana i kapsula bakterija, gljiva i parazita. Po vezivanju za ligand, CRP pokreće klasični put aktivacije komplementa i stimuliše fagocitozu od strane makrofaga. Koncentracije CRP se nakon stimulisanja produkcije mogu povećati i do 10000 puta. pa je ovaj molekul sistemski marker inflamacije kod većine bolesti i oštećenja tkiva.

Azot monoksid (NO) je biološki medijator koji se sintetise kako u konstitutivnim ćelijama mukoze, tako i u inflamatornim ćelijama i produkt je delovanja enzima NO sintaze (18). Pored njegove uloge kao odbrambenog molekula, toksičnog za brojne patogene mikroorganizme, NO ima ulogu i u regulisanju rasta, aktivnosti i umiranja brojnih inflamatornih ćelija, uključujući makrofage, T limfocite i neutrofile (19). Sintezu NO od strane makrofaga stimulišu pojedini citokini, imuni kompleksi i različiti produkti mikrobnog i viralnog porijekla (lipoproteini, flagelin, nukleinske kiseline) (20). Mikrobicidno dejstvo NO ostvaruje direktnom interakcijom sa nukleinskim kiselinama i proteinima mikroorganizama, ali i preko svojih metabolita (peroksinitrit). Azot monoksid u izdahnutom vazduhu se koristi u kliničkoj praksi kao pokazatelj inflamacije disajnih puteva (21). Koncentracije NO u izdahnutom vazduhu se razlikuju kod različitih stanja, zavisno od mehanizma nastanka bolesti, pa su tako snižene vrednosti zabeležene kod cistične fibroze i primarne cilijarne diskinezije a povećane kod astme i bronhiektazija pri egzacerbacijama (22).

1.2.5. Etiologija bronhiektazija

Poslednjih godina je postalo jasno da termin bronhiektazija obuhvata grupu oboljenja, a ne jedan entitet. Pregled etioloških tipova bronhiektazija je dat u tabeli 2.

Tabela 2. Etiologija bronhiektazija

Etiologija	Primer
Kongenitalne	Williams-Campbell sindrom Mournier-Kuhh sindrom Marfanov sindrom
Genetski uslovljene	Cistična fibroza Primarna cilijarna diskinezija Deficit alfa-1 antitripsina
Stečene	Posle aspiracije stranog tela Postinfektivne (pertusis, TBC, AIDS) U sklopu astme, sarkoidoze, reumatskih bolesti, lupusa

Kongenitalne bronhiektazije su ređe nego što se prethodno smatralo. U specifične uzroke sa ubrajaju Williams-Campbell sindrom (deficijent bronhijalne hrskavice), traheobronhomegalija (Mournier-Kuhh sindrom) i Marfanov sindrom, a poslednji predstavlja H-tip traheobronhijalne i esofagobronhijalne malformacije kao što su sekvestrecija ili još ređe deformacije rebra (31).

Genetski udružene bronhiektazije najčešće se javljaju u sklopu cistične fibroze (CF). Kod dece koja imaju bronhiektazije, CF je na vrhu liste diferencijalnih dijagnoza (98,99). Raspronstrenjanost CF kod pacijenata koji imaju bronhiektazije proučavana je u nekoliko studija (100-103). Bronhiektazije se javljaju i u sklopu primarne cilijarne diskinezije (PCD), pošto ovi pacijenti imaju urođenu abnormalnost cilijarne funkcije i česte probleme u svim delovima respiratornog trakta gde se nalaze cilije (104-108). Uloga deficita alfa - 1 antitripsina u etiologiji bronhiektazija je čest uzrok debate i opovrgavanja tokom poslednjih godina. Veza je postulirana pošto je jedan broj slučajeva povezao teži oblik (Pi ZZ fenotip) deficita alfa-1 antitripsina sa bronhiektazijama kod pojedinačnih ili manjeg broja slučajeva (109-117). Druge studije nisu potvrdile ovu povezanost, a utvrđeno je da većina pacijenata sa deficitom ostaju asimptomatični tokom života ako ne puše (118-120).

Stecene bronhiektazije kod dece su najčešće uslovljene aspiracijom stranih tela u donji deo disajnog trakta. Aspiracija gastrointestinalnog sadržaja i inhalacija štetnih gasova je dokumentovana kao uzrok bronhiektazija u slučajevima dece i odraslih i oni su ukratko opisani u različitim studijama. Hranjenje dece koja su u ležećem položaju hranom baziranom na lipidima dovodi do razvoja lipidne upale pluća i bronhiektazija. Upravo je način hranjenja opisan kao glavni faktor rizika za nastanak bronhiektazija (34-36). Pertusis, plućna tuberkuloza, infekcija mikoplazmom pneumonije i virusna upala pluća (naročito adeno virusi, boginje, ali i influenza i respiratorni sincicijalni virusi) su dodatno direktno povezivani sa trajnim oštećenjem pluća i razvojem bronhiektazija u velikom broju studija (37-42). Bronhiektazije takođe mogu da se razviju kod pacijenata sa primarnim i sekundarnim imunodeficijencijama (52-64). Ponovljene infekcije gornjeg i donjeg respiratornog trakta su karakteristike nekih oblika imunodeficijencije i kod dece i kod odraslih (65-74). Takođe je uočena i dilatacija bronhija kod pojedinih astmatičara.

Karakteristike definitivnih bronhiektazija se ne viđaju tako često ali sa jasno povećanom učestalošću u poređenju sa grupama zdravih osoba (75-80). Bronhiektazije su uočene i kod grupe pacijenata sa oboljenjima vezivnih tkiva, što je tema skorašnjih studija, koji obuhvata period pre, tokom i posle pojave HRCT-a kao definitivnog dijagnostičkog modaliteta (83-93). Utvrđena je i povezanost bronhiektazija sa ulcerativnim kolitisom (95,96).

1.2.6. Prognoza kod pacijenata sa dijagnostikovanim bronhiektazijama

Prognoza pacijenata posmatrana kroz duži vremenski interval obično je dobra uz postojanje manjeg progresivnog gubitka plućne funkcije koja nema uticaja na mortalitet. Brojne studije koje su sprovedene do danas podupiru ovo gledište i sugerišu da je uvođenje terapije antibioticima dovodi do pozitivnog efekta. Na primer, 1940-tih godina većina pacijenata sa dijagnozom bronhiektazija je umirala pre navršene 40 godine života, ali već do 1960-tih prosečno doba se popelo na 55 godina (121). Skoriji podaci sugerišu bolju prognozu iako se potencira da opšte zdravlje pacijenata sa bronhiektazijama može biti loše i pojedine podgrupe pacijenata (naročito one sa kulturama *Pseudomonas*-a) su naročito ugrožene brojnim egzacerbacijama bolesti i progresivnim pogoršanjem (122)).

1.3. KLINIČKA PROCENA BRONHIEKTAZIJA I DIJAGNOSTIČKE PROCEDURE

1.3.1. Indikacije

Produktivan kašalj, naročito između virusnih prehlada, je najvažniji znak koji treba uzeti u razmatranje kod dece, kao i hronični kašalj ili vlažan kašalj svakog dana tokom 8 nedelja (osim kod deteta koje povremeno ima kašalj sa periodima kompletnog izlečenja tokom 8 nedelja) (123). Takođe treba uzeti u obzir dete sa produženim, akutnim kašljem

(3-8 nedelja) kod koga se simptomi pogoršavaju i postaju učestaliji. Mlađa deca obično ne iskašljavaju ispljuvak (124,125).

U nekim slučajevima kod dece simptomi koji se pripisuju astmi ili slabo reaguju na konvencionalne metode lečenja, možda su u stvari povezani sa bronhiektazijama. U tom pogledu samo najtipičnije slučajeve "astme praćene kašljem" ne treba dalje istraživati. Do razvoja bronhiektazija može doći kod lokalizovane hronične bronhijalne opstrukcije, uključujući organsko strano telo koje se pojavljuje sa konsolidacijom, ili kada se kasni sa bronhoskopskim otklanjanjem (126). Teži slučajevi gastroezofagealnog refluksa, nekoordinisano gutanje ili kasna pojava fistule H-tipa i poremećaji ezofagealne pokretljivosti (uključujući i pacijente koji su operisali atreziju ezofagusa) treba da budu uzeti u obzir kao mogući etiološki uzroci razvoja bronhiektazija.

Mikrobiološki faktori takođe treba da upozore na razvoj bronhiektazija kod dece. Pozitivna kultura ispljuvka na bakterijske organizme može da ukaže na suštinski poremećaj koji je u vezi sa bronhiektazijama, naročito prisutnost *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* i netuberkulozne mikobakterije (CF ili primarna cilijarna diskinezija) ili *Burkholderia cepacia* (hronična granulomatozna oboljenja ili CF) (127). Neki organizmi imaju sklonost da prouzrokuju ishode na duže vreme, na primer naročiti serotipovi adenovirusa (7,14,21). *Bordetella pertussis* ili bilo koja epizoda teže upale pluća (bez obzira na uzročnika) treba da se dalje ispita, naročito ako simptomi nisu jasni ili ukoliko nema značajnih kliničkih znakova bolesti (128,129).

Na sumnju navode i epizode konsolidacije koje se ponavljaju (dve ili više) ili postojanje lokalizovane ili multifokalne uporne i neobjašnjive radiografske abnormalnosti plućnog parenhima nakon 12 nedelja posle prvog oboljenja. U ove spadaju infiltrati, konsolidacije ili atelektaze. Međutim, pojedini radovi sugerišu da postoje izuzeci, kao na primer kod pacijenata koji su imali infekciju respiratornim sincicijalnim virusom gde postojanje uporne atelektaze pluća nije faktor rizika za pojavu bronhiektazija (129).

Uvek treba uzeti u razmatranje postojanje bronhiektazija ukoliko postoje znaci koji ukazuju na cističnu fibrozu (dijareja, nenapredovanje, rektalni prolaps, poremećaj elektrolita), primarnu cilijarnu diskineziju (neonatalni početak simptoma kao što su rinitis i prestanak disanja bez očiglednog uzroka, ozbiljan hroničan otitis media naročito sa hroničnom otorejom) ili sistemsku imunodeficijenciju (teški slučajevi, uporne ili

ponovljene infekcije, infekcije neobičnim organizmima ili deca za koju se zna da su HIV pozitivna). Čak i minorne imunodeficijencije kao što su deficijencije funkcionalnih antitela mogu se dovesti u vezu sa bronhiektazijama. Pozitivna porodična istorija ili neobjašnjiva respiratorna bolest mogu da budu od važnosti u dijagnostici bronhiektazija (130,131).

1.3.2. Klinička slika

Kada se pregleda literatura o kliničkim znacima bronhiektazija kod dece vidi se da su mnogi radovi zastareli, da se odnose na decu koja boluju već duže vreme ili na lokalne populacije koje žive u siromaštvu, tako da se umanjuje njihova važnost u savremenoj lekarskoj praksi čiji je cilj da se simptomi i znaci bolesti prepoznaju veoma rano. Skorašnje studije su pokazale da se sa dijagnozom može zakasniti u periodu od 3 do 3,6 godina nakon pojave prvih simptoma, pošto je moguće da dete sa utvrđenim bronhiektazijama možda nema uobičajene simptome kao što su hroničan vlažan kašalj koji ima produktivan gnojni sputum. (132,133).

U literaturi se opisuju "wheezing" i povremene hemoptizije (134,135,136). Dispneja je opisana u mnogim studijama koje se bave bronhiektazijama. Kod dece može da se javi nemogućnost da napreduju i neuhranjenost uprkos normalnoj težini i visini (138,139). Ređe se opisuju groznica, bolovi u grudima i ponovljene infekcije donjeg respiratornog trakta (140). Simptomi i klinička slika kod dece sa bronhiektazijama dati su u tabelama 3 i 4.

Tabela 3. Karakteristični simptomi bronhiektazija kod dece

Simptomi	Prisutnost u obolele dece
Kašalj	Preko 80%
Iskašljavanje gnojnog sputuma	Oko 60%
Inspirijumska pucketanja	Preko 90%
Maljičasti prsti	Između 40 i 50%
Hemoptizije	Između 4 i 8%

Tabela 4. Klinička slika bronhiektazija kod dece

Često	Retko
- Neprekidan kašalj, obično vlažan - Sinusitis - Hroničan otitis media koji se ponavlja - Apnee u neonatalnom periodu ili pneumonije - Nenapredovanje - Atipična astma koja se ne može izlečiti	- Dekstrokardija ili situs inversus - Atrezija ezofagusa - Bilijarna atrezija - Hidrocefalus - Pozitivna porodična istorija (obično brat ili sestra)

Interpretacija literature što se tiče fizikalnog nalaza je komplikovana u smislu važnosti za trenutnu populaciju. Dok se klasični znaci uznapredovalog oboljenja (maljičasti prsti, cijanoza, deformitet grudnog koša, hiperinflacija) spominju u skorašnjim studijama, pojedine studije kod pacijenata sa ne-CF bronhiektazijama pokazuju da pacijenti ne moraju uvek da imaju maljičaste prste i da deformitet grudnog koša ne mora biti uobičajen (141,142). Značajan znak su svakako inspirijumska pucketanja koja predstavljaju otvaranje disajnih puteva ispunjenih tečnošću prilikom auskultacije pluća, naročito u odsustvu virusne infekcije (143).

1.3.3. Analize krvi

Neke krvne analize treba uraditi kod svih pacijenata sa bronhiektazijama, dok druge treba uraditi selektivno. Krvni markeri inflamacije (broj neutrofila, brzina sedimentacije eritrocita, C reaktivni protein) mogu se uzeti kao indirektni pokazatelji koliko je uznapredovala bolest i mogu biti pokazatelj ozbiljnosti pogoršanja. Pokazano je da su vrednosti markera inflamacije u stabilnom stanju povezani sa stepenom razvoja bronhiektazija i kvalitetom života ovih pacijenta. Zato pacijenti sa bronhiektazijama obično imaju visoke nivoe imunoglobulina (144,145,146).

1.3.4. Imunološki testovi

Jedan od glavnih uzroka bronhiektazija može biti imunodeficijencija. Potrebni su različiti pristupi da bi se otkrila imunodeficijencija kod pacijenata sa bronhiektazijama (147). U slučajevima kada se postavi dijagnoza bronhiektazija, poželjno je uraditi skrining (univerzalni ili ciljani) što to je predloženo još 1973. godine. Preporučuje se da se uradi elektroforeza imunoglobulina i sprovede merenje kod svih pacijenata kod kojih su se pojavile bronhiektazije ili koji prethodno nisu bili lečeni (149,150).

1.3.5. Testovi funkcije pluća

Najčešće korišćeni testovi plućne funkcije su forsirani vitalni kapacitet pluća (FVC) i volumen vazduha izdahnut u prvoj sekundi (FEV₁). Samo nekoliko studija do sada je procenilo funkciju pluća u reprezentativnoj populaciji dece sa bronhiektazijama. Rutinsko merenje funkcije pluća kod dece sa ne-CF bronhiektazijama može se postići uspešno kod dece školskog uzrasta. Najčešći nalaz je opstrukcija protoka vazduha sa smanjenim FEV₁, smanjen FEF₂₅₋₇₅ i povećan preostali rezidualni volumen (RV) i/ili srazmerni RV-a prema ukupnom kapacitetu pluća (TLC). FVC ima tendenciju da bude u okviru normalnih granica ili neznatno snižen (175). U jednoj studiji, spirometrija je imala normalne vrednosti kod 30%, opstruktivan izgled kod 48% i restriktivni obrazac kod 22% ispitanika. U jednoj studiji FEV₁ i FEF₂₅₋₇₅ su bili u negativnoj vezi sa težinom bolesti procenjenom na osnovu HRCT, dok u drugim studijama nije bilo veze (176). Nema studija koje su proučavale funkciju pluća kod predškolske dece (177). Resekcija jednog ili dva reznja u detinjstvu ne sprečava postizanje volumena pluća u okviru normalnog opsega u odraslom dobu.

Pozitivna reakcija na bronhoprovokativne testove histaminom ili metaholinom nije jasna, ali može se videti u podgrupi dece sa ne-CF bronhiektazijama. Jedina do sada sprovedena kontrolisana studija je identifikovala reakciju na bronhodilatator (>9% povećanje kod FEV₁, posle udahnutog salbutamola) kod 31% ispitanika (178).

Mnoge studije su koristile merenje funkcije pluća da bi odredile efikasnost lečenja antibioticima, uglavnom oralnih, dok su informacije u vezi intravenskih i nebulizovanih

terapija ograničene. Postoje studije kratkoročne oralne upotrebe antibiotika samo kod odraslih pacijenata. Promene funkcije pluća su promenljive za PEF, FEV₁ i FVC obično se poboljšavaju, ali ponekad mogu da ostanu nepromenjene. Funkcionalni rezidualni kapacitet (FRC) i TLC mogu da se povećaju. Pacijenti mogu da osete poboljšanje u drugim parametrima kao što je količina ispljuvka, ali bez poboljšanja funkcije pluća (180,181,182). Samo u jednoj studiji kod dece je uočena smanjena količina ispljuvka, ali bez promene FEV₁ (183). Od dve studije reakcije funkcije pluća na dugoročno lečenje antibioticima koje su pokazale promene na bolje u rezultatima ispljuvka jedna je pokazala poboljšanje vrednosti FEV₁, FVC, FRC i TLC, dok druga nije pokazala promene kod volumena pluća osim pada RV (184,185). Faktor transfera ugljen monoksida i koeficijent transfera ne menjaju se posle kratkoročne ili dugoročne terapije antibioticima. Jedna studija koja je proučavala promene kod funkcije pluća posle intravenske terapije antibioticima je uočila povećanje FEV₁ bez promene FVC, dok su u drugoj studiji (186) uočena povećanja u PEF, FEV₁ i FVC. Testiranje funkcije pluća predstavlja važan aspekt procene tolerancije nebulizovanih antibiotika.

1.3.6.. Bronhoskopija

Bronhoskopija može da se koristi za ekstrakciju stranih tela u traheobronhijalnom stablu i može da pokaže anatomske abnormalnosti bronhija. Sa povećanom rezolucijom i dostupnošću HRCT metode, mesto bronhoskopije u dijagnostici bronhiektazija nije jasno. U studijama dece koja nisu iz Velike Britanije, bronhoskopske abnormalnosti odgovaraju HRCT promenama iako se abnormalnosti bronhoskopijom mogu okarakterisati kao mukonazalna upala koja se razlikuje od bronhomalacije. Skorašnja studija je pokazala da strano telo viđeno na bronhoskopiji nije bilo uočeno ni na jednom obolelom bronhiektatskom reznju na HRCT nalazu (162,163).

Bronhoskopija se može koristiti da okarakteriše patogene u donjem respiratornom traktu. Postoji ograničen broj objavljenih informacija u vezi ovoga kod dece i odraslih sa bronhiektazijama. Samo u jednoj studiji pacijenata u stabilnom stanju, bronhoskopija nije pokazala prednost nad kulturom ispljuvka kod identifikacije patogena donjeg

respiratornog trakta (164). Druga studija dece sa bronhiektazijama povezanih sa HIV-om koja su imali akutno respiratorno oboljenje pokazala je da bronhoalveolarna lavaža (BAL) daje visok rezultat klinički relevantnih patogena koji zahtevaju lečenje specifičnim antibioticima (165). Kod odraslih sa stabilnim simptomima, BAL i uzimanje uzoraka "brush" četkom su osetljive metode koje mogu da otkriju mikroorganizme u donjim disajnim putevima kod 57-88% pacijenata. Proces je umereno invazivan i oslanja se na kvantitativnu mikrobiološku analizu. Kada se BAL poredi sa kulturom ekspektorisanog ispljuvka, on može samo malo senzitivnije da otkrije patogene donjeg respiratornog trakta i nižu pojavu kontaminacije nazalnom i orofaringealnom florom. Kada se na osnovu HRCT nalaza posumnja na atipičnu mikobakteriološku infekciju kao uzrok bronhiektazija, bronhoskopija sa lavažom značajno povećava pozitivnost mikobakterioloških kultura. Bronhoskopska biopsija pluća može da otkrije granulome u kontekstu mikobakterijske infekcije (166,167,168).

1.3.7.. Mikrobiologija ispljuvka

Dok mnoga istraživanja bronhiektazija sadrže informacije o mikrobiološkim uzročnicima, samo nekoliko nudi opširnu bakterijsku analizu. Metodologija se razlikuje od studije od studije, neke koriste kulture ispljuvka, druge BAL (169). Rezultati ispitivanja populacije takođe variraju (170). Kod dece je *H. influenzae* najdominatniji izolovani patogen, dok se ređe sreću drugi organizmi, kao što su *S. pneumoniae*, *S. aureus*, *M. catarrhalis* i *P. aeruginosa* (171).

Kod odraslih je *H. influenzae* najčešće izolovani patogen koji se nalazi čak i kod do 35% pacijenata. Stopa izolacije *P. aeruginosa* je značajno viša nego kod dece, kod 5-31% pacijenata (170,171). Pošto su uzroci osetljivosti na antibiotike prilično različiti za ova dva mikroorganizma, kulture ispljuvka mogu da imaju direktan uticaj na ishod lečenja. Značajna je, iako varijajuća, stopa izolacije patogena kao što su *S. pneumoniae*, *S. aureus* i *M. catarrhalis*. Vrste roda *Aspergillus* se mogu naći kod manjeg broja pacijenata (172). Studije su pokazale da je izolacija ili hronična kolonizacija sa *S. aureus* povezana sa povećanom pojavom CF i alergijske bronhopulmonarne aspergiloze (173).

Kultura svežeg uzorka iskašljanog ispljuvka je neinvazivna, jednostavna i efektivna u izolaciji patogena iz donjeg respiratornog trakta i može biti korišćena i kod dece i odraslih, iako faringalni bris posle kašljanja može biti potreban kod veoma male dece i poželjno u nekim slučajevima i kod starije dece. Bakteriološki rezultat je povezan sa egzarcercbacijama, odnosno povećan u infekcijama, i uzorak treba uzeti pre početka terapije antibioticima. U jednoj studiji na odraslim pacijentima sa bronhijektazijama uzorak ispljuvka je dobijen metodom indukovano sputuma nebulizacijom hipertoničnog fiziološkog rastvora i pokazao je prisustvo većeg broja patogenih mikroorganizama (169). Uzimanje bronhoalveolarne laveže bronhoskopskim pregledom je invazivna metoda kod dece i obično nije potrebna u rutinskom radu, već samo kod selektovanih pacijenata. Pošto *H. influenzae* i *S. pneumoniae* mogu da odumru ako se uzorak ne precesuiru u roku od tri sata, treba voditi računa da se uzorci što pre odnesu u mikrobiološku laboratoriju. Međutim objavljeni podaci sugerišu da se uzorci ispljuvka pacijenata mogu poslati u laboratoriju i ako se procesuiraju u roku od 24 sata (174).

U jednom uzorku ispljuvka može da bude više od jednog patogena, koji se mogu izolovati sa ponovljenim testom tokom vremena. Ovo može da dovede do razlike rezultata između povremene izolacije i hronične kolonizacije sa jednim mikroorganizmom. Definicije hroničnih kolonizacija se razlikuju od studije do studije. Kod dece je u dve studije korišćena izolacija istog organizma iz tri uzorka u razmaku od najmanje jednog meseca tokom jedne godine. Kod odraslih definicije su uključile najmanje tri izolata jednog mikroorganizma tokom perioda od tri meseca i najmanje dva izolata u razmaku od tri meseca tokom jedne godine (175).

Sadašnje preporuke sugerišu da uzorke respiratornog trakta treba uzeti kod svih pacijenata sa bronhijektazijama, a da bi se šanse za izolaciju *H. influenzae* i *S. pneumoniae* povećale uzorci treba da stignu u mikrobiološku laboratoriju u roku od tri sata. Rutinsko uzimanje kultura ispljuvka za mikobakterije nije potrebno ali se treba uzeti u obzir kod sumnje na tuberkulozu ili kada se sumnja na oportunističku mikobakteriološku infekciju (171).

1.3.8. Radiografija pluća

Najčešća lokalizacija bronhiektazija je u donjem levom lobusu, linguli i srednjem režnju desno. Ako su promene raširene, obično zahvataju levi donji lobus i lingulu istovremeno (187). Postoje tri karakteristična nalaza na snimku pluća, koja ukazuju na postojanje bronhiektazija: 1. povećana zapremina dela plućnog parenhima i gubitak bronhovaskularne šare u tom delu, 2. pojačana bronho-vaskularna šara, i 3. postojanje cista do 2 cm veličine, ponekad ispunjenih tečnošću. U najtežim slučajevima se mogu naći i saćaste lezije uz kompenzatornu hiperinflaciju okolo. Ovi nalazi nisu specifični za bronhiektazije i mogu se sresti i u drugim oboljenima pluća, ali u kontekstu tipičnih simptoma, mogu ukazivati na dijagnozu. Godinama je zlatni standard u postavljanju dijagnoze bronhiektazija bila bronhografija sa ubacivanjem uljanog kontrasta, čime se prikazivalo traheobronhijalno stablo i svaka eventualna dilatacija u njemu (188).

1.3.9. Skener visoke rezolucije (HRCT)

Pregled pluća skenerom visoke rezolucije (HRCT) teško će promeniti dijagnozu kod pacijenata sa klinički i radiografski uznapredovalim bronhiektazijama. Ipak, veliki broj sprovedenih studija i kliničko iskustvo lekara ukazuju na prednost HRCT pluća nad radiografijom grudnog koša u otkrivanju ranih ili blagih bronhiektazija. Međutim preporuke ističu da se HRCT ne može smatrati odlučujućim arbitrom za prisustvo ili odsustvo «klinički ozbiljnih» bronhiektazija. Dogmatska preporuka je da je HRCT pregled neopravdan kod svih pacijenata kod kojih postoji sumnja na postojanje bronhiektazija. U tom kontekstu, sagledavanje razloga za i protiv HRCT u dijagnostici bronhiektazija je od izuzetnog značaja. U nedostatku istinitog *in vivo* zlatnog standarda, teško je utvrditi preciznost HRCT u potvrđivanju ili isključivanju bronhiektazija (189-192). Zbog toga što neki faktori protokola CT skeniranja mogu da promene izgled čak i očigledne dimenzije bronhija, važno je da se CT način rada standardizuje i da postoji kontrola kvaliteta (193-200).

Identifikacija dilatacije disajnih organa je preduslov za HRCT dijagnozu bronhiektazija (201,202). Najčešće uočen morfološki uzrok bronhiektazija viđen na CT-u su do sada cilindrične bronhiektazije. Korist kategorizacije bronhiektazija u cilindričnu, varikoznu ili cistične podtipove je ograničena, ali cistične bronhiektazije obično označavaju dugogodišnju i ozbiljniju bolest (203). Zadebljanje bronhijalnog zida je uobičajen, ali nestalan znak bronhiektazija. Abnormalno zadebljanje bronhijalnog zida definisano je kao unutrašnji prečnik bronha <80% od spoljašnjeg prečnika (204-209). Osnovni uzrok bronhiektazija utvrđen je kod manje od polovine pacijenata i samo promene na HRCT obično ne dozvoljavaju jasno razlikovanje idiopatskih bronhiektazija naspram poznatih uzroka bronhiektazija (210-217). Postoji veza između stepena i ozbiljnosti bronhiektazija viđene na HRCT i smanjenog protoka vazduha u disajnim putevima, ali jačina korelacije uglavnom varira od studije do studije (218-222). Pored radijacije, suboptimalni kvalitet snimka zbog pokreta «artefakata» je naročiti problem u pedijatrijskoj praksi (223).

1.3.10. Isključivanje cistične fibroze

Pošto se cistična fibroza dovodi u vezu sa bržim rastom i obimno većim mortalitetom nego kod bronhiektazija koje su se razvile kod pacijenata koji nemaju cističnu fibrozu, važno je prepoznati ove slučajeve. Ukoliko se ne prepozna alternativni, ubedljivi uzrok, sva deca koja imaju bronhiektazije biće pregledana da bi se isključila cistična fibroza i potrebno je uraditi minimum dva merenja hlorida u znoju i, ukoliko je potrebno, analizu CFTR mutacija (154). Kod odraslih, lekari treba da odluče koga treba pregledati. Skrining svih pacijenata sa bronhiektazijama koristeći testiranje hlora u znoju i genetsko testiranje iako se sprovodi u nekim centrima, dugo traje i nije dokazano da je isplativo. Treba uzeti u obzir faktore koji uvećavaju verovatnoću cistične fibroze. Dve studije pacijenata sa nediferenciranim bronhiektazijama su otkrile da oni kod kojih je uočena cistična fibroza nisu bili stariji od 56 godina, a 85% su bili ispod 40 godina (155,156). Retko se spominje da se cistična fibroza pojavljuje po prvi put u osmoj deceniji sa respiratornim simptomima (157). Grupa pacijenata sa cističnom fibrozom koji su u stvari odrasli, uključujući i one sa nerespiratornim simptomima, su u proseku imali 32 godine u vreme pojave bronhiektazija. Kod odraslih koji imaju cističnu fibrozu se mogu videti kliničke pojave kao što su

malapsorpcija, sterilnost kod muškaraca, steatorea u detinjstvu, izolovani *S. aureus* u ispljuvku i bronhiektazije gornjih reznjeva na HRCT. Prethodni negativni test hlora u znoju ne isključuje postojanje cistične fibroze. Neki će imati istoriju simptoma od ranog detinjstva ili sinusitis iako su ovo uobičajeni znaci kod većine pacijenata sa bronhiektazijama uopšte (158,159).

Smernice za merenje hlora u znoju su ustanovljene u različitim vodičima. Znojni test je od koristi i kod odraslih i kod dece iako su srednje vrednosti niže kod atipičnih CF pacijenata kod kojih se javlja u odraslom dobu i može pasti u raspon normalnog ili središnjeg okvira. Što je veći broj CFTR mutacija koje su proverene, veći je broj pacijenata sa cističnom fibrozom koji će biti dijagnostikovani (160).

1.3.11. Isključivanje primarne cilijarne diskinezije

Testovi za cilijarnu funkciju mogu se podeliti u dve grupe, oni koji su indirektni i mogu se koristiti da se provere pacijenti (saharinski test i izdahnuti NO) i oni koji definitivno procenjuju funkciju i strukturu (frekvenciju) cilija elektronskim mikroskopom. Saharinski test je jeftin i može se izvesti bilo gde. Nažalost može biti pouzdan samo ako se izvede precizno, pa ga je teško izvesti u svakodnevnoj praksi (161). Test nije preporučen za mlađu decu koja ne mogu da sede mirno sat vremena. Kod pacijenata sa PCD, nazalni NO i u manjem obimu bronhijalni NO su veoma niski, i u centrima koji imaju mogućnost izvođenja ovog testa, on se koristi za skrining pacijenta sa PCD. Opšte prihvaćene smernice za merenje nazalnog NO-a su date od strane Evropskog respiratornog društva (ERS) i Američkog torakalnog društva (ATS) (161). Cilijarna abnormalnost je malo verovatna kod odraslih ako je pacijent u ranom detinjstvu nije imao, nema istoriju za otitis mediu ili simptome gornjeg respiratornog trakta, i li ako je došlo do produženog perioda od nekoliko godina tokom kojih je pacijent bio bez simptoma (161).

1.4. TERAPIJA BRONHIEKTAZIJA

Zbog nedovoljnog broja pacijenata sa ne-CF bronhiektazijama koji bi se mogli uključiti u klinička istraživanja uspešnosti pojedinih vrsta lečenja, lečenje se temelji na protokolu lečenja cistične fibroze. Cilj lečenja je sprečiti začarani krug infekcije i zapaljenja i na taj način sprečiti dalje oštećenje disajnih puteva i propadanje plućnih funkcija, smanjiti broj egzarcercbacija i unaprediti kvalitet života ovih pacijenata. Mnoge bolesti i stanja zahtevaju specifično lečenje (imunodeficijencije, tumori, hronična zapaljenja, imune bolesti, sarkoidoza, tuberkuloza, asthma, atopijski rinosinuzitis) (23,230-232). Najvažnija za pedijatrijsko lečenje bronhiektazija je identifikacija etiološkog uzroka (imunodeficijencija, strano telo u disajnim putevima, aspiracija, atipična cistična fibroza, primarna cilijarna diskinezija) (233).

Terapija bronhiektazija uključuje primenu antibiotika (inhalacionih i sistemskih), imunomodulatora (makrolidi, inhalacioni kortikosteroidi), hiperosmolarnih agenasa, kao i odgovarajuće fizioterapije (posturalna drenaža), koja ima za cilj uklanjanje nagomilanog mukusa iz disajnih puteva (234-237). Od velike je važnosti da se, ukoliko je moguće, utvrdi etiološki uzrok bronhiektazija kod pacijenata, kako bi se primarno uzročno oboljenje moglo adekvatno tretirati. Primena antibiotika može biti kratkoročna, za suzbijanje egzarcercbacija, ali i dugoročna. Precizni mikrobiološki nalaz je ključan kod terapije antibioticima. Makrolidni antibiotici privlače posebnu pažnju kao terapijsko sredstvo jer smanjuju hiperprodukciju mukusa i imaju anti-inflamatorna svojstva (234). Mukolitici, kao što je n-acetil cistein, omogućavaju lakše izbacivanje nagomilanog mukusa iz disajnih puteva (238,239). U cilju smanjenja hronične inflamacije primenjuju se anti-inflamatorna sredstva kao što su kortikosteroidi (inhalacijom ili intravenski) i ibuprofen (239).

Suportivna terapija hroničnih bolesti disajnih puteva je usmerena na održavanje dobrog opšteg stanja, ishranu bogatu proteinima i vitaminima, izbegavanje aerozagađenja i duvanskog dima, kretanje na svežem vazduhu i bavljenje fizičkom aktivnošću. U timu je uz dečijeg pulmologa i medicinsku sestru potrebno imati fizijatra, fizioterapeuta, psihologa i nutricionistu.

Vakcinacija protiv boginja, gripa i *H. influenzae* obuhvaćena je propisanim nacionalnim programom vakcinacije. Nema dovoljno kliničkih ispitivanja koja bi dokazala potrebu rutinske vakcinacije dece sa ne-CF bronhiektazijama protiv influence i pneumokoka (240). U gotovo svim nacionalnim programima postoji preporuka o potrebi vakcinacije dece sa bronhiektazijama protiv pneumokoka i protiv influence.

Respiratorno lečenje ima za cilj poboljšanje mukocilijarnog klirensa disajnih puteva. To je najvažnije lečenje kod pacijenata sa hroničnim oboljenjem pluća. Ono može prekinuti začarani krug, jer su zastoj sekreta i čepovi guste sluzi uvek udruženi sa bakterijskom kolonizacijom, ponavljanom infekcijom i zapaljenjem. Uprkos sve većem broju pomagala dostupnih na tržištu, najbolji rezultati postižu se kombinacijom vežbi disanja sa posturalnom drenažom (241-243).

Mukolitici i inhalacije hipertoničnih rastvorima nisu dovoljno proučeni u smislu poznavanja njihove uspešnosti, te zato nema dovoljno zdravstvenih dokaza za njihovu rutinsku primenu, naročito kod dece. Veći broj skorašnjih studija govori u prilog poboljšanja traheobronhijalnog klirensa inhalacijama manitolom i hipertoničnim rastvorima (5%-7% 2 do 4 puta dnevno) (23).

Bronhodilatatori takođe nisu dovoljno proučeni da bi mogli rutinski da se primenjuju u lečenju bronhiektazija. Iako veliki broj pacijenata sa bronhiektazijama ima opstrukciju disajnih puteva sa hiperreaktivnošću bronha i značajnim odgovorom na beta-2 agoniste, nema randomiziranih kontrolisanih studija o učinku kratkododelujućih i dugododelujućih beta-2 agonista, kratkododelujućih antiholinergika i metilksantina.

Endoskopija i lapaž su potrebne ukoliko je reč o atelektazi ili je mukusni čep začepio bronh.

Hiruško lečenje je retko potrebno i primenjuje se tek onda kada se iscrpe ostale metode lečenja (23,230,249,250). Indikacije za hiruško lečenje su: 1. lokalizovane bronhiektazije sa ozbiljnim simptomima koje ne odgovaraju na medikamentozno lečenje, 2. po život opasna stanja kao što su obilne hemoptizije, 3. recidvirajući pneumotoraks, 4. lobarna atelektaza.

1.4.1. Antibiotici

Postoje mnogobrojne preporuke za lečenje antibioticima kroz kratki ili dugi režim u egzarcerbacijama, parenteralno ili peroralno, u zavisnosti od stepena egzarcerbacije za primenu antibiotika putem inhalacija ili prolongirano i između egzarcerbacija. Najvažnije je uzeti uzorak za mikrobiološku analizu pre početka lečenja jer svaki pacijent može biti kolonizovan ili inficiran različitim uzročnikom ili sa više uzročnika, a u različitim studijama prevladavaju i posebni uzročnici. Uglavnom je lečenje usmereno prema najčešćim uzročnicima (*S. aureus*, *H. influenzae*, *P. aeruginosa*) i potrebno ga je korigovati prema mikrobiološkom nalazu i antibiotskoj preosetljivosti (244). Za početak može nam poslužiti prethodni mikrobiološki nalaz. Peroralno lečenje sa jednim ili dva antibiotika može trajati 7 do 14 dana. Prema Britanskom torakalnom društvu (BTS) lečenje odraslih se započinje amoksicilinom (klaritromicinom kod pacijenata koji su alergični na penicilin). Težim pacijentima koji imaju hroničnu kolonizaciju sa *H. influenzae* daje se amoksicilin u visokim dozama, a ukoliko imaju kolonizaciju sa *P. aeruginosa* ciprofloksacin. Ukoliko se radi o ozbiljnijem pogoršanju ili izolovani uzročnik nije osetljiv na peroralne antibiotke primenjuju se parenteralni antibiotici tokom 14 dana (23,244,245). Poboljšavaju se opšti simptomi, količina sputuma, mikrobiološki nalaz, parametri zapaljenja, kvalitet života, ali ne i FEV₁ i FVC. Za uobičajene bakterije (*H. influenzae*, *M. catarrhalis*, meticilin osetljiv *S. aureus*, *S. pneumoniae*) savetuje se monoterapija, a za *P. aeruginosa* i meticilin rezistentni *S. aureus* dva ili više antibiotika (23,231,232). Kod dece sa ne-CF bronhiektazijama koja imaju kolonizaciju pseudomonasom osetljivim na ciprofloksacin pokušava se peroralnom terapijom. Ukoliko je iz sputuma izolovan multirezistentni pseudomonas ili meticilin rezistentni *S. aureus* pacijenti se moraju lečiti parenteralnim antibioticima. Samo u posebnim slučajevima (česte egzarcerbacije, hronična bronhijalna sepsa, nedovoljan odgovor na konvencionalno lečenje antibioticima) savetuje se inhalacijaska terapija (tobramicin, colistin) ili prolongirana peroralna antibiotska terapija makrolidima (245).

1.4.2. Antizapaljenski lekovi

Inhalatorni kortikosteroidi i makrolidi se najčešće koriste u antizapaljenkom lečenju. Mnoga istraživanja su pratila učinak inhalatornih kortikosteroida i makrolida na količinu iskašljanog sputuma, kašalj, kvalitet života, biomarker u sputumu, vršni ekspiratorni protok (PEFR) i funkcionalne plućne testove (245, 246).

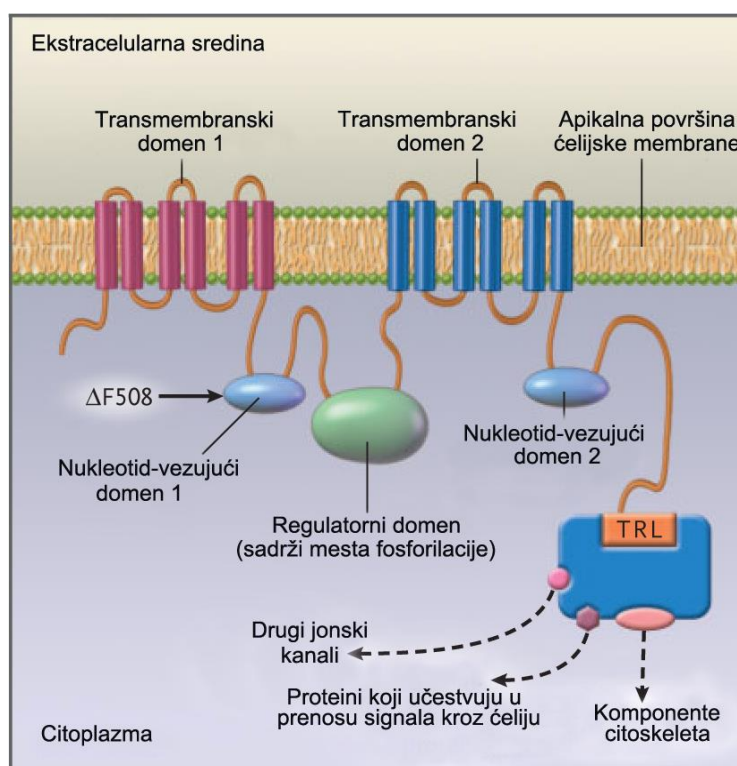
Inhalatorni kortikosteroidi su indikovani kod onih pacijenata koji uz bronhiektazije imaju i pridruženu astmu, hroničnu opstruktivnu bolest pluća ili bronhijalnu hiperreaktivnost. Iako vlada veliki interes za primenu ovih lekova kod bolesnika sa bronhiektazijama zbog njihovog antizapaljenskog dejstva, nije nađeno dovoljno dokaza u kliničkim istraživanjima za njihovu rutinsku primenu (247). Takođe, jedan deo pacijenata sa bronhiektazijama ima adrenalnu supresiju, posebno ako se primenjuju inhalatorni kortikosteroidi i loše zdravstveno stanje koje je dodatno kompromitovano nedovoljnim lučenjem kortizola u stresnim situacijama. Kako za inhalatorne kortikosteroide, tako i za oralne, nema dovoljno kliničkih istraživanja koji bi potkrepili tvrdnju o njihovoj primeni u egzacerbacijama ili u stabilnim bronhiektazijama, kako u odraslih tako i u dece.

Delovanje inhalacijske nesteroidne antizapaljenske terapije nije dokazano, samo je u jednoj studiji manjeg obima zapažen učinak indometacina u inhalaciji (230). U male dece dugotrajna primena ibuprofena bi mogla biti uspešna, kao kod dece sa cističnom fibrozom, ali nema ozbiljnih istraživanja koja bi potkrepila tu tvrdnju. Dugotrajna primena makrolida u niskoj dozi pokazala je imunomodulatorno dejstvo u lečenju hroničnih plućnih bolesti, posebno u lečenju pacijenta sa cističnom fibrozom koji su kolonizovani pseudomonasom. Iako u većini ispitivanja nije bilo poboljšanja u broju egzacerbacija, plućna funkcija je zadržana na istom nivou ili je čak poboljšana (248).

1.5. REGULATOR TRANSMEMBRANSKE PROVODLJIVOSTI U CISTIČNOJ FIBROZI (CFTR)

Gen za regulator transmembranske provodljivosti u cističnoj fibrozi (CFTR) identifikovan je 1989. godine (1). Lociran je na dugom kraku hromozoma 7 na poziciji

q31.2. Gen kodira oko 6,5kb dugu iRNK koja alternativnom obradom može dati različite transkripte (251). Protein CFTR se sastoji od 1480 aminokiselina i molekulske je mase 170kDa. Lokalizovan je na apikalnoj plazma membrani epitelnih ćelija i funkcioniše kao hloridni kanal, a takođe utiče na razmenu bikarbonata i hlorida i transport vode i interaguje sa drugim jonskim kanalima (252,253,257). Takođe je u interakciji sa citoskeletom, proteinima koji regulišu aktivnost jonskih kanala i proteinima koji učestvuju u signalnoj transdukciji (254). Protein CFTR obuhvata dva transmembranska domena, svaki sačinjen od šest alfa heliksa koji se prostiru kroz membranu, dva homologna citoplazmatična ATP-vezujuća domena, koji su lokalizovani u citoplazmi i vrše hidrolizu ATP-a, i naelektrisan regulatorni domen, takođe lokalizovan u citoplazmi (Slika 3) (255). Transport hloridnih jona pomoću proteina CFTR zahteva interakciju između njegovih domena (256).



Slika 3. Šematski prikaz organizacije domena proteina CFTR

1.5.1 Mutacije u genu CFTR

Od izolovanja i kloniranja 1989. godine do danas opisane su 1983 varijante gena CFTR (258, 259). Od toga, preko 1500 varijanti čine patološke mutacije, dok preostale nemaju posledica po strukturu i funkciju gena CFTR.

Najčešća mutacija u genu CFTR je delecija 3 bazna para koja rezultuje gubitkom fenilalanina na poziciji 508 u proteinu, označena kao c.1521_1523delCTT (stari naziv: F508del). Prisutna je na oko dve trećine svih hromozoma koje nose mutiran gen CFTR (260). Učestalost ove mutacije značajno varira među različitim populacijama, čak i u Evropi, gde je učestalost najveća. Pronađena je kod oko 70% do 80% pacijenata u severnoj Evropi, dok ovaj procenat opada na 50% do 55% u južnoj Evropi (253, 257, 260). Pored mutacije c.1521_1523delCTT, samo još sedam mutacija se javlja sa učestalošću većom od 0,5% širom sveta (Tabela 5).

Tabela 5. Najčešće mutacije u genu CFTR

MUTACIJA	STARI NAZIV	PROMENA NA NIVOU PROTEINA	LOKALIZACIJA	UČESTALOST (%)
c.1521_1523delCTT	F508del	del Phe	egzon 11	66.6
c.1624G>T	G542X	Gly→stop	egzon 12	2.4
c.1652G>A	G551D	Gly→Asp	egzon 12	1.6
c.3909C>G	N1303K	Asn→His	egzon 24	1.3
c.3846G>A	W1282X	Trp→stop	egzon 23	1.2
c.1657C>T	R553X	Arg→stop	egzon 12	0.7
c.489+1G>T	621+1G→T	obrađa iRNK	intron 4	0.7
c.1585-1G>A	1717-1G→A	obrađa iRNK	intron 11	0.6

Raspodela mutacija u genu CFTR nije nasumična, već postoje mesta sa različitom gustinom mutacija. Najveći broj mutacija pogađa transmembranske domene i jedan od dva ATP-vezujuća domena. Deo gena CFTR sa najvećom učestalošću mutacija je egzon 11 (egzon 12 po novoj nomenklaturi) (256, 257). Mutacije u genu CFTR se mogu podeliti u šest različitih klasa na osnovu efekta koji ostvaruju na transkripciju gena, obradu transkripata,

nivo proteina i funkciju jonskog kanala (Tabela 6). Iako je ovaj sistem klasifikacije koristan u organizovanju toliko različitih mutacija, neke mogu prouzrokovati više od jednog defekta i mogu se protezati kroz više klasa (256).

Tabela 6. Opis i najvažniji predstavnici šest klasa mutacija u genu CFTR

KLASA	OPIS	MUTACIJA
I	Defektan protein	c.1624G>T, c.3846G>A
II	Neefikasno procesovanje proteina	c.1521_1523delCTT
III	Oštećena regulacija jonskog kanala	c.1652G>A
IV	Izmenjena provodljivost jonskog kanala	c.350G>A
V	Smanjena količina proteina	c.489+1G>T
VI	Nestabilan protein	c.4234C>T

1.5.2 Klinička slika i korelacija CFTR genotipa i fenotipa

Cistična fibroza je nasledno autozomalno recesivno oboljenje koje karakterišu povišena koncentracija hlorida u znoju, abnormalni hloridni i bikarbonatni transport, hronična plućna bolest, pankreasna insuficijencija i preuranjena smrt zbog otkazivanja respiratornog sistema (261). Pored toga, skoro svi muškarci sa cističnom fibrozom su sterilni usled kongenitalnog bilateralnog odsustva vas deferensa. Cistična fibroza je najčešće monogensko oboljenje u populaciji belaca i javlja se sa učestalošću od 1/2000 do 1/4000 novorođenčadi, mada varira među različitim populacijama (260). Pacijenti oboleli od cistične fibroze mogu razviti različite komplikacije: respiratorne bolesti, disfunkciju pankreasa, bolesti gastrointestinalnog trakta, bolesti jetre, urogenitalne abnormalnosti, šećernu bolest.

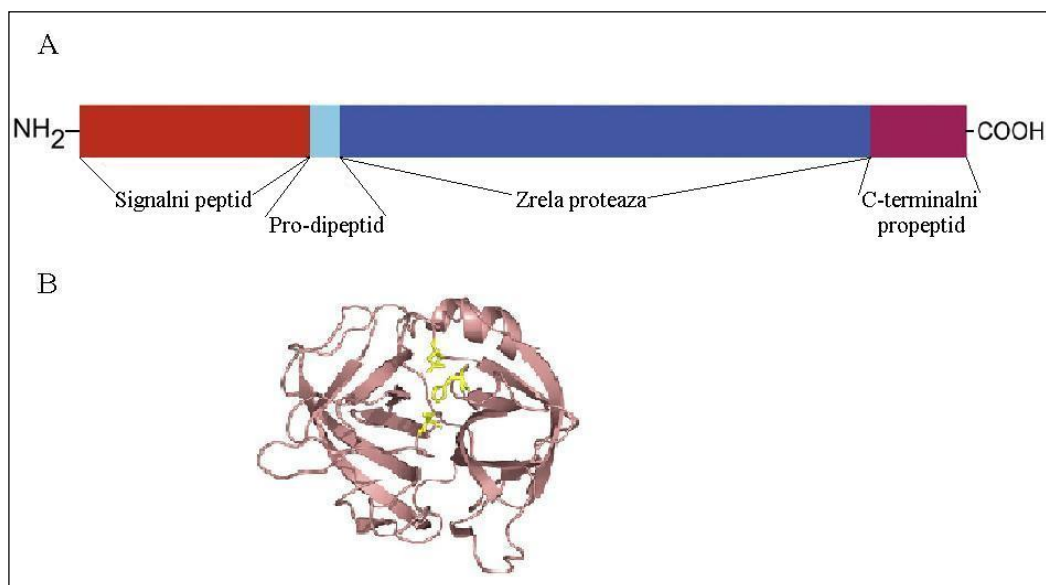
Disfunkcija proteina CFTR ima ozbiljne posledice po fiziologiju disajnih puteva i rezultira predispozicijom ka hroničnim infekcijama i zapaljenjima koja obično i dovode do preuranjene smrti. Usled odsustva ili defektnog proteina CFTR dolazi do prekomerne apsorpcije vode iz tankog sloja tečnosti koji je produkt mukoznih i seroznih ćelija pseudostratifikovanog epitela disajnih puteva, a koji omogućava zaštitu organizma od udahnutih patogena. Neprekidnim kretanjem cilija na površini epitelnih ćelija vrši se

pokretanje ove tečnosti, odstranjivanje mikroorganizama i stranih čestica dospelih u pluća, što je označeno kao mukocilijarni klirens. U cističnoj fibrozi ovaj sloj tečnosti je viskozniji i gušći, a sekrecija mukusa je povećana usled defekta proteina CFTR, pa ukupna promena debljine i sastava ovog sloja onemogućava normalni rad cilija i čišćenje disajnih puteva (253). Iako neki pacijenti imaju makroskopski normalna pluća i održavaju dobro stanje respiratornog sistema tokom detinjstva i čak do adolescencije, na kraju većina nosilaca mutacija u genu CFTR razvija hronične upale disajnih puteva, obično uzrokovane infekcijama. Najčešće su te infekcije izazvane patogenima kao što su *S. aureus*, *H. influenzae* i *P. aeruginosa* (253).

Klinička slika cistične fibroze veoma je varijabilna, a ta varijabilnost naročito je izražena kada su u pitanju patološke promene respiratornog sistema, pankreasa ili jetre, dok je relativno mala u slučaju infertiliteta kod muškaraca ili funkciji znojnih žlezda (262). Heterogenost tipičnog fenotipa cistične fibroze može se objasniti do određenog stepena različitim molekularnim posledicama različitih klasa mutacija u genu CFTR, mada treba imati u vidu i uticaj sredine i drugih gena na razvoj fenotipa (253). Mutacije koje pripadaju klasama I, II, III i VI, kada su prisutne na oba alela, pokazuju klasičan fenotip: brzo gubljenje normalne respiratorne funkcije, mada stepen bolesti pluća može biti vrlo varijabilan, i pankreasnu insuficijenciju (256, 267). Pacijenti koji su homozigoti za mutacije iz klasa IV i V pokazuju mnogo blažu kliničku sliku, s tim da su fenotipski dominantne kada se javljaju zajedno sa mutacijama iz drugih klasa. Na osnovu ovoga mutacije u okviru gena CFTR se mogu podeliti na „teške“ i „blage“. Postojanje funkcionalnih proteina CFTR na apikalnoj membrani, ali u smanjenoj količini ili sa smanjenom provodljivošću, doprinosi blažem fenotipu kao što su pankreasna suficijencija i manje ozbiljne respiratorne bolesti sa boljom prognozom. Otkrivena je i povezanost određenih mutacija u genu CFTR sa atipičnim formama cistične fibroze, kao i bolestima koje pogađaju samo jedan organski sistem, kao što je idiopatski pankreatitis. Specifična mutacija iz klase V, c.1210-12T, za sada je jasno povezana sa kongenitalnim bilateralnim odsustvom vas deferensa kod sterilnih muškaraca, ali njena uloga u drugim bolestima nije okarakterisana (253).

1.6. NEUTROFILNA ELASTAZA

Neutrofilna elastaza je serin proteaza iz himotripsinske familije (263). Gen za humanu neutrofilnu elastazu (ELANE) zauzima region od 4kb na poziciji q14 hromozoma 11 (264). Primarno se sintetiše u obliku preproteina od 267 amino kiselina koji se post-translaciono obrađuje na oba kraja (Slika 4). Na N-terminalnom kraju proteinase nalazi signalni peptid dužine 27 amino kiselina, koji se iseca prilikom translacije na endoplazmatičnom retikulumu. Iza njega se nalazi prodipeptid čija je uloga sprečavanje prerane aktivacije enzima. Na C-terminalnom kraju proteina se nalazi od 20 amino kiselina koji ne učestvuju u lokalizaciji i katalitičkoj aktivnosti enzima i čija je funkcija nepoznata. Zreo enzim je veličine 218 amino kiselina i izrazito je bazan, sa izoelektričnom tačkom na 10-11.



Slika 4. Neutrofilna elastaza

A – Šematski prikaz preproteina

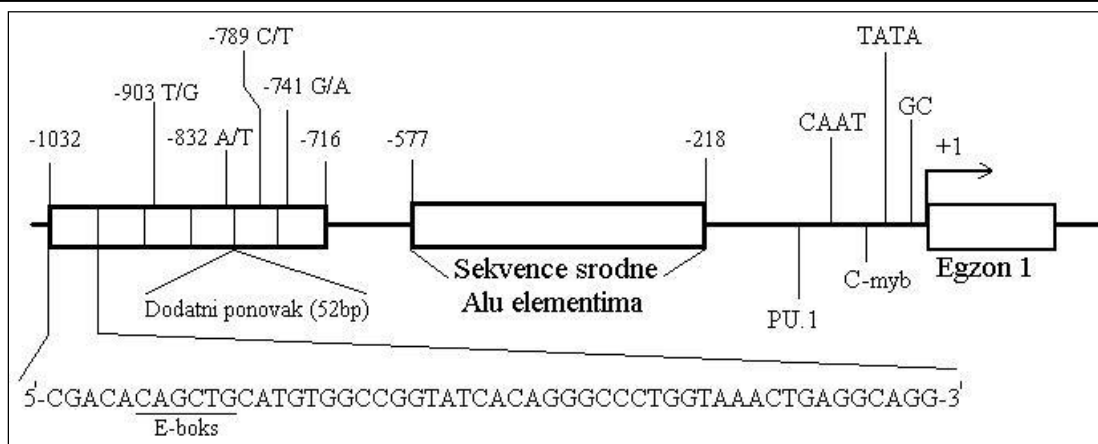
B – Trodimenzionalna struktura zrelog enzima

Humana neutrofilna elastaza se sintetiše tokom promijelocitne diferencijacije i skladišti u azurofilnim granulama neutrofila iz kojih se, po aktivaciji neutrofila, otpušta u ekstraćelijsku sredinu ili ulazi u fagolizosome (265). Ova potentna serin-proteaza ima

važnu ulogu u urođenom imunskom odgovoru organizma na gram-negativne bakterije, spirohete i gljive. Pored proteina mikroorganizama ovaj enzim je u stanju da razgradi brojne komponente ekstraćelijskog matriksa (kolagen 1-4, fibronektin, proteoglikane, heparin, elastin), ćelijske površinske receptore, adhezione molekule, citokine i druge biološki značajne molekule. S obzirom na njen širok spektar delovanja, neutrofilna elastaza ima značajnu ulogu u modulaciji inflamatornog odgovora. Brojne studije su pokazale da neutrofilna elastaza igra bitnu ulogu u degeneraciji epitela disajnih puteva, pogotovo u slučajevima kada je regulacija njene aktivnosti neadekvatna (266, 267). Eksperimentalno je pokazano da neutrofilna elastaza oštećuje epitelne ćelije i smanjuje frekvenciju udara cilija, što ide u prilog hipotezi po kojoj neregulisana aktivnost neutrofilne elastaze prouzrokuje povrede epitela i smanjenje mukocilijarnog klirensa i doprinosi stvaranju pogodne sredine za hronične infekcije kakve se sreću kod bronhiektazija (268).

1.6.1. Promotor gena za neutrofilnu elastazu

Regulatorni 5' region gena ELANE sadrži većinu uobičajenih promotorskih elemenata, ali je posebno interesantan region od -1032bp do -716bp koji sadrži 6 tandemskih ponovaka dugih 53bp i 52bp, skoro indentičnih po sekvenci (Slika 5). U svakom ponovku se nalazi sekvenca nazvana E-boks (CAGCTG) koja predstavlja vezivno mesto za određene bazne proteine, a pokazano je da ponovak od 53bp funkcioniše kao nespecifičan pojačivač transkripcije (269). U promotorskom regionu gena ELANE se nalaze brojna vezujuća mjesta za transkripcione faktore koji učestvuju u regulaciji njegove ekspresije.



Slika 5. Šematski prikaz promotorskog regiona gena ELANE

U regionu -1032/-716 su identifikovana tri funkcionalne varijante: -903T/G, -741G/A i dodatni ponovak dužine 52bp između četvrtog i petog ponovka (270). Funkcionalna analiza je pokazala da promotorski konstrukt -903T/-741G ima povećanu aktivnost. U kasnijim studijama su identifikovani polimorfizmi -832A/T i -789C/T, čiji uticaj na ekspresiju gena nije poznat. Na osnovu očekivane aktivnosti neutrofilne elastaze definisane su tri genotipske grupe: niska aktivnost (-903TG), srednja aktivnost (-903TT/-741AG, -903TT/-741AA) i visoka aktivnost (-903TT/-741GG). Sa genotipovima sa srednjom i visokom predviđenom aktivnošću povezan je povećan rizik oboljevanja od karcinoma pluća (271).

1.6.2. Uloga neutrofilne elastaze u bronhiektazijama

Neutrofilna elastaza može oštetiti epitel bronhija razgradnjom elastina, kolagena i proteoglikana (272). Postoji pozitivna korelacija između koncentracije neutrofilne elastaze u sputumu ispitanika sa bronhiektazijama i količine proizvedenog sputuma u roku od 24 časa, kao i sa brojem bronhiektatičnih plućnih lobusa i koncentracijom leukocita u sputumu (273). Istovremeno, koncentracija elastaze u sputumu negativno korelira sa pokazateljima plućne funkcije, kao što su FEV1 i FVC. Ovi podaci ukazuju na značaj uloge neutrofilne elastaze kao jednog od promotera oštećenja epitela i pokazatelja progresije bolesti. U

dosadašnjim istraživanjima mehanizama koji leže u osnovi bronhiektazija nisu uzimane u obzir varijante u promotoru gena ELANE.

2. CILJ RADA

Osnovna hipoteza ovog istraživanja je da se mutacije u genu CFTR javljaju sa većom učestalošću u dečijim idiopatskim bronhiektazijama nego u opštoj populaciji. Pošto kod nosilaca mutacija u CFTR genu postoji poremećaj u funkciji jonskog kanala koji doprinosi nastanku i razvoju bolesti pluća, pretpostavlja se da u određenom broju slučajeva mutacije u CFTR genu imaju ulogu u etiologiji dečijih idiopatskih bronhiektazija. Takođe, na nastanak i razvoj dečijih idiopatskih bronhiektazija mogu uticati i drugi genetski faktori (prisustvo mutacija u genu ELANE) kao i socioekonomski faktori i sekundarno pušenje.

Ciljevi istraživanja su:

1. Utvrditi prevalencu mutacija u CFTR genu u populaciji dece sa idiopatskim bronhiektazijama;
2. Utvrditi prevalencu mutacija u ELANE genu u populaciji dece sa idiopatskim bronhiektazijama;
3. Ispitati uticaj faktora sredine (sekundarno pušenje, uslovi stanovanja i socioekonomski status) na razvoj dečijih idiopatskih bronhiektazija;
4. Ispitati uticaj ELANE genotipa na terapijski odgovor u dečjim idiopatskim bronhiektazijama.

3. ISPITANICI, MATERIJAL I METODE

3.1. ISPITANICI

Analizom je obuhvaćeno 48 ispitanika (19 dečaka i 29 devojčica), starosti od 5 do 17 godina, koji su pregledani u pulmološkoj ambulanti Univerzitetske dečje klinike u Beogradu u periodu od 2011. do 2014. godine. Dijagnoza idiopatskih bronhiektazija je ustanovljena na osnovu kliničkih kriterijuma Britanskog torakalnog društva i na osnovu skenera visoke rezolucije (HRCT) dokazanih bronhiektazija.

Deca sa bronhiektazijama kod kojih je postavljena dijagnoza cistične fibroze i primarne cilijarne diskinezije bila su isključena iz ove studije.

3.2. KLINIČKE I LABORATORIJSKE ANALIZE

Deci je na početku ovog istraživanja uzimana detaljna anamneza i učinjen je detaljan fizikalni pregled.

Anamneza je uključivala sledeće podatke: ponavljane infekcije disajnih puteva, da li postoji kašalj, kakav je karakter kašlja, iskašljavanje gnojnog sputuma, postojanje hemoptizija, nereagovanje na terapiju, sinusitis, aspiracija stranog tela.

Klinički pregled je podrazumevao vitalne znake, pregled glave, vrata, toraksa, a po potrebi i ostalih delova tela, u skladu s pravilima kliničke prakse.

Svoj deci je učinjena radiografija pluća i skener visoke rezolucije, koji su opisani od strane pedijatrijskog radiologa.

Takođe, kod svih ispitanika su učinjeni znojni test pilokarpinskom jontoforezom (ORION Skin Chlorid Sistem) i indukovani sputum.

Svoj deci je na početku istraživanja uzet uzorak krvi za laboratorijske analize, i to krvnu sliku sa leukocitarnom formulom, C reaktivni protein (CRP) i analizu DNK. Krv za

analizu DNK je uzimana venepunkcijom sa 3,8% Na-citratom, kao antikoagulansom u odnosu 1:9.

Za određivanje krvne slike sa leukocitnom formulom korišćen je hematološki analizator MEK-6510 (Nihon Konden, Tokyo, Japan). U uzorcima periferne krvi dobijenim venepunkcijom analiziran je C reaktivni protein.

Koncentracija CRP određivana je imunoturbidimetrijskom metodom na automatskom biohemijском analizatoru Dimension RxLMax (Simens, Nemačka). Sve laboratorijske analize upoređene su sa vrednostima iz literature za dati uzrast bolesnika.

Sva deca su potom praćena, kako bi se utvrdila potreba za hospitalizacijom, dužina trajanja simptoma, klinički tok bolesti i odgovor na terapiju.

3.2.1. Uzorkovanje sputuma

Indukovani sputum je prikupljen u ranim jutarnjim satima. Pacijenti su inhalirali hipertoni rastvor istih koncentracija (4,5%) preko ultrazvučnog nebulizatora u istim vremenskim intervalima (3,6). Standardna procedura prikupljanja indukovanoг sputum trajala je od 10 do 20 minuta. S obzirom da udisanje hipertonoг rastvora može dovesti do razvoja bronhokonstrikcije, pacijenti su dobijali kratkodelujuće beta-2 agoniste pre započinjanja procedure (13). U prvih dva sata po uzimanju uzorka nema promene broja ćelija i koncentracije medijatora te je ovo vreme najbolje za započinjanje analize. Ukoliko je bila odložena analiza uzorak je čuvan u frižideru na 4°C najduže do 9 sati od uzimanja (16). Analiziran je celokupni uzorak nakon dodavanja Splytolizina čija je količina bila 4 puta veća od uzorka (17). Potom je uzorak centrifugiran 30 sekundi, a nakon toga je homogenizovan na 22°C tokom 20 minuta. Procena broja ćelija u uzorku putem citospina zahtevala je pripremu uzorka gde se 40 do 65 mikrolitara uzorka citocentrifugiralo tokom 6 minuta, nakon toga se bojilo Gimzom i pristupalo se brojanju ćelija (18,19).

3.2.2. Mikrobiološki pregled indukovanog sputuma

Uzorak dobijen metodom indukovanog sputuma se inicijalno zasejava na odgovarajuće čvrste i tečne hranljive podloge, kao i na podloge za izolaciju gljivica. Iz uzorka se pravi direktan preparat i boji po Gramu. Na direktnom preparatu se mogu videti gram pozitivne koke, gram negativni bacilli i uočavaju se blastospore ako su prisutne gljivice. Citološkim pregledom upčavaju se polimorfonukleari i epitelne ćelije. Ukoliko je uzorak sputuma pozitivan radi se identifikacija uzročnika, a nakon toga i antibiogram. Izbor antibiotika zavisi od identifikovanog uzročnika.

3.2.3. Spirometrija

Spirometrija je merena na kompjuterizovanom spirometru (Shiller, Nemačka) prema standardima ERS 1993, Zapletal. Analizirani su forsirani vitalni kapacitet (FVC) i volumen vazduha izdahnut u prvoj sekundi (FEV_1). Rezultati spirometrije su prikazani kao postotci predviđenih vrednosti prema Zapletal –u koje su najprimerenije za našu populaciju dece, a koje se koriste na Univerzitetskoj dečijoj klinici u svakodnevnoj kliničkoj praksi.

3.2.4. Merenje izdahnutog NO

Izdahnuti NO prezentuje se brzinom izdahnutog NO (VNO), a izračunava se kao proizvod NO koncentracije u nL/L i brzine ekspiratornog protoka izražene u L/min: $VNO(nL/min) = NO(nL/L) \times \text{brzina protoka (L/min)}$. Merenje izdahnutog NO učinjeno je po preporukama ATS/ERS na aparatu NiOX (Aerocrine, Švedska) i rezultat je izražen u ppb (delova na milijardu). Vrednosti koncentracije NO u zavisnosti od uzrasta prikazane su u tabeli 7.

Tabela 7. Vrednosti koncentracije NO u zavisnosti od uzrasta

Uzrast	koncentracija NO (nL/L)			
	niska	normalna	visoka	vrlo visoka
6-12 godina	<5	5-15	16-25	>25
12-18 godina	<5	5-25	26-35	>35

3.3. ANALIZA GENA CFTR i ELANE

Za analizu gena CFTR i ELANE korišćena je DNK izolovana iz uzoraka venske krvi, a analiza je vršena metodologijom zasnovanom na PCR (polymerase chain reaction) tehnici. Prisustvo promena u odabranim segmentima gena CFTR i ELANE vršeno je direktnim sekvenciranjem DNK. Kod svih ispitanika je analizirano prisustvo mutacija u pet segmenata gena CFTR (egzoni 3, 10 i 11 i intron 8) i regulatornom regionu gena ELANE.

Za izolovanje DNK iz limfocita periferne venske krvi korišćen je komercijalni kit GeneJET™ Genomic DNA Purification (ThermoScientific). Metodom PCR korišćenjem odgovarajućih oligonukleotida umnoženi su prethodno definisani segmenti gena CFTR i ELANE. Prečišćavanje fragmenata DNK dobijenih reakcijom lančanog umnožavanja je izvršeno komercijalnim kitom GeneJET™ PCR Purification (ThermoScientific). Sekvenciranje DNK je vršeno komercijalnim kitom Big Dye Terminator v.3.1 Cycle Sequencing (Applied Biosystems) na četvorokapilarnom automatizovanom sistemu za elektroforezu sa sistemom za detekciju zasnovanim na fluorescenciji 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems). Podaci dobijeni sekvenciranjem obrađeni su pomoću softvera Sequencing Analysis Software (Applied Biosystems).

Genetsko ispitivanje je vršeno u Laboratoriji za molekularnu biologiju Instituta za molekularnu genetiku i genetičko inženjerstvo Univerziteta u Beogradu.

3.4. STATISTIČKA ANALIZA

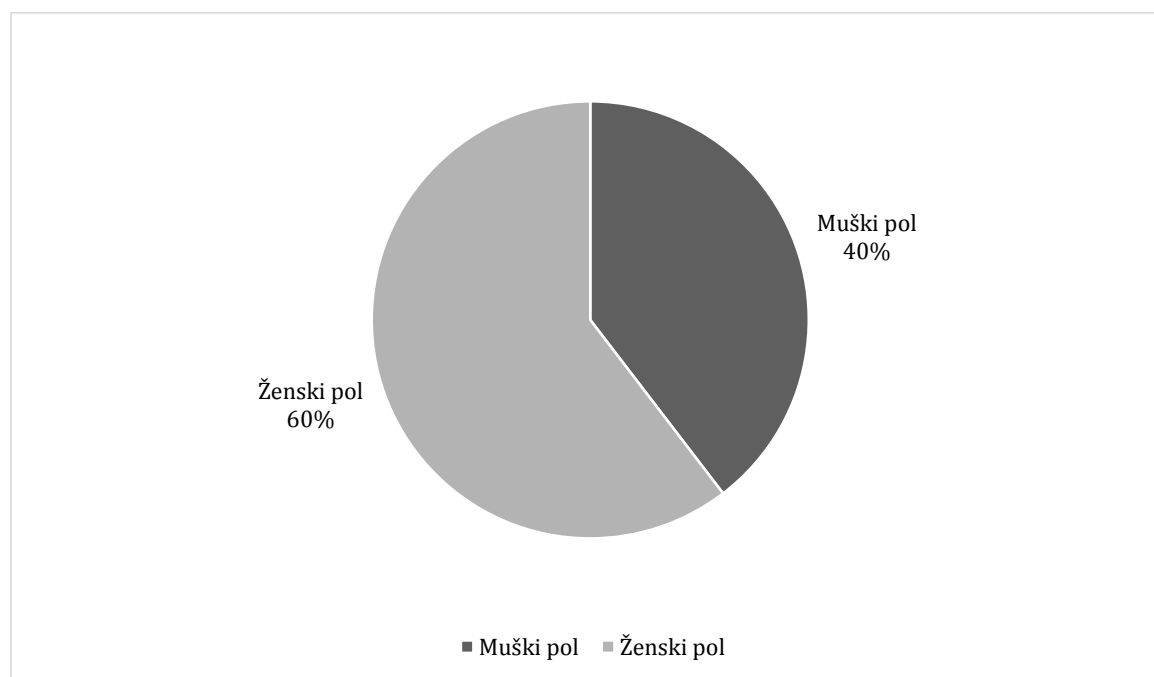
Broj potrebnih ispitanika, dece sa idiopatskim bronhiektazijama, za procenu prevalence mutacija u CFTR genu u ispitivanoj grupi izračunat je na osnovu pretpostavke o njihovoj zastupljenosti od 0,15 (na osnovu iskustvenih podataka), uz alfa grešku od 0,05 i preciznost od 0,1.

U radu su od metoda deskriptivne statistike korišćene: mere centralne tendencije (aritmetička sredina i medijana), mere varijabiliteta (interval varijacije, standardna devijacija i interkvartilni rang) i relativni brojevi. Od metoda analitičke statistike korišćene su: a) metode identifikacije empirijskih raspodela, b) metode za procenu značajnosti razlike i to: Student-ov t test i test sume rangova za numeričke varijable u zavisnosti od normalnosti raspodele i Hi-kvadrat i Fišer-ov test za kategorijalne varijable. Za utvrđivanje prediktora terapijskog odgovora korišćena je univarijantna i multivarijantna logistička regresiona analiza.

4. REZULTATI

4.1 KLINIČKE I DEMOGRAFSKE KARAKTERISTIKE GRUPE ISPITANIKA

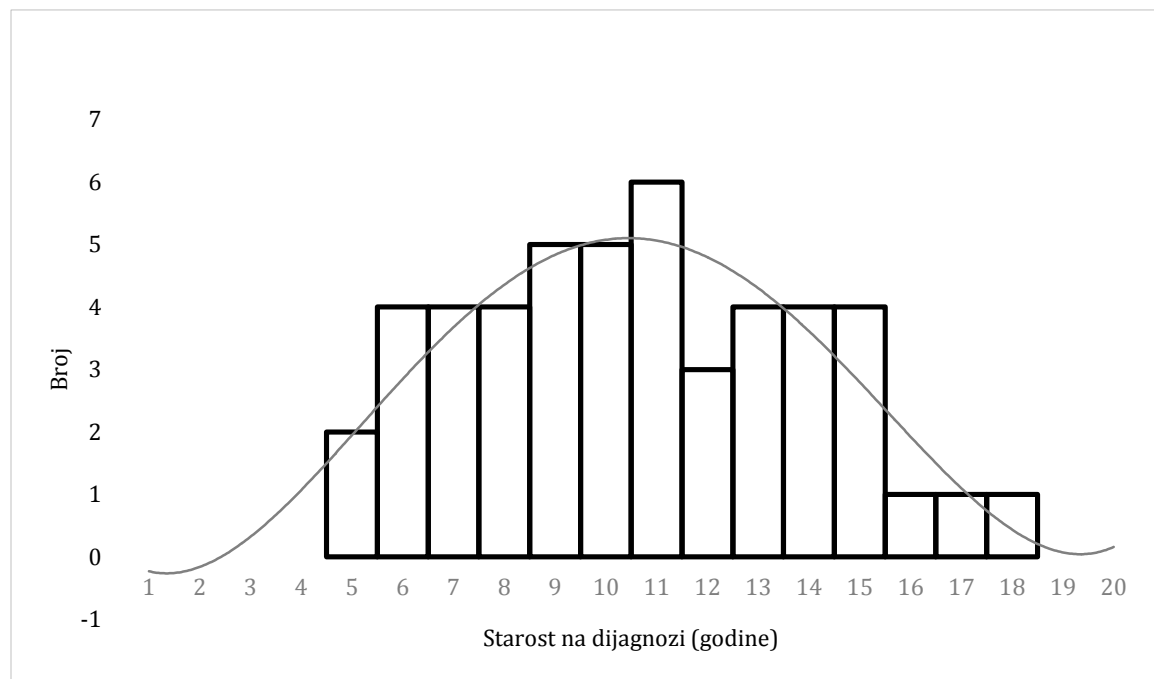
Studija je sprovedena na Odeljenju za pulmologiju i alergologiju Univerzitetske dečje klinike u Beogradu. U studiju je uključeno 48 ispitanika sa dijagnostikovanim idiopatskim bronhiektazijama uzrasta od 5 do 18 godina. Među ispitanicima je bilo 19 dečaka (60,4%) i 29 devojčica (39,6%) (Slika 6). Ne postoji statistički značajna razlika u zastupljenosti polova u ispitivanoj populaciji ($\chi^2=2,083$; $p>0,05$).



Slika 6. Zastupljenost ispitanika prema polu

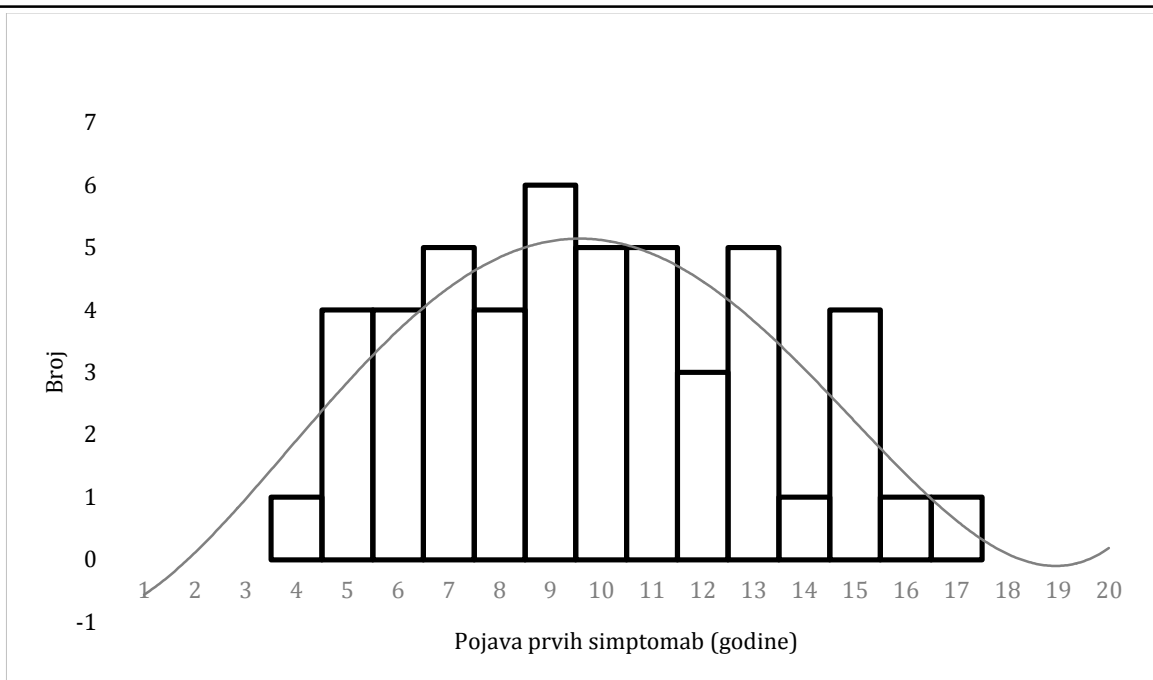
Prosečna starost ispitivane dece u trenutku dijagnoze je bila $10,6 \pm 3,3$ godine. Najmlađe dete je bilo staro 5 godina, a najstarije 18 godina. Distribucija učestalosti

ispitanika u trenutku dijagnoze prema godinama starosti prikazana je na Slici 7. Prosečna starost dečaka u trenutku dijagnoze bila je $10,8 \pm 3,0$ godina, a devojčica $10,5 \pm 3,6$ godina. Ne postoji statistički značajna razlika u prosečnoj starosti u trenutku dijagnoze prema polu ($t=0,363$; $p>0,05$).



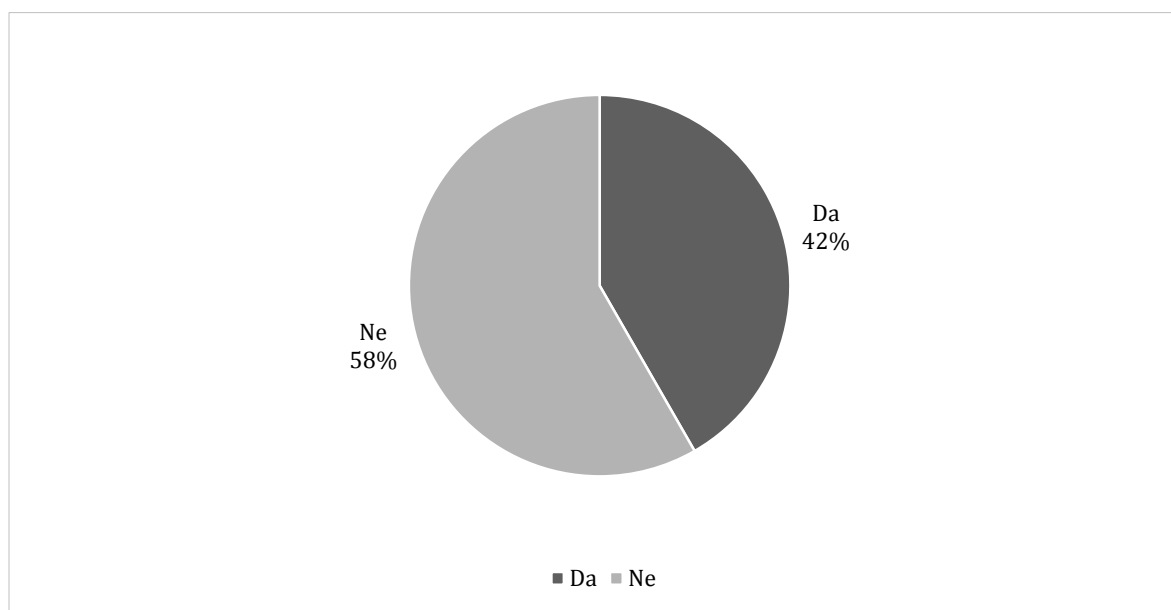
Slika 7. Distribucija učestalosti ispitanika na dijagnozi prema godinama starosti

Prosečna starost ispitivane dece pri pojavi prvih simptoma je bila $9,7 \pm 3,2$ godina. Najmlađe dete je bilo staro 4 godine pri pojavi prvih simptoma, a najstarije 16 godina. Distribucija učestalosti ispitanika prema godinama starosti pri pojavi prvih simptoma prikazana je na Slici 8. Prosečna starost dečaka pri pojavi prvih simptoma bila je $10,0 \pm 3,3$ godina, a devojčica $9,4 \pm 3,2$ godina. Ne postoji statistički značajna razlika u prosečnoj starosti pri pojavi prvih simptoma prema polu ($t=0,639$; $p>0,05$).



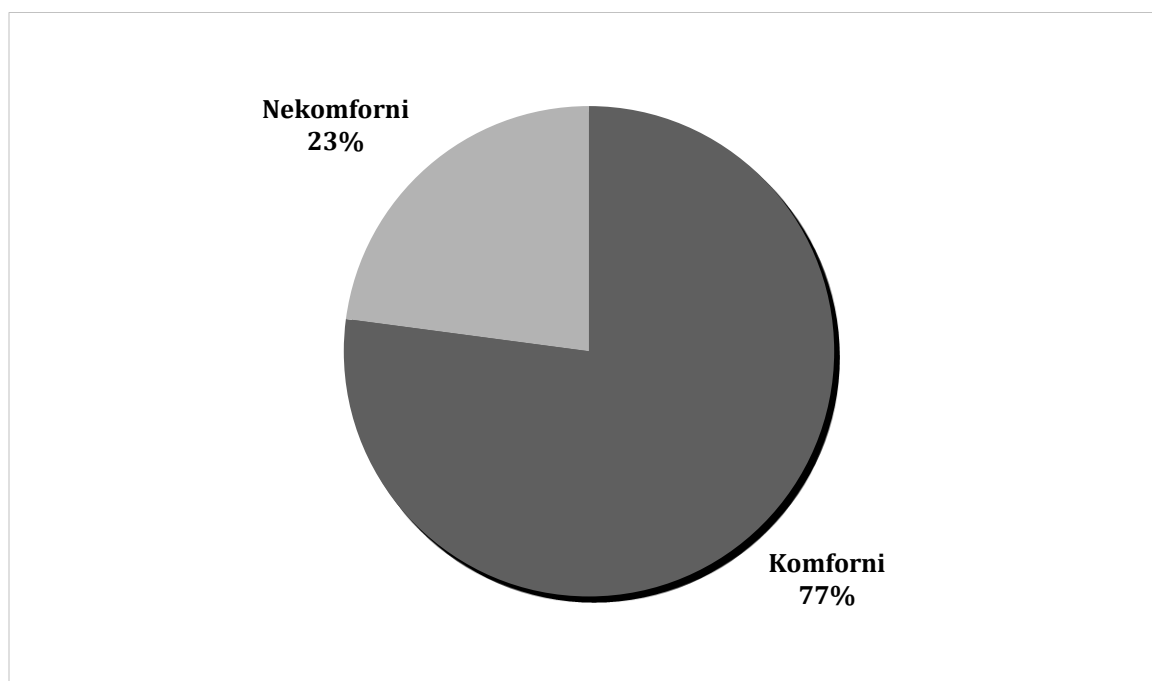
Slika 8. Distribucija učestalosti ispitanika pri pojavi prvih simptoma prema godinama starosti

Zastupljenost ispitanika prema izloženosti sekundarnom pušenju prikazana je na Slici 9. Ne postoji statistički značajna razlika u zastupljenosti sekundarnog pušenja u ispitivanoj populaciji ($\chi^2=1,333$; $p>0,05$).



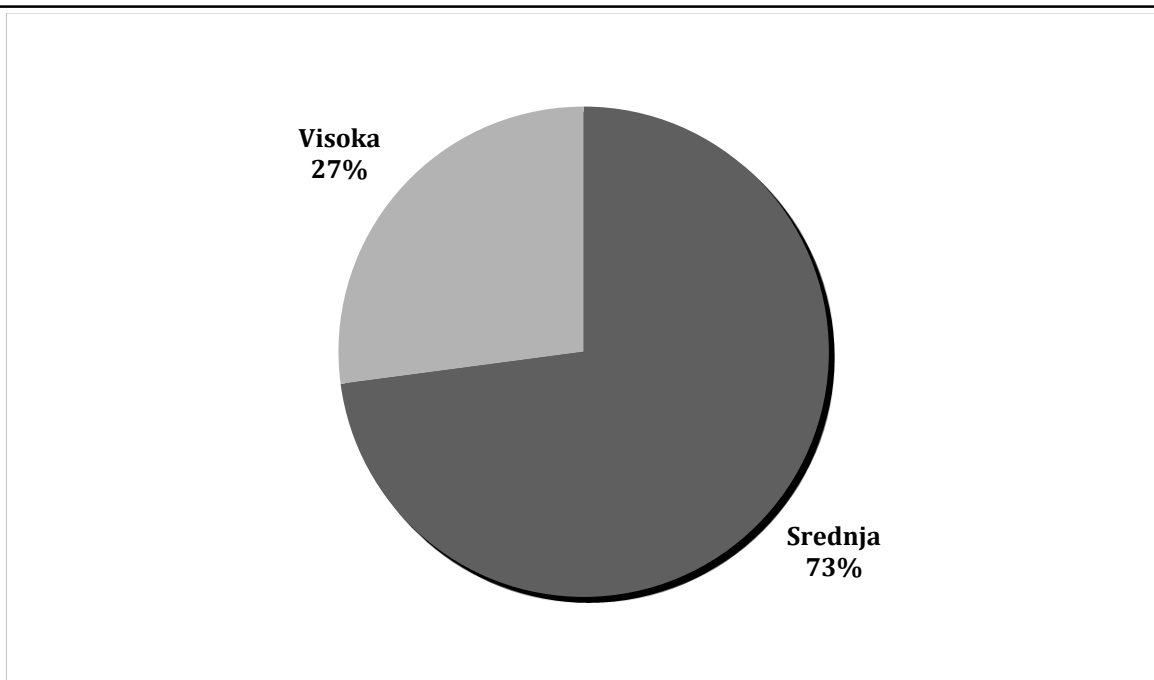
Slika 9. Zastupljenost sekundarnog pušenja kod ispitanika

Zastupljenost ispitanika prema uslovima stanovanja prikazana je na Slici 10. Postoji visoko statistički značajna razlika u zastupljenosti komfornih i nekomfornih uslova stanovanja u ispitivanoj populaciji ($\chi^2=14,083$; $p=0,0002$). Značajno češće su zastupljeni komforni uslovi života.



Slika 10. Zastupljenost uslova stanovanja kod ispitanika

Zastupljenost ispitanika prema stručnoj spremi roditelja prikazana je na Slici 11. Postoji statistički značajna razlika u zastupljenosti srednje i visoke stručne спреме u ispitivanoj populaciji ($\chi^2=10,083$; $p=0,0015$). Srednja stručna спрема je značajno češće zastupljena.



Slika 11. Zastupljenost stručne spreme roditelja ispitivane dece

Deskriptivni statistički parametri za vrednosti hlora u znoju, parametara plućne funkcije (FEV1 i FVC) zastupljenosti pojedinih tipova ćelija u indukovanom sputumu (limfocita, monocita, neutrofila, eozinofila i makrofaga) i nivoa CRP-a u serumu kod ispitivane dece prikazani su u Tabeli 8.

Tabela 8. Deskriptivni statistički parametri za rezultate analiza kod ispitanika

	SV	95%CI	M	SD	min	max	IQR
hlor u znoju(mmol/L)	15,52	13,15-17,89	12,50	8,16	5	43	11
FEV1 (%)	83,42	78,67-88,17	85,00	16,36	30	112	17
FVC (%)	81,79	77,57-86,01	80,00	14,54	45	110	19
limfociti (%)	9,91	7,39-12,43	10,00	8,49	1	42	9
monociti (%)	5,95	4,91-6,99	6,00	3,34	1	15	6
neutrofil (%)	57,94	51,54-64,34	59,00	22,04	12	94	40
eozinofili (%)	9,45	6,52-12,38	6,50	8,91	1	32	13
makrofagi (%)	21,09	15,78-26,40	18,00	17,68	3	78	14
CRP (mg/L)	14,15	10,89-17,40	11,00	11,22	1	41	17

SV – srednja vrednost, 95%CI – 95% interval poverenja, M – medijana, SD – standardna devijacija, min – minimalna vrednost, max – maksimalna vrednost, IQR – interkvartalni opseg

Deskriptivni statistički parametri za vrednosti inicijalnog NO, NO posle terapije i promene NO kod ispitivane dece sa idiopatskim bronhiektazijama prikazani su u Tabeli 9.

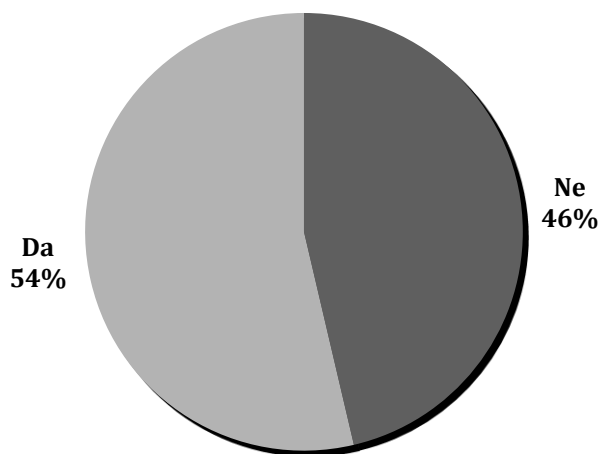
Tabela 9. Deskriptivni statistički parametri za rezultate merenja NO kod ispitanika

	SV	95%CI	M	SD	Min	max	IQR
inicijalni NO (ppb)	19,19	16,19-22,19	15,00	10,34	6	49	10
NO posle terapije (ppb)	13,65	12,06-15,24	12,50	5,48	6	32	7
promena NO (ppb)	5,54	3,44-7,64	1,50	7,24	0	28	10

SV – srednja vrednost, 95%CI – 95% interval poverenja, M – medijana, SD – standardna devijacija, min – minimalna vrednost, max – maksimalna vrednost, IQR – interkvartalni opseg

Ispitivanjem značajnosti promene vrednosti NO nakon terapije kod dece sa idiopatskim bronhiektazijama uočena je statistički značajna promena u vrednosti NO (ppb) nakon primenjene terapije kod dece sa idiopatskim bronhiektazijama ($t=5,301$; $p<0,001$). Zastupljenost terapijskog odgovora kod dece sa idiopatskim bronhiektazijama je bila slična i prikazana je na Slici 12.

TERAPIJSKI ODGOVOR



Slika 12. Zastupljenost terapijskog odgovora kod ispitanika

Mikrobiološke karakteristike kod dece sa idiopatskim bronhiektazijama prikazane su u Tabeli 10. Normalnu floru imalo je 2,1% ispitanika a najzastupljeniji uzročnici bili su *S. pneumoniae* 29,2%, *H. influenzae* 20,8% i *Pseudomonas* 20,8% ispitanika.

Tabela 10. Mikrobiološke karakteristike kod dece sa idiopatskim bronhiektazijama

	broj	%
normalna flora	1	2,1
<i>Pseudomonas</i>	10	20,8
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	14	29,2
<i>Moraxella catarrhalis</i>	5	10,4
<i>Haemophilus influenzae</i>	10	20,8
<i>Staphylococcus aureus</i>	4	8,3
<i>Acinetobacter</i>	1	2,1
<i>Burkholderia cepacia</i>	1	2,1
<i>Staphylococcus</i>	1	2,1
<i>Acinetobacter, Burkholderia cepacia</i>	1	2,1
<i>Staphylococcus</i>	1	2,1
Ukupno	48	100,0

4.2. ANALIZA GENA CFTR

Prisustvo promena u genu CFTR je analizirano sekvenciranjem egzona 3, 11 i 12 i introna 9 kod dece sa idiopatskim bronhiektazijama. Genetskom analizom je otkriveno prisustvo pet varijanti u genu CFTR koji su prikazani u Tabeli 11.

Tabela 11. Varijante u genu CFTR čije je prisustvo utvrđeno u grupi ispitanika

polimorfizam u CFTR genu	stari naziv	lokalizacija
c.1521_1523delCTT	F508del	egzon 11
c.224G>A	R75Q	egzon 3
c.1679+1C>T	1811+1C>T	intron 12
c.1210-12T[5_9]	poly-T tract	intron 9
c.1408A>G	M470V	egzon 11

Polimorfizmi c.1521_1523delCTT, c.224G>A i c.1679+1C>T su otkriveni kod po jednog ispitanika, a distribucija varijanti polimorfizama c.1210-12T[5_9] i c.1408A>G je prikazana u Tabeli 12.

Tabela 12. Distribucija polimorfnih varijanti u genu CFTR kod ispitanika

polimorfizam u genu CFTR	Varijanta	Broj	%
c.1210-12T[5_9]	c.1210-12T[5]	5	5.2
	c.1210-12T[7]	81	84.4
	c.1210-12T[9]	10	10.4
c.1408A>G	c.1408A	47	49.0
	c.1408G	49	51.0

Kod dece sa idiopatskim bronhiektazijama uočeno je prisustvo 12 različitih kombinacija varijanti u genu CFTR čija je distribucija u grupi ispitanika prikazana u Tabeli 13.

Tabela 13. Distribucija CFTR genotipova u grupi ispitanika

c.1210-12T[5_9]	CFTR varijante		Broj	%
	c.1408A>G	Ostalo		
7 / 9	A / G	c.1521_1523delCTT	1	2.1
5 / 7	A / G	c.224G>A	1	2.1
7 / 7	A / G	c.1679+1C>T	1	2.1
5 / 7	A / G	-	2	4.2
5 / 9	G / G	-	1	2.1
5 / 9	A / A	-	1	2.1
7 / 9	A / A	-	4	8.3
7 / 9	A / G	-	2	4.2
7 / 9	G / G	-	1	2.1
7 / 7	A / A	-	11	22.9
7 / 7	A / G	-	10	20.8
7 / 7	G / G	-	13	27.0

U ispitivanoj grupi dece sa idiopatskim bronhiektazijama mutacije u genu CFTR su pronađene kod 3 ispitanika (6,3%). U opštoj populaciji zastupljenost heterozigotnih nosilaca mutacija je 4%. Ne postoji statistički značajna razlika u zastupljenosti mutacija u ispitivanoj i opštoj populaciji ($\chi^2=0,522$; $p=0,4701$).

U opštoj populaciji zastupljenost genotipova koji sadrže varijantu c.1210-12T[5] je 5%, a zastupljenost genotipa c.1210-12T[7]/[9] je 10%. Postoji statistički značajna razlika u zastupljenosti ovih genotipova u ispitivanoj i opštoj populaciji ($\chi^2=4,696$; $p=0,0302$ i $\chi^2=5,581$; $p=0,0182$).

U ispitivanoj grupi dece sa idiopatskim bronhiektazijama zastupljenost genotipa c.1408A/A je 33,3%, genotipa c.1408A/G 31,3%, a genotipa c.1408G/G 35,4%. U opštoj populaciji zastupljenost ovih genotipova je: c.1408A/A - 20%, c.1408A/G - 50% i c.1408G/G - 30%. Postoji statistički značajna razlika u zastupljenosti genotipa c.1408A/G u ispitivanoj i opštoj populaciji ($\chi^2=7,618$; $p=0,0222$).

Ovde se navodi poredjenje sa opštom populacijom, a taj deo nije radjen u okviru teze. Treba navesti odakle su uzeti podaci za poredjenje

4.3. ANALIZA GENA ELANE

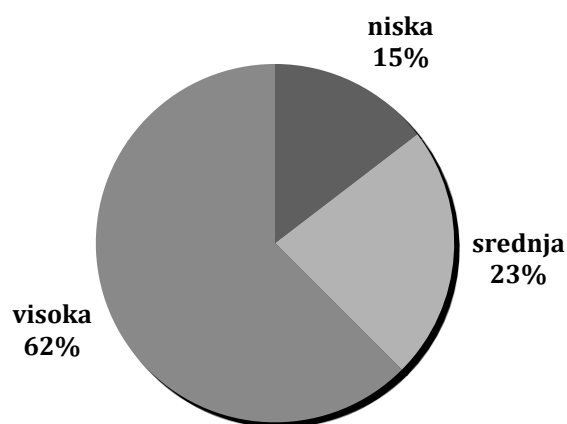
U ispitivanoj grupi dece sa idiopatskim bronhiektazijama sekvenciranjem je analiziran promotor gena za neutrofilnu elastazu. Genetskom analizom je otkriveno prisustvo tri varijante u genu ELANE: -903T/G, -741A/G i dodatni ponovak 52bp. Dodatni ponovak je otkriven kod jednog ispitanika, a distribucija varijanti -903T/G i -741A/G je prikazana u Tabeli 14.

Tabela 14. Distribucija polimorfizama u genu ELANE kod ispitanika

ELA2 genotip	predviđena elastazna aktivnost	broj	%
-903TG	Niska	6	12,5
-741AG	Srednja	7	14,6
-741AA	Srednja	3	6,2
-903TG / -741AG	Srednja	1	2,1
dodatni ponovak 52bp	Srednja	1	2,1
-903TT / -741GG	Visoka	30	62,5
Ukupno		48	100,0

Na osnovu prisutnih varijanti ispitanici su podeljeni u tri grupe prema predviđenoj aktivnosti neutrofilne elastaze: niska (-903TG), srednja (-903TT/-741AG and -903TT/-741AA) i visoka (-903TT/-741GG). Zastupljenost genotipova sa predviđenom ELANE aktivnošću u ispitivanoj grupi dece je prikazana na Slici 13. Postoji razlika u zastupljenosti predviđene aktivnosti ELANE genotipova i to visoku aktivnost imalo je 62% ispitanika, srednju 23% a nisku 15%.

PREDVIĐENA AKTIVNOST ELANE GENOTIPA



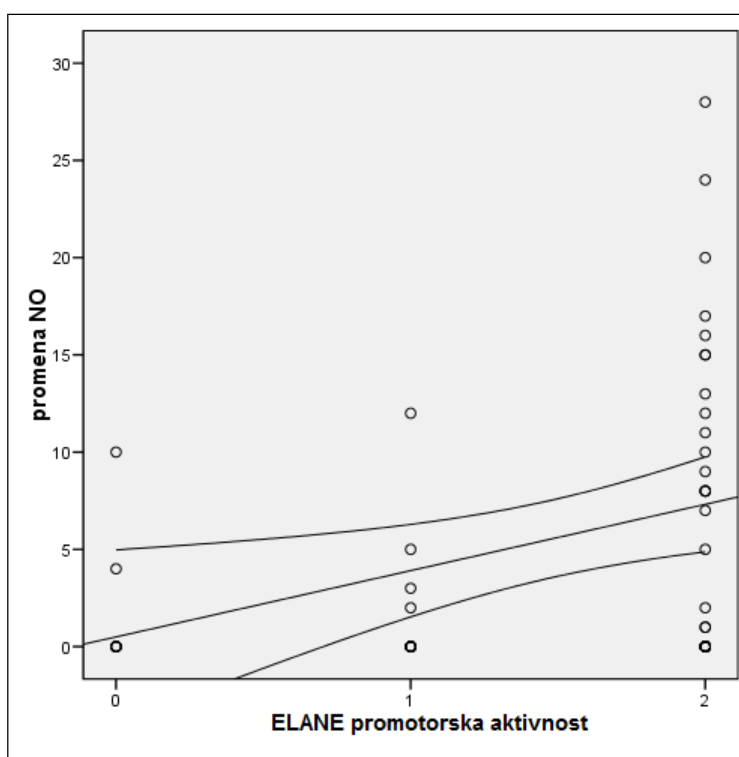
Slika 13. Zastupljenost genotipova sa predviđenom ELANE aktivnošću u ispitivanoj grupi dece sa idiopatskim bronhiektazijama

Ne postoji statistički značajna razlika u vrednostima limfocita, monocita, neutrofila, eozionofila, makrofaga i CRP-a kod dece sa idiopatskim bronhiektazijama i različitim nivoima ELANE promotorske aktivnosti ($p > 0,05$ za sve). Deskriptivni statistički parametri za vrednosti inicijalnog NO i razlike vrednosti NO pre i nakon terapije, odnosno promene NO prema nivoima ELANE promotorske aktivnosti u ispitivanoj grupi dece sa idiopatskim bronhiektazijama prikazani su u Tabeli 15.

Tabela 15. Deskriptivni statistički parametri za vrednosti inicijalnog NO i razlike vrednosti NO pre i nakon terapije prema nivoima ELANE promotorske aktivnosti

	nivo ELANE promotorske aktivnosti	broj ispitanika	srednja vrednost (ppb)	standardna devijacija (ppb)
inicijalni NO	niska/srednja	18	14,78	4,61
	Visoka	30	21,83	11,89
razlika NO	niska/srednja	18	2,00	3,65
	Visoka	30	7,67	8,05

Postoji statistički značajna razlika u vrednosti inicijalnog NO između dece sa niskom/srednjom i visokom ELANE promotorskom aktivnošću ($t=2,906;p=0,006$). Deca sa visokom aktivnošću imaju značajno višu inicijalnu vrednost NO. Takođe postoji statistički značajna razlika u vrednosti promene NO između dece sa niskom/srednjom i visokom ELANE promotorskom aktivnošću ($t=3,329;p=0,002$). Deca sa visokom aktivnošću imaju značajno veću promenu NO. Utvrđeno je i da postoji statistički značajna povezanost promene NO i ELANE promotorske aktivnosti ($r=0,350;p=0,015$) (Slika 14).



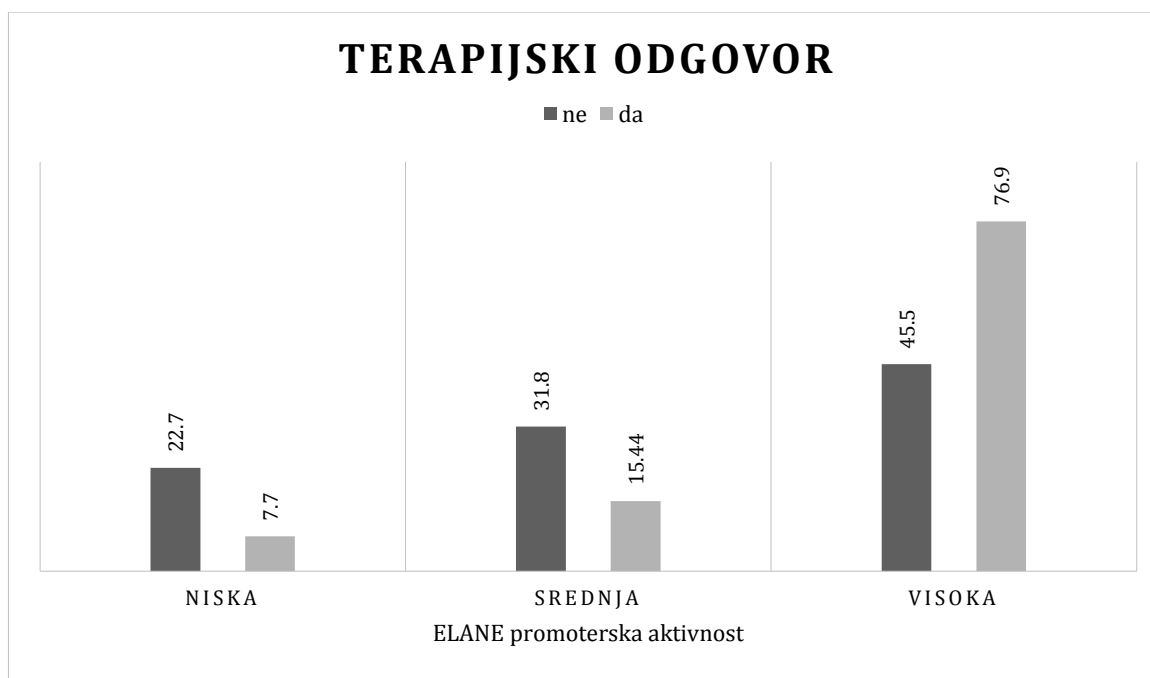
Slika 14. Povezanost promene NO i ELANE promotorske aktivnosti kod dece sa idiopatskim bronhiektazijama
(0 - niska; 1 - srednja; 2 - visoka)

Zastupljenost terapijskog odgovora prema nivoima ELANE promotorske aktivnosti u ispitivanoj populaciji dece sa idiopatskim bronhiektazijama prikazana je u Tabeli 16.

Tabela 16. Zastupljenost terapijskog odgovora prema nivoima ELANE promotorske aktivnosti u ispitivanoj grupi dece sa idiopatskim bronhiektazijama

ELANE promotorska aktivnost	terapijski odgovor				Ukupno	
	NE		DA			
	Broj	%	Broj	%	Broj	%
Niska	5	71,4	2	28,6	7	100,0
Srednja	7	63,6	4	36,4	11	100,0
Visoka	10	33,3	20	66,7	30	100,0
Ukupno	22	45,8	26	54,2	48	100,0

Postoji statistički značajna povezanost zastupljenosti terapijskog odgovora i ELANE promotorske aktivnosti (Kendall's tau-b=0,313;p=0,018). Deca sa visokom ELANE promotorskom aktivnošću imaju značajno bolji terapijski odgovor. Zastupljenost terapijskog odgovora prema nivoima ELANE promotorske aktivnosti u ispitivanoj grupi dece sa idiopatskim bronhiektazijama prikazan je na Slici 15.



Slika 15. Zastupljenost terapijskog odgovora prema nivoima ELANE promotorske aktivnosti

5. DISKUSIJA

U ovoj studiji ispitivan je uticaj mutacija i varijanti u genima CFTR i ELANE na pojavu idiopatskih bronhiektazija kod dece, kao i njihova povezanost sa određenim karakteristikama bolesti i efikasnošću odgovora na terapiju. Ovo je jedna od malobrojnih studija koja se bavi ulogom CFTR gena u dečjim idiopatskim bronhiektazijama, koja ostaje nedovoljno razjašnjena. Prva studija u svetu uloge mutacija u genu ELANE u idiopatskim bronhiektazijama obuhvaćena je ovim istraživanjem. Ova studija je takođe razmatrala uticaj socioekonomskih faktora i sekundarnog pušenja na razvoj idiopatskih bronhiektazija kod dece.

5.1. DEMOGRAFSKE I KLINIČKE KARAKTERISTIKE ISPITANIKA

U studiju je uključeno 48 ispitanika sa dijagnostikovanim idiopatskim bronhiektazijama uzrasta od 5 do 18 godina. Među ispitanicima je bilo oko 60% dečaka i oko 40% devojčica i nije bilo statistički značajne razlike u zastupljenosti polova. Na osnovu studije sprovedene na Novom Zelandu zastupljenost prema polu kod ispitivanih bila je 49 dečaka prema 42 devojčica od ukupno 91 ispitanika (274). Ova raspodela odgovara raspodelu nađenoj u našem ispitivanju. U odnosu na uzrast ispitanika prosečna starost kada je postavljena dijagnoza u istoj studiji je bila 7,3 godina (od 0,9-16 godina). Prosečan uzrast dijagnostikovanja bronhiektazija u studiji objavljenoj 2009. godine od strane Karakotc-a i saradnika je iznosila 87 meseci (+/- 58 meseci) (275). U studiji koja je objavljena 2005. godine od strane Karadaga i saradnika prosečna starost je iznosila 7,4 godine (+/- 3,7) (276). U našem ispitivanju prosečna starost u trenutku postavljanja dijagnoze je bila 10,63 (+/-3,32 godine). Iz ovoga zaključujemo da nema većeg odstupanja u starosnom uzrastu ispitanika kod kojih je postavljena dijagnoza idiopatskih bronhiektazija. Postavljanje dijagnoze u navedenim studijama bilo je prvenstveno na osnovu skenera visoke rezolucije, jedino je u studiji Karakoc-a u dijagnostičkim metodama koje su sprovedene značajno mesto zauzimala i klinička slika ispitanika (277). Rezultati

naše studije koji su se odnosili na određivanje hlora u znoju kod ispitanika pokazali su da ne postoje dijagnostički parametri za postavljane dijagnoze cistične fibroze kao jednog od mogućih etioloških faktora u razvoju bronhiektazija. Vodeći dijagnostički parametar za postavljanje dijagnoze idiopatskih bronhiektazija u našoj studiji bio je skener visoke rezolucije što ujedno i predstavlja zlatni standard u svim vodičima. Prosečna vrednost 95% CI za vrednosti hlora u znoju kod naših ispitanika bila je 15,52 mmol/l sa intervalom od 13,15 do 17,89. Ovaj statistički parametar bio je značajan u dodatnoj dijagnostici bronhiektazija jer je isključio cističnu fibrozu kao mogući uzrok pojave bronhiektazija. Kod ispitanika u našoj studiji srednja vrednosti FEV₁ je iznosila 83,42%. U odnosu na nađene vrednosti u našoj studiji, vrednosti FEV₁ u studiji Bahaliya i saradnika iz 2014. godine je iznosila manje, 72% (281). U odnosu na ove dve studije koje su ispitivale plućnu funkciju kod idiopatskih bronhiektazija, studija Pifferija i saradnika iz 2004. godine je ispitivala plućnu funkciju kod bronhiektazija koje su bile uslovljene cističnom fibrozom, primarnom cilijarnom diskinezijom i postinfektivnim razvojem bronhiektazija (284). I ova studija je ukazala na statistički značajno smanjenje FEV₁. Možemo zaključiti da bez obzira na etiološki uzročnik koja dovodi do pojave bronhiektazija svi mogu usloviti poremećaj plućnih funkcija. U prilog tome idu i rezultati naše studije koje se odnose na forsirani vitalni kapacitet (FVC) koji je takođe snižen kod naših ispitanika, što je u skladu sa rezultatima studija Bahaliya i saradnika i Pifferija (281, 284). Pifferi je u svojoj studiji pored skenera visoke rezolucije koji smo i mi koristili u dijagnostici, ispitivao i perfuziju i scintigrafiju pluća kod svojih ispitanika i upoređujući ove rezultate pokazao je da postoji značajno statističko smanjenje plućne funkcije koje visoko korelira sa promenama koje su viđene na skeneru pluća. Takođe postoji statistički značajna korelacija oštećenja plućne funkcije sa ovim imidžing procedurama, to još jednom govori u prilog da skener visoke rezolucije predstavlja dijagnostički zlatni standard.

5.2. UTICAJ SOCIOEKONOMSKIH FAKTORA I SEKUNDARNOG PUŠENJA

U ovoj studiji sekundarno pušenje nije bilo povezano sa pojavom bronhiektazija. Na osnovu studije objavljene 2014. godine koja je ispitivala značajnost izloženosti pacijenata

pasivnom pušenju za pojavu idiopatskih bronhiektazija pokazano je da ne postoji statistička značajnost (278). U ovoj studiji je interesatno i da je razvoj bronhiektazija bio najveći kod osoba koje nikada nisu pušile. Zasigurno je da će u narednom periodu biti dosta studija koje će se baviti pasivnim pušenje i aerozagađenjima kao mogućem etiološkom uzročniku bronhiektazija.

Studija koju je sproveo Goeminne sa saradnicima je ukazala da postoji statistička značajnost socioekonomskih uslova u razvoju bronhiektazija (279). Rezultati ove studije ukazuju da je statistička značajno češći razvoj idiopatskih bronhiektazija kod porodica sa niskim i srednjim socioekonomskim statusom koji se ogledao kroz stepen obrazovanja roditelja i ispitanika. Naša studija je ukazala da postoji statistička značajnost u zastupljenosti idiopatskih bronhiektazija kod ispitanika čiji su roditelji bili sa srednjom stručnom spremom (280).

Razmatrajući uticaj uslova stanovanja na razvoj idiopatskih bronhiektazija u našoj studiji uočena je visoko statistički značajna razlika u razvoju bronhiektazija u odnosu na uslove stanovanja koji su bili okarakterisani kao komforni, odnosno nekomforni. U našoj studiji značajno su češće bili zastupljeni komforni uslovi stanovanja. Za razliku od naših rezultata studija Goeminna i saradnika je imala potpuno različite rezultate. U njegovoj studiji zastupljenost komfornih uslova stanovanja je bila statistički značajno manja (279). U studiji Bahalija i saradnika iz 2014. godine ispitivani su drugi aspekti socioekonomskih uslova života pacijenata na pojavu bronhiektazija (281). Ova studija je pokazala statističku značajnost anksioznosti u pojavi idiopatskih bronhiektazija, a skorovanjem kvaliteta života pacijenata je utvrđena statistička značajnost uticaja psihosocijalne sredine na razvoj bronhiektazija. Ova studija je takođe pokazala sniženje kvaliteta života kod starijih pacijenata što se može objasniti hronicitetom bolesti i porastom komorbideta, kao i porastom potrebe za hroničnom terapijom. Za razliku od Kapurove studije koja nije pokazala razliku u kvalitetu života dece i odraslih sa bronhiektazijama, Olveirina studija je ukazala na pogoršanje kvaliteta života starijih u odnosu na mlađe pacijente (282,283).

5.3. INFLAMACIJA KOD ISPITANIKA SA IDIOPATSKIM BRONHIEKTAZIJAMA

U toku našeg ispitivanja sprovedi smo kod svih ispitanika uzimanje bronhoalveolarnog lavata i na osnovu dobijenih citoloških nalaza postoji visoko statistički značajna predominacija neutrofila u odnosu na zastupljenost limfocita, monocita, eozinofila i makrofaga. Razlog verovatno leži u patofiziološkom mehanizmu i odbrambenoj sposobnosti domaćina u odgovoru na prisustvo mikroorganizama. Prvu liniju odbrane predstavljaju epitelne ćelije, mukus, cilije i sposobnost ekspresije antimikrobnih peptida, lizozima i surfaktanta kao odgovora u sklopu opsonizacije. Druga linija odbrane su adaptivni imuni odgovori preko različitih proteinskih receptora koji prepoznaju strukture mikroorganizama. Ovi receptori vrše ekspresiju na makrofage, epitelne ćelije i intraepitelne dendritičke ćelije. Interakcija između mikroorganizma i imunskog sistema dovodi do opsonizacije i oslobađanja mnogobrojnih proinflamatornih citokina, interferona i hemokina. Na mestu oštećenja usled patomehanizma koji vodi rapidnoj lizi disajnih puteva dolazi do mobilizacije neutrofila. Ovaj odgovor je brži od imunskog odgovora posredovanog T i B limfocitima (285).

U studiji Chang i saradnika iz 2013. godine vidi se da postoji statistički značajno povećanje interleukina 6 (IL-6), koji predstavlja neutrofilni marker inflamacije i na osnovu toga možemo još jednom zaključiti da su citološki rezultati slični kao i u svim do sada sprovedenim studijama koje su ispitivale bronhiektazije kod dece i odraslih (286). Analizom C reaktivnog proteina u BEST-2 studiji postoji značajno povećanje vrednosti ovog markera inflamacije, kao i IL- 6, IL-10 i IP-10 (286). Kod pacijenata sa bronhiektazijama prisutan je karakterističan neutrofilni inflamatorni odgovor, sa povećanom koncentracijom neutrofilne elastaze i mijeloperoksidaze u bronhijalnom stablu (287). Proinflamatorni medijatori IL-8, interleukin 1 β (IL-1 β) i TNF- α su najverovatnije uključeni u migraciju neutrofila kroz zid bronhija u lumen, na šta ukazuje jasna pozitivna korelacija između koncentracije ovih faktora i količine patogenih mikroorganizama koji se mogu izolovati iz pluća obolelih. Neutrofili poseduju sposobnost fagocitoze, produkcije reaktivnih kiseoničnih medijatora i antimikrobnih supstanci, a kada su aktivirani vrše

sekreciju više proteza, uključujući neutrofilnu elastazu, katepsin G i proteazu 3 (283). Pored neutrofila, u održavanju inflamacije učestvuju i makrofagi, T limfociti i eozinofili. Oslobađajući brojne inflamatorne medijatore, ove ćelije privlače neutrofile u bronhijalno stablo i regulišu imuni odgovor. Pokazano je da čak i ćelije respiratornog epitela sekretuju proinflamatorne medijatore i na taj način održavaju lokalnu inflamaciju.

U studiji Hsieh-a i saradnika iz 2013. godine meren je nivo visoko senzitivnog serumskog CRP-a. Tehnika merenja je izvođena na aparatu BIOMEDICAL LABORATORY INC. U ovoj studiji pacijenti su bili podeljeni u dve grupe koje se nisu razlikovale statistički prema starosnoj dobi, polnoj distribuciji, indeksu telesne mase i plućnim funkcijama. Pacijenti u prvoj grupi imali su izmerenu vrednosti visoko senzitivnog CRP-a manji od 4,26mg/l, a 31 pacijent u drugoj grupi imao je nivo viši od 4,26mg/l (38). Takođe su bili podeljeni i prema učestalosti egzacerbacija i hospitalizacijama koje su bile u vezi sa njima. Ova studija je utvrđivala korelaciju sa bronhiektazijama utvrđujući senzitivnost CRP kao biomarkera sistemskog inflamatornog odgovora. Ustanovljeno je da pacijenti sa bronhiektazijama u stabilnoj fazi bolesti imaju povišen nivo sistemskih markera inflamacije te da i u ovom periodu kliničke stabilnosti pacijenti sa ne-CF bronhiektazijama imaju povišenu bronhijalnu inflamaciju (289).

Tokom egzacerbacija, pogotovo u toku infekcija, povećava se migracija neutrofila u disajne puteve što dovodi do povećanja nivoa proteolitičkih enzima. Proteolitici vrše destrukciju plućnog matriksa dovodeći do razvoja bronhiektazija. Nivo nisko senzitivnog CRP je pokazao signifikantnu korelaciju sa skorom promenom dobijenim skenerom visoke rezolucije, ali nije zabeležena korelacija sa merenjem plućnih funkcija. U ovoj studiji zabeležena je negativna korelacija sa FEV₁ i FVC. Možda razlog leži u tome što je inflamacija kod ovih pacijenata neznatna (290). U našoj studiji zabeleženo je povećanje CRP čija je prosečna vrednost iznosila 14,15mg/l, te se može zaključiti da su i naši rezultati u korelaciji sa postojećim, jer ova vrednost ukazuje na niski stepen inflamacije. U studiji Chitkara i saradnika iz 2011. godine analizom CRP kod dece sa bronhiektazijama postoji statistički značajna korelacija sa nivoom interleukina-6 kao i sa prokalcitoninom, a takođe postoji statistička korelacija povišenih vrednosti CRP sa sniženim vrednostima FEV₁ i FVC. Na osnovu analiza drugih studija kao i naših rezultata možemo zaključiti da je CRP kao biomarker inflamacije značajan u analizi progresije oboljenja (291).

U cilju utvrđivanja centralne uloge infekcije i inflamacije usled prisustva patogenog mikroorganizma kod obolelih od idiopatskih bronhiektazija i mi smo u našoj studiji sprovedi ispitivanje bronhoalveolarnog lavata kao zlatnog standarda za utvrđivanje postojanja mikroorganizama i inflamacije kod bolesti donjih disajnih puteva. Tehnika uzimanja bronhoalveolarnog lavata omogućava verodostojnost rezultata jer se minimalizuje mogućnost kontaminacije uzorka orofaringealnom florom u odnosu na uzimanje indukovano sputuma (295). Naši rezultati ukazuju na predominaciju neutrofila u uzorcima bronhoalveolarnih lavata kod ispitanika, dok je u zastupljenosti ostalih vrsta infalantornih ćelija prosečna vrednost makrofaga na drugom mestu. Procenat zastupljenosti limfocita i eozinofila u uzorcima kod ispitanika bila je skoro podjednaka. Ovi rezultati u velikoj meri koreliraju sa podacima u studijama koje su ispitivale zastupljenost ćelija u lavaži kod idiopatskih bronhiektazija. U studiji 2012. godine Kapura sa saradnicima u ispitivanim uzorcima bronhoalevolarne lavaže 60% zastupljenosti ćelija pripadalo je neutrofilima, 33% makrofazima, 5,5 % limfocitima (282). Kod dece koja su bila uključena u ovu studiju postojao je signifikantni porast ukupnih ćelija prvenstveno neutrofila kod dece sa infekcijom donjih disajnih puteva, ali isto tako od ukupnog broja ćelija u BAL uzorku kod neinfektivne grupe ispitanika neutrofili su takođe bili predominantni (više od 85%). Dece koja su bila sa znacima infekcije su ispitivana i nakon uzimanja antibiotika i rezultat citologije pokazuje ukupno smanjenje ćelija, ali ne i promenu u zastupljenosti neutrofila. Takođe ova studija nije pokazala signifikatnost uticaja etioloških faktora primene antibiotika na ukupan broj ćelija i njihovu zastupljenost po tipovima (8). Pregledom studija objavljenih tokom 2011. godine, analizom nalaza sputuma utvrđeno je da postoji veći rizik kolonizacije kod ispitanika koji su imali smanjenje FEV₁ ispod 80% i koji su imali rani početak bolesti a to se odnosi na uzrast ispod 14 godina (296).

U studiji Greenwud-a iz 2011. godine pregledom podataka utvrđeno je da postoji prisustvo pulmonarnih makrofaga kod osoba očuvanog imuniteta bez imunodeficijencije i da se u rezoluciji inflamacije ne menja njihova zastupljenost u značajnijoj meri, ali da postoji značajno smanjenje neutrofila i NK ćelija. Ova studija je ujedno ukazivala i na različitu zastupljenost medijatora inflamacije tako da u samoj inflamaciji raste zastupljenost proteaza i slobodnih radikala kiseonika, citokina, hemokina, matriks-metaloproteinaze, katepsina, elastaze. U rezoluciji inflamacije dominiraju antioksidansi,

antiinflamatorni citokini , antiproteze i faktori rasta od kojih je najznačajniji faktor rasta trombocita. Ista studija je ispitivala primarne imunodeficientne bolesti udružene sa bronhiektazijama kod dece. Imunološke varijacije su bile uslovljene osnovnom bolešću koja uslovljava imunodeficientno stanje. Studija se bavila ispitivanjem takozvanih idiopatskih bronhiektazija na osnovu rezultata merenja proinflamatornih i antiinflamatornih medijatora i zaključak je da su regulatorni mehanizmi poremećeni i da inflamatorni odgovor nije proporcionalno veći u odnosu na kolonizaciju bakterija. Moguće je da odgovor na ovu činjenicu leži u izmenjenoj ekspresiji "Toll like" receptora, te da epitelne ćelije disajnih puteva i neutrofili kao integralne komponente imunog sistema gube mehanizam kontrole. što se pogotovo odnosi na plućne makrofage. Utvrđeno je da "Toll like" receptori 2 i 4 povećavaju svoju ekspresiju tokom akutne bakterijske infekcije, ali da takođe postoji i značajno smanjenje "Toll like" 4 receptora kod dece sa perzistentnim kašljem i stalnom kolonizacijom što može biti rezultat stalnog izlaganja respiratornim bakterijama koje utiču na njegovu smanjenu regulaciju (285).

5.3. MIKROBIOLOŠKE KARAKTERISTIKE ISPITANIKA

U našem ispitivanju dece sa idiopatskim bronhiektazijama utvrđivali smo mikrobiološke karakteristike BAL. U našem ispitivanju najveći procenat zastupljenosti su imali *S. pneumoniae* (29,2%), *P. aeruginosa* (20,8%) i *H. influenzae* (20,8%). U studiji Kapura i saradnika iz 2012.godine najzastupljeniji patogeni u lavatu kod 113 dece su bili *H. influenzae* sa 47%, *S. pneumoniae* sa 22% i *S. aureus* sa 12%, dok je *P. aeruginosa* bio manje zastupljen (6%) (282). Razlog manjeg broja pacijenta sa kolonizacijom pseudomonasom je primena oralnih antibiotika u vreme uzimanja uzoraka tokom istraživanja, kao i već komentarisanoj izmenjenoj regulaciji ekspresije odbranbenih ćelija usled stalne kolonizacije pseudomonasom i porastom neutrofila u lavatu ispitanika. U istoj studiji od ukupnog broja ispitanika 68% dece je imalo pozitivnu analizu mikrobiološkog lavata. Takođe ova studija je ukazala da kod 30% dece postoji kolonizacija sa dva ili više patogena.

Značajno je pitanje otkrivanja biofilma u bronhoalveolarnoj lavaži kod dece sa idiopatskim bronhiektazijama. Biofilm se može definisati kao zatvoreni sistem bakterija

koji sam sebe održava koristeći sposobnost samoprodukcije i brzu sposobnost prilagođavanja DNK i razvijanja rezistencije. Bakterije koje rastu u vidu biofilma se odlikuju povećanom rezistencijom na antibiotike i njihova detekcija može biti samim tim otežana tokom kultivisanja. Kod infekcija koje su uzrokovane ovakvom vrstom bakterija rezultati mikrobiloškog ispitivanja su veoma često negativni, iako su jasno pozitivni rezultati za klinički infekciju (297). U jednoj restrospektivnoj australijskoj studiji iz 2012. godine objavljeni rezultati ukazivali su na veoma značajnu kliničku ulogu prepoznavanja patogena iako je svega 68% uzoraka BAL u ovoj studiji bilo pozitivno, za šta razlog upravo leži u otežanom prepoznavanju usled postojanja biofilma. *In vitro* studije su pokazale da biofilm mogu stvoriti *S. pneumoniae*, *H. influenzae* i *M. catarrhalis* (294-296). Ipak najčešće bakterije koje stvaraju biofilm su *P. aeruginosa*, *H. influenzae* i drugi respiratorni patogeni koji se mogu naći u donjim disajnim putevima. I pored preporuka da se kod pedijatrijskih pacijenata BAL uzima u dva uzorka, ne postoje signifikatni podaci iz studija koji bi ukazali na izmenjenost rezultata otkrivanja biofilma između ova dva uzorka, iako bi se očekivalo da otkrivanje biofilma iz drugog uzorka bude statistički značajno veće zbog odstranjivanja mukusa tokom prvog uzorkovanja. Ova hipoteza je nastala na osnovu ispitivanja koja su se odnosila na uzimanje uzorka kod otitis medie gde je postojalo značajno povećanje detekcije biofilma nakon učestalih lavaža srednjeg uha (287).

U Bergenovoj studiji iz 2013. godine može se videti da se u disajnim putevima kod pacijenata sa idiopatskim bronhiektazijama najčešće izoloju *P. aeruginosa*, *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *S. maltophilia*, *S. aureus* i gljivica *Aspergillus fumigatus*. Enzimi oslobođeni pod uticajem bakterija (pseudomonas, pseudolizin(elastaza) i aeruginolysin alkalna proteaza) pokreću proteolitičke procese i inaktiviraju antiproteazu elafin, kao i oslobađanje IL-18. U ovoj studiji u 6 od 10 pacijenata je bila prisutna bakterijska kolonizacija, ali je otkriveno da BAL sadrži niži nivo neutrofilne elastaze u odnosu na pacijente koji boluju od cistične fibroze. U istoj studiji koncentracija neutrofilne elastaze kod idiopatskih bronhiektazija bila je u pozitivnoj korelaciji sa brojem neutrofilnih ćelija u uzorku BAL. U ovoj studiji utvrđivanjem nivoa IL-8 nije nađena signifikantna razlika kod pacijenata sa i bez kolonizacije pseudomonasom. Još uvek nije u potpunosti objašnjena uloga IL-8 u inflamaciji kod idiopatskih bronhiektazija, ali sve ukazuje da je neutrofilna inflamacija predominantna i kod CF i ne-CF bronhiektazija, kao i da IL-8 vezuje glikozaminoglikane. Za

razliku od IL-8, IL-18 se slabije vezuje za glikozaminoglikane i ima veću senzitivnost za proteolitičku degradaciju. U dosadašnjim studijama je već opisano da nakon izlaganja serinskim proteazama u koje spadaju neutrofilna elastaza i katepsin G dolazi do degradacije IL-18 pa je samim tim to objašnjenje zašto je u uzorku BAL kod idiopatskih bronhiektazija koncentracija IL-18 snižena ili skoro nedetektabilna. Iz tog razloga se u terapiji uvode antiproteaze putem nebulizacije koje bi imale pozitivan efekat na stabilizaciju IL-18 i smanjile kolonizaciju kod CF ili kongenitalnih bronhiektazija. Koncept ove strategije može da objasni inicijalni uspeh koji je postignut inhalatornom terapijom alfa 1 antitripsinom tokom 4 nedelje kod pacijenata obolelih od bronhiektazija čiji je etiološki uzročnik CF i kod kojih je zabeleženo smanjenje aktivnosti serinskih proteaza, sniženje neutrofilne elastaze, kao i proinflamatornih medijatora, IL-8, TNF alfa , IL-1beta i LTB4 (288).

U studiji mcShane-a i saradnika iz 2013. godine sprovedenoj na odraslim pacijentima sa idiopatskim bronhiektazijama mikrobiološkom analizom je utvrđeno da su gram pozitivni mikroorganizmi češći (*S. pneumoniae* i *S. aureus*), kao i netuberkulozni mikobakterijum (290). Studija King-a i kolega iz 2007. godine je izolovala i klinički ispitala korelaciju tri odvojene grupe mikroorganizama (*P. aeruginosa*, *H. influenzae* i normalnu floru). U ovoj studiji ispitivanjem plućne funkcije pacijenata sa pseudomonasom u odnosu na *H. influenzae* pokazalo se pogoršavanje, dok grupa pacijenta sa normalnom florom nije imala pogoršavanje plućne funkcije. Ovo bi moglo da govori u prilog korelaciji progresije bolesti i kolonizaciji i infekciji pseudomonasom i hemofilusom. U studiji King-a i saradnika takođe je pokazano da značajno više pacijenata ima kolonizaciju hemofilusom (47%) nego pseudomonasom (12%) (246). Druge studije pak pokazuju da je *P. aeruginosa* značajno češći. U svakom slučaju *P. aeruginosa* u svim dosadašnjim studijama korelira sa težinom kliničke slike, oštećenjem plućne funkcije, učestalijim egzacerbacijama i značajno smanjenim kvalitetom života (297). Većina bakterija u bronhiektazijama su u formi biofilma. Biofilm predstavlja izazov u lečenju jer njihov matriks i ekstracelularni polisaharidi organizuju zaštitu bakterije od spoljnog agensa. Biofilm omogućava preživljavanje bakterija na mnogo različitih načina. Biofilmom bakterije postižu stepen anoksije i kiselosti dovodeći do razvoja rezistencije na antibiotike. Biofilm zaustavlja penetraciju antibiotika pri čemu se i bakterije fenotipski prilagođavaju odgovoru i taj

fenomen se opisuje kao "quorum sensing". Antibiotici mogu biti inaktivisani od strane biofilma promenom polimerizacije, rastvaranjem u biofilmu ili poremećajem efektivnosti kanala specifičnih za antibiotik. Biofilm može zaštititi bakteriju od fagocitoze i antitelom. U bliskoj budućnosti očekuje se da će terapija biti usmerena ka savladavanju biofilma i njegove barijere (299).

U našoj studiji kod dece sa idiopatskim bronhiektazijama izolovane su sledeće bakterije *S. pneumoniae* (29,2%), *P. aeruginosa* (20,8%), i *H. influenzae* (20,8%), *M. catarrhalis* (10,4%) i *S. aureus* (8,3%). Normalanu floru smo zabeležili kod 2,1% ispitanika. Na osnovu ovoga možemo reći da se rezultati naših mikrobioloških analiza ne razlikuju od rezultata ostalih istraživača i njihovih studija koje su ukazale na najčešće mikroorganizme izolovane iz BAL-a. Iako nismo ispitivali biofilm zbog tehničkih mogućnosti kojima smo raspolagali, na osnovu terapijskog odgovora koji nije bio signifikantno značajan u pogledu poboljšanja možemo zaključiti da je najverovatniji razlog izostanka većeg pozitivnog efekta upravo rezistentnost uslovljena razvojem biofilma. U pogledu terapijskog efekta merenog preko vrednosti NO može se zaključiti da postoji visoko statistički značajna razlika sa smanjenjem vrednosti NO nakon terapije, što je pokazatelj da primenjena terapija ima značajan antiinflamatorni efekat. Za razliku od stepena sistemske inflamacije određenog koncentracijom CRP, za koji smo i kroz ostale studije ustanovili da predstavlja biomarker koji ne mora biti značajno povišen kod inflamacije, u bronhiektazijama izdahnuti NO predstavlja direktniji pokazatelj stepena inflamacije u disajnim putevima jer se stvara lokalno. Izdahnuti NO samim tim je senzitivniji pokazatelj lokalne inflamacije koja se odigrava u disajnim putevima kod ovih pacijenata i u korelaciji je sa kliničkom slikom bolesti (300).

5.4. ULOGA GENA CFTR U IDIOPATSKIM BRONHIEKTAZIJAMA

Veliki broj studija u toku prethodne decenije bio je posvećen istraživanju genetičke osnove idiopatskih bronhiektazija, ali njihovi rezultati nisu konzistentni i genetička osnova ove bolesti još uvek nije poznata. U ovoj studiji prisustvo varijanti u CFTR genu korelirano

je sa razvojem bolesti analizom njihove učestalosti kod dece sa idiopatskim bronhiektazijama i poređenjem sa poznatom učestalošću u opštoj populaciji. Ukoliko varijante gena CFTR imaju ulogu u idiopatskim bronhiektazijama, očekivano je da su najzastupljenije u dobro okarakterisanoj grupi dece, kod kojih su sa sigurnošću isključeni svi poznati uzroci i faktori rizika za ovu bolest. Ova studija je sprovedena u grupi od 48 dece kod kojih su bronhiektazije dijagnostikovane pomoću HRCT toraksa, tehnike koja se smatra zlatnim standardom u dijagnostici ove bolesti, a svi poznati uzroci isključeni.

Cistična fibroza je isključena kod svih ispitanika na osnovu rezultata kliničke evaluacije i znojnog testa. Znojni test je bio negativan ($<40\text{mmol/L}$) kod 45 dece, dok je kod 3 pacijenta imao graničnu vrednost ($30\text{--}40\text{mmol/L}$). Ranije studije su pokazale da su rezultati znojnog testa kod atipičnih formi cistične fibroze, kod kojih su mutacije detektovane na oba alela, iznad 30mmol/L (301,302). Prethodne studije su takođe pokazale da su u populaciji pacijenata sa bronhiektazijama bez cistične fibroze heterozigotni nosioci CFTR varijanti znatno češći nego u zdravoj populaciji, na osnovu čega se pretpostavlja da je kod osoba sa negativnim znojnim testom i jednom normalnom kopijom gena CFTR funkcija proteina CFTR u izvesnoj meri oštećena (266, 267, 268).

Svi ispitanici uključeni u ovu studiju podvrgnuti su analizi određenih segmenata gena CFTR u kojima se nalaze relativno česte varijante. Osim najčešće mutacije, c.1521_1523delCTT, analiziran je i polimorfni Tn lokus, a egzoni 3, 10 i 11 su sekvencirani da bi se utvrdilo da li su u njima prisutne bilo kakve promene. Pomenuti regioni gena CFTR odabrani su za analizu na osnovu prethodnih studija, u sklopu kojih su kod pacijenata sa bolestima pluća baš u ovim regionima najčešće detektovane CFTR varijante u našoj populaciji (303,304). Podaci u učestalostima pojedinih varijanti u CFTR genu dobijeni u ovoj studiji poređeni su sa podacima iz literature o učestalosti u opštoj populaciji, koji su slični podacima za zdravu populaciju Srbije, s obzirom da nije bilo mogućnosti da se oformi i analizira kontrolna grupa istog uzrasta kao ispitanici. Upotreba pomenutih literaturnih podataka opravdana je činjenicom da su korišćeni podaci za populacije iz mediteranskog regiona, za koje je poznato da imaju sličnu genetičku osnovu, kao i distribuciju mutacija u CFTR genu kao i populacija Srbije (304).

Incidenca varijanti u genu CFTR u grupi ispitanika nije se značajno razlikovala u odnosu na opštu populaciju. Mutacija c.1521_1523delCTT, koja je u ovoj studiji

detektovana kod jednog ispitanika, u heterozigotnom stanju predstavlja faktor rizika za razvoj bolesti pluća (305). Pacijent kod koga je detektovana mutacija c.224G>A takođe je nosilac varijante c.1210-12T[5]. Varijanta c.224G>A dovodi do zamene amino kiseline u proteinu, ali se aktivnost mutiranog proteina CFTR ne razlikuje u odnosu na normalnu proteinsku varijantu (306). Alel c.224A je značajno češći kod pacijenata sa blagim manifestacijama plućnih bolesti, kao što je atipična cistična fibroza (321). Povišena učestalost ove varijante otkrivena je i kod pacijenata sa hroničnom obstruktivnom bolešću pluća u Srbiji.

Aleli polimorfnog Tn lokusa se ne smatraju mutacijama koje dovode do cistične fibroze, ali utiču na obradu CFTR iRNK i mogu biti udružene sa nekim blažim kliničkim prezentacijama (307). Varijante c.1210-12T[7] i c.1210-12T[9] se smatraju normalnim, pošto se u slučaju da su prisutne sintetiše dovoljna količina funkcionalne CFTR iRNK i ne dolazi do razvoja bolesti. Alel c.1210-12T[5] ne generiše dovoljnu količinu funkcionalne CFTR iRNK, zbog čega se smatra „blagom“ mutacijom. U ovoj studiji varijanta c.1210-12T[5] je detektovana sa učestalošću od 10.4%, a nosioci ove varijante su bili značajno češći u grupi ispitanika nego u opštoj populaciji ($\chi^2=4.696$, $p=0.0302$), što ukazuje na moguću ulogu ove varijante u etiologiji idiopatskih bronhiektazija. Rezultati ove studije saglasni su sa hipotezom da je varijanta c.1210-12T[5] povezana sa obstruktivnim bolestima pluća, što bi trebalo potvrditi analizom većeg broja ispitanika (308).

Varijanta c.1408A>G uzrokuje amino-kiselinsku zamenu koja dovodi do razlike u brzini maturacije proteina CFTR i aktivnosti jonskog kanala. Varijanta p.470Met maturira sporije i ima aktivnost jonskog kanala 1,7 puta manju u poređenju sa varijantom p.470Val (309). Iako se varijante p.470Met i p.470Val funkcionalno razlikuju, nema podataka o njihovoj povezanosti sa pojedinim kliničkim fenotipovima, ali postoji mogućnost da u kombinaciji sa drugim varijantama dovode do blažih kliničkih prezentacija (310). U ovoj studiji učestalost genotipa Met/Met je bila statistički značajno veća u grupi ispitanika sa idiopatskim bronhiektazijama nego u opštoj populaciji, dok su heterozigotni nosioci varijante c.1408A>G bili značajno ređi ($\chi^2=7.618$, $p=0.0222$). Pošto je kod adultnih pacijenata sa bronhiektazijama koji su nosioci CFTR mutacija otkrivena vrlo visoka učestalost Met/Met genotipa (90%), njegova povećana učestalost u ovoj studiji može pre značiti da su prisutne druge CFTR varijante koje nisu mogle biti detektovane primenjenim

metodoma, nego ukazati na njegovu povezanost sa razvojem bolesti (266). Imajući u vidu varijabilnost mutacija u CFTR genu koje su otkrivene kod pacijenata sa bronhiektazijama, buduće studije bi trebalo proširiti na pretragu kompletnog CFTR gena. Analiza polimorfnog TG ponovka koji se nalazi u blizini Tn lokusa takođe može biti od značaja za interpretaciju dobijenih rezultata, s obzirom da varijanta c.1210-12T[5] u sklopu haplotipa 5T-12TG-470M može biti (311, 312). Analizu haplotipova nije bilo moguće izvršiti kod ispitanika u ovoj studiji, jer u većini slučajeva nisu bila dostupna oba roditelja. Ostaje mogućnost da su neki od ispitanika nosioci mutacija u CFTR genu koje nisu detektovane u ovoj studiji, što bi moglo značajno da utiče na funkciju proteina CFTR i da značajnije doprinese funkcionalnoj abnormalnosti kod ovih pacijenata. Rezultati ove studije su u saglasnosti sa prethodno objavljenim rezultatima za adultne pacijente sa bronhiektazijama, koji ukazuju na relativno visoku učestalost CFTR varijanti c.1210-12T[5] i c.1408A u ovom oboljenju (302, 266, 267). S obzirom na nedostatak kontrolne grupe, relativno mali broj ispitanika i gubitak statističke značajnosti nakon korekcije za mali uzorak, ovi rezultati mogu se smatrati preliminarnim i trebalo bi ih potvrditi na većem broju uzoraka i kontrola. S druge strane, podaci o mutacijama u genu CFTR u pedijatrijskoj populaciji sa idiopatskim bronhiektazijama praktično ne postoje i nije bilo drugih studija ovog tipa. Istraživanja rađena na adultnim pacijentima sa bronhiektazijama ukazuju da heterozigotnost za mutacije u CFTR genu najverovatnije ima patološke posledice i doprinosi razvoju bronhiektazija u kombinaciji sa drugim genetičkim i epigenetičkim faktorima (302,266,268). Rezultati dobijeni u ovoj studiji ukazuju na moguću ulogu dve česte varijante u CFTR genu, c.1210-12T[5] i c.1408A, u idiopatskim bronhiektazijama kod dece. Analiza većeg broja uzoraka, obuhvatnija analiza gena CFTR i analiza uzoraka iz drugih populacija neophodni su da bi se potvrdili rezultati ove studije i razjasnila uloga navedenih CFTR varijanti u idiopatskim bronhiektazijama.

5.3. ULOGA GENA ELANE U ODGOVORU NA TERAPIJU U IDIOPATSKIM BRONHIEKTAZIJAMA

Ovo je prva studija koja je obuhvatila analizu ELANE genotipova u bronhiektazijama. Hipoteza da varijante u promotorskom regionu gena ELANE imaju ulogu modulatora

odgovora na terapiju u idiopatskim bronhiektazijama ispitana je koreliranjem prisustva varijanti sa odgovorom na terapiju procenjenim na osnovu kliničkih parametara i promene nivoa NO pre i posle terapije. Distribucija ELANE genotipova u grupi ispitanika u ovoj studiji nije se značajno razlikovala u odnosu na druge studije (270, 271, 313). Uočena je pozitivna korelacija između prisustva ELANE genotipova sa predviđenom visokom aktivnošću i odgovora na terapiju.

Infiltracija pluća neutrofilima praćena povišenim nivoima markera inflamacije karakteristična je za bronhiektazije i, iako može biti prisutna blaga sistemska inflamacija, inflamatorni proces je obično ograničen na plućno tkivo (314, 315). Nivo FeNO u izdahnutom vazduhu pacijenata sa bronhiektazijama je u nekim studijama bio povišen u odnosu na zdrave ispitanike, dok u drugim studijama nije nađena značajna razlika (310, 316, 317, 318, 319). Najverovatniji razlog za nekonzistentnost rezultata su razlike u metodološkim pristupima i kriterijumima za selekciju pacijenata, od kojih je najznačajnije prisustvo infekcije. U ovoj studiji ispitanici sa ELANE genotipovima sa predviđenom visokom aktivnošću imali su značajno viši nivo NO na prijemu nego ispitanici sa ELANE genotipovima sa predviđenom niskom i srednjom aktivnošću. Neutrofilna elastaza može da naruši normalnu funkciju plućnog tkiva i izazove prekomerno oslobađanje proinflamatornih medijatora (317). Neutrofilna elastaza takođe redukuje frekvencu obrtanja cilija, što pogađa mukocilijarni klirens i produkciju NO (322). Moguće je da navedeni efekti neutrofilne elastaze mogu da dovedu do povećanja produkcije NO od strane rezidentnih i inflamatornih ćelija pluća.

Značajnije sniženje nivoa NO nakon terapije je zabeleženo kod ispitanika sa ELANE genotipovima sa predviđenom visokom aktivnošću, što ukazuje da bolje reaguju na primenjenu terapiju. Prethodne studije nisu zabeležile promenu u nivou NO nakon terapije antibioticima i inhaliranim kortikosteroidima (317, 323). Poznato je da makrolidni antibiotici inhibiraju neutrofilnu elastazu, snižavaju nivo inflamacije, povećavaju nivo mukocilijarnog klirensa, snižavaju virulentnost bakterija i sprečavaju formiranje biofilma (324, 325). Nepoznato je šta dovodi do razlike nivoa NO između grupa sa različitim ELANE genotipovima. Pošto i na antibiotsku terapiju i aktivnost neutrofilne elastaze utiče veliki broj faktora, uočeni fenomen je najverovatnije posledica kompleksne interakcije genetičkih i negenetičkih faktora u plućima.

Ispitanici sa ELANE genotipovima sa predviđenom visokom aktivnošću imaju značajno bolji odgovor na terapiju od ispitanika sa ELANE genotipovima sa predviđenom niskom i srednjom aktivnošću, što ukazuje na potencijalnu ulogu polimorfizama u genu ELANE u modulaciji odgovora na terapiju u bronhiektazijama. Pošto je studija obuhvatila relativno mali broj uzoraka, uočenu korelaciju između određenih ELANE genotipova i odgovora na terapiju trebalo bi istražiti u većim studijama uz analizu drugih genetičkih i negenetičkih faktora. Istraživanja koja bi obuhvatila druge plućne bolesti takođe bi doprinela razjašnjenju uloge neutrofilne elastaze u odgovoru na antimikrobijalnu terapiju.

6. ZAKLJUČAK

- Nije uočena statistički značajna razlika u zastupljenosti polova, kao ni u prosečnoj starosti u grupi dece sa idiopatskim bronhiektazijama u trenutku dijagnoze i pojavi prvih simptoma u odnosu na pol.
- Nije uočena statistički značajna razlika u zastupljenosti sekundarnog pušenja u ispitivanoj populaciji, ali postoji statistički značajna razlika u zastupljenosti srednje i visoke stručne sprema, pri čemu je srednja stručna sprema značajno češće zastupljena ($\chi^2=10,083$; $p=0,0015$).
- Uočena je visoko statistički značajna razlika u razvoju bronhiektazija u odnosu na uslove stanovanja koji su bili okarakterisani kao komforni, odnosno nekomforni. U našoj studiji značajno su češće bili zastupljeni komforni uslovi stanovanja.
- U pogledu terapijskog efekta merenog preko vrednosti NO postoji visoko statistički značajna razlika sa smanjenjem vrednosti NO nakon terapije, što je pokazatelj da primenjena terapija ima značajan antiinflamatorni efekat ($t=5,301$; $p<0,001$).
- Ne postoji statistički značajna razlika u zastupljenosti CFTR mutacija u ispitivanoj i opštoj populaciji.
- Postoji statistički značajna razlika u zastupljenosti CFTR genotipova 5T/7T i 5T/9T u ispitivanoj i opštoj populaciji ($\chi^2=4,696$; $p=0,0302$), kao i u zastupljenosti CFTR genotipa 7T/9T ($\chi^2= 5,581$; $p= 0,0182$).
- Postoji statistički značajna razlika u zastupljenosti CFTR M470V genotipa u ispitivanoj i opštoj populaciji ($\chi^2= 7,618$; $p= 0,0222$).
- Rezultati dobijeni u ovoj studiji ukazuju na moguću ulogu dve česte varijante u CFTR genu, c.1210-12T[5] i c.1408A, u idiopatskim bronhiektazijama kod dece.

-
- Postoji visoko statistički značajna razlika u zastupljenosti genotipova ELANE promotora u ispitivanoj populaciji dece sa idiopatskim bronhiektazijama, pri čemu je genotip sa predviđenom visokom aktivnošću najzastupljeniji ($\chi^2= 18,875$; $p= 0,0001$).
 - Ne postoji statistički značajna razlika u vrednostima ćelija bronhoalveolarne lavaže (limfocita, monocita, neutrofila, eozionofila, makrofaga) kao i CRP-a kod dece sa idiopatskim bronhiektazijama i različitim nivoima previđene aktivnosti ELANE promotora.
 - Deca sa visokom previđenom aktivnošću ELANE promotora imaju značajno višu incijalnu vrednost NO u odnosu na decu sa niskom/srednjom previđenom aktivnošću ELANE promotora ($t=2,906$; $p=0,006$), kao i značajno veću promenu NO ($t=3,329$; $p=0,002$).
 - Postoji statistički značajna povezanost promene NO sa predviđenom aktivnošću ELANE promotora ($r=0,350$; $p=0,015$).
 - Postoji statistički značajno bolji terapijski odgovor kod dece sa visokom predviđenom aktivnošću ELANE promotora (Kendall's tau-b= $0,313$; $p=0,018$).
 - Ispitanici sa ELANE genotipovima sa predviđenom visokom aktivnošću imaju značajno bolji odgovor na terapiju od ispitanika sa ELANE genotipovima sa predviđenom niskom i srednjom aktivnošću, što ukazuje na potencijalnu ulogu polimorfizama u genu ELANE u modulaciji odgovora na terapiju u bronhiektazijama.

7. LITERATURA

1. Bogdanović D. Anatomija grudnog koša (Thorax). Beograd: Savremena administracija; 2005.
2. Bumbaširević V, Lačković V, Milićević NM. Milićević Ž, Mujović S, Obradović M et al. Histologija. Beograd: Medicinski fakultet u Beogradu; 2005.
3. Grozdanović-Radovanović J. Histologija za molekularne biologe. Beograd: Naučna knjiga; 1991.
4. Guyton AC, Hall JE. Textbook of medical physiology. 11th ed. Philadelphia: Elsevier Inc; 2006.
5. Davidović V. Uporedna fiziologija 1. Beograd: Zavod za udžbenike i nastavna sredstva; 2003.
6. Nestorović B. Pedijatrijska pulmologija. Beograd: HEMOFARM AD; 2011.
7. King P. Pathogenesis of bronchiectasis. *Paediatr Respir Rev.* 2011; 12: 104-110.
8. Bush A, Cole P, Hariri M, Mackay I, Phillips G, et al. Primary ciliary dyskinesia: diagnosis and standards of care. *Eur Respir J.* 1998; 12: 982-988.
9. Boyton RJ. Bronchiectasis. *Medicine.* 2008; 36: 6.
10. Boyton RJ. Regulation of immunity in bronchiectasis. *Med Mycol.* 2009; 47(Suppl 1):S175-82.
11. Barker AF. Bronchiectasis. *N Engl J Med.* 2002; 346: 1383-93.
12. Grimwood K. Airway microbiology and host defences in paediatric non-CF bronchiectasis. *Paediatr Respir Rev.* 2011; 12: 111-118.
13. Martínez-García MA, Soler-Cataluña JJ, Perpiñá-Tordera M, Román-Sánchez P, Soriano J. Factors associated with lung function decline in adult patients with stable non-cystic fibrosis bronchiectasis. *Chest.* 2007; 132(5):1565-72.
14. Angrill J, Agusti C, Rosa De C, Filella X, RAÑÓ A, et al. Bronchial Inflammation and Colonization in Patients with Clinically Stable Bronchiectasis. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2001; 164(9): 1628-1632.
15. Fuschillo S, De Felice A, Balzano G. Mucosal inflammation in idiopathic bronchiectasis: cellular and molecular mechanisms. *Eur Respir J* 2008; 31: 396-406.

-
16. Thompson D, Pepys M.B, Wood SP. The physiological structure of human C-reactive protein and its complex with phosphocholine. *Structure*. 1999; 7:169–177.
 17. Pepys MB, Hirschfield GM. C-reactive protein: a critical update. *J. Clin. Invest.* 2003; 111:1805–12.
 18. Palop-Cervera M, de Diego Damiá A, Martínez-Moragón E, Cortijo J, Fullana J, et al. Inflammation Markers in the Exhaled Air of Patients with Bronchiectasis Unassociated with Cystic Fibrosis. *Arch Bronconeumol*. 2009;45(12):597-602.
 19. Coleman JW. Nitric oxide in immunity and inflammation. *Int Immunopharmacol*. 2001; 1(8): 1397-406.
 20. Bogdan C. Nitric oxide and the immune response. *Nature immunology*. 2001; 2(10): 907-916.
 21. Kharitonov SA, Barnes PJ. Nitric oxide in exhaled air is a new marker of airway inflammation. *Monaldi Arch Chest Dis*. 1996; 51(6): 533–7.
 22. Kharitonov SA, Barnes PJ. Clinical aspects of exhaled nitric oxide. *Eur Respir J*. 2000; 16: 781-792.
 23. Pasteur MC, Bilton D, Hill AT. British Thoracic Society guideline for non-CF bronchiectasis. *Thorax*. 2010; 65: 1-58.
 24. U AM, Sccrappa S, Lex C et al. Non-CF bronchiectasis does knowing the aetiology lead to charges in management? *Eur Respir J*. 2005; 26:8-14.
 25. Glauser EM, Cook CD, Harris GB. Bronchiectasis: a review of 187 cases in children with follow-up pulmonary function studies in 58. *Acta Paediatr Scand*. 1966;165:1
 26. Simila S, Linna O, Lanning P, et al. Chronic lung damage caused by adenovirus type 7: a ten-year follow-up study. *Chest*. 1981;80 :127-31.
 27. Wynn-Williams N. Bronchiectasis: a study centred on Bedford and its environs. *BMJ*. 1953;1:1194-9.
 28. Danielson GK, Hanson CW, Cooper EC. Middle lobe bronchiectasis. Report of an unusual familial occurrence. *JAMA*. 1967;201:605-8.
 29. Davis PB, Hubbard VS, McCoy K, et al. Familial bronchiectasis. *J Pediatr*. 1983;102:177-85.
 30. Johnston RF, Green RA. Tracheobronchiomegaly. Report of five cases and demonstration of familial occurrence. *Am Rev Respir Dis*. 1965;91:35-50.
-

-
31. Mitchell RE, Bury RG. Congenital bronchiectasis due to deficiency of bronchial cartilage (Williams-Campbell syndrome): a case report. *J Pediatr*.1975;87:230-4.
 32. Nikolaizik WH, Warner JO. Aetiology of chronic suppurative lung disease. *Arch Dis Child*.1994;70:141-2.
 33. Eastham KM, Fall AJ, Mitchell L, et al. The need to redefine non-cystic fibrosis bronchiectasis in childhood. *Thorax*.2004;59:324-7.
 34. Slim MS, Yacoubian HD. Complications of foreign bodies in the tracheobronchial tree. *Arch Surg*.1966;92:388-93.
 35. Limper AH, Prakash UB. Tracheobronchial foreign bodies in adults. *Ann Intern Med*.1990;112:604-9.
 36. Ernst KD, Mahmud F. Reversible cystic dilatation of distal airways due to foreign body. *South Med J*.1994;87:404-6.
 37. Massie R, Armstrong D. Bronchiectasis and bronchiolitis obliterans post respiratory syncytial virus infection: think again. *J Paediatr Child Health*.1999;35:497.
 38. Wynn-Williams N. Bronchiectasis: a study centred on Bedford and its environs. *BMJ*.1953;1:1194-9.
 39. Kelly MG, Murphy S, Elborn JS. Bronchiectasis in secondary care: a comprehensive profile of a neglected disease. *Eur J Intern Med*.2003;14:488-92.
 40. Scala R, Aronne D, Palumbo U, et al. Prevalence, age distribution and aetiology of bronchiectasis: a retrospective study on 144 symptomatic patients. *Monaldi Arch Chest Dis*. 2000;55:101-5.
 41. Edwards EA, Asher MI, Byrnes CA. Paediatric bronchiectasis in the twenty-first century: experience of a tertiary children's hospital in New Zealand. *J Paediatr Child Health*.2003;39:111-17.
 42. Karakoc GB, Yilmaz M, Altintas DU, et al. Bronchiectasis: still a problem. *Pediatr Pulmonol*.2001;32:175-8.
 43. Valery PC, Torzillo PJ, Mulholland K, et al. Hospital-based case-control study of bronchiectasis in indigenous children in Central Australia. *Pediatr Infect Dis J*.2004;23:902-8.
 44. Kaschula RO, Druker J, Kipps A. Late morphologic consequences of measles: a lethal and debilitating lung disease among the poor. *Rev Infect Dis*.1983;5:395-404.
-

-
45. Singleton R, Morris A, Redding G, et al. Bronchiectasis in Alaska native children: causes and clinical courses. *Pediatr Pulmonol*. 2000;29:182-7.
 46. Reich JM, Johnson RE. Mycobacterium avium complex pulmonary disease presenting as an isolated lingular or middle lobe pattern. The Lady Windermere syndrome. *Chest*. 1992;101:1605-9.
 47. 46. Ahn CH, McLarty JW, Ahn SS, et al. Diagnostic criteria for pulmonary disease caused by Mycobacterium kansasii and Mycobacterium intracellulare. *Am Rev Respir Dis*. 1982;125:388-91.
 48. Fowler SJ, French J, Sreaton NJ, et al. Nontuberculous mycobacteria in bronchiectasis: Prevalence and patient characteristics. *Eur Respir J*. 2006;28:1204-10.
 49. Bollen XY, Tarrand JJ, Infante R, et al. Clinical significance and epidemiologic analyses of Mycobacterium avium and Mycobacterium intracellulare among patients without AIDS. *J Clin Microbiol*. 2005;43:4407-12.
 50. Bollert FG, Sime PJ, MacNee W, et al. Pulmonary Mycobacterium malmoense and aspergillus infection: a fatal combination? *Thorax*. 1994;49:521-2.
 51. Noone PG, Leigh MW, Sannuti A, et al. Primary ciliary dyskinesia: diagnostic and phenotypic features. *Am J Respir Crit Care Med*. 2004;169:459-67.
 52. Anon. Primary immunodeficiency diseases. Report of an IUIS Scientific Committee. International Union of Immunological Societies. *Clin Exp Immunol*. 1999;118(Suppl 1):1-28.
 53. Cunningham-Rundles C. Clinical and immunologic analyses of 103 patients with common variable immunodeficiency. *J Clin Immunol*. 1989;9:22-33.
 54. Cunningham-Rundles C, Bodian C. Common variable immunodeficiency: clinical and immunological features of 248 patients. *Clin Immunol*. 1999;92:34-48.
 55. Hermaszewski RA, Webster AD. Primary hypogammaglobulinaemia: a survey of clinical manifestations and complications. *Q J Med*. 1993;86:31-42.
 56. Martinez Garcia MA, de Rojas MD, Nauffal Manzur MD, et al. Respiratory disorders in common variable immunodeficiency. *Respir Med*. 2001;95:191-5.
 57. Spickett GP. Summary of antibody deficiency audit. *CPD Bulletin Immunol Allergy*. 2000;1:58-61.
-

-
58. Thickett KM, Kumararatne DS, Banerjee AK, et al. Common variable immune deficiency: respiratory manifestations, pulmonary function and high-resolution CT scan findings. *Q J Med.* 2002;95:655-62.
 59. Gadola SD, Moins-Teisserenc HT, Trowsdale J, et al. TAP deficiency syndrome. *Clin Exp Immunol.* 2000;121:173-8.
 60. Solal-Celigny P, Couderc LJ, Herman D, et al. Lymphoid interstitial pneumonitis in acquired immunodeficiency syndrome-related complex. *Am Rev Respir Dis.* 1985;131:956-60.
 61. Stockley RA. Bronchiectasis: new therapeutic approaches based on pathogenesis. *Clin Chest Med.* 1987;8:481-94.
 62. Good RA, Mazzitello WF. Chest disease in patients with agammaglobulinemia. *Dis Chest.* 1956;29:9-35.
 63. Busse PJ, Razvi S, Cunningham-Rundles C. Efficacy of intravenous immunoglobulin in the prevention of pneumonia in patients with common variable immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol.* 2002;109:1001e4.
 64. Quartier P, Debre M, De Blic J, et al. Early and prolonged intravenous immunoglobulin replacement therapy in childhood agammaglobulinemia: a retrospective survey of 31 patients. *J Pediatr.* 1999;134:589-96.
 65. Lederman HM, Winkelstein JA. X-linked agammaglobulinemia: an analysis of 96 patients. *Medicine (Baltimore).* 1985;64:145-56.
 66. Kainulainen L, Nikoskelainen J, Vuorinen T, et al. Viruses and bacteria in bronchial samples from patients with primary hypogammaglobulinemia. *Am J Respir Crit Care Med.* 1999;159:1199-204.
 67. Spickett GP, Misbah SA, Chapel HM. Primary antibody deficiency in adults. *Lancet.* 1991;337:281.
 68. Couriel J. Assessment of the child with recurrent chest infections. *Br Med Bull.* 2002;61:115-32.
 69. Sweinberg SK, Wodell RA, Grodofsky MP, et al. Retrospective analysis of the incidence of pulmonary disease in hypogammaglobulinemia. *J Allergy Clin Immunol.* 1991;88:96-104.
-

-
70. Nahm MH, Macke K, Kwon OH, et al. Immunologic and clinical status of blood donors with subnormal levels of IgG2. *J Allergy Clin Immunol*. 1990;85:769-77.
 71. Buckley RH. Immunoglobulin G subclass deficiency: fact or fancy? *Curr Allergy Asthma Rep*. 2002;2:356-60.
 72. Blore J, Haeney MR. Primary antibody deficiency and diagnostic delay. *BMJ*. 1989;298:516-17.
 73. Kainulainen L, Varpula M, Liippo K, et al. Pulmonary abnormalities in patients with primary hypogammaglobulinemia. *J Allergy Clin Immunol*. 1999;104:1031-6.
 74. Murphy MB, Reen DJ, Fitzgerald MX. Atopy, immunological changes, and respiratory function in bronchiectasis. *Thorax*. 1984;39:179-84.
 75. Awadh N, Muller NL, Park CS, et al. Airway wall thickness in patients with near fatal asthma and control groups: assessment with high resolution computed tomographic scanning. *Thorax* 1998;53:248-53.
 76. Gono H, Fujimoto K, Kawakami S, et al. Evaluation of airway wall thickness and air trapping by HRCT in asymptomatic asthma. *Eur Respir J* 2003;22:965-71.
 77. Grenier P, Mourey-Gerosa I, Benali K, et al. Abnormalities of the airways and lung parenchyma in asthmatics: CT observations in 50 patients and inter- and intraobserver variability. *Eur Radiol* 1996;6:199-206.
 78. Paganin F, Seneterre E, Chanez P, et al. Computed tomography of the lungs in asthma: influence of disease severity and etiology. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;153:110-14.
 79. Paganin F, Trussard V, Seneterre E, et al. Chest radiography and high resolution computed tomography of the lungs in asthma. *Am Rev Respir Dis* 1992; 146:1084-7.
 80. Park JW, Hong YK, Kim CW, et al. High-resolution computed tomography in patients with bronchial asthma: correlation with clinical features, pulmonary functions and bronchial hyperresponsiveness. *J Investig Allergol Clin Immunol* 1997;7:186-92.
 81. Ryu JH, Myers JL, Swensen SJ. Bronchiolar disorders. *Am J Respir Crit Care Med* 2003;168:1277-92.
 82. Palwatwichai A, Chaoprasong C, Vattanathum A, et al. Clinical, laboratory findings and microbiologic characterization of bronchiectasis in Thai patients. *Respirology* 2002;7:63-6.
-

-
83. Cohen M, Sahn SA. Bronchiectasis in systemic diseases. *Chest*. 1999;116:1063-74.
 84. Solanki T, Neville E. Bronchiectasis and rheumatoid disease: is there an association? *Br J Rheumatol*. 1992;31:691-3.
 85. Tanaka N, Kim JS, Newell JD, et al. Rheumatoid arthritis-related lung diseases: CT Findings. *Radiology*. 2004;232:81-91.
 86. Cortet B, Flipo RM, Re'my Jardin M, et al. Use of high resolution computed tomography of the lungs in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 1995;54:815-19.
 87. Remy-Jardin M, Remy J, Cortet B, et al. Lung changes in rheumatoid arthritis: CT findings. *Radiology*. 1994;193:375-82.
 88. Shadick NA, Fanta CH, Weinblatt ME, et al. Bronchiectasis. A late feature of severe rheumatoid arthritis. *Medicine (Baltimore)*. 1994;73:161-70.
 89. Walker WC. Pulmonary infections and rheumatoid arthritis. *Q J Med*. 1967;36:239-51.
 90. Bamji A, Cooke N. Rheumatoid arthritis and chronic bronchial suppuration. *Scand J Rheumatol*. 1985;14:15-21.
 91. Despaux J, Polio JC, Toussirot E, et al. Rheumatoid arthritis and bronchiectasis. A retrospective study of fourteen cases. *Rev Rhum Engl Ed*. 1996;63:801-8.
 92. El Maghraoui A, Chaouir S, Abid A, et al. Lung findings on thoracic high-resolution computed tomography in patients with ankylosing spondylitis. Correlations with disease duration, clinical findings and pulmonary function testing. *Clin Rheumatol*. 2004;23:123-8.
 93. Al-Hajjaj MS. Bronchiectasis and mediastinal neurofibroma in a Saudi female with Ehlers-Danlos syndrome. *Ann Saudi Med*. 2000;20:419-20.
 94. Andonopoulos AP, Yarmenitis S, Georgiou P, et al. Bronchiectasis in systemic sclerosis. A study using high resolution computed tomography. *Clin Exp Rheumatol*. 2001;19:187-90.
 95. Camus P, Colby TV. The lung in inflammatory bowel disease. *Eur Respir J*. 2000;15:5-10.
 96. Camus P, Piard F, Ashcroft T, et al. The lung in inflammatory bowel disease. *Medicine (Baltimore)*. 1993;72:151-83.
-

-
97. Mahadeva R, Flower C, Shneerson J. Bronchiectasis in association with coeliac disease. *Thorax*.1998;53:527-9.
 98. Hubert D, Fajac I, Bienvenu T, et al. Diagnosis of cystic fibrosis in adults with diffuse bronchiectasis. *J Cyst Fibros*.2004;3:15-22.
 99. Gilljam M, Ellis L, Corey M, et al. Clinical manifestations of cystic fibrosis among patients with diagnosis in adulthood. *Chest*. 2004;126:1215-24.
 100. Girodon E, Cazeneuve C, Lebargy F, et al. CFTR gene mutations in adults with disseminated bronchiectasis. *Eur J Hum Genet*. 1997;5:149-55.
 101. Ninis VN, Ky'ly'nc, MO, Kandemir M, et al. High frequency of T9 and CFTR mutations in children with idiopathic bronchiectasis. *J Med Genet*. 2003;40:530-5.
 102. Pignatti PF, Bombieri C, Marigo C, et al. Increased incidence of cystic fibrosis gene mutations in adults with disseminated bronchiectasis. *Hum Mol Genet*. 1995;4:635-9.
 103. Tzetis M, Efthymiadou A, Strofalis S, et al. CFTR gene mutations - including three novel nucleotide substitutions - and haplotype background in patients with asthma, disseminated bronchiectasis and chronic obstructive pulmonary disease. *Hum Genet*. 2001;108 :216-21.
 104. Chin GY, Karas DE, Kashgarian M. Correlation of presentation and pathologic condition in primary ciliary dyskinesia. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 2002;128:1292-4.
 105. Mygind N, Pedersen M. Nose-, sinus- and ear-symptoms in 27 patients with primary ciliary dyskinesia. *Eur J Respir Dis Suppl*. 1983;127:96-101.
 106. Noone PG, Leigh MW, Sannuti A, et al. Primary ciliary dyskinesia: diagnostic and phenotypic features. *Am J Respir Crit Care Med*. 2004;169:459-67.
 107. Ellerman A, Bisgaard H. Longitudinal study of lung function in a cohort of primary ciliary dyskinesia. *Eur Respir J*. 1997;10:2376-9.
 108. Pedersen M, Stafanger G. Bronchopulmonary symptoms in primary ciliary dyskinesia. A clinical study of 27 patients. *Eur J Respir Dis Suppl*. 1983;127:118-28.
 109. Longstreth GF, Weitzman SA, Browning RJ, et al. Bronchiectasis and homozygous alpha1-antitrypsin deficiency. *Chest*.1975;67:23-5.
-

-
110. Jones DK, Godden D, Cavanagh P. Alpha-1-antitrypsin deficiency presenting as bronchiectasis. *Br J Dis Chest*. 1985;79:301-4.
 111. Scott JH, Anderson CL, Shankar PS, et al. Alpha1-antitrypsin deficiency with diffuse bronchiectasis and cirrhosis of the liver. *Chest*. 1977;71:535-8.
 112. Falk GA, Smith JP. Chronic bronchitis: a seldom noted manifestation of homozygous alpha 1-antitrypsin deficiency. *Chest*. 1971;60:166-9.
 113. Rodriguez-Cintron W, Guntupalli K, Fraire AE. Bronchiectasis and homozygous (P1ZZ) alpha 1-antitrypsin deficiency in a young man. *Thorax*. 1995;50:424-5.
 114. Eriksson S. Studies in alpha 1-antitrypsin deficiency. *Acta Med Scand Suppl*. 1965;432:1-85.
 115. Brantly ML, Paul LD, Miller BH, et al. Clinical features and history of the destructive lung disease associated with alpha-1-antitrypsin deficiency of adults with pulmonary symptoms. *Am Rev Respir Dis*. 1988;138:327-36.
 116. Hutchison DC, Tobin MJ, Cook PJ. Alpha 1 antitrypsin deficiency: clinical and physiological features in heterozygotes of Pi type SZ. A survey by the British Thoracic Association. *Br J Dis Chest*. 1983;77:28-34.
 117. Tobin MJ, Cook PJ, Hutchison DC. Alpha 1 antitrypsin deficiency: the clinical and physiological features of pulmonary emphysema in subjects homozygous for Pi type Z. A survey by the British Thoracic Association. *Br J Dis Chest*. 1983;77:14-27.
 118. el-Kassimi FA, Warsy AS, Uz-Zaman A, et al. Alpha 1-antitrypsin serum levels in widespread bronchiectasis. *Respir Med*. 1989;83:119-21.
 119. Varpela E, Koistinen J, Korhola O, et al. Deficiency of alpha1-antitrypsin and bronchiectasis. *Ann Clin Res*. 1978;10:79-82.
 120. Seersholm N, Kok-Jensen A. Clinical features and prognosis of life time nonsmokers with severe alpha 1-antitrypsin deficiency. *Thorax*. 1998;53:265-8.
 121. Thompson CS, Harrison S, Ashley J, et al. Randomised crossover study of the Flutter device and the active cycle of breathing technique in non-cystic fibrosis bronchiectasis. *Thorax*. 2002;57:446-8.
-

-
122. Wilson CB, Jones PW, O'Leary CJ, et al. Validation of the St George's Respiratory Questionnaire in bronchiectasis. *Am J Respir Crit Care Med.*1997;156:536-41.
 123. Shields MD, Bush A, Everard ML, et al. BTS guidelines: recommendations for the assessment and management of cough in children. *Thorax.* 2008;63(Suppl 3): 1-15.
 124. Chang AB, Grimwood K, Mulholland EK, et al. Bronchiectasis in indigenous children in remote Australian communities. *Med J Aust.* 2002;177:200-4.
 125. Edwards EA, Metcalfe R, Milne DG, et al. Retrospective review of children presenting with non cystic fibrosis bronchiectasis: HRCT features and clinical relationships. *Pediatr Pulmonol.* 2003;36:87-93.
 126. Davies H, Gordon I, Matthew DJ, et al. Long term follow up after inhalation of foreign bodies. *Arch Dis Child.*1990;65:619-21.
 127. Lanning P, Simila S, Linna O. Late pulmonary sequelae after type 7 adenovirus pneumonia. *Ann Radiol (Paris).* 1980;23:132-6.
 128. Redding G, Singleton R, Lewis T, et al. Early radiographic and clinical features associated with bronchiectasis in children. *Pediatr Pulmonol.* 2004;37:297-304.
 129. Patel IS, Vlahos I, Wilkinson TM, et al. Bronchiectasis, exacerbation indices and inflammation in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 2004;70:400-7.
 130. Coren ME, Meeks M, Morrison I, et al. Primary ciliary dyskinesia: age at diagnosis and symptom history. *Acta Paediatr.*2002;91:667-9.
 131. Dukes RJ, Rosenow EC 3rd, Hermans PE. Pulmonary manifestations of hypogammaglobulinaemia. *Thorax.* 1978;33:603-7.
 132. Edwards EA, Metcalfe R, Milne DG, et al. Retrospective review of children presenting with non cystic fibrosis bronchiectasis: HRCT features and clinical relationships. *Pediatr Pulmonol.* 2003;36:87-93.
 133. Eastham KM, Fall AJ, Mitchell L, et al. The need to redefine non-cystic fibrosis bronchiectasis in childhood. *Thorax.* 2004;59:324-7.
 134. Chang AB, Grimwood K, Mulholland EK, et al. Bronchiectasis in indigenous children in remote Australian communities. *Med J Aust.* 2002;177:200-4.
-

-
135. Clark NS. Bronchiectasis in childhood. *BMJ*.1963;5323:80-8.
 136. Martinez FJ. Pathogen-directed therapy in acute exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *Proc Am Thorac Soc*. 2007;4:647-58.
 137. Field CE. Bronchiectasis. Third report on a follow-up study of medical and surgical cases from childhood. *Arch Dis Child*. 1969;44:551-61.
 138. Chang AB, Gaffney JT, Eastburn MM, et al. Cough quality in children: a comparison of subjective vs. bronchoscopic findings. *Respir Res*. 2005;6:3.
 139. Davies H, Gordon I, Matthew DJ, et al. Long term follow up after inhalation of foreign bodies. *Arch Dis Child*. 1990;65:619-21.
 140. Lee DJ, Conlan AA. Bronchiectasis in urban black children. *S Afr Med J*. 1985;67:817-19.
 141. Nath AR, Capel LH. Lung crackles in bronchiectasis. *Thorax*. 1980;35:694-9.
 142. Piirila P, Sovijarvi AR, Kaisla T, et al. Crackles in patients with fibrosing alveolitis, bronchiectasis, COPD, and heart failure. *Chest*. 1991;99:1076-83.
 143. Smith IE, Jurriaans E, Diederich S, et al. Chronic sputum production: correlations between clinical features and findings on high resolution computed tomographic scanning of the chest. *Thorax*.1996;51:914-18.
 144. Eijkhout HW, van Der Meer JW, Kallenberg CG, et al. The effect of two different dosages of intravenous immunoglobulin on the incidence of recurrent infections in patients with primary hypogammaglobulinemia. A randomized, double-blind, multicenter crossover trial. *Ann Intern Med*. 2001;135:165-74.
 145. Roifman CM, Levison H, Gelfand EW. High-dose versus low-dose intravenous immunoglobulin in hypogammaglobulinaemia and chronic lung disease. *Lancet*. 1987;1:1075-7.
 146. Bernatowska E, Madalinski K, Janowicz W, et al. Results of a prospective controlled two-dose crossover study with intravenous immunoglobulin and comparison (retrospective) with plasma treatment. *Clin Immunol Immunopathol*. 1987;43:153-62.
 147. Phelan PD, Landau LI, Williams HE. Lung disease associated with infantile agammaglobulinaemia. *Aust Paediatr J*. 1973;9:147-51.
-

-
148. Roifman CM, Gelfand EW. Replacement therapy with high dose intravenous gammaglobulin improves chronic sinopulmonary disease in patients with hypogammaglobulinemia. *Pediatr Infect Dis J.* 1988;7 (5 Suppl):S92-6.
 149. Ambrosino DM, Siber GR, Chilmonczyk BA, et al. An immunodeficiency characterized by impaired antibody responses to polysaccharides. *N Engl J Med.* 1987;316:790-3.
 150. Stanley PJ, Corbo G, Cole PJ. Serum IgG subclasses in chronic and recurrent respiratory infections. *Clin Exp Immunol.* 1984;58:703-8.
 151. Li AM, Sonnappa S, Lex C, et al. Non-CF bronchiectasis: does knowing the aetiology lead to changes in management? *Eur Respir J.* 2005;26:8-14.
 152. Conley ME, Notarangelo LD, Etzioni A. Diagnostic criteria for primary immunodeficiencies. Representing PAGID (Pan-American Group for Immunodeficiency) and ESID (European Society for Immunodeficiencies). *Clin Immunol.* 1999;93:190-7.
 153. Burke CM, Theodore J, Dawkins KD, et al. Post-transplant obliterative bronchiolitis and other late lung sequelae in human heart-lung transplantation. *Chest.* 1984;86:824-9.
 154. Gilljam M, Ellis L, Corey M, et al. Clinical manifestations of cystic fibrosis among patients with diagnosis in adulthood. *Chest.* 2004;126:1215-24.
 155. Danner I, Boisseau P, Chailleux E, et al. Respiratory epithelial ion transport in patients with disseminated bronchiectasis. *Eur Respir J.* 1999;13:1276-80.
 156. Shah PL, Mawdsley S, Nash K, et al. Determinants of chronic infection with *Staphylococcus aureus* in patients with bronchiectasis. *Eur Respir J.* 1999; 14:1340-4.
 157. Davis PB, Del Rio S, Muntz JA, et al. Sweat chloride concentration in adults with pulmonary diseases. *Am Rev Respir Dis.* 1983;128:34-7.
 158. Baumer JH. Evidence based guidelines for the performance of the sweat test for the investigation of cystic fibrosis in the UK. *Arch Dis Child.* 2003; 88:1126-7.
 159. Gilljam M, Bjorck E. Cystic fibrosis diagnosed in an elderly man. *Respiration.* 2004;71:98-100.
-

-
160. Anon. ATS/ERS recommendations for standardized procedures for the online and offline measurement of exhaled lower respiratory nitric oxide and nasal nitric oxide, 2005. *Am J Respir Crit Care Med.* 2005;171:912-30.
 161. Pang JA, Cheng A, Chan HS, et al. The bacteriology of bronchiectasis in Hong Kong investigated by protected catheter brush and bronchoalveolar lavage. *Am Rev Respir Dis.* 1989;139:14-17.
 162. Neville E, Brewis R, Yeates WK, et al. Respiratory tract disease and obstructive azoospermia. *Thorax.* 1983;38:929-33.
 163. Chang AB, Boyce NC, Masters IB, et al. Bronchoscopic findings in children with non-cystic fibrosis chronic suppurative lung disease. *Thorax.* 2002;57:935-8.
 164. Fernald GW. Bronchiectasis in childhood: a 10-year survey of cases treated at North Carolina Memorial Hospital. *N C Med J.* 1978;39:368-72.
 165. Sheikh S, Madiraju K, Steiner P, et al. Bronchiectasis in pediatric AIDS. *Chest.* 1997;112:1202-7.
 166. Li AM, Sonnappa S, Lex C, et al. Non-CF bronchiectasis: does knowing the aetiology lead to changes in management? *Eur Respir J.* 2005;26:8-14.
 167. Folds JD, Schmitz JL. 24. Clinical and laboratory assessment of immunity. *J Allergy Clin Immunol.* 2003;111(2 Suppl):S702-11.
 168. Shearer WT, Buckley RH, Engler RJ, et al. Practice parameters for the diagnosis and management of immunodeficiency. The Clinical and Laboratory Immunology Committee of the American Academy of Allergy, Asthma, and Immunology (CLIC-AAAI). *Ann Allergy Asthma Immunol.* 1996;76:282-94.
 169. Angrill J, Agustí C, de Celis R, et al. Bacterial colonisation in patients with bronchiectasis: microbiological pattern and risk factors. *Thorax.* 2002;57:15-19.
 170. Chan CH, Ho AK, Chan RC, et al. Mycobacteria as a cause of infective exacerbation in bronchiectasis. *Postgrad Med J.* 1992;68:896-9.
 171. Evans SA, Turner SM, Bosch BJ, et al. Lung function in bronchiectasis: the influence of *Pseudomonas aeruginosa*. *Eur Respir J.* 1996;9:1601-4.
 172. Shah PL, Mawdsley S, Nash K, et al. Determinants of chronic infection with *Staphylococcus aureus* in patients with bronchiectasis. *Eur Respir J.* 1999; 14:1340-4.
-

-
173. Bilton D, Pye A, Johnson MM, et al. The isolation and characterization of nontypeable *Haemophilus influenzae* from the sputum of adult cystic fibrosis patients. *Eur Respir J*. 1995;8:948-53.
 174. O'Donnell C, Barker AF, Ilowite JS, et al. Treatment of idiopathic bronchiectasis with aerosolized recombinant human DNase I. *Chest*. 1998;113:1329-34.
 175. Edwards EA, Narang I, Li A, et al. HRCT lung abnormalities are not a surrogate for exercise limitation in bronchiectasis. *Eur Respir J*. 2004;24:538-44.
 176. Chang AB, Masel JP, Boyce NC, et al. Non-CF bronchiectasis: clinical and HRCT evaluation. *Pediatr Pulmonol*. 2003;35:477-83.
 177. Landau LI, Phelan PD, Williams HE. Ventilatory mechanics in patients with bronchiectasis starting in childhood. *Thorax*. 1974;29:304-12.
 178. Koh YY, Lee MH, Sun YH, et al. Effect of roxithromycin on airway responsiveness in children with bronchiectasis: a double-blind, placebo-controlled study. *Eur Respir J*. 1997;10:994-9.
 179. Lam WK, Chau PY, So SY, et al. Ofloxacin compared with amoxycillin in treating infective exacerbations in bronchiectasis. *Respir Med*. 1989;83:299-303.
 180. Hill SL, Burnett D, Hewetson KA, et al. The response of patients with purulent bronchiectasis to antibiotics for four months. *Q J Med*. 1988;66:163-73.
 181. Hill SL, Morrison HM, Burnett D, et al. Short term response of patients with bronchiectasis to treatment with amoxycillin given in standard or high doses orally or by inhalation. *Thorax*. 1986;41:559-65.
 182. Young Whan K, Yeon Mok O, Man Pyo J, et al. The effect of low-dose longterm erythromycin on bronchiectasis. *Tuberc Respir Dis*. 1993;40:390-4.
 183. Bahous J, Cartier A, Pineau L, et al. Pulmonary function tests and airway responsiveness to methacholine in chronic bronchiectasis of the adult. *Bull Eur Physiopathol Respir*. 1984;20:375-80.
 184. Hung TC, Lin HC, Lin KJ, et al. 133Xenon ventilation scan as a functional assessment in bronchiectasis. *Changgeng Yi Xue Za Zhi*. 1998;21:403-8.
-

-
185. Koulouris NG, Retsou S, Kosmas E, et al. Tidal expiratory flow limitation, dyspnoea and exercise capacity in patients with bilateral bronchiectasis. *Eur Respir J*. 2003;21:743-8.
 186. Lee PH, Carr DH, Rubens MB, et al. Accuracy of CT in predicting the cause of bronchiectasis. *Clin Radiol*. 1995;50:839-41.
 187. O'Brien C, Guest PJ, Hill SL, et al. Physiological and radiological characterisation of patients diagnosed with chronic obstructive pulmonary disease in primary care. *Thorax*. 2000;55:635-42.
 188. Fink C, Hallscheidt PJ, Noeldge G, et al. Clinical comparative study with a largearea amorphous silicon flat-panel detector: image quality and visibility of anatomic structures on chest radiography. *AJR Am J Roentgenol*. 2002;178:481-6.
 189. Grenier P, Maurice F, Musset D, et al. Bronchiectasis: assessment by thin-section CT. *Radiology*. 1986;161:95-9.
 190. Munro NC, Cooke JC, Currie DC, et al. Comparison of thin section computed tomography with bronchography for identifying bronchiectatic segments in patients with chronic sputum production. *Thorax*. 1990;45:135-9.
 191. Roberts HR, Wells AU, Milne DG, et al. Airflow obstruction in bronchiectasis: correlation between computed tomography features and pulmonary function tests. *Thorax*. 2000;55:198-204.
 192. Hansell DM. Bronchiectasis. *Radiol Clin North Am*. 1998;36:107-28.
 193. Matsuoka S, Uchiyama K, Shima H, et al. Bronchoarterial ratio and bronchial wall thickness on high-resolution CT in asymptomatic subjects: correlation with age and smoking. *AJR Am J Roentgenol*. 2003;180:513-18.
 194. Vikgren J, Boijesen M, Andelid K, et al. High-resolution computed tomography in healthy smokers and never-smokers: a 6-year follow-up study of men born in 1933. *Acta Radiol*. 2004;45:44-52.
 195. Ketai L, Coutias C, Williamson S, et al. Thin-section CT evidence of bronchial thickening in children with stable asthma: bronchoconstriction or airway remodeling? *Acad Radiol*. 2001;8:257-64.
 196. Lucidarme O, Grenier P, Coche E, et al. Bronchiectasis: comparative assessment with thin-section CT and helical CT. *Radiology*. 1996;200:673-9.
-

-
197. Hoppe H, Walder B, Sonnenschein M, et al. Multidetector CT virtual bronchoscopy to grade tracheobronchial stenosis. *AJR Am J Roentgenol.* 2002;178:1195-200.
 198. Sung Yon M, Lee Kyung S, Yi Chin A, et al. Additional coronal images using low-milliamperage multidetector-row computed tomography: effectiveness in the diagnosis of bronchiectasis. *J Comput Assist Tomogr.* 2003;27:490-5.
 199. Kelly DM, Hasegawa I, Borders R, et al. High-resolution CT using MDCT: comparison of degree of motion artifact between volumetric and axial methods. *AJR Am J Roentgenol.* 2004;182:757-9.
 200. Schoepf UJ, Becker CR, Bruening RD, et al. Electrocardiographically gated thinsection CT of the lung. *Radiology.* 1999;212:649-54.
 201. 200. Naidich DP, McCauley DI, Khouri NF, et al. Computed tomography of bronchiectasis. *J Comput Assist Tomogr.* 1982;6:437-44.
 202. Kim JS, Muller NL, Park CS, et al. Bronchoarterial ratio on thin section CT: comparison between high altitude and sea level. *J Comput Assist Tomogr.* 1997;21:306-11.
 203. Reiff DB, Wells AU, Carr DH, et al. CT findings in bronchiectasis: limited value in distinguishing between idiopathic and specific types. *Am J Roentgenol.* 1995;165:261-7.
 204. Smith IE, Jurriaans E, Diederich S, et al. Chronic sputum production: correlations between clinical features and findings on high resolution computed tomographic scanning of the chest. *Thorax.* 1996;51:914-18.
 205. Diederich S, Jurriaans E, Flower CD. Interobserver variation in the diagnosis of bronchiectasis on high- resolution computed tomography. *Eur Radiol.* 1996;6:801-6.
 206. Gruden JF, Webb WR. Identification and evaluation of centrilobular opacities on high-resolution CT. *Semin Ultrasound CT MR.* 1995;16:435-49.
 207. Collins J, Blankenbaker D, Stern EJ. CT patterns of bronchiolar disease: what is "tree-in-bud"? *AJR Am J Roentgenol.* 1998;171:365-70.
 208. Franquet T, Stern EJ. Bronchiolar inflammatory diseases: high-resolution CT findings with histologic correlation. *Eur Radiol.* 1999;9:1290-303.
-

-
209. Kang EY, Miller RR, Muller NL. Bronchiectasis: comparison of preoperative thinsection CT and pathologic findings in resected specimens. *Radiology*. 1995;195:649-54.
 210. Cole P, Flower C, Lavender JP. Clinical and imaging aspects of bronchiectasis. In: Potchen EJ, Grainger RG, Greene R, eds. *Pulmonary radiology: the Fleischner Society*. Philadelphia: WB Saunders. 1993:242-58.
 211. Cartier Y, Kavanagh PV, Johkoh T, et al. Bronchiectasis: accuracy of high-resolution CT in the differentiation of specific diseases. *Am J Roentgenol*. 1999;173:47-52.
 212. Ward S, Heyneman L, Lee MJ, et al. Accuracy of CT in the diagnosis of allergic bronchopulmonary aspergillosis in asthmatic patients. *AJR Am J Roentgenol*. 1999;173:937-42.
 213. Curtin JJ, Webster AD, Farrant J, et al. Bronchiectasis in hypogammaglobulinaemia: a computed tomography assessment. *Clin Radiol*. 1991;44:82-4.
 214. Woodring JH, Howard RS 2nd, Rehm SR. Congenital tracheobronchomegaly (Mounier-Kuhn syndrome): a report of 10 cases and review of the literature. *J Thorac Imaging*. 1991;6:1-10.
 215. Lynch DA, Simone PM, Fox MA, et al. CT features of pulmonary *Mycobacterium avium* complex infection. *J Comput Assist Tomogr*. 1995;19:353-60.
 216. Sheehan RE, Wells AU, Copley SJ, et al. A comparison of serial computed tomography and functional change in bronchiectasis. *Eur Respir J*. 2002; 20:581-7.
 217. Lee PH, Carr DH, Rubens MB, et al. Accuracy of CT in predicting the cause of bronchiectasis. *Clin Radiol*. 1995;50:839-41.
 218. Bhalla M, Turcios N, Aponte V, et al. Cystic fibrosis: scoring system with thinsection CT. *Radiology*. 1991;179:783-8.
 219. Loubeyre P, Paret M, Revel D, et al. Thin-section CT detection of emphysema associated with bronchiectasis and correlation with pulmonary function tests. *Chest*. 1996;109:360-5.
-

-
220. Lynch DA, Newell J, Hale V, et al. Correlation of CT findings with clinical evaluations in 261 patients with symptomatic bronchiectasis. *AJR Am J Roentgenol.* 1999;173:53-8.
221. Helbich TH, Heinz-Peer G, Fleischmann D, et al. Evolution of CT findings in patients with cystic fibrosis. *AJR Am J Roentgenol.* 1999;173:81-8.
222. Shah RM, Sexauer W, Ostrum BJ, et al. High-resolution CT in the acute exacerbation of cystic fibrosis: evaluation of acute findings, reversibility of those findings, and clinical correlation. *AJR Am J Roentgenol.* 1997; 169:375-80.
223. Pappas JN, Donnelly LF, Frush DP. Reduced frequency of sedation of young children with multisection helical CT. *Radiology.* 2000;215:897-9.
224. Maffessanti M, Candusso M, Brizzi F, et al. Cystic fibrosis in children: HRCT findings and distribution of disease. *J Thorac Imaging.* 1996;11:27-38.
225. Nathanson I, Conboy K, Murphy S, et al. Ultrafast computerized tomography of the chest in cystic fibrosis: a new scoring system. *Pediatr Pulmonol.* 1991;11:81-6.
226. Santamaria F, Grillo G, Guidi G, et al. Cystic fibrosis: when should high-resolution computed tomography of the chest be obtained? *Pediatrics.* 1998;101:908-13.
227. Helbich TH, Heinz-Peer G, Eichler I, et al. Cystic fibrosis: CT assessment of lung involvement in children and adults. *Radiology.* 1999;213:537-44.
228. Brody AS, Molina PL, Klein JS, et al. High-resolution computed tomography of the chest in children with cystic fibrosis: support for use as an outcome surrogate. *Pediatr Radiol.* 1999;29:731-5.
229. de Jong PA, Ottink MD, Robben SG, et al. Pulmonary disease assessment in cystic fibrosis: comparison of CT scoring systems and value of bronchial and arterial dimension measurements. *Radiology.* 2004;231:434-9.
230. Feldman C. Bronchiectasis: New approaches to diagnosis and management. *Clin Chest Med.* 2011; 2: 535-46.
231. Amorim A, Gamboa F, Azevedo P. New advances in the therapy of non-cystic fibrosis bronchiectasis. *Rev Port Pneumol.* 2013; 19: 266-75.
-

-
232. Redding GJ. Update on treatment of childhood bronchiectasis an related to cystic fibrosis. *Pediatr Respir Rev*. 2011; 12: 119-23.
233. French J, Bilton D, Campbell F. Nurse specialist care for bronchiectasis. *Cochrane Database Syst Rev* 2003(3):CD004319.
234. Twiss J, Byrnes C, Johnson R, et al. Nebulised gentamicin-suitable for childhood bronchiectasis. *Int J Pharm*. 2005;295:113-19.
235. Elborn JS, Johnston B, Allen F, et al. Inhaled steroids in patients with bronchiectasis. *Respir Med*. 1992;86:121-4.
236. Martinez-Garcia MA, Perpina-Tordera M, Roman-Sanchez P, et al. Inhaled steroids improve quality of life in patients with steady-state bronchiectasis. *Respir Med*. 2006;100:1623-32.
237. Tsang KW, Ho PL, Lam WK, et al. Inhaled fluticasone reduces sputum inflammatory indices in severe bronchiectasis. *Am J Respir Crit Care Med*. 1998;158:723-7.
238. Anderson J, Eiser NM, Mills JG. Effect of H1- and H2-receptor antagonists on sputum volume and lung function in patients with generalized bronchiectasis. *Br J Dis Chest*. 1985;79:272-4.
239. Isawa T, Teshima T, Hirano T, et al. Mucociliary clearance and transport in bronchiectasis: global and regional assessment. *J Nucl Med*. 1990;31:543-8.
240. Kradag B, Karakoc F, Ersu R, et al. Non-cystic fibrosis bronchiectasis in children: A persisting problem in developing countries. *Respiration*. 2005; 72: 233-8.
241. Histara-Papadopoulou A, Tsanakas J, Diomou G, et al. Carrent devices of respiratory physiotherapy. *Hippocratia*. 2008; 12:211-20.
242. Eaton T, Young P, Zeng I, et al. A randomized evaluation of the acute efficacy acceptability and tolerability of flutter and active cycle of breathing with and without posturale drenage in non-cystic fibrosis bronchiectasis. *Chron Respir Dis*. 2007; 4: 23-30.
243. Smith MP. Non- cystic fibrosis bronchiectasis. *J R Coll Physicians Edinb*. 2011; 41: 132-9.
-

-
244. Martinez Garcia MA, Maiz Carro L, Catalan Serra P. Treatment of non-CF bronchiectasis. *Arch Bronchopneumol*. 2011; 47: 599-609.
245. Bilton D, et al. Addition of inhaled tobramycin to ciprofloxacin for acute exacerbations of *P. aeruginosa* infection in adult bronchiectasis. *Chest*. 2006; 130: 1503-10.
246. King P. Is there a role for inhaled corticosteroids and macrolide therapy in bronchiectasis? *Drugs*. 2007; 67: 965-74.
247. Kapur N, Bell S, et al. Inhaled steroids for bronchiectasis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2009; 1: CD000996.
248. Banac S. Klinički aspekti imunomodulacijskog učinka azitromicina u kroničnim plućnim bolestima. *Medicus*. 2013; 22: 111-4.
249. Caylak H, Genc O, Kavakli K, et al. Surgical management of bronchiectasis: a collective review of 339 patients with long-term follow-up. *Thorac Cardiovasc Surg*. 2011; 59: 479-83.
250. Andrade CF, Melo IA, Holand AR, Silva EF, et al. Surgical treatment of non-CF bronchiectasis in Brazilian children. *Pediatr Surg Int*. 2014; 30: 63-9.
251. Chu CS, Trapnell BC, Murtagh JJ, Moss J, Dalemans W, Jallat S, et al. Variable deletion of exon 9 coding sequences in cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene mRNA transcripts in normal bronchial epithelium. *EMBO J*. 1991;10(6):1355-63.
252. Riordan JR, Rommens JM, Kerem B, Alon N, Rozmahel R, Grzelczak Z, et al. Identification of the cystic fibrosis gene: cloning and characterization of complementary DNA. *Science*. 1989;245(4922):1066-73.
253. Southern KW. Cystic fibrosis and formes frustes of CFTR-related disease. *Respiration*. 2007;74(3):241-51.
254. Rowe SM, Miller S, Sorscher EJ. Cystic fibrosis. *N Engl J Med*. 2005;352(19):1992-2001.
255. Riordan JR. CFTR function and prospects for therapy. *Annu Rev Biochem*. 2008;77:701-26.
-

-
256. Rogan MP, Stoltz DA, Hornick DB. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator intracellular processing, trafficking, and opportunities for mutation-specific treatment. *Chest*. 2011;139(6):1480-90.
 257. Lommatzsch ST, Aris R. Genetics of cystic fibrosis. *Semin Respir Crit Care Med*. 2009;30(5):531-8.
 258. Clinical and Functional Translation of CFTR Mutation Database (CFTR2). 2013.
 259. Cystic Fibrosis Mutation Database 2013. Available from: <http://www.genet.sickkids.on.ca/app>.
 260. Bobadilla JL, Macek M, Fine JP, Farrell PM. Cystic fibrosis: a worldwide analysis of CFTR mutations--correlation with incidence data and application to screening. *Hum Mutat*. 2002;19(6):575-606.
 261. Zielenski J. Genotype and phenotype in cystic fibrosis. *Respiration*. 2000;67(2):117-33.
 262. Kerem E, Kerem B. Genotype-phenotype correlations in cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol*. 1996;22(6):387-95.
 263. Korkmaz B, Moreau T, Gauthier F. Neutrophil elastase, proteinase 3 and cathepsin G: physicochemical properties, activity and physiopathological functions. *Biochimie*. 2008;90(2):227-42.
 264. Takahashi H, Nukiwa T, Yoshimura K, Quick CD, States DJ, Holmes MD, et al. Structure of the human neutrophil elastase gene. *J Biol Chem*. 1988;263(29):14739-47.
 265. Chua F, Laurent GJ. Neutrophil elastase: mediator of extracellular matrix destruction and accumulation. *Proc Am Thorac Soc*. 2006;3(5):424-7.
 266. Lungarella G, Cavarra E, Lucattelli M, Martorana PA. The dual role of neutrophil elastase in lung destruction and repair. *Int J Biochem Cell Biol*. 2008;40(6-7):1287-96.
 267. Sampson AP. The role of eosinophils and neutrophils in inflammation. *Clin Exp Allergy*. 2000;30 Suppl 1:22-7.
-

-
268. Amitani R, Wilson R, Rutman A, Read R, Ward C, Burnett D, et al. Effects of human neutrophil elastase and *Pseudomonas aeruginosa* proteinases on human respiratory epithelium. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 1991;4(1):26-32.
269. Yoshimura K, Chu CS, Crystal RG. Enhancer function of a 53-bp repetitive element in the 5' flanking region of the human neutrophil elastase gene. *Biochem Biophys Res Commun*. 1994;204(1):38-42.
270. Taniguchi K, Yang P, Jett J, Bass E, Meyer R, Wang Y, et al. Polymorphisms in the promoter region of the neutrophil elastase gene are associated with lung cancer development. *Clin Cancer Res*. 2002;8(4):1115-20.
271. Park JY, Chen L, Lee J, Sellers T, Tockman MS. Polymorphisms in the promoter region of neutrophil elastase gene and lung cancer risk. *Lung Cancer*. 2005;48(3):315-21.
272. Hutchison DC. The rôle of proteases and antiproteases in bronchial secretions. *Eur J Respir Dis Suppl*. 1987;153:78-85.
273. Martínez García MA, Máiz Carro L, Catalán Serraa P. Treatment of Non-Cystic Fibrosis Bronchiectasis. *Arch Bronconeumol*. 2011; 47(12): 599–609.
274. MunroKA, et al. Do New Zealand Children with non-CF Bronchiectasis show disease progression? *Pediatric Pulmonology*. 2011; 46:131-8.
275. Karakoc F, et al. The outcome and long-term follow-up of children with bronchiectasis. *Eur Respir J*. 1997;10:171.
276. Karadag B, et al. Non-cystic fibrosis bronchiectasis in children: a persisting problem in developing countries. *Respiration*. 2005; 72:233-8.
277. Kelly SB, Del Vecchio MT, Aronoff SC. The etiologies of non-CF bronchiectasis in childhood: a systematic review of 989 subjects. *BMC Pediatrics*. 2014; 14: 299.
278. Goeminne PC, et al. Impact of traffic related air pollution indicators on non-cystic fibrosis bronchiectasis mortality: a cohort analysis. *Respir Res*. 2014 Sep 3;15:108.
279. Goeminne PC, et al. Mortality in non-cystic fibrosis bronchiectasis: a prospective cohort analysis. *Respir Med*. 2014; 108: 287-96.
-

-
280. Al Suble H, Fitzgerald A. Non-cystic fibrosis bronchiectasis. *Jour Ped Child Health*. 2010; 48:382-8.
281. Bahali K, et al. The relationship between psychological symptoms, lung function and quality of life in children and adolescents with non.cystic fibrosis bronchiectasis. *Gen Hosp Psych*. 2014; 36: 528-32.
282. Kapur N, et al. The burden of disease in pediatric non-cystic fibrosis bronchiectasis. *Chest*. 2012; 141:1018-24.
283. Oliveira C, et al. Depression and anxiety symptoms in bronchiectasis:associations with health-related quality of life. *Qual Life Res*. 2013; 22:597-605.
284. Pifferi M, et al. Pediatric bronchiectasis: Correlation of HRCT, ventilation and perfusion scintigraphy, and pulmonary function testing. *Pediatr Pulmonol*. 2004 Oct;38(4):298-303.
285. Grimwood K. Airway mycrobiology and host defences in paediatric non-CF bronchiectasis.*Peadiat Resp Rev*. 2011; 12:111-8.
286. Chang AB, et al. Bronchiectasis exarcerbation study on azithromycin and amoxycillin-clavunate for respiratory exarcerbations in children (BEST-2): study protocol for a randomized controlled trial. *Trials*. 2013;14:53.
287. Leroy M, et al. Multiple consecutive lavage samplings reveal greater burden of disease and provide direct access to the nontypeable *Haemophilus influenzae* biofilm in experimental otitis media. *Infec Immun*. 2007; 75:4158-4172.
288. Bergin DA, et al. Airway inflammatory markers in individuals with cystic fibrosis and non-cystic fibrosis bronchiectasis. *Jou Inflamm Resear*. 2013;6:1-11.
289. Hsieh MH, et al.The role of the high-sensitivity C-reactive protein in patients with stable non-cystic fibrosis bronchiectasis. *Pulm Med*. 2013;2013:795140.
290. McShane P, et al. Non-cystic fibrosis bronchiectasis. *Am J Respir Crit Care med*. 2013; 188: 647-56.
291. Chitkara R, et al. Airway and systemic inflammation in stable and exarcerbated bronchiectasis: a pilot study. *Thorax*. 2011; 167.
292. Donlan RM,Costerton JW. Biofilms:survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin Microbiol Rev*.2002; 15:167-93.
-

-
293. Hamill L, et al. Exhaled breath temperature measurement and asthma control in children prescribed inhaled corticosteroids: A cross sectional study. *Pediatr Pulmonol*. 2015 Apr 27. doi: 10.1002/ppul.23204.
294. Muñoz X, et al. Usefulness of noninvasive methods for the study of bronchial inflammation in the control of patients with asthma. *Int Arch Allergy Immunol*. 2015;166(1):1-12.
295. Wainwright CE, et al. Safety of bronchoalveolar lavage in young children with cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol*. 2008;43:965-72.
296. Rademacher J, Welte T. Bronchiectasis- Diagnosis and Treatment . *Dtsch Arztebl Int*. 2011; 108: 809-15.
297. Marsch R, et al. Detection of biofilm in bronchoalveolar lavage from children with non-cystic fibrosis bronchiectasis. *Pediatr Pulmonology*. 2014;50: 284-92.
298. Starner TD, et al. Haemophilus influenza forms biofilms on airway epithelia. *Am J Resp Crit Care*. 2006;174:547-58.
299. Moscoso M, Garcia E, Lopez R. Pneumococcal biofilms. *Int Microbiol*. 2009; 12:77-85.
300. Matejka KM, et al. Antibiotic susceptibility of Moraxella catarrhalis biofilms in a continuous flow model. *Diagn Microb Infect Dis*. 2012; 74: 394-8.
301. Redding GJ. Update on Treatment of Childhood Bronchiectasis unrelated to Cystic-Fibrosis. *Paediatr Respir Rev*. 2011; 12: 119–123.
302. Korkmaz B, Moreau T, Gauthier F. Neutrophil elastase, proteinase 3 and cathepsin G: Physicochemical properties, activity and physiopathological functions. *Biochimie*. 2008; 90: 227-242.
303. Takahashi H, Nukiwa T, Yoshimura K. Structure of the neutrophil elastase gene. *J Biol Chem*. 1988; 263(29): 14739-14747.
304. Yoshimura K, Chu CS, Crystal RG. Enhancer function of a 53-bp repetitive element in the 5' flanking region of the human neutrophil elastase gene. *Biochem Biophys Res Commun*. 1994; 204(1): 38-42.
305. Li FQ, Person RE, Takemaru KI, Williams K, Meade-White K, et al. Lymphoid enhancer factor-1 links two hereditary leukemia syndromes through core-binding factor α regulation of ELA2. *J Biol Chem*. 2004; 279 (4): 2873-2884.
-

-
306. Lausen J, Liu S, Fliegauf M, Lübbert M, Werner MH. ELA2 is regulated by hematopoietic transcription factors, but not repressed by AML1-ETO. *Oncogene*. 2006; 25: 1349–1357
307. Park JY, Chen L, Lee JH, Sellers T, Tockman MS. Polymorphisms in the promoter region of neutrophil elastase gene and lung cancer risk. *Lung Cancer*. 2005; 48: 315-321.
308. Hutchison DC. The role of proteases and antiproteases in bronchial secretions. *Eur J Respir Dis Suppl*. 1987; 153: 78-85.
309. Tsang KW, Chan K, Ho P, Zheng L, Ooi GC, et al. Sputum Elastase in Steady-State Bronchiectasis. *Chest*. 2000; 117(2): 420-426.
310. Ergan Arsava B, Coplu L. Does airway colonization cause systemic inflammation in bronchiectasis? *Tüberküloz ve Toraks Dergisi*. 2011; 59(4): 340-347.
311. Zhong W, Zen Q, Tebo J, Schlottmann K, Coggeshall M, et al. Effect of Human C-Reactive Protein on Chemokine and Chemotactic Factor-Induced Neutrophil Chemotaxis and Signaling. *The Journal of Immunology*. 1998; 161(5): 2533-2540.
312. Heuertz RM, Ahmed N, Webster RO. Peptides derived from C-reactive protein inhibit neutrophil alveolitis. *J Immunol*. 1996; 156(9): 3412-7.
313. Kakuta Y, Aoshiba K, Nagai A. C-Reactive Protein Products Generated by Neutrophil Elastase Promote Neutrophil Apoptosis. *Archives of Medical Research*. 2006; 37(4): 456-460.
314. Foley SC, Hopkins NO, Fitzgerald MX, Donnelly SC, McLoughlin P. Airway nitric oxide output is reduced in bronchiectasis. *Respiratory Medicine*. 2007; 101:1549–1555.
315. Tsang KW, Leung R, Chan SL, Chin-wan Fung P, Tipoe GL, et al. Exhaled and Sputum Nitric Oxide in Bronchiectasis, Correlation With Clinical Parameters. *CHEST*. 2002; 121:88–94.
316. Shoemark A, Devaraj A, Meister M, Ozerovitch L, Hansell DM, et al. Elevated peripheral airway nitric oxide in bronchiectasis reflects disease severity. *Respiratory Medicine*. 2011; 105: 885-891.
-

-
317. Kawabata K, Hagio T, Matsuoka S. The role of neutrophil elastase in acute lung injury. *Eur J Pharmacol.* 2002; 451(1): 1-10.
 318. Smallman LA, Hill SL, Stockley RA. Reduction of ciliary beat frequency in vitro by sputum from patients with bronchiectasis: a serine proteinase effect. *Thorax* 1984; 39: 663-667.
 319. Tsang KW, Tan KC, Ho PL, Ooi GC, Khong PL, et al. Exhaled nitric oxide in bronchiectasis: the effects of inhaled corticosteroid therapy. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2004; 8(11): 1301-7.
 320. Gorrini M, Lupi A, Viglio S, Pamparana F, Cetta G, et al. Inhibition of human neutrophil elastase by erythromycin and flurythromycin, two macrolide antibiotics. *Amer J Respir Cell Molec Biol.* 2001; 25(4):492-499.
 321. Taniguchi K, Yang P, Jett J, Bass E, Meyer R, et al. Polymorphisms in the promoter region of the neutrophil elastase gene are associated with lung cancer development. *Clin Cancer Res.* 2002; 8: 1115-1120.
 322. Shinkai M, Rubin BK. Macrolides and airway inflammation in children. *Paediatr Respir Rev.* 2005; 6(3): 227-35.
 323. Divac A, Nikolic A, Mitic-Milikic M, et al. CFTR mutations and polymorphisms in adults with disseminated bronchiectasis: a controversial issue. *Thorax.* 2005; 60(1): 85.

SPISAK SKRAĆENICA

CF	cistična fibroza
DNK	dezoksiribonukleinska kiselina
HRCT	skener visoke rezolucije
IL-8	interleukin 8
TNF- α	tumor nekroza faktor –alfa
IL- 1 β	interleukin – 1beta
IP10	indukovani protein 10
CRP	C reaktivni protein
NO	azot monoksid
PCD	primarna cilijarna diskinezija
FVC	forsirani vitalni kapacitet
FEV 1	forsirani ekspiratorni volumen u prvoj sekundi
RV	rezidualni volumen
TLC	totalni vitalni kapacitet
FRC	forsirani rezidualni kapacitet
BAL	bronhoalveolarana lavaža
ATS	Američko Torakalno društvo
ERS	Evropsko respiratorno društvo
CFTR	regulator transmembranske provodljivosti u cističnoj fibrozi
ELANE	neutrofilna elastaza
LTB4	leukotrien B4

BIOGRAFIJA AUTORA

Dr Katarina Milošević je rođena 20.04.1970. godine u Paraćinu. Medicinski fakultet u Beogradu je završila 1996. godine. Od 1999. godine stalno je zaposlena na Univerzitetској dečјој klinici u Beogradu. Specijalistički ispit iz pedijatrije položila je 2001. godine sa odličnim uspehom. Od 2001. godine radi kao specijalista pedijatar na Odeljenju pulmologije i alergologije Univerzitetске dečје klinike u Beogradu.

Magistarsku tezu pod nazivom „Neželјeni efekti salbutamola u dece sa astmom“ odbranila je 2010. godine. Rad iz uže specijalizacije iz alergologije i kliničke imunologije pod nazivom „Učestalost alergija na miorelaksanse u dečјem uzrastu“ odbranila je 2010. godine. Autor je i koautor u preko 70 stručnih radova od kojih je 10 publikovano u celini u međunarodnim i domaćim časopisima, a ostali radovi su publikovani kao izvodi u knjigama i publikacijama domaćih i stranih kongresa.

Prilog 1.

Izjava o autorstvu

Potpisani-a dr Katarina Milošević

broj upisa

Izjavljujem

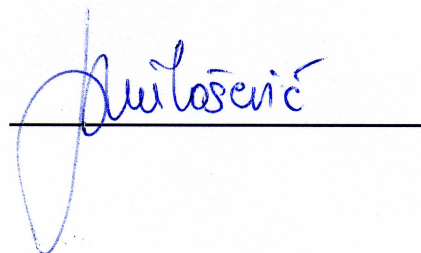
da je doktorska disertacija pod naslovom

„Značaj genetskih i faktora sredine u nastanku idiopatskih bronhiektazija kod dece“

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada,
- da predložena disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za dobijanje bilo koje diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova,
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršio/la autorska prava i koristio intelektualnu svojinu drugih lica.

Potpis doktoranda

U Beogradu, 8.10.2015.



Prilog 2.

**Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije
doktorskog rada**

Ime i prezime autora dr Katarina Milošević

Broj upisa

Studijski program pedijatrija

Naslov rada "Značaj genetskih i faktora sredine u nastanku idiopatskih
bronhiektazija kod dece"

Mentor Prof dr sc Branimir Nestorović

Potpisani dr Katarina Milošević

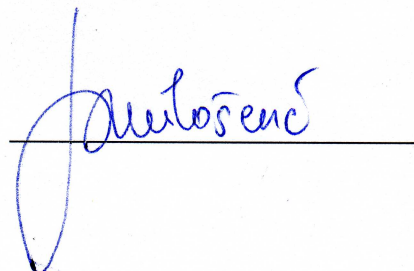
izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predao/la za objavljivanje na portalu **Digitalnog repozitorijuma Univerziteta u Beogradu.**

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog zvanja doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada.

Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalne biblioteke, u elektronskom katalogu i u publikacijama Univerziteta u Beogradu.

Potpis doktoranda

U Beogradu, 08.10.2015.



Prilog 3.

Izjava o korišćenju

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku „Svetozar Marković“ da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

„ Značaj genetskih i faktora sredine u nastanku idiopatskih bronhiektazija kod dece“

koja je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim priložima predao/la sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučio/la.

1. Autorstvo
2. Autorstvo - nekomercijalno
- ☒ 3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerade
4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima
5. Autorstvo – bez prerade
6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima

(Molimo da zaokružite samo jednu od šest ponuđenih licenci, kratak opis licenci dat je na poledini lista).

U Beogradu, 08.10.2015.

Potpis doktoranda

