

**МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ – СОФИЯ
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ
КАТЕДРА ПО АЛЕРГОЛОГИЯ**

**Участие на болестите на горните дихателни
пътища в диференциалната диагноза на
бронхиалната астма**

Д-Р КРЕМЕНА НИКОЛАЕВА НАЙДЕНОВА

**ДИСЕРТАЦИОНЕН ТРУД ЗА ПРИДОБИВАНЕ НА
НАУЧНА И ОБРАЗОВАТЕЛНА СТЕПЕН „ДОКТОР“**

Научни ръководители:

Проф. Д-р Васил Димитров Димитров, дм

Проф. Д-р Мария Тончева Стаевска, дм

СОФИЯ, 2023

Използвани съкращения

АР – Алергичен ринит
НАР – Неалергичен ринит
ХРС – Хроничен риносинусит
БА – Бронхиална астма
КСГДП/UACS – Кашличен синдром на горни дихателни пътища
IL – Интерлевкин
ГДП – Горни дихателни пътища
ДДП – Долни дихателни пътища
ПНД/PND – Пост назален дрип
НБС – Неспецифична бронхиална свръхчувствителност
НХР – Назална хиперреактивност
МДП – Малки дихателни пътища
АПК – Антиген – представящи клетки
САР – Сезонен алергичен ринит
ЦАР – Целогодишен алергичен ринит
ELISA – Enzyme Linked Immunosorbent Assay
ARIA – Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma
VCD – Vocal Cord Dysfunction
PBMCs - Peripheral Blood Mononuclear Cells
TSLP – Thymic stromal lymphopoietin
ILC2 - Innate Lymphoid Cells 2
NK -Natural Killer
TGFb – Transforming Growth Factor beta
MPI - Minimal Persistent Inflammation

СЪДЪРЖАНИЕ

I. ВЪВЕДЕНИЕ	4
II. ЛИТЕРАТУРЕН ОБЗОР	5
1. Хронични заболявания на горните дихателни пътища.....	5
2. Връзка между алергичен ринит и бронхиална астма.....	8
3. Доказателства за концепцията за „Единен Дихателен Път“.....	10
4. Хронични респираторни заболявания на Долните Дихателни Пътища.....	17
5. Кашлица.....	21
6. Роля на Th2 и не-Th2 цитокините в респираторната алергология.....	33
III. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ	48
IV. МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ	49
1. Клиничен материал	49
2. Методи на изследване	51
3. Статистически методи.....	55
V. СОБСТВЕНИ ПРОУЧВАНИЯ	57
1. Първа група пациенти, оценени посредством изследване на цитокинов профил.....	57
1.1. Демографски характеристики.....	57
1.2. Разпределение на изследваните групи пациенти по сезонност на протичане на алергичното респираторно заболяване.....	58
1.3. Определяне на сенсibiliзация.....	59
1.4. Функционално изследване на дишането.....	59
1.5. Оценка на алергичното възпаление чрез изследване на цитокинов профил в периферна кръв и назален лаваж.....	60
1.6. Корелационен анализ сред изследваните пациенти с алергични респираторни заболявания.....	69
2. Втора група пациенти, представящи връзката между двата дихателни пътя, оценени на базата на хронична кашлица.....	72
2.1. Характеризиране на пациентите с хронична кашлица.....	72
2.2. Проучване и характеризиране на заболяванията от горни дихателни пътища.....	77
3. Оценка на задно носно стичане посредством изследване на зависимостта му с други показатели.....	80
4. Давност на кашлицата и на възпалителните заболявания от ГДП.....	89
5. Идентифициране на най-честите причини за хронична кашлица.....	95
6. Характеризиране на пациентите с хронична кашлица според вида на ринита.....	101
VI. ОБСЪЖДАНЕ	106
VII. ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	127
VIII. ИЗВОДИ	131
IX. ПРИНОСИ	132
X. Публикации и участия в научни прояви във връзка с дисертационния труд	134
XI. Библиография	135

I. Въведение

Алергичните заболявания са значим социален проблем. Едно от най-честите алергични заболявания – алергичният ринит (АР), засяга 25% и 40% от децата и възрастните в света. Приблизително около 80% от симптомите се развиват преди 20 годишна възраст [1]. Заедно с други възпалителни заболявания на горните дихателни пътища (ГДП) се разглежда като рисков фактор за засягане на долните дихателни пътища (ДДП) и развитие на бронхиална астма [2,3].

АР може да се наблюдава като първа стъпка в прогресията на респираторната алергия към астма [4]. Бронхиалната астма (БА) е често срещано, хронично респираторно заболяване, засягащо около 334 милиона в световен мащаб [5,6]. През последното десетилетие астмата се разглежда, като **хетерогенна болест**, обхващаща пациенти с различни *фенотипи*, между които се наблюдава припокриване в различна степен. Обект на дисертационния труд е леката БА, като засегнатите от нея пациенти представляват най-голямата група, около 70% от всички астматици [7]. При пациентите с БА носът може да се разглежда като „*отворен прозорец*“ към бронхите, тъй като съществуват доказателства за тясната връзка между назалната цитология и бронхиалното възпаление [8,9].

През последните години многобройни проучвания подчертаха факта, че дихателната система е едно цяло не само на анатомично, но и на системно ниво и концепцията за „Единен Дихателен Път“ е една от съвременните теории, обясняващи връзката на болестите на ГДП с ДДП [10].

Асоциацията между двата дихателни пътя може да съществува и когато не е налице атопия, като при неалергичната астма, хронична обструктивна белодробна болест (ХОББ) или хроничен ринит. По този начин представена, единната концепция за дихателните пътища се простира и отвъд границите на алергията [11].

Възпалителните промени на дихателните пътища, често са причина за друг значим проблем – кашлицата. Този симптом е сред най-честите клинични проблеми и може да се дължи на патологични промени от ГДП и/или ДДП. Заболяванията на ГДП самостоятелно или в съчетание с други състояния са честа причина за хронична кашлица [12].

II. Литературен обзор

1. Хронични заболявания на горните дихателни пътища

ГДП и ДДП се класифицират като единна морфологична и функционална единица. Носът е разположен в горната част на дихателните пътища и има основна роля - защита на белите дробове. Затопляне, филтриране и овлажняване на въздуха спомага за пречистването му при навлизане в долния дихателен тракт. В процеса на дишане повечето частици са с еквивалентен аеродинамичен диаметър (AED) $> 15 \mu\text{m}$ и се отлагат в ГДП. Докато частици с AED $> 2,5 \mu\text{m}$ главно в трахеята и бронхите, а тези с по-ниски AED проникват в газообменната част на белите дробове [13].

Хроничният ринит и хроничния риносинусит (ХРС) са две широко разпространени възпалителни заболявания засягащи ГДП. *Хроничният ринит* се дефинира като възпаление на носната лигавица, водещо до запушване на носа, ринорея (предна или задна), кихане или назален / очен сърбеж. Два назални симптома трябва да присъстват най-малко 1 час дневно в продължение на минимум 12 седмици годишно, за да се дефинира като хроничният ринит [14]. Описани са различни фенотипи на двете заболявания въз основа на тежестта на протичане и продължителност на симптомите, статус на атопия, ниво на контрол, съпътстващи заболявания и наличие или отсъствие на назални полипи при ХРС [15].

Основни фенотипи на ринита. Според етиологичния фактор, пациентите с хроничен ринит са клинично разделени на четири основни подгрупи: инфекциозен ринит, АР, ХРС, неалергичен неинфекциозен ринит [16]. *Инфекциозният ринит* е остро и самоограничаващо се заболяване, причинено от вирус и е известен като „обикновена настинка“. Въпреки това, може да персистира продължително ако се прибави бактериална инфекция, особено при пациенти с перфорация на септума и/или чуждо тяло. Инфекцията се разглежда като един от основните фактори в патофизиологията на ХРС.

1.1. Хроничен риносинусит

При *ХРС* възпалението на лигавицата засяга носа и параназалните синуси и се характеризира със запушване на носа и наличие на секрет, загуба на обоняние и/или лицева болка, която продължава повече от 12 седмици [17]. Фенотипът на *ХРС* се определя според наличието (CRSwNP) или отсъствие (CRSsNP) на полипи в носа, установени с ендоскопия или рентгеново изследване. Основните патофизиологични механизми са разнообразни, а понякога се наблюдава и припокриване между тях. Възпаление тип 2 е добре характеризирано както при АР, така и при *ХРС* с назални полипи (CRSwNP), докато възпаление от тип 1 се открива при инфекциозен ринит и *ХРС* без назални полипи (CRSsNP).

Проучванията, базирани на въпросници, показват че АР засяга до 30% от населението в света, докато *ХРС* - над 10% от европейското население [18, 19]. Заболяванията на ГДП често се свързват със съпътстващи заболявания като БА или ХОББ [20, 11]. За възникване на комбинирани заболявания на дихателните пътища (засягащи ГДП и ДДП) се предполага участието на системно възпаление, предизвикано както от придобитата, така и от вродената имунна система [21].

1.2. Неалергичен ринит

Значителен брой пациенти, страдащи от персистиращ ринит, се определят като пациенти с неалергичен неинфекциозен ринит, често наричан накратко НАР [22]. Дефинира се като възпаление на носната лигавица с наличие на минимум два назални симптома като запушване на носа, ринорея, кихане и/или сърбеж в носа, без клинични данни за ендоназална инфекция и без системни признаци на сенсibiliзация към инхалаторни алергени. Симптоми на НАР може да имат широк диапазон на тежест и да присъстват или непрекъснато и/или индуцирано от излагане на неспецифични тригери, определяно като назална хиперреактивност (НХР). НХР се наблюдава както при пациенти с АР, така и с НАР. НАР може да бъде разделен на субфенотипи: идиопатичен ринит, хормонален, густационен, медикаментозен, ринит на възрастните хора (сенилен), атрофичен и професионален ринит [23]. Най-важните фенотипи на НАР са възпалителен и неврогенен [22].

НАР трябва да се различава от ринита с алергична реакция, ограничена до носната лигавица, наричана още „ентопия“ или локален алергичен ринит (ЛАР). Характеризира се с локално производство на специфични IgE при назална експозиция на аероалергени

и липса на системна атопия [24]. Най-вероятно тези пациенти представляват подгрупа на тези, които преди са били определени като неалергичен ринит със синдром на еозинофилия (NARES).

Разпространението на НАР сред цялата популация обхваща около 26% [25] Chiang и сътр. [26] съобщават, че НАР е по-често срещан при деца под 6-годишна възраст, докато диагностицирането на АР нараства с възрастта, а НАР намалява до 10%-15% при по-големите деца.

1.3 Алергичен ринит

Алергичният ринит е заболяване на ГДП и се характеризира със симптоми, предизвикани от IgE - медирания възпалителен отговор в лигавицата на носа след алергенна експозиция. Клинично протича с кихане, водниста секреция, сърбеж в носа и запушване [27]. Често е добавена и конюнктивитна симптоматика - инекция на конюнктивите, парене, сърбеж, сълзене от очите поради съществуването на назо-окуларен аксон рефлекс, същите алергени и наличието на атопия. От началото на индустриалното развитие, АР е едно от най-честите заболявания в света, с честота от 10%-40% сред населението [28]. В Съединените щати засяга 20-40 милиона души годишно, включително до 30% от възрастните и 40% от децата [29]. Механизмите лежащи в основата на патогенезта и лечението на АР са широко проучени, но в много аспектите остават неясни и налагат допълнителни изследвания [30].

Генетичната предиспозиция е с водеща роля за развитието на алергичните заболявания. Единичните нуклеотидни полиморфизми (SNPs) са важен генетичен фактор за развитие на алергично заболяване [31], който може да увеличи или намали чувствителността на АР чрез интерлевкини, хемокини и рецепторно кодирани гени [32]. Мета-анализ за оценка на връзката между SNPs и чувствителността към АР разкрива, че тимусният стромален лимфопоетин (TSLP) има важна роля при алергичните заболявания, а *TSLP rs1898671* полиморфизмът увеличава риска от АР [33].

Честотата и тежестта на АР са тясно свързани с нивата на поленовите алергени във въздуха в различните страни и региони [34]. В Европа, разпространението на сенсibiliзацията към брезов полен се повишава поради нарастващите му концентрации и повишена експозиция [35]. Климатичните изменения имат водеща роля за удължаване

на поленовия сезон, което се съобщава и в Европейските страни през последните три десетилетия [36].

АР и неговите насоки за въздействие върху астмата [37] го класифицират като *интермитентно* заболяване въз основа наличието на симптоми за по-малко от 4 дни в седмицата или по-малко от 4 седмици; или като *персистиращо* заболяване, базирано на симптоми, продължаващи повече от 4 дни в седмицата за повече от 4 седмици. От друга страна, АР може да се раздели на *сезонен* (САР) и *целогодишен* (ЦАР) въз основа на вида на алергените. В тази връзка външните алергени, като тревни и дървесни полени, обикновено са основните сенсibiliзиращи алергени за САР, докато акарите от домашен прах са сенсibiliзиращите алергени за ЦАР.

Редица проучвания представят близката връзка между АР и БА [38, 39, 40, 41, 42].

АР може да се наблюдава като първа стъпка в прогресията на респираторната алергия към астма. През 1999г. след проведена работна среща е прието Световната здравна организация (World Health Organization, WHO) да разработи насоки основани на доказателствата за лечение на ринита и подчертава въздействието му върху астмата. Тази глобална програма, наречена ARIA (Allergic rhinitis and its impact on asthma) в сътрудничество с WHO, представя клинични препоръки за лечение и профилактика на ринита и за по-добра оценка на взаимодействията между двете респираторни заболявания. Целта е да се увеличи осведомеността за ринита, и да се проведе ефективно лечение в световен мащаб. В документа ARIA ролята на АР като рисков фактор за развитие на астма е ясно подчертана [27].

2. Връзка между алергичния ринит и бронхиалната астма

Връзката между астма, АР и риносинусит е добре известна и международно приета [3], докато точната концепция за заболяване на единния дихателен път е постулирана едва наскоро [43]. Ринитът и астмата са често срещани алергични заболявания и редица епидемиологични проучвания ясно показват връзката и едновременното им протичане [4, 44].

Valero A. и сътр. [45], в голямо проучване от 3225 пациента проследяват връзката между кожната сенсibiliзация, ринит и астма при пациенти с АР. От получените резултати авторите установяват, че респираторната алергична болест е *системно*

заболяване и АР и астмата са прояви на една и съща болест. Характеристиките на АР могат да повлияят на развитието и вида на астмата.

Дисфункцията на ГДП и ДДП, често се съчетава и споделя общи елементи на патогенеза. Данните от епидемиологични проучвания показват, че назални симптоми се наблюдават при 78% от пациентите с астма, а при 38-40% от пациентите с АР се наблюдава астма [41]. Проучванията откриват времева връзка между началото на ринита и астмата, като *ринитът често предхожда развитието на астмата* [40]. Пациентите с АР и липсващи клинични данни за астма, често проявяват неспецифична бронхиална свръхчувствителност (НБС) [46]. Наблюденията, че лечението на АР облекчава симптомите на астма, засилва интереса относно връзката между тези две заболявания.

Съществува и обратната зависимост между възпалението на ДДП и влиянието им върху ГДП. Braunstahl и сътр. [47], сравняват алергичното възпаление в горната и долна част на дихателните пътища след сегментна бронхиална провокация при пациенти с АР без БА, спрямо здрави контроли. На 24-ия час след сегментна бронхиална провокация, нивата на еозинофилите в кръвта са повишени само при алергични пациенти в сравнение с групата здрави контроли, което предполага системен ефект от провокацията с при сенсibiliзирани пациенти. Наблюдава се и намаляване на назалния инспираторен поток и увеличаване на носната симптоматика. Увеличен е и броя на еозинофилите, еотаксин-положителните клетки и експресията на IL-5 в биопсични материали от носната лигавица, както и намаляване на мастоцитите, поради по-високата степен на дегранулация.

Оценката на последователна изява между ринита и астма, особено при възрастни пациенти е сложна. Субклиничните форми на астма и някои степени на бронхиално възпаление и бронхиална хиперреактивност (БХР) могат да се наблюдават преди поява на задух и хрипове [48].

Освен това някои възрастни пациенти е възможно да не си спомнят, че са имали леки симптоми на астма в детството. Интересното е, че въпреки отричането на предшестваща астма при 22,4% от пациентите с новодиагностицирана астма съобщават за "респираторни проблеми" преди 16-годишна възраст. Това може да е изява на симптоми от ДДП, които са започнали през детството и не са били тежко проявени, за да се диагностицират като астма [49].

3. Доказателства за концепцията за единния дихателен път

През последните години доказателствата за съществуващата връзка между ринит и БА нарастват. Това е причина за въвеждане концепцията за единна болест на дихателния път. Тази концепция има важно значение както за диагностицирането, така и за контрола на тези често срещани и инвалидизиращи хронични заболявания [50]. Термините в научната литература обединяващи двете заболявания са разнообразни: "United Airways Disease", "Allergic Rhinobronchitis," или "Combined Allergic Rhinitis and Asthma Syndrome (CARAS)", "One way, one disease" [51].

Доказателствата за едновременното протичане на АР и БА са многобройни:

1/ Ембриологични и хистологични, 2/Анатомични и физиологични, 3/ Съществуването на назо-бронхиален рефлекс, 4/ Тип на възпаление, 5/ Тригери, 6/ Генетични фактори, 7/ Функционални маркери, 8/ Епидемиологични данни и 9/ Терапевтични доказателства.

От друга страна доказателствата могат да се разделят на директни и индиректни. *Директните са:* неврален (назо-бронхиален) рефлекс, задно носно стичане на възпалителни клетки и/или медиатори от носа в ДДП, абсорбция на възпалителни клетки и/или медиатори от носа в системното кръвообращение и съответно в белия дроб.

Индиректни. Една от главните функции на ГДП е на физиологичен филтър, пречистващ и затоплящ вдишвания въздух. Носът функционира като регулатор на бронхиалната хомеостаза. Нарушението на някои от тези функции, води до промяна в хомеостазата на ДДП.

1. Ембрионалното развитие на ГДП и ДДП са подобни. Началото е през четвърта гестационна седмица на бременността и продължава няколко години след раждането. Носът започва развитието си от носните плакоиди и изпъкналости [52], ларинксът, трахеята, бронхите и белите дробове се развиват от ларинготрахеалния канал във вентралната стена на примитивния фаринкс [53].

2. Анатомични и физиологични. Лигавицата покриваща ГДП и ДДП се състои от еднакъв псевдостратифициран цилиарен епител с подлежаща базална мембрана [54]. По тази причина лигавицата на дихателните пътища е чувствителна спрямо инхалаторни алергени. Лимфоидната система образува мукозо-свързаната лимфоидна тъкан (MALT) и е широко представена в носа и бронхите [40, 55]. Анатомично разликата е в наличието на гладка мускулатура в ДДП и на високо обемни **венозни синусоиди** и проминиращи

субмукозни жлези в ГДП [54, 40, 56]. Така се обяснява и различният патофизиологичен механизъм спрямо тригериращите фактори - ринорея и конгестия в носа / секреция и бронхоконстрикция в белият дроб.

3. Назобронхиалният рефлекс осъществява взаимодействието между ГДП и ДДП. Рецепторите са локализирани в носа, синусите, ларинкса, фаринкса, трахея и респираторен тракт. Тригеминалният нерв е отговорен за аферентната сензорна инервация на носа. Нервният импулс се пренася посредством n.trigeminus, n.facialis, n.glossopharyngeus до medulla oblongata. Там се осъществява връзка с влакна на n.vagus, осъществяващ аферентна и еферентна инервация на ДДП и настъпва бронхоконстрикция [57].

4. Тип възпаление. АР и БА имат общи патогенетични механизми: общи клетки на възпалението, медиатори (цистенил левкотриени, простагландини, цитокини), *ранна* и *късна фаза* на алергичен отговор, провокиращи се от общи тригери [58]. Невротрофините са мощни съединения, които променят фенотипа на нервите, както сензорни, така и други видове нерви. Невралният растежен фактор (NGF) и неговите рецептори се експресират в носната лигавица. Може да бъде освободен от няколко типа клетки, включително и от мастоцити. NGF са едни от главните медиатори на неврогенната хиперреактивност [59]. При пациенти с АР и алергична БА, нивата на NGF в серума, назалната и бронхиална течност се повишават [57]. Характерно за пациенти с АР е НХР спрямо специфични алергени и неспецифични стимули. Активираните възпалителни клетки и медиатори улесняват лигавичното проникване и осигуряват допълнителна възможност за антиген-специфично стимулиране.

По време на **ранната фаза** специфични **адхезионни молекули** се експресират по повърхността на ендотела и епитела, което води до екстравазация и инфилтрация на възпалителни клетки [60]. Върху повърхността на левкоцитите и ендотелните клетки се експресират олигозахарид-свързващи протеини наречени **селектини** /L-,P-,E-селектин/. Върху левкоцитната повърхност се експресира L-селектин, който се свързва с експресираните върху ендотела P- и E-селектин. Тези селектини, позволяват всеки клетъчен тип да се свързва с определени олигозахаридни остътъци по повърхността на другия. Свързването на клетките участващи в дадената реакция, позволява да се *търкалят* и придвижват на малки разстояния по дължината на кръвоносния съд. По повърхността на левкоцитите се експресират и друг вид адхезионни молекули, наречени **интегрини** /Mac-1, LFA-1/. Всеки интегрин се свързва здраво към съответен

повърхностен протеин на ендотелната клетка (*flattering*). Други от изключително значение адхезионни молекули CAM-1 /ICAM-1, ICAM-2, VCAM - експресирани върху ендотела се свързват с левкоцитните интегрини и подпомагат тяхната *миграция* от съдовата стена към съседни тъкани [61]. Епителните клетки на алергични пациенти експресират ICAM-1, сравнително рано по време на алергичния отговор. Експресията на тази адхезионна молекула, може да се приема като маркер за алергично възпаление [62].

Характерна особеност на алергичното възпаление при АР и БА е струпването на множество еозинофили в лигавиците, поради което *еозинофилът* е важна ефекторна клетка [63]. Химиотактичните фактори и клетъчните адхезионни молекули излъчват сигнали, които стимулират екстравакуларната миграция на еозинофили /по механизма описан по-горе/ в тъканите и местата на възпаление.

От инфилтриралите носната лигавица еозинофили, когато се активират и дегранулират, се освобождават различни видове възпалителни медиатори, водещи до оток на носната лигавица и повишена реактивност, симптоми характерни за **късната фаза** на алергичен отговор [64].

За да установи и потвърди назо-бронхиалната връзка, Gert-Jan Braunstahl и сътр. [65], са изследвали експресията на адхезионните молекули в носната и бронхиална лигавица след назален провокационен тест с алерген. На 24 ч. след назална провокация се установява повишаване на еозинофилите в носната лигавица и lamina propria и белодробната лигавица при пациенти с АР. Установява се и повишена експресия на адхезионните молекули: ICAM-1, VCAM-1, E-selectin в носната и бронхиална тъкан при болните с АР. Броят на еозинофилите в двете лигавици е корелирал с локалната експресия на гореизброените адхезионни молекули. Това проучване е показало, че назалната провокация при пациенти с АР води до генерализирано възпаление на дихателните пътища (ГДП и ДДП), чрез повишаване регулацията на адхезионните молекули.

4.1. Фази на алергичната реакция. Сходството между ранната и късна фаза на алергичния отговор се изразява с клетъчна инфилтрация от мастоцити, хистамин, левкотриени, простагландини, фактор активиращ тромбоцитите по време на ранната алергична реакция.

Раннофазовият отговор или алергичната реакция от незабавен (бърз) тип [66] възниква при свръхчувствителни индивиди, минути след алергенната експозиция.

Алергичният отговор започва с разпознаване на антигена от антиген-представящата клетка (АПК), преработва се и се представя на Т-хелперните (Th) лимфоцити в регионалните лимфни възли. Т-лимфоцитите разпознават антигена с повърхностно разположени имуноглобулинови рецептори. Т-клетъчният рецептор (ТКР) разпознавайки антигена, активира стимулацията на „наивните” Т-хелпери (Th0). Последните се диференцират в Th1 или Th2 субтип. Активацията на Th1 води до освобождаване на IL-2 и INF- γ , докато Th2 цитокиновият профил включва освобождаване на IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-9, IL-10 и IL-13, GM-CSF. Освободените цитокини IL-4, IL-6, IL-13 взаимодействат с В-лимфоцитите (B-ly), индуцирайки синтеза на Ig E. Последните се свързват с високоафинитетния рецептор върху повърхността на мастоцитите. Едно от главните свойства на ранно-фазовият отговор е мастоцитната дегранулация. В резултат се освобождават редица медиатори като: хистамин, левкотриени и простагландини. Ранно-фазовият отговор обикновено се последва от късно-фазов, който се проявява 4-6 часа от антигенната стимулация. Късно-фазовият отговор се характеризира с продължителност на симптомите: често кихане, ринорея, но най-характерна е *носната обструкция*, която продължава 18-24ч. Клетъчната инфилтрация по време на тази фаза се състои от Т-лимфоцити, базофили и еозинофили. По време на нея се освобождават различни цитокини и хемокини като IL-4, IL-13 от Т клетки и мастоцити, което води до повишаване регулацията на адхезионните молекули и тяхната експресия върху ендотела - VCAM, както и улесняващи инфилтрацията на еозинофили, Т клетки и базофили в носната лигавица. Химиокините - RANTES, еотаксин, моноцитен хемиатрактант протеин-4 и тимус активиран регулиращ химиокин (TARC), освободен от епителните клетки, служат като химиоаттрактанти за еозинофили, базофили и Т-лимфоцити.

Сходен е моделът на ранната и късна фаза алергичен отговор на ДДП. Клинично се проявява с бронхообструкция, БХР и повишена секреция на слюз [67].

4.2. Минимално персистиращо възпаление (Minimal persistent inflammation - MPI) [68]. Този термин е въведен през 2000 г. описващ явление, при което на ниво лигавица се наблюдава възпалителна клетъчна инфилтрация, при субоптимална експозиция на алергени и при отсъствие на симптоми (фиг. 1). Това състояние може да доведе до хиперреактивност и предиспозиция към изява на клинични симптоми. При ниска алергенна експозиция може да не се провокират симптоми, но да персистира алергичното възпаление.

В носната лигавица МРІ се характеризира с наличието на възпалителни клетки (еозинофили и неутрофили) и повишена експресия на ICAM-1 върху епителните клетки, които са установени при пациенти със САР и ЦАР при липсваща клинична симптоматика. Някои автори [62] изказват предположение, че клинично проявените симптоми са „върха на айсберга“ на алергичната реакция, а възпалението и свръхчувствителността персистират продължително и представляват основата или подводната част на айсберга. В резултат на това, терапевтичната стратегия трябва да бъде насочена към намаляване на възпалението и симптомите през целият период на експозиция на алергени, дори и тя да бъде субоптимална [55].



Фигура 1. Минимално персистиращо възпаление (Адаптирано по Canonica GW, Compalati E. Minimal persistent inflammation in allergic rhinitis: implications for current treatment strategies. Clin Exp Immunol. 2009 Dec;158(3):260-71)[68]

МРІ включва експресията на CD54 (ICAM-1), който същевременно е и главен рецептор на човешкия риновирус. Това е от важно значение при екзацербация на астма индуцирана от вирусна инфекция на ГДП при деца [69]. Като се вземе предвид връзката между двата дихателни пътя, влиянието на МРІ в носната лигавица трябва да се има

предвид относно възпалението и на долния респираторен тракт [55].

Алергенната провокация на носа или бронхите води до генерализирано възпаление на дихателните пътища. Въпреки подобният възпалителен инфилтрат при АР

и БА, степента на възпаление може да се различава. При пациенти с умерена до тежка астма, *еозинофилната инфилтрация* е по-изразена в бронхите, отколкото в носа, докато пациентите с лека астма имат подобна степен на възпаление и в носната лигавица [70]. Еозинофилно възпаление в носната лигавица се наблюдава при астматици с или без ринитни симптоми. Ремоделирането на дихателните пътища е по-изразено в мукозата на бронхите, отколкото в носната лигавица. При пациентите с астма се наблюдава задебеляване на базалната мембрана, хипертрофия на гладката мускулатура и силно изразена епителна десквамация (водещо до т. нар. *ремоделиране*), докато носният епител при пациенти с ринит е значително по-малко увреден [71].

5. Общи причинители. АР и БА имат общи причинители (алергени, замърсители, инфекции, лекарства) – полени, артроподи, плесени, животински, храни, медикаменти.

6. Генетично предразположение. Астмата и ринитът често са свързани с атопия - генетична предиспозиция за повишена продукция на Ig E антитела спрямо протеини от околната среда: домашен прах, поленов прашец, хранителни алергени. Атопичните заболявания могат да се проявяват на различни места в тялото и да включват уртикария, алергичен ринит, атопичен дерматит, конюнктивит, хранителна алергия и астма [72, 73].

7. Функционални маркери. Тясната връзка между ГДП и ДДП, както и ролята на някои рискови фактори, като продължителност и сенсibilизация към целогодишни алергени (акари от дом.прах), могат да се разглеждат като ранни прогностични маркери за бронхиално засягане при пациенти с умерен до тежък и персистиращ АР. При голяма група пациенти - 392 с умерен към тежък персистиращ АР [74] изходно измереният функционален показател - форсиран експираторен обем за 1 секунда (FEV1) показва обратимост чрез положителен бронходилататорен тест (БДТ) (увеличение над 12% и 200 мл). В това проучване бронхиалната обратимост е свързана с ранно ограничаване на въздушен поток, въпреки че са налице гранични FEV1 стойности. Обратимостта е свързана и с по-голяма давност на ринита, което потвърждава, че бронхиалното увреждане е по-често при пациенти с дългогодишен ринит.

Малки дихателни пътища (МДП). Известно е, че БА се характеризира с обратима бронхиална обструкция, като FEV1 се използва като златен стандарт за оценка на бронхиалната обструкция [75]. Напоследък се наблюдава засилване на интереса към участието на малките дихателни пътища (МДП) в патогенезата на БА [76]. Въпреки, че няма директен параметър за оценка на МДП се приема, че FEF₂₅₋₇₅ (форсиран

експираторен поток между 25% и 75% от форсирания витален капацитет - FVC), се използва като ранен маркер за увреждане на дихателните пътища. Доказано е, че FEF₂₅₋₇₅ е надежден маркер за определяне хиперреактивност на МДП и ранно бронхиално засягане при АР [77, 78]. Този функционален показател, може да се разглежда като по-чувствителен относно обструкцията на МДП, отколкото FEV₁ [76].

При 8-годишно проследяване, Ciprandi G. и сътр., [79] показват, че намаляването на FEF₂₅₋₇₅ с повече от 70%, може да се приеме като маркер за ранна бронхиална патология при пациенти страдащи от АР. Продължителността на ринита, сам по себе си е рисков фактор за отклонения в спирометричните показатели, БХР и положителен отговор към бронходилататорен тест. Това проучване представя доказателства за някои рискови фактори, влияещи върху измененията на FEF и БХР - сенсibiliзациията към бреза, акари от домашен прах, *Parietaria* и тревен полен, както и продължителността на ринита. Тези открития, изтъкват ролята на МРП, което допринася за структурно бронхиално ремоделиране. Прогресията на алергичното възпаление от носа към бронхите, може да се нарече “*астматичен марш*” [79].

8. Епидемиологични доказателства

Според ARIA пациентите с тежък персистиращ ринит по-често са коморбидни с астма [80]. Епидемиологичните данни също предполагат едновременно съществуване на астма и АР при едни и същи пациенти [81]. Симптомите на едното заболяване преобладават, докато на другото често са недиагностицирани [82]. Според епидемиологичните изследвания се касае за едно заболяване с два етапа на протичане, отколкото две отделни заболявания. Недостатъчната диагноза на АР при пациенти с астма е често срещана. Коморбидният АР има клинично значим ефект върху астмата, особено при хоспитализирани пациенти [48]. Лечението на АР при тези пациенти намалява употребата на медикаменти, свързани с БА [81].

9. Терапевтичен подход

При пациентите с АР и БА се предвижда единен терапевтичен подход: ограничаване на алергенната експозиция, изолиране и елиминиране на етиологичните фактори, фармакотерапия, алерген специфична хипосенсибилизация. От съществено значение е проследяване на пациентите с АР с насока поява на астма, комбинирано лечение на ГДП и ДДП, обучение на пациентите и техните близки. Необходимо е да се търсят и повлияват асоциираните заболявания - риносинусит, конюнктивит, БА.

Съществуват доказателства, че лечението на АР повлиява контрола на астмата при пациенти с двете респираторни заболявания [83, 42]. Използването на интраназални кортикостероиди води до намаляване симптомите на астма и бронхиална реактивност при хора със сезонна и целогодишна респираторна алергия, независимо от депозицията на лекарството в ДДП.

Corgen и сътр. [84] съобщават, че назалните кортикостероиди намаляват бронхиалният отговор свързан със сезонна поленова експозиция. Това се наблюдава при пациенти с АР и БА.

Употребата на антилевкотриени и антихистамини при пациенти с АР подобрява симптомите на астма и намаляват нуждата от честа употреба на бета-2 агонисти [85]. Редица проучвания показват намаляване екзацербациите на астма и посещенията в спешни звена при пациенти с придружаващ АР, използващи антиалергична терапия за ринита (монтелукаст и цитеризин) [86, 87].

Greiff L. и сътр. [88] провеждат лечение на пациенти с АР без придружаваща БА с инхалаторен будезонит по време на поленовия сезон. В резултат на терапевтичният подход е установено намаляване на еозинофилията в периферна кръв и носна лигавица и значително по-леко протичане на ринитните симптоми.

Алерген специфичната имунотерапия (АСИТ) [89] намалява натрупването и активирането на възпалителни клетки, и секрецията на медиатори при пациенти с АР и БА. АСИТ намалява хиперактивността при провокация с метахолин, подобрява качество на живот и намалява сезонните влошавания на астмата. Намаляване на чувствителността към алергените не само води до облекчаване на ринита, но също така подпомага контрола на астмата.

4. Хронични заболявания на Долните Дихателни Пътища

Хроничното засягане на ДДП е сериозен проблем, засягащ милиони хора. Сериозно предизвикателство към медицинските специалисти е справянето с глобалната заболеваемост, свързана с най-честите белодробни заболявания: БА, ХОББ и заболявания водещи до хронична кашлица [90]. В последните години от важно значение е фенотипизирането на пациентите и разработване на лечение, насочено към

специфичните механизми на заболяването, включително и при тези пациенти с трудно лечима хронична упорита кашлица.

Хроничната кашлица е често срещан симптом, засягащ приблизително 12% от общата популация [91] и е свързана с астма, еозинофилен бронхит, гастроезофагеална рефлуксна болест (ГЕРБ) и риносинусит, но често може да бъде идиопатична [92]. Разбирането на механизма на това състояние и разработването на нова терапия е от важно значение, тъй като хроничната кашлица значително влияе върху качеството на живот на пациентите.

Хроничните респираторни заболявания са с висока честота и водят до инвалидизиране на пациентите и повишена смъртност. Двете основни заболявания в тази категория са астма и ХОББ. Отнасят се към неинфекциозните състояния на белите дробове и дихателните пътища, с изключение на злокачествени заболявания и травми. И двете са клинични диагнози и са свързани с обструкция на дихателните пътища и затруднено издишване.

4.1. Хронична обструктивна белодробна болест (ХОББ) - е най-честата причина за хронично прогресиращо ограничение на въздушния поток. При ХОББ обструкцията възниква при структурни белодробни промени поради хронично възпаление, в резултат на продължително излагане на вредни частици или газове, най-често цигарен дим. Заболяването се проявява с клинично с кашлица, диспнея и отделяне на храчки. Симптомите могат да варират от асимптоматични до дихателна недостатъчност [93].

4.2. Хроничен бронхит – проявява се с хронична кашлица, обикновено възникваща през зимните месеци, с продължителност три или повече месеца. Обикновено се появява в две последователни години и е свързана с отделяне на храчки. Острите екзацербации на ХОББ са по-чести при пациенти с хроничен бронхит и обикновено се свързват с бактериални инфекции в бронхите [94]. Тъй като се смята, че екзацербациите водят до по-бърза загуба на белодробна функция и прогресия на ХОББ, предотвратяването им е важна цел в лечението. Симптомите на хроничния бронхит са неспецифични, поради което други белодробни заболявания, като астма и бронхиектазии, могат да се проявят с подобни симптоми [95].

Съществуват и други респираторни заболявания, засягащи долния дихателен тракт, но обект на дисертационния труд е хроничното респираторно заболяване с обратимост на бронхиалната обструкция - БА.

4.3. Бронхиалната астма е често срещано, хронично респираторно заболяване, засягащо 235 - 334 милиона в световен мащаб. Клинично протича със задух, свирене, тежест в гърдите и/или кашлица, затруднен експириум. Симптомите варират по време, честота и интензитет [96]. През последното десетилетие се наблюдава намаляване на смъртността от астма. Въпреки това, националните и международни проучвания продължават да отбелязват недостатъчен контрол при повече от 50% от пациентите. Заболяването е социално-значимо и е причина за високи икономически разходи [97].

Леката астма представлява значителна част (50–75%) от пациентите с астма [98]. Наречени са „тихото мнозинство“ и обхващат около 70% от всички астматици [99]. В голяма група от 150 000 пациенти от Британска Колумбия в периода от 1996 до 2000 г, разпределението на болестта според тежестта е: **67,1% лека, 25,5% умерена, а 7,4% са класифицирани като тежка астма**. С най-голям процент икономически разходи (60%) за здравеопазване са за пациентите с тежка астма [100].

Въпреки че обичайно се разглежда като доброкачествена, леката астма се проявява като състояние, което изисква проактивно лечение за подобряване контрола на симптомите, намаляване на бъдещия риск от екзацербации и ограничаване на прогресията на заболяването [101]. Честотата на тежките екзацербации (дефинирани като необходимост от орален / системен кортикостероид или хоспитализация в болница) при пациенти с лека астма се оценява на **0,12–0,77 %** годишно. Тежките екзацербации при лека астма представляват **30–40%** от екзацербациите на астма изискват спешна консултация [98]. Освен това, в проучване проведено в САЩ - **3,6%** от всички пациенти с лека астма (n=1788) съобщават, че са били хоспитализирани поради влошаване на заболяването; **16,1%** и **28,4%** от пациентите с интермитентна и съответно лека персистираща астма са посетили спешна помощ през предходната година [102]. Смъртността и екзацербациите при лека астма предполагат проблем с класификацията на заболяването по тежест при пациенти с редки симптоми или недостатъчно съобщаване на чести симптоми и подчертават липсата на разграничаване между дефинициите на пациента, лекаря и насоките за лека астма.

Публикувани са международни и национални насоки и доклади за диагностика и лечение на БА: Глобална Инициатива за Астма (GINA), Национална Програма за Обучение и Превенция на Астмата (NAEPP), Национален Институт за Върхови постижения за Здравеопазването и Грижи (NICE) и Британското Торакално Общество (BTS) [99, 103, 104, 105]. Липсва съответствие в класификациите на астмата по тежест между различните препоръки. Насоките на NAEPP [104] класифицират тежестта въз

основа на интензитета и честотата на симптомите, ограничения на въздушния поток и белодробната функция и влияние върху активността. Дефинират *Интермитентна астма* като симптоми, възникващи ≤ 2 дни/седмично, нощни събуждания ≤ 2 пъти/месечно, употреба на облекчаващ медикамент ≤ 2 дни/седмично, с нормална ежедневни активности и $FEV_1 > 80\%$ от предвидения. *Лека персистираща астма* се определя като симптоми > 2 дни/седмично (но не всеки ден), нощни събуждания 3-4 пъти/месечно, употреба на облекчаващо средство ≥ 2 дни/седмично (но не ежедневно), незначителни смущения на ежедневните дейности и $FEV_1 > 80\%$ предвидения.

Според класификацията на GINA 2018, тежестта на БА се оценява въз основа на интензивността от необходимото лечение за контролиране на симптомите и предотвратяване на бъдещия риск [99, 106]: *Лека астма*: добре контролирана със Стъпка 1 - при нужда, краткодействащи бета2-агонисти (КДБА) / или Стъпка 2 - редовна поддържаща ниска доза инхалаторни кортикостероиди (ИКС) и при нужда КДБА/; *Умерена астма*: добре контролирана със Стъпка 3 лечение и *Тежка астма*: изисква лечение в стъпка 4 или 5 за контролиране на симптомите или остава неконтролиран въпреки това лечение.

Концепциите за патофизиологичния механизъм на БА се променят през последните 50 години. Професор Ann Woolcock, един от членовете на GINA, илюстративно представя механизмите на БА от 1968г, когато е разглеждана като бронхоконстриктивно заболяване до средата на 1990 г., тогава се приема за възпалително. От 2000 г. се възприема ролята на двата механизма – възпаление и бронхиална обструкция [107].

През последното десетилетие астмата се разглежда, като хетерогенна болест, обхващаща пациенти с различни фенотипи, при които се наблюдава припокриване в различна степен. С цел разработване на персонализиран терапевтичен подход е предложена концепция за астма - ендотипи, като всеки ендотип е резултат от специфичен молекулен механизъм, който се различава от другите ендотипи [108, 109, 110].

През последните години, актуализацията на GINA препоръчва дългосрочно, редовно, приложение на ниски дози ИКС като възможност за лечение при пациенти с новодиагностицирана астма. Това беше подкрепено от START (The Inhaled Steroid Treatment As Regular Therapy in Early Asthma) многоцентрово, рандомизирано контролирано проучване при 7241 пациенти с наскоро появила се лека персистираща астма. Установено е, че дългосрочното, веднъж дневно приложение на ниски дози ИКС е свързано с намален риск от тежки екзацербации и добър контрол на астмата в сравнение

с плацебо [111]. Подобно на него в проучването OPTIMA, ниската доза ИКС намалява честотата на тежки екзацербации и лошо контролираната астма с повече от половината спрямо плацебо при пациенти с лека форма на астма [112]. Освен това, тежкото влошаване може да доведе до дългосрочно намаляване на белодробната функция при тези пациенти, които не получават ИКС в сравнение с редовния му прием [113]. Ранното диагностициране и противовъзпалително лечение на БА, може да предотврати ремоделирането и тежестта на заболяването [114].

Ремоделирането е процес, който предизвиква структурни промени. При БА такива се наблюдават в малките и големи дихателни пътища. То може да бъде разделено на физиологично и патологично [115]. Структурните промени включват: субепителна фиброза, хиперплазия на жлезите, неоваскуларизация, увреждане на епитела, разрастване на гладката мускулатура. В резултат на това стените на дихателните пътища задебеляват, настъпва последващо стесняване, БХР и оток от повишената секреция на жлезите.

Възпалението е ключов компонент за ремоделиране на дихателните пътища. В бронхите на пациенти с лека и умерена астма се наблюдава Th2 възпаление, при което има изобилие от еозинофили, мастоцити и Th2 лимфоцити. Медиаторите освобождавани от тях предизвикват бронхоконстрикция, повишена слузна секреция което подпомага ремоделирането. Броят на инфилтриращите левкоцити (като мастоцити, еозинофили и CD8 и CD4 - Т клетки) корелира с хиперреактивност на дихателните пътища при пациенти, лекувани с ИКС. Възпалителните медиатори, които участват в този процес включват цитокините: IL-4, IL-5, IL-9 и IL-13, TGF- β , GM-CSF, липидни медиатори и хистамин. Някои от тези медиатори TGF- β , IL-11 и IL-17 имат мощни ремоделиращи свойства. Th-17 лимфоцитите участват в патогенезата на тежката астма, като секретират IL-17A и IL-17 F, играещи роля в ремоделирането на дихателните пътища [114].

5. Кашлица

Кашлицата е защитен физиологичен механизъм, предпазващ ДДП от попадането на храна, течности, прах и химикали, а също така е и симптом на много възпалителни заболявания на респираторния тракт [116]. Вирусните инфекции засягащи ГДП са най-честата причина за остра кашлица, която обичайно преминава за около 2 седмици. За подостра се приема кашлица персистираща между 3-8 седмици. Продължителността на

кашлицата повече от **8 седмици** се означава, като **хронична** [117]. Тя е суха, непродуктивна, без патологични изменения от рентгенографията на гръден кош и нормална физикална находка при преглед на пациента. Тази кашлица трябва да се разграничи от кашлицата при хронични заболявания на ДДП - ХОББ, БА, белодробна фиброза, бронхиектазии или рак на белия дроб [118, 346].

Кашлицата, значително влошава качеството на живот на пациентите и в някои случаи води до депресивни състояния [119]. Разпространението на хроничната кашлица засягащо възрастното население е около 10%. Честотата и е по-високо в Европа, Америка и Австралия (10–20%), отколкото в Азия (<5%) [120].

Този симптом е сред най-честите клинични проблеми и може да се дължи на патологични промени от ГДП и ДДП. Когато се търси етиологичния причинител на кашлицата е редно да се изключат редица заболявания, прием на някои медикаменти и вредни навици: тютюнопушене, прием на АСЕ - инхибитори, аспирация на чуждо тяло, патологични белодробни състояния или неврологично заболяване.

5.1. Фенотипи на хроничната кашлица

5.1.1. Астматична кашлица

Включва три подгрупи: кашлица при 1/ класическата бронхиална астма, която се характеризира с обратимост на въздушния поток и бронхиална хиперреактивност; 2/ Кашличен вариант на астма (КВА) с патофизиологични характеристики на класическата астма, проявяваща се единствено с кашлица и 3/ еозинофилен бронхит (ЕБ), при който липсва бронхоконстрикция или хиперреактивност. Предполага се, че липсата на тези две последни характеристики показва, че ЕБ е отделно състояние наричан още – неастматичен еозинофилен бронхит [121].

Японското респираторно дружество (Japanese Cough Research Society) [122] приема, като честа причина за хронична кашлица: КВА, ГЕРБ, СБС и т.нар. атопична кашлица (АК).

Хроничните възпаления, засягащи горния и долния дихателен път се означават като **синобронхиален синдром (СБС)** [123]. Разпространен в Япония и слабо познат в западните страни. СБС включва ХРС и неспецифично възпаление на ДДП (хроничен бронхит, бронхиектазии и дифузен панбронхиолит). Съществува хипотеза, че синуситът се проявява първоначално и възпалението прогресира към бронхиално заболяване. Чрез

тази хипотеза се приема, че PND навлизащ в трахеята играе важна роля в развитието на заболяване [12,124].

Диагнозата **АК** се приема въз основа на следните критерии (Japanese Cough Research Society): 1. Непродуктивна кашлица, повече от 8 седмици без хрипове или диспнея; 2. Наличие на един или повече признаци, показателни за атопия: анамнеза и/или усложнения на алергични заболявания, с изключение на астма, периферна кръвна еозинофилия ($\geq 6\%$ или ≥ 400 клетки/mL), повишено общо ниво на IgE в серума (≥ 200 IU/mL), детекция на специфични IgE срещу аероалергени и положителен кожен тест и/или индуцирана еозинофилия в храчки ($\geq 2,5\%$); 3. Липса на бронхиална обратимост; 4. Нормална бронхиална реакция (след провокация с метахолин); 5. Повишена чувствителност на кашличния рефлекс (капсаицин); 6. Кашлица, неповлияваща се от бронходилататорна терапия; 7. Нормална рентгенография на гръдния кош; 8. Нормален FEV1 ($\geq 80\%$ от предвидената стойност), FVC $\geq 80\%$ от прогнозираната стойност и съотношение FEV1/FVC ($\geq 70\%$) [125].

Всички пациенти страдащи от хронични заболявания на ГДП и персистираща кашлица, трябва да се изследват за БА. В повечето случаи, кашлицата може да бъде единствения симптом на астмата, засягаща до 40 % от пациентите в Япония (КВА) [126].

Диагностицирането на **КВА** включва (Japanese Cough Research Society): 1. Хронична непродуктивна кашлица, продължаваща повече от 8 седмици; 2. Липса на анамнеза за хрипове или диспнея и липса на случайна белодробна находка при физикален преглед; 3. Не се установява PND; 4. FEV1, FVC и съотношението FEV1/FVC в нормални граници; 5. Наличие на бронхиална хиперреактивност (PC20 < 10 mg/mL); 6. Чувствителност на кашличния рефлекс (капсаицин); 7. Нормална рентгенография на гръден кош; и 8. Облекчаване на кашлица от бронходилататорна терапия. Предполага се, че КВА е предшественик на класическата астма, докато АК не е. Лечението с инхалаторни стероиди може да предотврати трансформирането на КВА в типична астма [127].

Последните насоки за диагностика и епидемиологични данни, показват забележителни разлики в етиологията на хроничната кашлица в различните страни, особено между САЩ, Обединеното кралство и Япония. Пациентите, свързани с болести на ГДП (PND/ КСГДП, докладван от САЩ, ринит или риносинусит от Обединеното кралство и СБС от Япония) и еозинофилни нарушения на ДДП (КВА, неастматичен

еозинофилен бронхит и АК) са объркващи и сред тях може да се наблюдава значително припокриване [128].

5.1.2. Ятрогенна кашлица

Хроничната кашлица провокирана от лечението с АСЕ – инхибитори е чест страничен ефект и варира между 3,9% и 35% [129,130]. Сухата кашлица се проявява през първите няколко седмици от лечението с тях. При преустановяване приема на антихипертензивния медикамент, кашлицата отзвучава за няколко седмици (< 3 седмици) [130].

В миналото се е подозирала т.н. „триада на кашлицата“, която включва: 1/кашличен вариант на астма (КВА), 2/гастроезофагиален рефлукс (ГЕР) и 3/ синдром на задно носно стичане (postnasal drip, PND) [131].

5.1.3. Кашлица в резултат на рефлукс

Отдавна е установена връзката на гастро-езофагеалния рефлукс с хроничната кашлица [132], както и нарушената физиология на хранопровода. Патофизиологичната роля на ГЕРБ е свързана с два механизма: вагусно медиран езофаго-трахеобронхиален рефлекс (т.е. рефлексна теория) и микроаспирация на стомашно съдържимо (т.е. рефлукс теория) [133]. Анормалната двигателна активност на хранопровода предизвиква няколко оплаквания, напр. дисфагия и болка в гърдите [134], които могат да бъдат изследвани чрез трансназална езофагеална манометрия, посредством преминаване на чувствителен на натиск катетър. Манометрията с висока разделителна способност (HRM) е скорошна иновация, която представя обективен анализ на физиологията на хранопровода. HRM използва близко разположени сензори, чрез които измерва налягането в гръдната и коремната кухина по време на дихателните цикли в реално време и дава възможност за изчисляване на градиента на гастро-езофагеалното налягане (GOPG), описващ профилите на налягането на гръдния кош и корема и техния ефект върху транс-езофаго-стомашното налягане. Поради повишен GOPG, физиологични количества на рефлукс, могат да останат в хранопровода поради неадекватна перисталтика. Лошо изчистен рефлуксът (т.е. като газова мъгла), може пасивно да премине към проксималния хранопровод и фаринкса в дихателните пътища, предизвиквайки респираторни симптоми [135].

5.1.4. Кашлична свръхчувствителност

Няколко проучвания представят доказателства за *нов синдром* при пациенти с хронична кашлица, наречен **сензорна хиперреактивност (CeXP)** на дихателните пътища, различаваща се от БА, ХОББ и алергично заболяване. Пациентите със CeXP са с повишена чувствителност на сетивните нерви на ДДП под влияние на дразнители от околната среда – силни миризми, химикали, запрашеност на околната среда и при тях се наблюдава повишена кашлична чувствителност към капсаицин [136, 137, 138]. Открива се участие на преходни рецепторни потенциални йонни канали (TRP). Те са важни като средство за взаимодействие на много органи с околната среда. В дихателните пътища се откриват йонни канали принадлежащи към семействата *TRPV* и *TRPA*, експресирани върху С-фибриите на сетивните нерви [139, 140].

Кашличен синдром на свръхчувствителност е термин въведен от ERS през 2014г, обхващащ множество сложни и многофакторни процеси и различни **фенотипи** на кашлицата. Проявява се с кашлица след минимална стимулация от излагане на термично, механично или химично дразнене, но механизмът и методът на провокация остават неизяснени. Патофизиологично се характеризира с дисрегулация на нервните пътища и рецептори в ЦНС, вагусните аферентни сетивни нерви и ганглии [141, 142]. Съществуват данни, които предполагат, че чувствителността на кашличния рефлекс е по-висока при пациенти с КСГДП-индуцирана кашлица[12].

5.1.5. Кашлица свързана с болестите на Горните Дихателни Пътища

През 1998 г. American College of Chest Physicians (ACCP) приема, че синдромът на задно носно стичане (post nasal drip, PND) е най-честата причина за хронична кашлица [143]. По-късно се установява, че кашлицата свързана с PND не се дължи единствено на механичното дразнене от секрета по носоглътката, поради което през 2006 г. ACCP, използва в препоръките за поведение при кашлица терминът - Кашличен синдром от Горните Дихателни Пътища - КСГДП (*Upper airway cough syndrome - UACS*), обхващайки синдромът на задно носно стичане, ринити и риносинузити [12,118].

Продължават да се водят спорове относно съществуването на това състояние и неговия специфичен механизъм. При много от пациентите с риносинусит, претърпели операция на синусите, се наблюдава стичане на голямо количество слуз в гърлото

(физиологично или възпалително), но при тях липсва хронична кашлица [118]. Въпреки това, ERS (European Respiratory Society) предлага, КСГДП да се възприеме като причина за хроничната кашлица при редица пациенти, въпреки неизяснения механизъм. Липсата на доказателство за ефекта от локално лечение подсказва, че симптомите от ГДП отразяват генерализирано възпаление на дихателните пътища [12, 144].

5.2. Механизъм на кашлицата

Кашлицата протича по **рефлексен механизъм** с главното участие на p.vagus - полисинаптична рефлексна дъга, състояща се от няколко части. Това са аферентните нерви на дихателните пътища, аферентните и мозъчните стволони пътища, отговарящи за обработката на информацията. Ако постъпилата информация достигне прага за предизвикване на рефлексна реакция, кашличния рефлекс се генерира от център в мозъчния ствол, активиращ еферентните нерви и завършващ с ефекторите на кашличния рефлекс [145, 146].

Съществуват три фази на кашлицата: 1/ *фаза на вдишване*, която генерира достатъчен обем въздух за ефективна кашлица; 2/ *компресионна фаза* – оказване на натиск върху затворен ларинкс, чрез контракция на гръдна стена, диафрагма и коремни мускули; 3/ *фаза на издишване* – отваряне на глотиса и издишване на голям обем въздух [145]. Кашлицата може да бъде волен или неволен акт. Първият се инициира чрез потискане на кашлицата. Вторият се регулира от аферентните нерви на вагуса [147].

Ако се провокира експериментално стимулация на аферентните нерви в носната лигавица и не се предизвика кашлица, а се приема че кашлицата е свързана със заболявания на ГДП, тогава трябва да има конкретен механизъм отговорен за тази връзка. Механизмът може да е комплексен и да включва: PND, микроаспирация на възпалителен аерозол, назобронхиален рефлекс, липса на защитен механизъм от страна на носната лигавица при вдишване на студен въздух и влияние върху ДДП или преминаване на възпалението в системната циркулация [148]. Съществуват предположения, че секретите от носа и синусите се стичат в хипофаринкс и ларинкс и стимулират локални кашлични рецептори [149]. Въпреки това, транспортирането на слуз от носа е физиологичен процес, характерен за много индивиди. Анатомичната връзка между ГДП и ДДП, предполага възможна роля на стичащия се назален секрет, да провокира БХР при пациенти с АР или риносинусит [150].

R. Pесова и сътр. [151] съобщават за повишена кашлична чувствителност при пациенти с АР без кашлица, спрямо чувствителността на здрави контроли и тази разлика е била особено проявена по време на поленов сезон. Повишената кашлична чувствителност, наблюдавана при алергични пациенти, може да е един от механизмите, водещ до кашлица при пациенти с КСГДП. Кашличната чувствителност към капсаицин при пациенти с алергична астма се повишава по време на брезовия поленов сезон. Наблюдава се повишена сензорна чувствителност при продължителна поленова експозиция при същите тези пациенти. Това предполага, че алергичното възпаление на ДДП и/или ГДП стимулира неврогенни механизми с голямо клинично значение [152].

Пациентите с АР имат повишен брой неврони, освобождаващи големи количества неврогенни възпалителни медиатори в носната лигавица. Възпалителните медиатори не само активират сетивните неврони, но ги и сенсibiliзират, което понижава прага им на активация [153]. Lim KG и сътр. [154] изследват нивата на неuropeптидите в назален секрет при пациенти с и без хронична кашлица. Установяват, че пациентите с кашлица и PND имат значително по-високи нива на неuropeптидите - свързания с гена на калцитонин пептид (calcitonin gene-related peptide (CGRP)) и субстанция Р (substance Р (SP)), спрямо пациентите без кашлица и PND. Това проучване подкрепя ролята на неuropeптидите, относно повишеният стичащ се секрет по носоглътката и тяхната специфичност за кашлицата.

В ГДП са разположени множество сетивни нервни рецептори, изпълняващи защитна функция, предпазваща от попадане на вредни агенти в белия дроб. При възрастни, защитната реакция е посредством кашлица и обструкция на дихателните пътища [155]. Ноцицептивните нервни окончания, участващи в този рефлекс са немиелинизирани С-влакна и миелинизирани А_δ-влакна, които са разположени между и под епителните клетки на лигавицата на епиглотиса, ариепиглотичните връзки и интераритеноидното пространство. Стимулирането на тези рецептори задействат нервен импулс на горния ларингеален нерв, последван от еферентен импулс в допълнителния ларингеален нерв, водещ до аддукция на гласните връзки [156]. Този рефлекс се засилва от възпаление на ларинкса, вирусни инфекции, и често стимулиране от киселинни или други разтвори. При хроничната кашлица се наблюдава и ларингеална свръхчувствителност (ЛСЧ). Висса и сътр. [157] установяват, че ЛСЧ е показател за засягане на ГДП, независимо от това дали причината за хронична кашлица е ринит или синусит, гастроезофагиален рефлукс достигащ и дразнещ ларинкса или необяснима

сензорна невропатия на ларинкса. От това проучване ЛСЧ се открива сред 76% от пациентите с КСГДП, което е значително по-разпространено в сравнение с пациенти с БА, без хронична кашлица. Като маркер за ЛСЧ се използва MIF50 (maximum midinspiratory airflow rate). Използвайки MIF50 откриват, че ЛСЧ се среща често при неастматици с хронична кашлица и възпалителни заболявания на ГДП (риносинусит, PND, фаринголарингит)[158]. Повишената чувствителност на ларинкса, при хронична кашлица се диагностицира, чрез намалена скорост на вдишания въздух, в резултат на парадоксална аддукция на гласните връзки, установено посредством провокация с хистамин [157]. Приема се, че тези пациенти имат повишена чувствителност на фаринкса и ларинкса, което улеснява генерирането на кашлица след провокиращ стимул. Съществува припокриване на симптомите при хронична кашлица и парадоксалното движение на гласните връзки.

Чести функционални нарушения на ларинкса включват дисфункция на гласните връзки (VCD), дисфония на мускулно напрежение и Глобус фарингеус. Парадоксално движение на гласните връзки по време на дишане може да се дължи на двигателни нарушения поради синдрома на свръхчувствителност на ларинкса [159].

5.3. Дисфункция на гласните връзки (VCD – vocal cord dysfunction), известна още като парадоксално движение на гласните връзки, може да се характеризира като необичайно доближаване на гласните връзки по време на дишане (особено по време на фазата на вдишване), което причинява обструкция на въздушния поток на нивото на ларинкса. Ларинксът получава сензорна и двигателна инервация. При многократно стимулиране и възбуждане от вредни вътрешни и външни дразнители, тези нервни влакна могат да станат свръхвъзбудими. Прагът за активиране на рефлекс, отговорен за затваряне на гласните връзки се понижава. Основната патофизиология на VCD включва хиперфункционален и неподходящ рефлекс на затваряне на ларинкса. VCD често имитира персистираща астма и може да се прояви клинично с диспнея, кашлица, стягане в гърлото или горната част на гърдите, дрезгав глас, стридор, задух и/или хрипове. Визуализацията на ГДП е златният стандарт за поставяне на окончателна диагноза на VCD. Посредством гъвкав фиброоптичен риноларингоскоп може да се открият доказателства за хроничен ринит и постназално стичане, хронично възпаление на носната лигавица и/или орофаринкса. Пациентите често са лекувани с високи дози инхалаторни или системни кортикостероиди, бронходилататори, множество посещения

в спешните отделения, хоспитализация и в някои случаи се стига до трахеостомия и интубация [160].

VCD може да се разглежда, като причина за хронична кашлица или коморбидност при тези пациенти [159, 143].

5.4. Postnasal drip syndrome (PNDS)

PNDS е стичане на секрети от носа или околоносните синуси към фаринкса. Клинично диагнозата PND синдром се поставя на базата на анамнезата на пациента за усещане на стичане на секрет към гърлото, наличие на секрет в носа и необходимост от често прочистване на гърлото. Липсва специфичен тест и начин за доказването на PND като причина за кашлицата [12]. Тъй като не съществува патогномична находка, диагнозата на предизвикана от PND кашлица се поставя на базата на сбора от критерии включващи симптоми, физикален преглед, данни от рентгенография и отговор от приложеният терапевтичен подход. В много проспективни [161, 12] проучвания при възрастни – КСГДП в резултат на заболявания на ГДП, самостоятелно или в комбинация с други състояния, е предпоставка за хронична кашлица. От препоръките за поведение и лечение на хроничната кашлица от 2006г. е установено, че 60-70% от кашлицата се дължи на задна ринорея или PND [12]. Предлагаият патогенетичен механизъм на хронична кашлица, причинена от КСГДП е механично стимулиране на аферентния край на кашличния рефлекс в ГДП [162]. Този механизъм включва стимулиране на кашличните рецептори – директно или индиректно (посредством възпалителни медиатори) [163], локализирани в хипофаринкса или ларинкса от стичащите се секрети, произлизащи от носа и/или синусите. Съществуват и доказателства, че кашличният рефлекс в ГДП при хора с **КСГДП - индуцирана кашлица** е значително по-чувствителен, което е допринасящ фактор за патогенезата на кашлицата [164].

За този синдрома на PND в медицинската литература се говори от около 200 години. През 1794 г. Frank [165], описва състоянието като „ форма на хроничен катар, откриващ се по фаринкса“, като още тогава тази статия на латински език се е означавала като PNDS. Първото детайлно описание на синдрома е направено от **Dobell**, отоларинголог в Англия през 1866, който казва че „пост-назалния катар, може да бъде остър или хроничен, но много по-честа е хроничната форма, която по-скоро е резултат от предшестващо заболяване, отколкото сред първичните заболявания“ [166]. Foret и Ananda (1999) [124], представят PNDS като симптом възникващ в резултат на различни

причини при деца и възрастни. Прието по този начин, установяването на PNDS, се свързва с диагнозата на едно или няколко заболявания (представени в Таблица 1):

Таблица 1: Причини за Postnasal Drip

Описано от Forer и Ananda (1999) (Forer M, Ananda S. The management of postnasal drip. Aust Fam Physician. 1999 Mar;28(3):223-8.)[124]

Деца	Възрастни
Алергичен ринит	Алергичен ринит
Аденоидна хипертрофия	Синузити
Синузити/Гастроезофагеален рефлукс	Полипи
Полипи	Анатомични аномалии
Кистична фиброза	Пушене и експозиция на токсини
Анатомични Аномалии	Сенилни ринити
Мукоцилиарна дисфункция	Атрофични ринити
Имунодефицити	

5.4.1. Етиология и патогенеза на PNDS

Остро проявяващ се синдром на задно носно стичане се наблюдава при гноен риносинусит, вирусни и бактериални остро протичащи инфекции [166]. Секретът откриващ се по задната фарингеална стена, при заболявания на ГДП – алергичен, неалергиче, инфекциозен ринит, риносинусит е резултат от възпаление на носната лигавица, което е придружено от повишена продукция на слуз и ексудация на плазма, поради увеличен капилярен пермеабилитет.

Хронично повишена секреция на слуз се наблюдава и при хронични заболявания на ДДП, като БА, бронхит, ХОББ, кистична фиброза, бронхиектазии. Слузната секреция се отделя от повърхността на епителните гоблетови клетки и слузните клетки в субмукозните жлези. Открива се сходен защитен механизъм на ГДП и ДДП от повишена слузна секреция под въздействие на замърсявания, иританти, алергени, патогенни причинители и инфекциозни агенти [166].

Някои автори разделят PND на: 1/ реално съществуващ („истински“) PND, който може да се потвърди обективно и 2/ усещане за PND, за който липсват обективни доказателства [167]. PND, може да се асоциира със следните състояния: 1/повишена секреция от жлези и гоблетови клетки, 2/ задържане на течности поради намалена

мукоцилиарна функция, 3/ промяна в качеството на течността, в резултат на повишен вискозитет и еластичност, 4/сензорни нарушения на лигавицата на носоглътката. PND се наблюдава освен при остър риносинусит, АР, хроничен синусит, вазомоторен ринит, нодуларна хипертрофия на септума, и по-рядко при хипертрофичен заден участък на долната конха. Тези заболявания довеждат до т.н. *истински PND*. При липса на секрет в назофаринкса при преглед на пациенти имащи усещане за него, може да е резултат от 1/абнормално самостоятелно усещане, 2/липса на секрет по време на изследването, 3/ неспособност на преглеждащия да идентифицира секрет. Поради затрудненията за откриване на причината при трудно разпознаваемият PND, той често се счита за психогенен.

Посредством внимателен преглед и проследяване при пациенти с „трудно разпознаваем PND“, се установяват следните състояния: 1/ латентен хроничен синусит, 2/ т.н. „PND на възрастния човек“, 3/ PND рефлукс, 4/ назофарингеални лезии, включително възпаление и киста на Tornwaldt, 5/ полип локализиран около сфеноидалния остиум.

КСГДП е причина за хронична кашлица при **18,6 - 67%** от случаите в Китай [168]. Наскоро публикувано проучване, показва че това е най-честата причина за хронична кашлица при 60 % от изследваните пациенти в Япония [169], както и в Азиатските страни[170, 168, 171].

Кашлицата при пациентите с КСГДП е вторична, в резултат на заболявания на ГДП, включващи заболявания на носа и синусите. Приема се, че кашлицата предизвикана от PND е в резултат стимулация на окончанията на сетивните нерви в хипофаринкса и стимулиране притока на постназалния секрет в трахеята, което активира пътя на кашличния рефлекс [172]. Irwin и сътр., установяват че PNDS самостоятелно, е най-честата причина за ХК в 41% от случаите. В други случаи причините за PNDS са повече от едно заболяване засягащо ГДП - в 39% е хроничния синусит и АР в 23% [172].

5.4.2. Терапевтично поведение при PND/КСГДП

Механизмите, чрез които риносинуситът стимулира кашличния рефлекс са многобройни, но всички те са резултат от изменения в носната лигавица - повишена секреция, намалена проходимост, възпаление. Повишената кашлична чувствителност корелира с тежестта на носните симптоми и възпалението, следователно лечението на тези две състояния са в основата на лечението на КСГДП. Терапевтичната стратегия

трябва да бъде насочена към намаляване на възпалението, секретията, инфекцията и корекция на структурните промени, според основната етиологична причина.

Според препоръките на АССР за лечение на КСГДП се препоръчват деконгестанти и антихистамини от първо поколение, тъй като проявяват антихолинергичен механизъм на действие (потискане на холинергичния вагусов рефлекс) [117]. Тази генерация антихистамини имат силно изразен седативен ефект, който може да доведе до антитусивен ефект, но въпреки това лечението се базира на Европейските и Американски препоръки за лечение на риносинусит с назални кортикостероиди [173, 174]. Терапевтичното поведение с кортикостероиди, антихистамини и цистенилови антилевкотриени (монтелукаст и др.) са в основата на успешното лечение на носната патология, което води до подобряване на кашлицата [146].

Причина ли е за кашлица PNDS?

Съществуват аргументи насочени срещу PND като причина за кашлица. О'Нара и Jones [175], проследяват 108 пациента с ринит/риносинусит като при някои от тях се наблюдава PND. Установява се, че 21% имат оплаквания от кашлица, но сред пациентите с кашлица само 8% имат PND, отхвърлена е друга патологична причина като бронхиектазии, БА или саркоидоза. Авторите правят извода, че кашлицата не е честа при пациенти с PND.

В други проучвания синдромът на PND е най-честата причина за кашлица. В изследване проведено в Южна Корея, Лее и сътр. [176] търсят по-бърз и изгоден начин за диагностика и лечение на хроничната кашлица. Изследват, лекуват и проследяват **378 пациента** с кашлица. Отхвърлени са заболявания от страна на белия дроб, хематологични и други възпалителни заболявания, изключена е употреба на ACE инхибитори. Пациентите са оценявани според тежестта на кашлицата, посредством визуална аналогова скала (VAS) от 0 до 10 и субективно чрез въпросници. Проведено е лечение според трите най-чести причини за кашлица: 1/ PND синдром, 2/ Астматичен синдром - провеждане на провокационен тест с метахолин и определяне на еозинофилен брой клетки в индуцирана храчка, 3/ Рефлукс синдром. Проведен е терапевтичен подход според състоянието, след което отново е направена оценка на тежестта на кашлицата. По време на 5 дневния курс на лечение при 176 (47%) пациента, лекувани за PND се

наблюдава намаляване на кашлица, 141 (37%) диагностицирани с БА, са съобшили за подобряване на кашлицата, а 29 (8%) са били успешно лекувани за рефлуксна болест.

При ретроспективно проучване в Япония, Nakajima и сътр. [177] диагностицират PNDS при 58 (63.7%) от участниците в изследването и установяват, че пациентите с PNDS имат по-голяма продължителност на кашлицата преди да отзвучи, отколкото тези без симптоми на задно носно стичане и по-голямо влошаване на кашличния контрол при пациенти с КВА и БА с водещ симптом кашлица.

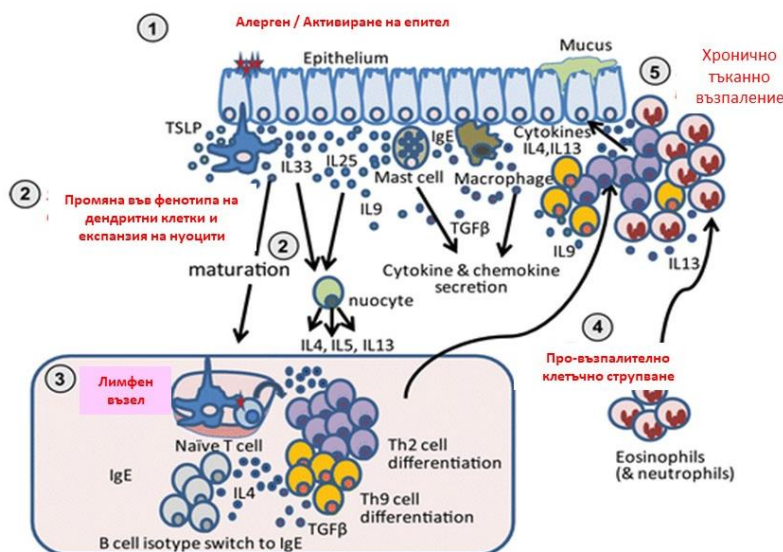
След като се отхвърлят някои от тези причини и заболявания и се стигне до неясна етиология, проблемът се означава като *идиопатична хронична кашлица*. Съществува и термина *рефрактерна хронична кашлица* - кашлица с неизвестна или установена причина при възрастни пациенти, която продължава въпреки проведеното подходящо лечение[178].

6. Ролята на Th2 и не-Th2 цитокините в респираторната алергология

6.1. Интерлевкини

Цитокините са извънклетъчни сигнални протеини, произведени от различни типове клетки, които са насочени към таргетни клетки и модулират различни клетъчни функции [179]. Напоследък се установиха нови открития за възпалителните процеси в дихателните пътища, чрез изследване на освобождаваните цитокини и хемокини, участващи в патогенезата на заболяванията.

Участие на някои цитокини при алергичното възпаление



Фигура 2. Възникващи цитокинови пътища при алергично заболяване (Адаптирано по Williams CM, Rahman S, Hubeau C, Ma HL. Cytokine pathways in allergic disease. Toxicol Pathol. 2012;40(2):205-15.)[279]

6.1.1. Интерлевкин-6 (IL-6) все още се счита за *неспецифичен възпалителен маркер* заедно с други цитокини като **IL-1b** и **TNF-алфа** в различни имунно-медиирани заболявания. IL-6 се разглежда като *регулаторен цитокин* с потенциал за модулиране на вродения имунен отговор, главно като фактор получен от активирани макрофаги и/или дендритни клетки. Въпреки това, може да бъде произведен от различните хематопоеичните клетки: епителни, ендотелни и фибробласти, в отговор на специфични стимули [180]. По този начин, IL-6 може да бъде произведен при отсъствие на възпалителни клетки и да е признак за тъканно специфична патология. Добър пример за това е Ревматоидния артрит, при който цитокинът отдавна се използва като биомаркер за тежестта на протичане на заболяването. Това дава възможност IL-6 да се разглежда не само като индикатор за възпаление, но да допринесе за стартиране и/или прогресиране на заболяването. IL-6 се представя като важен регулатор на CD4 Т клетъчна съдба [181], стимулира производството на IL-4 по време на Th2 диференциацията, инхибиране на Th1 диференциацията и заедно с TGFβ, стимулира Th17 клетъчна диференциация. При БА са представени и няколко изследвания, показващи повишени нива на IL-6 в БАЛ и серум, както и повишена секреция от белодробни епителни клетки при астматици [182, 183]. IL-

6 често функционира съвместно с други цитокини и осигурява връзка между вродения и придобития имунитет. Открива се в повишени концентрации в индуцирана храчка на пациенти с БА след активиране на мастоцитите [184]. Neveu и сътр. [185], съобщават за значително повишени нивата на IL-6 в индуцирана храчка при пациенти с **лека и умерена алергична астма** в сравнение с нивата при контролната група, докато TNF α , IL-1b или MCP-1 не са били повишени при изследваните астматици. Ciprandi и сътр. установяват, че IL-6 може предизвиква освобождаването на специфични алергични медиатори и последващо влошаване на АР с участието на други възпалителни фактори [186]. Gao и сътр. 2021 г., установяват важна роля на цитокините - VCAM-1, IL-6, и IL-17A при пациенти с АР и нарастване на концентрацията им с прогресията на заболяването [187].

6.1.2. Интерлевкин – 4 (IL-4) и 13 (IL-13) са кодирани от съседни гени (chr 5q при хора и chr11 при мишки), които споделят редица регулаторни елементи (GATA-3) и предават сигнали чрез общ функционален рецепторен комплекс (IL-4R α /IL-13R α 1)[188]. Хетеродимерния рецептор, включва α -веригата на IL-4 рецептора (IL-4R α) и специфична IL-13-свързваща верига (IL-13R α); използването на IL-4R α отчита някои от общите ефекти на IL-4 и IL-13, които се медиат чрез активиране на STAT6. IL-13 се свързва и с друг рецептор (IL-13R α 2), който изглежда не сигнализира и действа като рецептор за „примамка“ [188]. В резултат на общата рецепторна единица двата цитокина действат върху В клетките и стимулират както пролиферация, така и синтеза на IgE в тези клетки [189, 190].

Въпреки приликите между тях, посредством редица *in vivo* експерименти се установява, че двата цитокина играят различни роли при алергичната БА. IL-4 чрез регулаторната си роля на Th2 клетъчната пролиферация, оцеляване и синтеза на IgE доказва, че е от съществено значение за иницирането на алергични реакции на дихателните пътища и хуморални реакции, но не участва в БХР, производството на слюз или субепителна фиброза *in vivo* [191]. Приема се, че IL-13 играе по-важна роля в ефекторната фаза на алергичния отговор и е достатъчен, за да предизвика основните прояви на алергично заболяване, включително БХР, производство на слюз, промени в гладката мускулатура на дихателните пътища и субепителна фиброза [192]. IL-13 се произвежда от Т клетки, В клетки, мастоцити, базофили, еозинофили и естествени клетки убийци, като основните му източници са тъканните Th2 клетки и ILC2 [193].

IL-4 играе водеща роля в диференциацията на Th2 от Th0 клетки, както и при първоначалната сенсбилизация към алергени. Участва и в изотипното превключване на B μ от производството на IgG към продукцията на IgE. IL-13 наподобява IL-4 при индуциране на секреция на IgE и води до структурни промени в дихателните пътища, но не играе роля в стимулиране на диференциацията на Th2 - един от отличителните белези на алергичния отговор [188]. Въпреки това, IL-13 е необходим за индукция на IgE синтез, особено в ситуации, в които производството на IL-4 е ниско или липсва [194]. IL-13 индуцира възпаление чрез стимулиране експресията на множество хемокини, включително CCL11 (известен също като еотаксин) от структурни клетки в дихателните пътища, включително епителни клетки. Индуцира БХР и хиперсекреция на слюз чрез активиране на STAT6 в епитела на дихателните пътища [195], което увеличава експресията на кисела хитиназа от бозайници [196]. Всъщност, неутрализацията на киселата хитиназа инхибира IL-13-медираната БХР и Th2- възпаление. След провокация с алерген има преходно повишаване на IL-4 в БАЛ, докато секрецията на IL-13 е продължителна и корелира с увеличения брой еозинофили в дихателните пътища [197]. Освен това нивата на протеин, подобен на хитиназа, се повишават в белите дробове и серума на пациенти с тежка астма, което вероятно отразява повишената секреция на IL-13 [198]. Научните данни, получени от животински модели с БА показват, че IL-4 и IL-13 заедно играят важна роля в патогенезата на алергичната астма. IL-4 играе основна роля в Th2 клетъчната пролиферация и производството на цитокини и синтеза на IgE, докато IL-13 играе основна роля в патогенезата на заболяването (производство на слюз, БХР и отлагане на колаген).

IL-13 се открива в носната лигавица при хора и мишки с АР. Участието му е от важно значение в късната фаза на алергичния отговор [199]. Друг цитокин с важна роля в алергичното възпаление е **6.1.3. интерлевкин - 5 (IL-5)**. Th2 клетките произвеждат и секретират IL-5 при сложен процес на активиране, задействан от инхалаторни алергени и с участието на дендритни клетки [200]. В това отношение наличието на интерлевкин IL-4 е от съществено значение, поради неговото изискване за ангажиране и активиране на Th2 клетки чрез стимулиране на ключови транскрипционни фактори като STAT6 и GATA3 [201]. Освобождаването на IL-5 от ILC2 зависи от активиране на GATA3, индуцирано от епителни вродени цитокини, включително IL-25, IL-33 и особено TSLP [201]. В допълнение към ILC2 и Th2 клетки, други клетъчни източници на IL-5 включват NK клетки, Т клетки, мастоцити и еозинофили [202]. По-специално, чрез освобождаване

на IL-5 активирани мастоцити осъществяват двупосочна кръстосана комуникация с еозинофили [203]. При мишки и хора, IL-5 индуцира крайното съзряване на еозинофилите, удължава оцеляването им чрез забавяне на апоптозата, притежава еозинофил хемотактична активност, повишава адхезията към ендотелните клетки и подобрява ефекторните функции. Главните функции на IL-5 спрямо еозинофилите са 4: диференциация, миграция, активиране и оцеляване. Що се отнася до диференциацията, цитокинът не е индуктор на еозинофилната линия, а по-скоро усилващ фактор за диференциацията и пролиферацията на еозинофилни прогенитори [204]. IL-5 е отговорен за еозинофилията в дихателните пътища и БХР, предизвикана от алергена при сенсibiliзирани морски свинчета. При пациенти с атопия с ранна и късна астматични реакции, костният мозък отговаря на антигенна провокация чрез засилване производството на еозинофили, което води до свързване с повишаване нивата на IL-5 mRNA [205].

6.1.4. Интерлевкин-33 (IL-33) е член на семейството на IL-1 цитокините, като IL-1 β и IL-18. IL-33 известен е още като член на мезенхимните цитокини като IL-25, TSLP. IL-33 медира биологичните си ефекти чрез взаимодействия с рецептор, състоящ се от два компонента - ST2 и IL-1 рецепторен спомагателен протеин [206].

Доказано е, че IL-33 се освобождава от епителните клетки по време на тяхното увреждане от различни стимули от околната среда, като алергени, вируси и замърсители на въздуха. IL-33, действа като ендегенен сигнал за опасност, поради което го наричат *алармин*. Този термин произлиза от факта, че некротичните клетки освобождават неразцепен, но биологично активен цитокин. Като такъв се приема, че играе важна роля при алергичното възпаление на ринита. Има публикувани данни за участието на оста IL-33/ST2 в Th2 възпалителния отговор и патогенезата на ринита [207].

IL-33 е интересен цитокин, тъй като има възпалителни и противовъзпалителни свойства. Смята се, че IL-33 участва в Th2-медиирани възпалителни реакции при алергични заболявания като астма, анафилаксия и атопичен дерматит, както и в защитата на гостоприемника срещу паразити. От друга страна, IL-33 има защитен ефект при атеросклероза, затлъстяване, диабет тип 2 и сърдечно ремоделиране [208]. IL-33 има плеiotропна активност. Експресира се и влияе върху много клетки, участващи в алергичното възпаление. Това показва важната роля и участието на цитокина в патогенезата на АР [209]. IL-33 има съществена роля в развитието на алергично възпаление в носната лигавица, тясно свързано със симптомите на заболяването.

Едновременно с това Lien Ho и сътр., доказаха че ролята на IL-33 в производството на IgE е незаменима [210]. Привличането на възпалителни клетки: мастоцити, еозинофили и базофили, както и Th2 клетки в носната лигавица е от решаващо значение за симптомите на ринит, особено за хроничния ход на протичане. В този процес IL-33 играе съществена роля, действайки като мощен Th2 хемоатрактант и стимулатор на FcεRI за освобождаване на хемоатрактантни вещества за еозинофили/базофили.

От имунологична гледна точка алергичните болести са причинени от нарушения в имунния отговор. Изследванията показват, че причина за възникване на алергичните заболявания е дисбаланс между Т клетъчните клонове тип 2 и тип 1 на имунната система, които са отговорни за реакции на свръхчувствителност от хуморален и забавен тип. Откритията на **Mosmann** и **Coffman** за двата типа Т лимфоцити: CD4⁺ Th1 и CD4⁺Th2 подпомагат разбиранията за имунопатогенезата посредством различията в цитокиновия профил и ефекторни функции на двете субпопулации [211].

Th1 CD4⁺ клетките произвеждат голямо количество IFN-γ, IL-2, TNF и предизвикват реакции от забавен тип, насочен към вътреклетъчни патогени, докато Th2 CD4⁺ клетките произвеждат интерлевкини 4 (IL-4), IL-5, IL-13, участвайки в имуен „алергичен“ отговор и защита срещу паразитни инфекции. Така съществуващата концепция за равновесието между Th1 / Th2 и нейното нарушаване е дала основание да се разкрие молекулярния и клетъчен механизъм на сложните имунни реакции, участващи в редица заболявания [212].

През последните години с откриването на Th17 и регулаторните Т (Treg) клетки значително се усложниха познанията за баланса на Th1 / Th2 парадигмата [213] и това доведе до разширяване на разбирането ни за патогенезата на АР. Свързаните с новата CD4⁺ Т клетъчна подгрупа - Th17 цитокини, могат да се разделят на *индуктивни*: IL-6, TGF-β, IL-23 и *ефекторни* - IL-17A, IL-17F и IL-22 [214].

6.1.5. Интерлевкин - 17 е плейотропен цитокин, който принадлежи към IL-17 семейство. Досега са описани шест негови члена: IL-17A (обикновено известен като IL-17), IL-17B, IL-17C, IL-17D, IL-17E и IL-17F. IL-25 (известен също като IL-17E), друг член на суперсемейството IL-17, се произвежда от Th2 клетки, мастоцити и епителни клетки. IL-25 индуцира експресията на IL-4, IL-5 и IL-13, което води до възпаление медирано от еозинофили, повишено производство на IgE и БХР при мишки [215]. Също

така подобрява секрецията на Th2 цитокини от човешки Th2 клетки [216]. IL-17A и F са най-близките членове, с 50% хомоложност.

Установено е участието на IL-17 в тъканната увреда при автоимунните заболявания. Th17 са подтип на Т-лимфоцитите, изпълняващи важна роля при възпалителни и автоимунните заболявания. В Th17 лимфоцитният сигнален път участват както активиращи, така и потискащи цитокини. IL-6, IL-1 β , TGF- β и IL-23 участват в диференциацията на човешките Th17 клетки [217]. Основен цитокин отговорен за диференциацията на Th17 клетките е **IL-6**. Той е плейотропен цитокин с различни биологични активности в имунната регулация, хематопоезата, възпалението и онкогенезата. Заедно с TGF β 1, IL-6 индуцира Th17 диференциацията от наивни Т-клетки [218]. Има данни, че IL-21 в комбинация с TGF- β 1, подобно на IL-6, може също да инициира преминаването на наивни Т клетки в Th17 лимфоцити [219]. Комбинацията на IL-6 и TGF β 1 индуцира ROR γ t (orphan nuclear receptors) и ROR α (retinoid-related orphan receptors), които са ключови транскрипционни фактори в диференциацията на Th17 клетките [220]. IL-17 може да се произвежда и от друг тип имунни клетки, като макрофаги, В-лимфоцити, NK-клетки, ILC и CD8⁺ клетки [221]. IL-17 има провъзпалителен ефект, стимулира продукцията на химикини (IL-8 и моноцит хемиаотрактантен протеин-1), подпомага миграцията на моноцити и неутрофили, стимулира образуването на IL-6 и PgE в резултат на локално възпаление.

Съществуват редица проучвания, доказващи участието на Th17 и IL-17 във имунологичния механизъм на АР. В проучване на Huang и сътр. [222] се изследва Th17/Treg клетъчно-медиран имунитет при пациенти с АР. Резултатите показват, че съотношението на Th17 клетки в периферната кръв на пациентите с АР е значително увеличен, а тази на Treg клетки - намалена. Това предполага, че дисбалансът между Th17 / Treg играе важна роля в патогенезата и тежестта на протичане на АР. Th17 и Treg произлизат от наивните Т клетки. Th17 медира възпалителна реакция, докато Treg клетки имат отношение към имунния баланс. Съществува антагонизъм между двата клетъчни типа. Балансът между тях играе важна роля в поддържане на имунния статус.

Скорошни проучвания показаха, че Th2 и Th17 участват в патогенезата на алергичното възпаление на дихателните пътища чрез отделяне на специфични цитокини. В проучването на Hoyong Lim и сътр.[223] се изследва стимулираният Th2 и Th17 имунологичен отговор в белия дроб след назалното приложение на фунгиална протеаза, като индуциращ алерген. От изследваните животински модели с алергично възпаление

на дихателните пътища се установява, че изчерпването на АПК в белия дроб води до намаляване на Th2 и до увеличаване на Th17 имунния отговор. Предполага се, че при потискане на Th2 възпалителния отговор в белия дроб, може да настъпи повишаване на Th17 индуцирано неутрофилно възпаление.

Характерно за Th2 възпалителният отговор, лежащ в основата на алергичното възпаление, производството на IgE антитела изисква два главни сигнала за превключване на B-ly към произвеждащата IgE антитела клетка. Първият се осигурява от цитокините IL-4 или IL-13, взаимодействащи с B-клетъчните рецептори. Те преобразуват сигнала чрез активиране на тирозинкиназите от семейство на Janus - JAK1 и JAK3, които водят до фосфорилиране на транскрипционния регулатор STAT6. Вторият сигнал за превключването на IgE е допълнителната стимулация между CD40 лиганд върху T-клетъчната повърхност със CD40 върху B-клетъчната повърхност [224].

В проучване на Milovanovic [225] се установява, че IL-17 може да индуцира B-клетъчното превключване към продукция на IgE антитела, което предполага участието на Th17 в алергичните заболявания и феномена атопия. Th17 произвеждат голям брой медиатори, като цитокинът директно индуциращ производството на IgE е IL-17A.

В друго проучване от 2017 г. на P. Bayrak Degirmenci и сътр. [226] е представена връзката на AP с интерлевкините IL-10, IL-17, TGF- β , IFN- γ , IL 22 и IL-35. Th17 имат отношение към неутрофилната инфилтрация, проявяваща се в острата фаза на алергичната реакция. IL-17 в някои проучвания се разглежда, като цитокин допринасящ индуциране на алерген-специфичната Th2 клетъчна активация, струпване на еозинофилите и продукция на IgE [227]. Така се предполага регулаторната роля на IL-17A относно Th2 имунния отговор. Въпреки това, откритията за IL-17 са двупосочни и ролята на Th17 при пациентите с AP остава не напълно изяснена. В това проучване IL-17 и IL-22 са изследвани с оглед ролята на Th17, спрямо неутрофилното възпаление. Установяват се повишени нива на двата интерлевкина и TGF- β при пациенти с AP, спрямо здрави контроли. Този резултат се приема като повишена активност на Th17 при симптоматични пациенти със CAP и ЦАР. Получените данни демонстрират, че Th17 клетките и освобождаваните от тях цитокини са от важно значение за имунопатогенезата на AP. Паралелно с това са измерени ниски нива на IFN- γ , което се разглежда като индикатор за потискане на Th1 имунния отговор. Въпреки нестатистически значимата разлика, се измерват понижени нива и на IL-35 (член на IL-12 фамилията), чиято роля е

свързана с пролиферацията на Treg клетки, потискане на имунния отговор и на Th17 клетъчната функция.

Открива се локална експресия на IL-22 в носната лигавица на пациенти с персистиращ АР. IL-17A и IL-22 могат да се използват, като маркери за определяне тежестта на персистиращ АР. Експресията на IL-22 и IL-17A и корелацията с клиничните симптоми, предполага участието им в патогенезата на ПАР [228]. При експериментални модели на мишки е проследена връзката между IL-17 и нивата на еозинофили / неутрофили, участието им при АР и терапевтичната роля на антитела срещу IL-17. След приложение на анти-IL-17 антитела се наблюдава значително намаляване нивата на гореспоменатите клетки, намаляване на Th17 и Th2 имунния отговор и повишване на Treg отговор. Наблюдава се и подобряване симптомите на АР. В резултат на получените данни се предполага, че комбинацията от IL-17/Th17/Treg играе важна роля в патогенезата на АР. Тези изследвания, могат да се разгледат като нов терапевтичен подход в лечение на АР [229].

IL-17 A може да регулира алергичния отговор при експериментално индуциране на АР, доказано върху изследван модел на мишки. Проучване проведено с животински модели - мишки с дефицит на IL-17, показва че IL-17A, секретирани от Th17 клетки има важна роля в патогенезата на АР. В това изследване се предизвиква алергично възпаление на мишки, посредством назално въвеждане на овалбумин (OVA), в резултат се измерват повишени серумни нива на IL-17A. При стимулираните с OVA мишки с дефицит на IL-17 се установява понижаване на два от симптомите на АР- сърбеж и кихане, в сравнение с другата сенсibiliзирани с OVA мишки група. При мишките с дефицит на IL-17 се наблюдава и понижено струпване на възпалителни клетки - еозинофили, неутрофили и мастоцити, което показва, че IL-17A участва и в привличане на гореспоменатите клетки в носната лигавица при възпалителната реакция. Понижени са и стимулираните IL-5 и специфичните IgE нива, активирани посредством въведения OVA. Това показва, че дефицитът на IL-17A изпълнява важна роля при Th2 имунния отговор на АР. IL-17A може да се разглежда и като положителен и отрицателен регулатор в патогенезата на АР, чрез инхибиране на мастоцитната дегранулация и повлияване на Th2 цитокините (IL-4, IL-5, IL-13) включително и чрез намаляване експресията на TNF- α и IL1 β [230]. Тези резултати допълнително доказват, че IL17A може да играе важна роля при алергично възпаление на носа, чрез намаляване не само на Th2 имунния отговор , но и на възпалението като цяло.

Ciprandi и сътр. [231], изследват корелацията между повишените серумни нива на IL-17 и тежестта на протичане на АР по време на поленов сезон. От проведеното проучване получените данни показват, че нивата на IL-17 в серума са свързани с клиничната симптоматика, употреба на медикаменти за АР и броя на периферните еозинофили при пациенти с АР, оценена по време на поленов сезон. Поради тази причина, измереният в серум IL-17 може да се приеме като биомаркер за тежестта на протичане на АР.

В друго проучване на Ciprandi G. и сътр. [232] се сравнява цитокиновия профил и честотата на алерген-специфичните Т-хелпери, произвеждащи IL-17 при пациенти с АР. Изследваните групи пациенти са с персистиращ САР и здрави контроли в поленов сезон. Отделените цитокини се изследват *ex vivo* на клетъчно ниво от периферните CD4 + Т лимфоцити и алерген-индуцирани *in vitro* CD4 + Т лимфоцити посредством флуоцитометрия. Анализът на *Ex-vivo* изследваните периферни CD3 + CD4 + Т-лимфоцитите показва, че пациентите с алергично заболяване имат значително по-висок процент, както на CD4 + IL17 +, така и на CD4 + IFN γ + IL17 + клетки, спрямо здрави контроли. Този резултат показва възможната роля на Th17 при алергично възпаление по време на поленов сезон при пациенти с АР. Изследването доказва участието на Th17 клетките в имунния отговор при пациенти с АР и възможността да допринесат за влошаване на възпалителното заболяване [232].

В друго проучване на Tsvetkova-Vicheva V. и сътр. [233] търсят връзка между IL-17 и БХР при пациенти с АР. Измерени са високи нива на IL-17, IL-4, IL-13 при полисенсibiliзирани пациенти към инхалаторни алергени, което предполага връзката му с АР. Според тези резултати БХР не корелира с нивата на IL-17.

Изследваната цитология на носната лигавица е в тясна корелация с възпалението на бронхиалната лигавица. Поради съществуващата тясна връзка между ГДП и ДДП, Sorbello, Ciprandi и сътр. [9] правят оценка на Th17 отделените цитокини – IL-17A и IL-17F и броя на неутрофилите изследвани от назална и бронхиална биопсия на пациенти с атопична астма с леко до тежко протичане. Резултатите показват предимно неутрофилен фенотип при тежката БА и корелация между Th17 зависимите цитокини IL-17F и в по-малка степен IL-17A в lamina propria на носната и бронхиална лигавица. При лека добре контролирана БА се наблюдава по-слабо повишение на IL-17F от бронхиална лигавица, което предполага по-леко проявено MPI, зависимо от IL-17. Тежката БА се характеризира с по-интензивно протичащо IL-17 възпаление в носната лигавица,

сравнено с леката БА. Това подчертава тясно съществуващата патогенетична връзка между носа и бронхите и показва взаимодействието и едновременното протичане на възпаление на двата дихателни пътя.

6.1.6. Интерлевкин - 23 (IL-23) е хетеродимерен протеин и член на семейството на IL-12. IL-23 се състои от две субединици: **p40**, която е обща с IL-12, и **p19** специфична за IL-23 [234]. IL-23 се получава главно от активирани макрофаги и дендритни клетки. Ролята му е свързана със стимулиране растежа и оцеляването на Th17 клетки, но и с производството на IFN-g и IL-12 от Т клетките и АПК които могат да регулират костимулаторната функция на дендритни клетки.

McGeachy и сътр. [235]. показват, че влиянието на IL-23 е необходимо за пълното придобиване на ефекторна функция на Th17 клетките. В допълнение, IL-23 има противотуморни и антиметастазни дейности и е тясно свързан с автоимунни и възпалителни заболявания [236]. IL-23 може да играе ключова роля в Т-клетъчно-зависимия имунен отговор и между придобития и вродения имунитет.

Няколко проучвания представят участието му във възпалителната генеза на БА. Производството му се увеличава в индуцирани с OVA - модели на мишки с астма [237]. Заедно с IL-6 и TGF- β 1, IL-23 може да стимулира наивните CD4⁺ Т клетки към **Th17** клетъчна диференциация. IL-23 и Th17 участват не само в предизвикване на антиген-индуцирано привличане на неутрофили в дихателните пътища, но също и в усилването на Th2 клетъчно-медиацията отговор с еозинофилно струпуване в дихателните пътища [238]. Потискане на възпалението индуцирано от **Th17**, посредством анти-IL-17 и анти-IL-23 води до намаляване на клиничните симптоми и Th2 възпалението при мишки с АР, провокирани с OVA, което потвърждава тясната връзка между **Th17** и **Th2** възпалението [231,239,240]. Въпреки че са необходими допълнителни проучвания относно молекулярните механизми на IL-23- и Th17 относно клетъчно - медирано усилване на алергичното възпаление на дихателните пътища, IL-23 може да се разглежда, като стимулаторен фактор в развитието на алергична астма [241].

В изследване на Huang и сътр. [242] серумните нива на IL-23 и IL-17 при пациенти с АР са значително по-високи от тези при здрави контроли и нивата на IL-23 са свързани с тези на IL-17 при пациенти с АР, което предполага, че оста на **IL-23/IL-17** може да има важно участие в патогенезата на АР и тясна връзка между двата цитокина. Серумното ниво на sIgE е положително свързано с нивата на IL-17 и IL-23. Предполага се, че IL-

IL-23 може да стимулира производството на IgE и хемотаксис на еозинофили, водещи до АР, и да улесни свръхчувствителния отговор. В друго изследване се установява, че IL-23 може да допринесе за хроничното възпаление и ремоделирането на дихателните пътища при АР. В изследване на Hyun Seung Lee и сътр.[243] оценяват експресията на IL-23 в бронхиалния епител след експозиция на алерген и изследват ролята на цитокина в развитието на алергична сенситизация и БА. Установяват водеща роля на IL-23 в сенситизацията с **Der p** и последващо развитие на астма. Като един от предполагаемите механизми е свързан с бронхиалните епителни клетки стимулирани от IL-23 и регулиране на вродени цитокини като IL-1 и IL-33.

6.2. Регулаторни (инхибиторни) цитокини

6.2.1. Интерлевкин - 27 (IL-27). Интерлевкин 27 е нов цитокин, член на семейството на IL-12. Съставен от субединицата p28 (IL-27p28) и ген 3, индуциран от вируса на Epstein Barr [244]. Рецепторът му се състои от **IL-27Ra (WSX-1/TCCR)** и **gp130**, които могат да бъдат експресирани от лимфоцити и АПК [245]. IL-27 стимулира диференциацията на Th1 клетките чрез STAT1-зависим механизъм независимо от IL-12 [246]. Произвежда се от активирани макрофаги и дендритни клетки, подобрява Th1 функцията чрез понижаване експресията на GATA3 и повишаване на експресията на T-bet (T-box транскрипционен фактор), като по този начин благоприятства производството на Th1-тип цитокини, които след това влияят върху по-нататъшното инхибиране на експресията на GATA3 [247].

Наблюдава се плеiotропно действие на този цитокин. Индуцира Th1 клетъчна диференциация и директно потиска производството на Th2 и диференциацията на Th17 [248, 249]. Следователно, IL-27 може да играе важна роля в патогенезата на алергичните респираторни заболявания. Открива се намалена експресия на IL-27 при пациенти с АР, което допринася за повишаване регулацията на Th2 възпаление. Нивата на IL-27 отрицателно корелират с повишаване на Th2 цитокините (IL-4, IL-5 и IL-13) в серум. Съществуват доказателства, че IL-27 инхибира Th2 възпалението в PBMCs *in vitro*. Докато при здрави лица, протеинът не променя експресията на Th2- и Th1- клетъчните цитокини в PBMC показва, че имуномодулиращите свойства на IL-27 се проявяват при възпалителни състояния. Тези разлики могат да се дължат на по-високите нива на експресия на IL-27R от Т-клетките при пациенти с АР и също върху Th2 в сравнение с Th1 [250]. Съществуват доказателства, че посредством алерген-специфичната имунотерапия се намаляват нивата на IL-17 и повишава IL-27 при пациенти с АР,

чувствителни към акари от домашен прах [251]. Hong Ouyang и сътр.[252] представят инхибиторната роля на IL-27 спрямо Th17 възпалението. Този протеин може да понижи ROR γ t и Th17 цитокините (IL-17, IL-23) експресирани директно върху PBMCs in vitro. Те представят нов механизъм на Th17 регулацията при пациенти с АР. **Обобщено** ролята на IL-27, може да бъде представена посредством следните функции: 1/ CD4⁺ Т-клетъчната поляризация към Th2 ефекторния фенотип може да бъде директно потисната чрез IL-27 стимулация [249]; 2/ индуциране на защитна белодробна микросреда чрез Th1 отговор; 3/ инхибиране на ILC2 отговорите от IL-27 в белодробната лигавица; 4/ Tregs са важни медиатори на имunosупресията чрез IL-27 и ефектът може да зависи от молекули като CD39, CD73, ICOS, LAG3 и други; 5/ може допълнително да засили имunosупресията чрез индукция на IL-10 продуциращи Tr1 клетки;

IL-27 може да се разглежда като потенциална молекула за превенция и лечение на пациенти с АР.

6.2.2. Интерлевкин 35 (IL-35) се причислява към сравнително нов клас на потискащите цитокини, включващи **IL-10**, **TGF- β** , както и плеоморфния член на семейството на цитокините - **IL-27** [253]. Тези супресивни цитокини участват в имуномодулиращи мрежи и канали, стимулиращи имунна толерантност, която е от съществено значение за нормалното функциониране на имунната система. Collison и сътр. [254] характеризират IL-35 като имunosупресивен цитокин, медиращ превръщането на наивни Т клетки в индуцирани **Tregs (iTr)**, които функционират чрез него. На този етап са познати 2 категории Tregs: естествени, получени от тимуса **CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺Tregs (nTregs)** и периферни антиген индуцирани Т регулаторни клетки (**iTregs**) [255]. Индуцираните Т reg клетки, които секретират IL-10, често се наричат **IL-10-T reg** клетки или **Tr1** клетки; тези, които секретират TGF β , се наричат **Th3** клетки [256]. **iTregs** се генерират главно от периферните наивни Т клетки в отговор на специфични антигени или експозиция на цитокини. Има данни, че **iTr35** клетките инхибират реакциите индуцирани от Th2 и Th17 при пациенти със САР [257]. При пациенти с АР се наблюдава намаляване на iTr35. Открива се значително намаляване честотата на iTr35 и нивата на експресия на IL-35 при пациенти с астма и алергия към Derp1 в сравнение с пациенти без клинична симптоматика и здрави индивиди. Наблюдава се и постепенното им намаляване с прогресиране тежестта на заболяването [258]. Проучванията показват, че iTr35 ефективно регулират и поддържат имунния

отговор, имунен толеранс спрямо алергени при здрави индивиди и че техните нива и функции може да бъдат променени при пациенти с алергични заболявания.

Tregs имат главна роля в поддържане на имунната толерантност чрез потискане на аберантна или повишена функция на други клетки. Treg клетки са отговорни за активиране на имунната хомеостаза с имунни регулаторни механизми, потискат цитокините участващи в Th1- и Th2 - медираните и алергичния имунен отговор [259]. Тези антиген-специфични Treg клетки секретират противовъзпалителни цитокини като IL-10 и/или TGF β и регулират имунния отговор при възпаление. Kanai и сътр. [260], приписват водеща роля на IL-35 в експериментален модел на астма. Еозинофилията в дихателните пътища, наблюдавана при мишки предварително сенсibiliзирани е била силно потисната при прилагане на рекомбинантен IL-35 (rIL-35). Едновременно с това повишените нива на хемокини (еотаксин-1 и еотаксин-2, CCL11 и CCL24), както и последвалата еозинофилия в дихателните пътища, са силно антагонизирани от IL-35. Като се има предвид ограниченият брой проучвания при хора, Wang и сътрудници, показаха в своето проучване, че IL-35 потиска секрецията на IL-4 при пациенти с алергична астма и нивото на IL-35 е по-ниско от това при здрави контроли [261]. В други проучвания на Bayrak Degirmenci Pet и сътр. [226] и Kouzaki H. и сътр. [262], серумното ниво на IL-35 е по-ниско при пациенти с АР, отколкото при контролната група. Няколко проучвания показват противовъзпалителната функция на IL-35 в редица аспекти на патогенезата на АР *in vivo* в модел на миши [263, 264, 265]. Значително облекчаване на симптомите на АР (симптоми като сърбеж в носа, общ брой кихания) се наблюдава при прилагане на rIL-35 в модел на мишки с АР [266]. При интраназално приложение на IL-35 се намалява производството на IL-4 и IL-5, свързани с обостряне на АР. Повишава се и експресията на IL-10, медирано от IL-35, което от своя страна стимулира оцеляването на Treg [266]. Наблюдават се по-високи нива на IL-35 при здрави контролни групи, което се дължи на ефективния антиалергичен механизъм присъстващ при ежедневна сенсibilизация от алергени на околната среда. Това означава, че естествени антиалергични механизми могат да допринесат за по-ниските нива на IL-35, наблюдавани при алергичните респираторни заболявания [267].

6.2.3. Интерлевкин 10 (IL-10) е плейотропен, имунорегулиращ цитокин, с важно значение за защита на гостоприемника от развитие на имунопатология, автоимунитет и алергия. Цитокинът първоначално се характеризира като Th2 специфичен [268], по-новите изследвания откриват, че производството на IL-10 е свързано с Treg клетъчни

отговори [269]. Днес е известно, че почти всички клетки както на вродената, така и на придобитата имунната система могат да експресират IL-10 [270]. Отне почти десетилетие, за да се установи, че човешките Tr1 клетки потискат ефекторните Т-клетъчни отговори чрез множество механизми, които зависят от IL-10, TGF- β , PD-1, CTLA-4 [271] и хистаминов рецептор 2.

IL-10 е основен регулаторен цитокин при възпалителни реакции. При провеждане на АСИТ се наблюдава повишени нива на регулаторните IL-10 и TGF- β [259]. Последни данни подчертават ролята на регулаторните В клетки, произвеждащи IL-10 и „защитни“ антитела, които вероятно допринасят за дългосрочна толерантност [272]. IL-10 инхибира активирането на много типове клетки и ефекторните им функции, свързани с алергично заболяване. Натрупват все повече доказателства, че IL-10 действа като общ инхибитор на пролиферативните и цитокинови отговори на Th1 и Th2 клетките *in vitro* и *in vivo* [273]. Akdis и сътр. показват, че нивото на алерген-специфичните Т клетки (секретиращи IL-10) е значително увеличена при неалергични индивиди в сравнение с алергичните, докато обратното важи за Т клетките, продуциращи Th2 зависимия цитокин IL-4 [271].

III. Цел и Задачи

1. Цел

Настоящият дисертационен труд има за цел да представи тясната връзка и взаимодействие между горните и долните дихателни пътища в респираторната алергична патология. Търсено е участие на заболяванията на горните дихателни пътища в кашличния синдром и диференциалната диагноза между АР и леката БА, както и патофизиологичния механизъм на възникването на алергичното възпаление в основата на причинно-следствената връзка между ГДП и ДДП.

2. Задачи

За постигане на целта на дисертационния труд бяха поставени следните задачи:

1/ Да се характеризират пациентите с алергични респираторни заболявания – алергичен ринит и бронхиална астма

2/ Да се характеризира патофизиологичната връзка между горните и долни дихателни пътища, посредством изследване на цитокинов профил в системното кръвообращение и назален лаваж посредством участието на:

- 2.1. възпалителните цитокини: *IL-5, IL-6, IL-13, IL-17A, IL-23, IL-33*
- 2.2. регулаторните (инхибиторни) цитокини: *IL-10, IL-27, IL-35* при респираторните алергични заболявания

3/ Доказване или отхвърляне на кашлицата като симптом на (търсим най-честата причина за хронична кашлица от ГДП и ДДП) :

- 3.1 болестите на горните дихателни пътища (алергичен ринит; неалергичен ринит; синусит с/без полипоза; синдром на задно носно стичане)
- 3.2 новодиагностицирана бронхиална астма, предшествана от дългогодишен персистиращ ринит/риносинусит.
- 3.3 други болестни състояния – ларингеална дисфункция, ГЕРБ, ятрогенно индуцирана кашлица (АСЕ - инхибитори).

4/ Характеризиране на пациентите с хронична кашлица според разликите между пациентите с АР и НАР чрез клинични, инструментални и лабораторни методи

IV. Материали и методи

1. Клиничен материал

1.1 Изследвани лица

Общ брой включени в дисертационния труд лица – **181 болни и 50 здрави контроли**. Изследвани са пациенти с **хронична кашлица**, заболявания на горните дихателни пътища (ГДП) – **алергичен ринит**, разделен според протичането на *сезонен* и *целогодишен*; **риносинусит с или без полипоза**. Пациенти със засягане на долните дихателни пътища (ДДП) – новодиагностицирана **атопична бронхиална астма**. За целите на дисертацията са използвани анамнестични, клинични, лабораторни, инструментални методи и биологични проби, проведени с предварително подписано информирано съгласие на изследваните пациенти.

За да се оцени влиянието на болестите на ГДП върху ДДП, пациентите са разделени в две групи:

Първа група (състои се от три подгрупи):

- 1. подгрупа пациенти с алергичен ринит (АР) без кашлица и бронхиална астма
- 2. подгрупа пациенти с алергичен ринит и новодиагностицирана алергична бронхиална астма с леко (сезонно) протичане (АР+БА)
- 3. подгрупа от здрави контроли, които в дисертационният труд ще бъдат означавани като „зdravi“

Изследваните групи пациенти са оценени чрез нивата на цитокинов профил изследвани в кръвен серум и назален лаваж

Втора група (състои се от две подгрупи):

- 1. подгрупа пациенти с хронична кашлица (с продължителност повече от 8 седмици, диагностицирана като такава според препоръките на Европейското Респираторно Дружество, ERS)
- 2. подгрупа от здрави контроли

Изследваните групи пациенти са оценени посредством възпалителните заболявания на ГДП, PND и зависимостта му с други показатели.

1.2. Критерии за включване на пациентите в изследваните групи

Включва двете групи пациенти

- възраст на изследваните пациенти ≥ 18 години;
- непушачи през последната 1 година;

Заболявания на ГДП

- умерено тежък/тежък алергичен ринит
 - сезонен / целогодишен
- } според класификацията на ARIA
- риносинусит с / без полипоза според класификацията на EPOS
 - сенсibiliзация към инхалаторни алергени (тревни, дървесни полени, акари от домашен прах, домашни любимци, плесени)

Към първа група пациенти

- новодиагностицирана алергична бронхиална астма с леко протичане по класификацията на GINA

Към втора група пациенти

- хронична кашлица над 8 седмици

1.3. Изключващи критерии за пациентите в изследваните групи

Включва двете групи пациенти

- възраст на пациентите ≤ 18 години
- пушачи
- дългогодишна бронхиална астма със средно-тежко и тежко протичане

Към първа група пациенти

- пациенти провеждали алерген специфична имунотерапия
- употреба на назални и перорални кортикостероиди / антихистамини, през последните 3 месеца
- пациенти след назална полипектомия

В дисертационния труд са включени проспективни данни на пациенти хоспитализирани в клиниката по Алергология на УМБАЛ „Александровска“ и преминали през амбулаторната практика на ДКЦ “Александровска“. Участващите в изследването пациенти са събрани в периода **15.12.2017 – 15.12.2020 г.**

Всички участници в изследванията са подписали писмено Информирано съгласие, съгласно изискванията на Комисията по етика на научните изследвания към МУ-София. Личните данни и резултатите от изследването са съхранявани, обработвани и представяни в съответствие със Закона за защита на личните данни в сила от 01.01.2002 г., изм. ДВ. бр.57 от 13 Юли 2007 г. Резултатите от проучването за всеки пациент поотделно са съхранявани в съответствие с действащия в момента Кодекс на професионалната етика - Раздел IV - Лекарска тайна - чл.51-чл.55.

2. Методи на изследване

За провеждане на изследването бяха използвани следните методи:

2.1. Лабораторни изследвания – беше взета венозна кръв от периферен венозен източник (10-20 мл). Проведе се изследване на пълна кръвна картина (ПМК), Диференциално кръвно броене (ДКК), С – реактивен протеин (CRP), Скорост на утаяване на еритроцитите (СУЕ) - за да се изключи възпалителен процес.

2.2. Серумни проби – за получаването им взехме венозна кръв в епруветки, центрофугираха се на 1200 оборота за 15 минути, разпределихме изолирания серум в 6 отделни епендорф епруветки и се съхраниха при температура минус 20 - минус 70 •С. Преди провеждане на изследването пробите бяха размразени напълно на стайна температура.

2.3. Назален смив/лаваж – метод на извършване - във всяка ноздра се впръсква по 10 мл стерилен изотоничен физиологичен разтвор. Главата на пациента се наклонява леко назад и затваря хипофаринкса с мекото небце. След 10 секунди доброволецът издухва със сила носа си в контейнерче за съхранение на пробата. Назалните смивове се центрофугираха на 1200 оборота за 15 минути и последващо съхраняване в отделни епендорф епруветки на температура минус 20 •С.

2.4. Риноскопия – извърши се посредством твърда ендоскопия (назален спекулум). Предната риноскопия е преглед на носните кухини, позволяващ да се определи проходимостта на носните ходове, наличие и цвят на носните секрети, наличие на оток на носните конхи, състояние на повърхността на лигавицата, положение на носната преграда, улцерации или наличие на чужди тела и други патологични изменения.

2.5. Индиректна ларингоскопия - това е първата и най-успешно използвана техника за наблюдение на ларинкса и остава най-често използвания диагностичен метод. Включва използването както на огледало за глава за насочване на светлината, така и на ларингеално огледало. Езикът на пациента се покрива с марля и се издърпва с палеца и средния пръст на недоминиращата ръка. При вдишване и издишване на пациента огледалото се насочва към устата и към задната част на гърлото. Когато е в задната му част, огледалото се натиска нагоре към увулата и мекото небце. Избягва се докосване на задната фарингеална стена или основата на езика. С огледалото се оглежда фаринкса и ларинкса. Гласните връзки се оглеждат докато са в покой, последвано от издаване на силен звук от пациента и наблюдаване дейността на гласните връзки.

2.6. Кожно - алергични проби (КАП) – проведе се кожен тест с убождане (skin prick test, SPT) за установяване на сенсibiliзация. Кожните тестове са основните in vivo тестове, използвани за установяване на IgE-медирана сенсibiliзация при пациента и основен диагностичен тест в алергологията. SPT се счита за най - чувствителния и специфичен тест за установяване на сенсibiliзация към алергени, поради което се разглежда като златен стандарт за идентифициране на атопия. Този тест идентифицира алерген-специфични IgE, свързани с молекули FcεRI експресирани върху мембраната на кожните мастоцити. Тези клетки, когато са активирани от алергена, освобождават медиатори, които причиняват сърбеж зачервяване и папула върху кожата. Използвани бяха алергени на фирма Stallergen (France). Върху кожата на предната страна на предмишницата се накапват изследваните алергени, капките се пробождат с ланцета повърхностно с дълбочина 1 мм. Търси се ранна реакция, като отчитането на резултата се извърши на 20 минути. За положителен резултат се приема диаметър на еритема и папулата ≥ 3 мм. Прилагат се и контролни тестове: отрицателна контрола за която се използва физиологичен разтвор и положителна, съдържаща хистаминов хидрохлорид (отчита се като такава при диаметър на папулата ≥ 3 мм).

2.7. Функционално изследване на дишането (ФИД) – е златен стандартен тест за обективизиране на бронхиалната обструкция, която е задължителен критерий при бронхиалната астма. Измерването на белодробната функция, представлява оценка на тежестта на ограничение на въздушния поток, неговата вариабилност, обратимост и осигурява потвърждаване на диагнозата бронхиална астма. Основните спирометричните параметри, които проследяваме при изследваните пациенти - FEV1 (форсиран експираторен обем за 1 секунда) служи за определяне на бронхиалната обструкция, а

FEF₂₅₋₇₅ (форсиран експираторен поток между 25% и 75% от форсирания витален капацитет - FVC), се приема като ранен маркер за увреждане на дихателните пътища. Доказано е, че FEF₂₅₋₇₅ е надежден маркер за определяне хиперреактивност на малките дихателни пътища и ранно бронхиално засягане при алергичен ринит. FEF₂₅₋₇₅ < 65% се приема за абнормна стойност. При пациентите с бронхиална обструкция, определена при стойности на FEV₁ < 80% се проведе бронходилататорен тест (БДТ) за определяне на бронхиална обратимост. Прилагат се 2 впръсквания на бързо действащ б-2 агонист (salbutamol) и отчитане след 20 минути. Тестът се приема за положителен при повишаване на FEV₁ $\geq$ 200 мл и 12%.

2.8. Рентгенография на синуси за изключване на патологични изменения от максиларни и фронтални синуси и **рентгенография на бял дроб** за изключване на паренхимно белодробно заболяване, скелетни деформации или кардиомиопатия.

2.9. Имунологични изследвания проведени от серум и назален лаваж на първа група пациенти

За количествено определяне на IL-5, IL-6, IL-10, IL-13, IL-17A, IL-23, IL-27, IL-33, IL-35 в серуми и назален лаваж при някои от пациентите, използвахме търговски китове: Human ELISA kit (Gene probe, Diaclone, France; R & D systems, USA и Legend).

Изследваните биологични проби (кръвен серум и назален лаваж) бяха събирани извън поленовия сезон и при липса на активна симптоматика на пациентите с алергичен ринит и бронхиална астма.

2.9.1. Имуноензимен метод за измерване на цитокини

В кита се съдържат следните реагенти: 96-гнездова микротитърна плака, два броя фолио за покриване на плаката, лиофилизиран стандарт с концентрация след възстановяването 200 pg/ml, една лиофилизирана контрола, 10-пъти концентриран Standard Diluent Buffer, биотинилирано второ антитяло и неговия дилуент, HRP-стрептавидин и неговия дилуент, 200-пъти концентриран Wash buffer, TMB-субстрат и стоп разтвор (H₂SO₄).

Принцип на метода: За по-голяма прегледност ще бъде представен общият принцип, на който се основават изброените имуноензимни методи. Методът представлява твърдо-фазова „сандвич“ ELISA за in vitro количествено определяне на цитокини в биологични материали.

Гнездата на съответната микротитърна плака са натоварени с високоспецифични антитела срещу търсения цитокин. По време на първия инкубационен период се извършва свързване на цитокина, ако присъства в биологичния материал, към фиксираните върху гнездата на плаката антитела. През първия инкубационен етап или на следващ етап в зависимост от спецификата на кита, се добавя второ биотинилирано анти-антитяло. Излишъкът от биологичния материал и второто антитяло се измиват. Следва инкубация с конюгат (horse-radish peroxidase (HRP) – стрептавидин) и отново измиване на гнездата на плаката. Ензимната реакция се осъществява посредством добавяне на тетраметилбензидин (ТМВ) - субстрат с образуване на цветен продукт. Ензимната реакция се стопира, след което се извършва спектрофотометрично отчитане. Интензитетът на цветния продукт е правопрпорционален на количеството цитокин в биологичната проба. Построява се стандартна крива според калибраторите на всеки кит и по нея се определя количеството на цитокин в тестваните проби.

Изпълнение на метода:

Следвахме инструкциите на производителя, приложени в китовете. Обобщено представяме основните характеристики на отделните китове в табличен вид (табл.2).

Таблица 2. Основни характеристики на използваните китове на изследваните цитокини

	IL-17A	IL-5	IL-6	IL-13	IL-33	IL-23	IL-27	IL-10	IL-35
Наименование на кита	Human IL-17A ELISA kit (Gene probe, Diaclone, France)	Human IL-5 ELISA kit (Gene probe, Diaclone, France)	Human IL-6 ELISA kit (Gene probe, Diaclone, France)	Human IL-13 ELISA kit (R & D systems, USA)	Human IL-33 ELISA kit (R & D systems, USA)	Human IL-23 ELISA kit (Gene probe, Diaclone, France)	Human IL-27 ELISA kit (BioLegend, USA)	Human IL-10 ELISA kit (Gene Probe, Diaclone, France)	Human IL-35 (Interleukin 35) ELISA kit (FineTst, ,
Аналитична чувствителност	2.3 pg/ml	5 pg/ml	2 pg/ml	1.5 pg/ml	0.519 pg/ml	< 20pg/ml	11 pg/ml	4.9 pg/ml	9.375 pg/ml
Вид ELISA	Сандвич	Сандвич	Сандвич	Сандвич	Сандвич	Сандвич	Сандвич	Сандвич	Сандвич
Разреждане на пациентските проби	1:2	Не	1:10	Не	1:2	Не	Не	Не	1:2
Отчитане на пробите	ELISA четец Tecan Spark 2100 на 450/630 nm и програма PGM с 6 стандарта и Blank	ELISA четец Tecan Spark 2100 на 450/630 nm и програма PGM с 7 стандарта без Blank	ELISA четец Tecan Spark 2100 на 450/630 nm и програма PGM с 6 стандарта и Blank	ELISA четец Tecan Spark 2100 на 450/630 nm и програма PGM със 7 стандарта.	ELISA четец Tecan Spark 2100 на 450/630 nm и програма PGM със 7 стандарта	ELISA четец Tecan Spark 2100 на 450/630 nm и програма PGM със 6 стандарта	ELISA четец Tecan Spark 2100 на 450/630 nm и програма PGM със 7 стандарта	ELISA четец Tecan Spark на 450/630 nm с програма PGM с 6 стандарта без Blank	ELISA четец Tecan Spark на 450/630 nm с програма PGM със 7 стандарта без Blank
Мерна единица	Pg/ml	Pg/ml	Pg/ml	Pg/ml	Pg/ml	Pg/ml	Pg/ml	Pg/ml	Pg/ml
Фактор на разреждане	2	Няма	10	Няма	2	Няма	Няма	Няма	2

3. Статистически методи

Използваните от нас статистически методи включват:

3.1. Описателни методи и методи за оценка

3.1.1. Вариационен анализ на количествени променливи – средна стойност, стандартно отклонение, стандартна грешка на средната, 95% доверителен интервал на средната, минимум, максимум.

3.1.2. Честотен анализ на качествени променливи (номинални и рангови), който включва абсолютни честоти, относителни честоти (в проценти), кумулативни относителни честоти (в проценти).

3.1.3. Подходящи графични изображения.

3.2. Методи за проверка на хипотези

3.2.1. Непараметрични методи

- **Метод хи-квадрат** (Chi-square test) или неговия вариант точен тест на Фишер (Fisher's exact test) – търсене на връзка между две качествени променливи.
- **Методи на Колмогоров-Смирнов** (Kolmogorov-Smirnov) и **Шапиро-Уилк** (Shapiro-Wilk) – проверка за нормалност на разпределението на количествена променлива.
- **У тестът на Ман-Уитни** (Mann-Whitney) се използва за сравняване на разликите между две независими групи на качествена зависима променлива (например болни - здрави), когато независимата променлива е количествена, но не е нормално разпределена (например възраст).
- **Тестът на Крускал-Уолис** (Kruskal-Wallis) е обобщение на теста на Ман-Уитни за повече от две групи на качествена променлива. Той се използва за определяне дали има статистически значими разлики между две или най-вече на повече от две групи на зависима качествена променлива, когато независимата променлива е количествена (например стойност на холестерола), но не е нормално разпределена.

3.2.2. Парметрични методи

- **Т-критерий на Стюдент** за независими извадки. Сравнява средните стойности на нормално разпределена количествена променлива в две групи на една качествена променлива.
- **Еднофакторен дисперсионен анализ** (Oneway ANOVA – независими извадки) – проверка за равенство на повече от две средни стойности с използване на Post Hoc Tests за множествени сравнения.

3.3. Други методи

3.3.1. Корелационен анализ

- Параметричен коефициент на линейна корелация – Пирсън;
- Непараметричен коефициент на линейна корелация – Спирман.

Използваното от нас критично ниво на значимост е $\alpha = 0.05$. Съответната нулева хипотеза се отхвърля, когато Р стойността (P-value) е по-малка α .

За обработка на данните от проучването, свързано с дисертационната работа, бяха използвани версиите на SPSS – SPSS for Windows 13.0 и IBM SPSS Statistics Version 25.

V. Собствени проучвания

1. Първа група изследвани пациенти, оценени посредством изследване на цитокинов профил в кръвен серум и назален лаваж

1.1 Демографски характеристики

Представяне разпределението на изследваните подгрупи пациенти с АР и АР+БА и подгрупата здрави контроли по демографски данни на таблица 3.

Таблица 3. Възрастово-полови характеристики на изследваните подгрупи лица

Характеристики	Пациенти с АР (брой = 37)	Пациенти АР + БА (брой = 34)	Здрави контроли (брой = 20)	Значимост, p
Възраст (години)	33.17 ± 7.92	33.43 ± 8.56	31.90 ± 6.86	ns
Пол				
Мъже	26 (70.3%)	32 (72.7%)	8 (40%)	ns
Жени	11 (29.7%)	12 (27.3%)	12 (60%)	ns

Средната възраст на пациентите в двете подгрупи е 33 години, а на здравите контроли 31 години. Не се установи статистически значима разлика по отношение на възрастта между изследваните подгрупи.

В подгрупата на пациентите с АР разпределението по пол е съответно: n=26 мъжки пол, n=11 женски пол, което в процентно разпределение е съответно 70.3% на 29.7%. В подгрупата на АР+БА – от мъжки пол са 32 (72.7%), а от женски пол 12 (27.3%). При здравите контроли преобладава женския пол 12 (60%).

Не се установява значима разлика по пол и възраст между изследваните подгрупи пациенти с АР, АР+БА и здрави контроли.

1.2. Разпределение на изследваните подгрупи пациенти по сезонност на протичане на алергичното респираторно заболяване

Изследвани са 37 пациенти с алергичен ринит и 34 души с алергичен ринит и симптоми от долни дихателни пътища, диагностицирани като лека атопична бронхиална астма. Разпределихме подгрупите болни според сезонността на протичане на алергичното респираторно заболяване (таблица 4).

Таблица 4. Представяне в брой (%) пациентите с алергичен ринит (АР) и алергичен ринит + бронхиална астма (АР+БА), според сезонност на протичане на алергичното заболяване

Сезонност	АР	АР+БА	p-value
сезонно	27(52.9%)	24(47.1%)	p=0.392
целогодишно	3(33.3%)	6(66.7%)	
целогодишно със сезонно изостряне	7(63.6%)	4(36.4%)	

Потърсихме зависимост между респираторното заболяване и сезонността на протичане. Използва се методът на хи-квадрат, при който не се установява статистическа значима разлика ($p=0.392$) между двете променливи.

Установихме, че продължителността на протичане на АР при 70 пациента (98.6%) е с давност повече от 3 години.

1.3. Определяне вида на сенсibiliзация

За установяване вида сенсibiliзация при пациентите с алергични респираторни заболявания (АР и АР+БА), се проведе кожно-алергично изследване с инхалаторни алергени посредством тест с убождане (SPT). На таблица 5 са представени най-честите алергени, към които са чувствителни изследваните пациенти.

Таблица 5. Свръхчувствителност към аероалергени при изследваните пациенти

Алергени	Брой	Процент	Средна стойност	Медиана	Разлика (max-min)
Акари	41	61.19%	5.23	5	8.00
Дървесни полени	56	83.58%	5.53	4	11.00
Куче и котка	43	64.18%	6.09	5.75	10.50
Плевели	51	76.12%	5.65	5	9.30
Плесени	16	23.88%	5.19	5	3.25
Тревни полени	48	71.64%	7.57	7	11.00

Най-голям брой пациенти са със сенсibiliзация към **дървесни полени** (56 човека, 83.58%) следвани от пациенти със сенсibiliзация към **плевели** (51 човека, 76.12%) и **тревни полени** (48 човека, 71.64%). Разликата между максималната и минималната стойност на измерването е осреднена.

Установена е сенсibiliзация едновременно към два до 12 алергена, като най-много са пациентите с доказана сенсibiliзация към 5 алергена (14 пациенти, 20.89%) следвани от пациенти с два алергена (13 човека, 19.46%) и 6 алергена (11 човека, 16.42%).

1.4. Функционално изследване на дишането

Проведохме функционално изследване на дишането (ФИД) сред изследваните пациенти. При пациентите с АР, за да изключим засягане на долните дихателни пътища, както и в подгрупата пациенти с АР+БА, за да определим степента на бронхиалната обструкция.

Резултати от показателите на функционалното изследване на дишането сред изследваните групи пациенти са представени на таблица 6.

Таблица 6. Параметри от функционалното изследване на дишането при всички пациенти и сравнение между двете подгрупи АР и АР+БА

Данните са представени като средна стойност $\pm$ SD

Показатели, %	Всички болни	АР	АР+БА	АР спрямо АР+БА, p-value
FVC	95.71 $\pm$ 11.13	98.89 $\pm$ 9.54	92.35 $\pm$ 11.82	p=0.013
FEV ₁	93.30 $\pm$ 14.91	100.56 $\pm$ 10.99	85.62 $\pm$ 14.79	p=0.001
FEV ₁ /FVC	99.73 $\pm$ 10.39	103.94 $\pm$ 8.23	95.28 $\pm$ 10.69	p=0.001
FEF ₂₅₋₇₅	83.69 $\pm$ 27.25	96.82 $\pm$ 25.31	69.71 $\pm$ 22.01	p=0.001
FEF 25	88.79 $\pm$ 25.56	96.56 $\pm$ 26.86	80.77 $\pm$ 21.77	p=0.013
FEF 50	83.06 $\pm$ 27.85	96.55 $\pm$ 25.66	68.71 $\pm$ 22.66	p=0.001
PEF	91.75 $\pm$ 21.14	99.06 $\pm$ 18.13	84.22 $\pm$ 21.63	p=0.004

От представените в табличен вид параметри на функционалното изследване на дишането, се установява сигнификантна разлика между изследваните подгрупи пациенти с алергични респираторни заболявания.

В подгрупата пациенти с АР+БА средната стойност на FEF₂₅₋₇₅% е (69.71 $\pm$ 22.01) под 70%, което показва засягане на малките дихателни пътища в тази подгрупа пациенти, докато стойностите на FEV₁ (85.62 $\pm$ 14.79) са над 80%, което може да се обясни с липсата на клинична симптоматика от ДДП, тъй-като измерването на функционалните показатели на белия дроб се извърши извън поленов сезон.

1.5. Оценка на алергичното възпаление чрез изследване на цитокинов профил от кръвен серум и назален лаваж

Разпределение на пациентите от Първа група (брой/процент)

Изследвани са цитокини при 91 лица. От тях - 71 пациенти и 20 здрави контроли, разпределени в следните подгрупи:

- Пациенти с алергичен ринит (АР) – 37 (40.65%) възрастни болни
- Пациенти с алергичен ринит и симптоми от долни дихателни пътища (АР+БА) – 34 (37.36 %) възрастни болни

- Контролна група от здрави лица без алергичен ринит и бронхиална астма и други придружаващи заболявания – 20 (21.97%) лица.

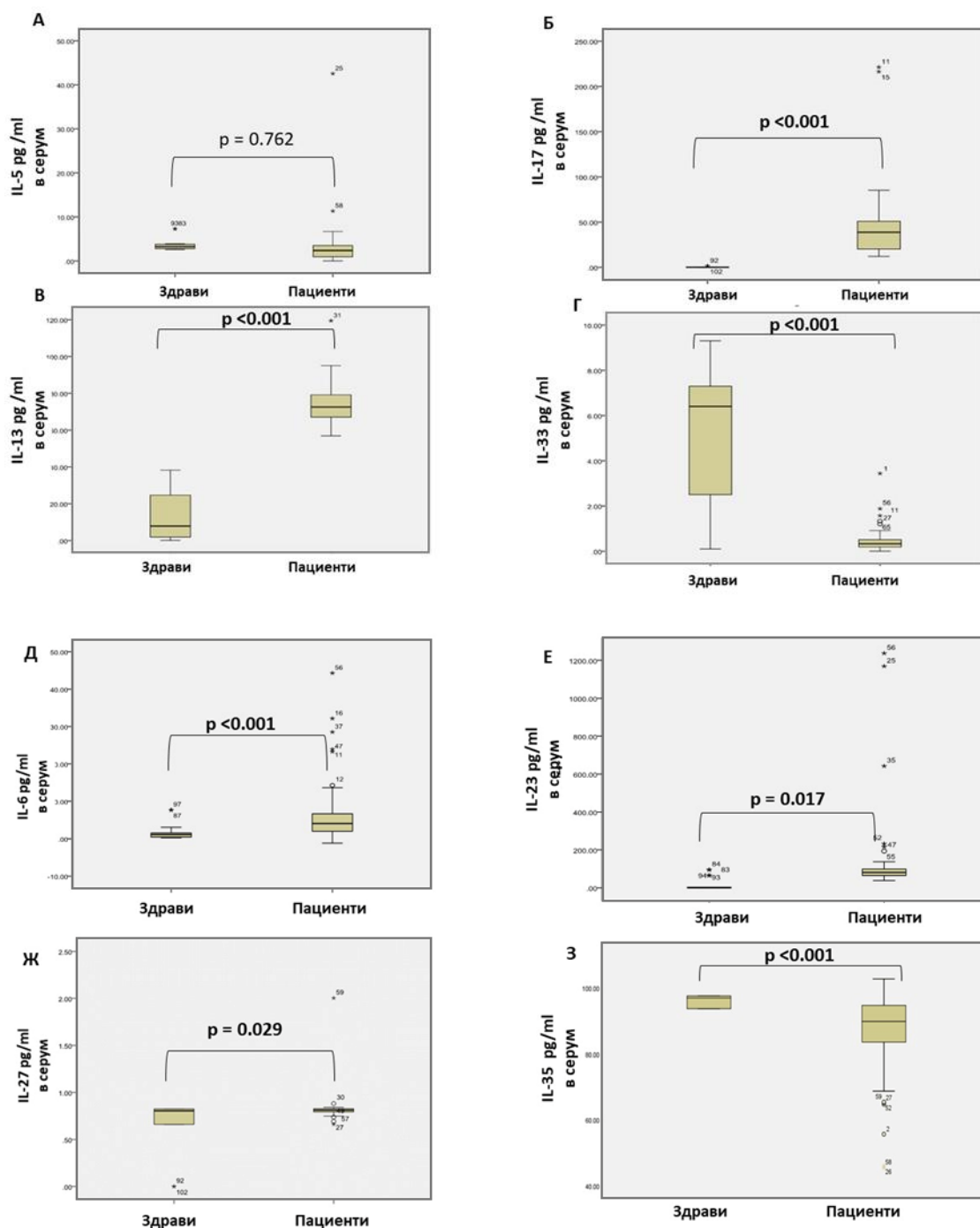
Таблица 7. Цитокини (pg/ml) в серумни проби от здрави контроли, всички пациенти и двете подгрупи отделно AP, AP + БА. Данните са представени като средна стойност $\pm$ SD

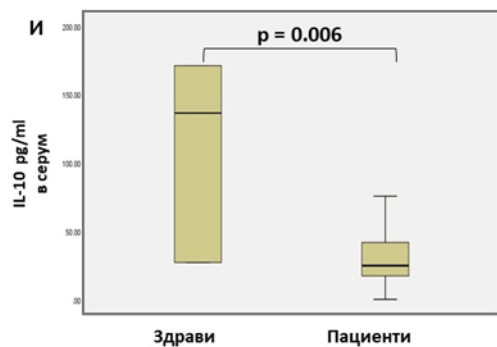
Цитокини	Здрави лица	Пациенти – цитокини в серум			Здрави спрямо цялата група пациенти, p=value	Здрави спрямо AP+БА спрямо AP (ANOVA) p=value	AP+БА спрямо AP p=value
		Всички	AP+БА	AP			
IL-5,pg/ml	3.58 $\pm$ 1.35	3.21 $\pm$ 5.31	2.56 $\pm$ 1.67	3.67 $\pm$ 1.19	p=0.762	p=0.584	p=0.391
IL-17A, pg/ml	0.26 $\pm$ 0.38	43.85 $\pm$ 36.45	48.20 $\pm$ 37.00	38.50 $\pm$ 35.26	p<0.001	p<0.001	*p=0.056
IL-13, pg/ml	13.43 $\pm$ 14.20	74.07 $\pm$ 10.62	74.96 $\pm$ 12.63	73.71 $\pm$ 9.38	p<0.001	p<0.001	p=0.645
IL-33, pg/ml	5.05 $\pm$ 3.11	0.45 $\pm$ 0.51	0.48 $\pm$ 0.62	0.42 $\pm$ 0.39	p<0.001	p<0.001	p=0.627
IL-6, pg/ml	1.77 $\pm$ 0.48	6.29 $\pm$ 0.91	6.53 $\pm$ 7.07	6.07 $\pm$ 8.38	p<0.001	p=0.041	p=0.804
IL-23, pg/ml	16.25 $\pm$ 7.43	125.5 $\pm$ 23.66	107.44 $\pm$ 101.14	142.07 $\pm$ 259.46	p=0.017	p=0.042	p=0.469
IL-27, pg/ml	0.68 $\pm$ 0.24	0.82 $\pm$ 0.15	0.84 $\pm$ 0.20	0.80 $\pm$ 0.04	p=0.029	p=0.07	p=0.239
IL-35, pg/ml	96.12 $\pm$ 1.79	88.20 $\pm$ 11.57	88.55 $\pm$ 8.29	85.94 $\pm$ 14.45	p <0.001	p = 0.057	p = 0.350
IL-10, pg/ml	111.56 $\pm$ 65.03	39.40 $\pm$ 37.01	32.76 $\pm$ 18.01	27.96 $\pm$ 17.04	p = 0.006	p <0.001	p = 0.254

- По отношение нивата на IL-5 в серума на изследваните пациенти, не установихме значими разлики между серумните нива на здрави лица и пациентите включени в изследването (фиг. 3А).
- Установихме значимо по-високи нива на IL-17A в серума на всички пациенти (43.85 $\pm$ 36.45 pg/ml) спрямо здрави лица (0.26 $\pm$ 0.38 pg/ml) (p<0.001), включени в дисертационния труд (фиг. 3Б).
- В двете отделни подгрупи средните стойности на IL-17A са многократно по-високи отколкото при здрави лица (38.50 $\pm$ 35.26 pg/ml AP; 48.20 $\pm$ 37.00 pg/ml AP+БА; 0.26 $\pm$ 0.38 pg/ml контроли), (фиг. 4Б).
- При използване на непараметрични тестове (Mann - Whitney) се установи тенденция за по-високи нива на IL-17A при пациентите с AP+БА, спрямо тези само с AP (гранично ниво на значимост, p=0.056).

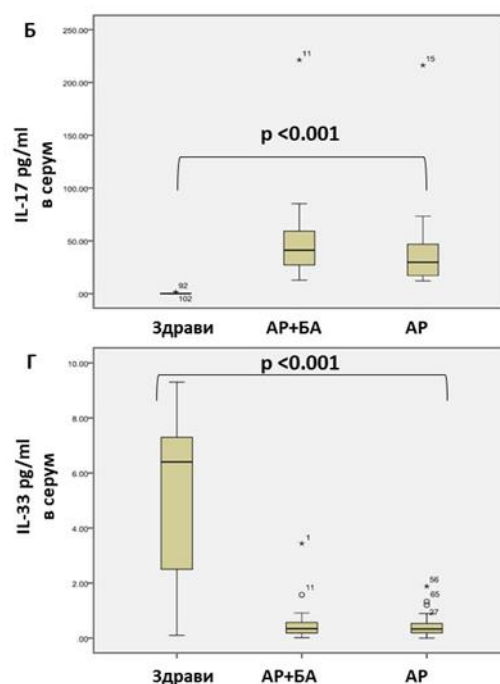
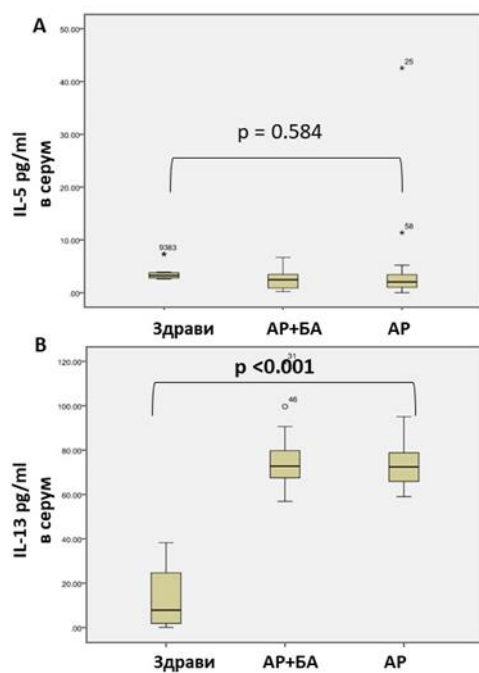
- Установихме трикратно повишени нива на IL-6 ($p<0.001$), IL-13 ($p<0.001$) и многократно по-високи нива на IL-23 ($p=0.017$) при всички пациенти спрямо здрави лица (фиг. 3 Д, В, Е, Ж). Докато нивата на IL-33 са значимо по-високи при здрави отколкото при всички (фиг. 3, Г) и двете подгрупи пациенти с АР+БА и АР ($p<0.001$) (фиг. 4, Г). Не установихме значима разлика в нивата на IL-5, IL-13, IL-33, IL-6, IL-23 и IL-27 между двете подгрупи пациенти.
- По отношение нивата на IL-35 и IL-10 в серума на изследваните лица, установихме значими разлики между серумните нива на здрави лица и всички пациенти включени в изследването ($p<0.001$; $p=0.006$, съответно), (фиг. 3 З, И). Относно стойностите на IL-10 се установиха почти трикратно по-високи нива в серума на здрави лица, спрямо всички пациенти в проведеното изследване (фиг. 3, И).
- При използване на ANOVA анализ се установиха разлики между трите подгрупи: здрави лица и пациенти с АР и АР+БА по отношение на цитокините IL-35 ($p=0.057$) и IL-10 ($p<0.001$). Графично представени на фигура 4.
- Не се установяват значими разлики в нивата на IL-10 и IL-35 между двете подгрупи пациенти АР+БА спрямо АР. Това може да се тълкува, като сходно ниво на алергичното възпаление в двете подгрупи болни.

Фигура 3. Нива на цитокините IL-5, IL-13, IL-17A, IL-33, IL-6, IL-23, IL-27, IL-10, IL-35 при здрави контроли и всички пациенти представени на фигури А, Б, В, Г, Д, Е, Ж, З, И.





Фигура 4. Нива на цитокините IL-5, IL-17A, IL-13, IL-33, IL-6, IL-23, IL-27, IL-35, IL-10 при здрави контроли в сравнение с двете подгрупи пациенти – AP+БА и AP, на фигури А, Б, В, Г, Д, Е, Ж, З, И.



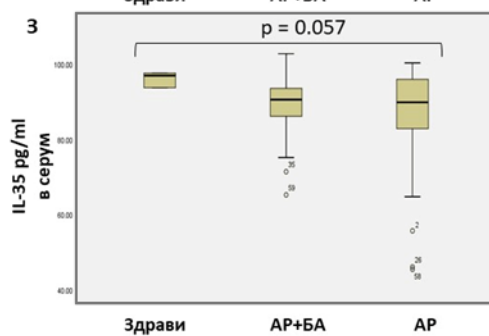
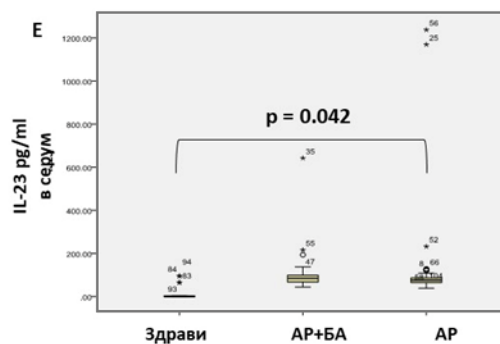
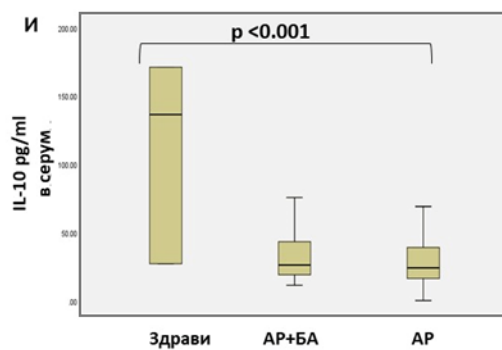
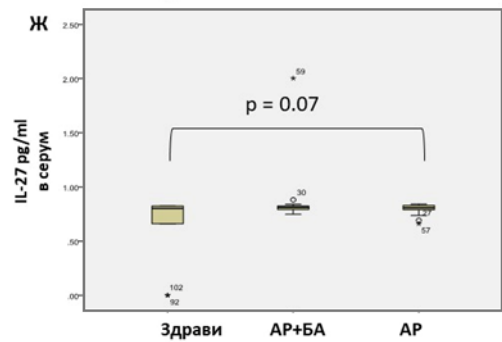
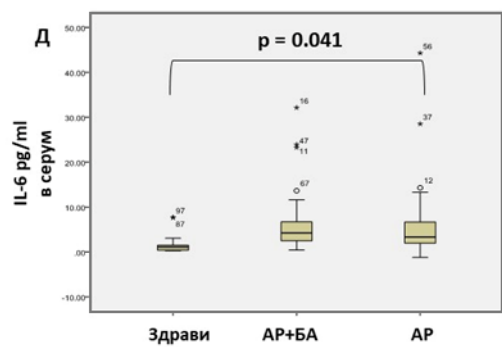


Таблица 8. Цитокини (pg/ml) в серумни проби и назален лаваж от всички пациенти, пациенти с АР и АР + БА. Данните са представени като средна стойност $\pm$ SD

Циток ини pg/ml	Всички болни, серум $\pm$	Всички болни, лаваж	Всички болни, серум спрямо лаваж, p	АР+БА, серум	АР+БА, лаваж	АР+БА, Серум спрямо лаваж, p	АР, серум	АР, лаваж	АР, серум спрямо лаваж, p	АР+БА спрямо АР в лаваж, p
IL-5	3.21 $\pm$ 5.31	2.58 $\pm$ 0.62	p=0.686	2.56 $\pm$ 1.67	2.35 $\pm$ 0.24	p=0.795	3.67 $\pm$ 1.19	2.70 $\pm$ 0.73	p=0.670	p=0.346
IL-17A	43.85 $\pm$ 36.45	9.10 $\pm$ 0.90	p<0.001	48.20 $\pm$ 37.00	8.82 $\pm$ 0.98	p=0.024	38.50 $\pm$ 35.26	9.23 $\pm$ 0.88	p=0.013	p=0.426
IL-13	74.07 $\pm$ 10.62	66.43 $\pm$ 6.77	p=0.09	74.96 $\pm$ 12.63	63.60 $\pm$ 6.15	p=0.058	73.71 $\pm$ 9.38	67.84 $\pm$ 6.91	p=0.073	p=0.269
IL-33	0.45 $\pm$ 0.51	0.70 $\pm$ 0.42	p=0.82	0.48 $\pm$ 0.62	0.86 $\pm$ 0.21	p=0.194	0.42 $\pm$ 0.39	0.62 $\pm$ 0.48	p=0.184	p=0.323
IL-6	6.30 $\pm$ 0.91	31.30 $\pm$ 13.45	p=0.83	6.53 $\pm$ 1.21	68.33 $\pm$ 85.21	p=0.180	6.07 $\pm$ 1.37	15.32 $\pm$ 21.94	p=0.221	p=0.239
IL-23	125.50 $\pm$ 23.66	130.28 $\pm$ 22.84	p=0.92	107.44 $\pm$ 101.14	143.69 $\pm$ 21.41	p=0.434	142.07 $\pm$ 42.65	122.76 $\pm$ 22.25	p=0.817	p=0.106
IL-27	0.82 $\pm$ 0.14	0.85 $\pm$ 0.01	p=0.37	0.84 $\pm$ 0.20	0.85 $\pm$ 0.02	p=0.919	0.80 $\pm$ 0.03	0.85 $\pm$ 0.01	p<0.001	p=0.794
IL-35	88.20 $\pm$ 11.57	100.35 $\pm$ 20.81	p=0.001	88.55 $\pm$ 8.29	102.37 $\pm$ 28.30	p=0.338	85.94 $\pm$ 14.45	100.02 $\pm$ 18.94	p=0.014	p=0.850
IL-10	39.40 $\pm$ 37.01	185.44 $\pm$ 40.31	p<0.001	32.76 $\pm$ 18.01	152.9 $\pm$ 24.38	p=0.001	27.96 $\pm$ 17.04	205.13 $\pm$ 34.27	p<0.001	p=0.020

Проведохме изследване и на цитокините в назален лаваж при 15 (22.38%) от изследваните болни.

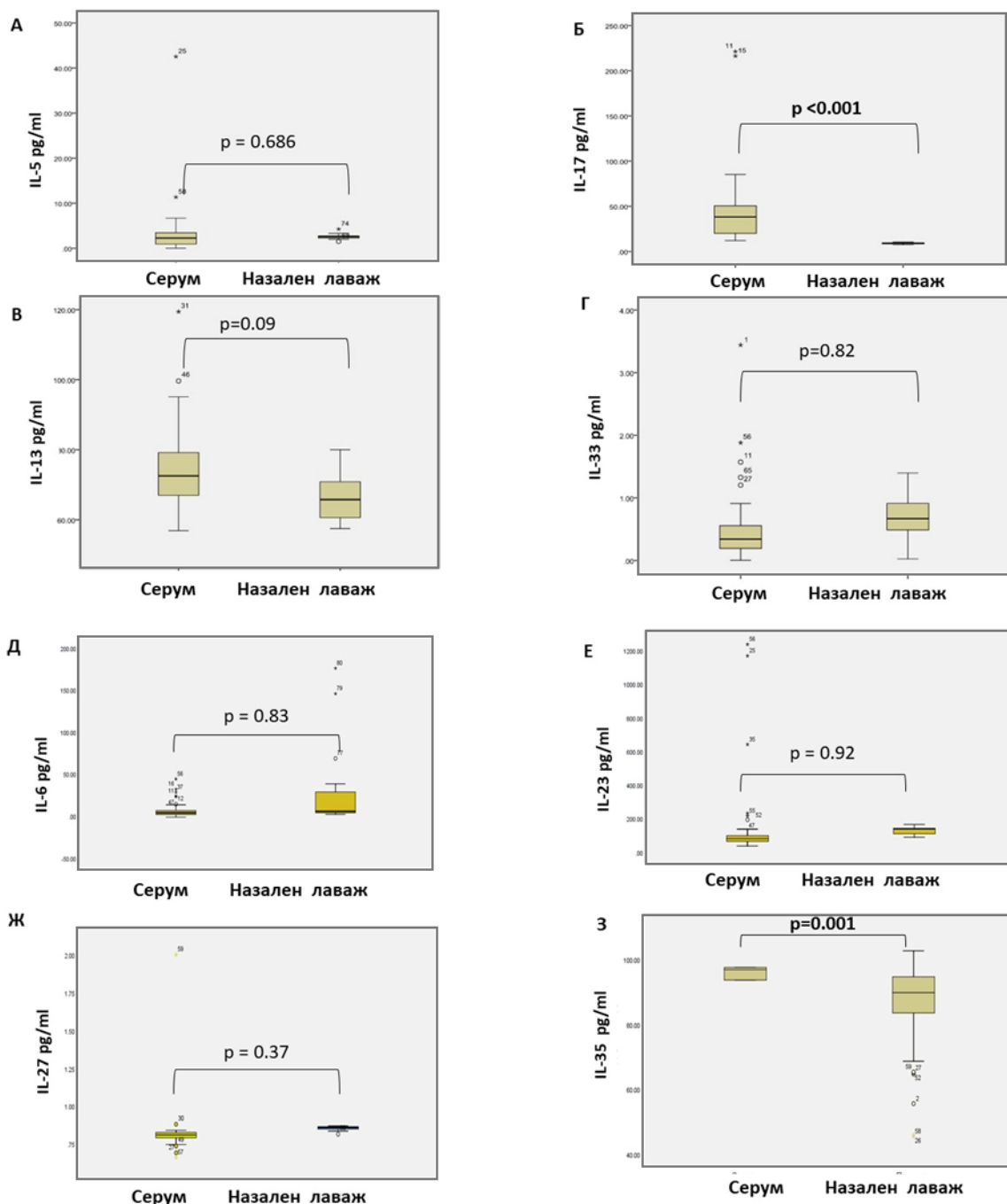
- Нивата на IL-5, IL-17A, IL-13, бяха повишени в серума на всички болни спрямо назален лаваж. Прави впечатление, че в серума на общата група болни се откриват сигнификантно по-високи нива на IL-17A (p<0.001), спрямо нивата в изследвания назален лаваж (фиг. 5Б). Нивата на IL-5 бяха незначително повишени в серум спрямо лаваж, а IL-13 показва тенденция за по-високи концентрации в серум спрямо назален лаваж, макар и да не достигна статистическа значимост (p=0.09), (фиг. 5В).
- Относно концентрацията на IL-6, IL-10, IL-23, IL-33 и IL-35 установихме, че за разлика от останалите интерлевкини е по-висока в изследвания назален лаваж, отколкото в серума на пациентите (фиг. 3Г, Д, Е, З, И). Дори нивата на IL-6 и IL-10 са пет пъти по-високи в назален лаваж спрямо серумната концентрация. От

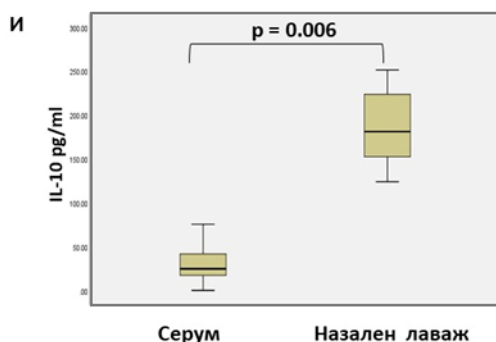
всички изследвани цитокини значима разлика между нивата в назален лаваж спрямо серум се установи при IL-10 ($p<0.001$), IL-17A ($p<0.001$) и IL-35 ($p=0.001$), (фиг. 5Б, 3, И).

Когато сравнявахме нивата на цитокините в *серум* и *назален лаваж* при една и съща подгрупа пациенти, наблюдавахме следните резултати:

- Нивата на IL-17A в серума на пациенти с АР+БА бяха 6 пъти по-високи от измерените в лаваж нива ($p=0.024$), подобно на IL-13 с гранично ниво на значимост ($p=0.058$). Нямаше разлика в нивата на IL-5 в двата материала от болните с АР+БА, а нивата на IL-33 бяха по-ниски в серум спрямо лаваж, но несигнификантно ($p=0.194$).
- Когато сравнихме нивата на изследваните цитокини в серум спрямо назален лаваж при болните с **АР**, установихме значима разлика при IL-10 ($p<0.001$), IL-17 ($p=0.013$), IL-27 ($p<0.001$) и IL-35 ($p=0.014$). Наблюдавахме по-високи нива на IL-5, IL-17A, IL-13 и IL-23 в серум, а по-ниски нива на IL-6, IL-10, IL-27, IL-33 и IL-35 в серум спрямо лаваж в подгрупата болни с АР.
- Нивата на IL-27 в лаваж и серум при **всички болни** бяха приблизително еднакви и не установихме значима разлика, $p=0.37$. Подобна липса на разлика наблюдавахме и в подгрупата пациенти с **АР+БА**, но установихме по-високи нива в лаваж при пациенти с **АР** ($p<0.001$).

Фигура 5. Графично представяне нивата на цитокините IL-5, IL-17A, IL-13, IL-33, IL-6, IL-23, IL-27, IL-35, IL-10 измерени в серум и назален лаваж при всички пациенти, представени на фигури А, Б, В, Г, Д, Е, Ж, З, И.





1.6. Корелационен анализ сред изследваните пациенти с цитокинов профил

Потърсихме връзка между изследваните цитокини в серум и назален лаваж сред пациентите с алергични респираторни заболявания (табл. 9, фиг. 6).

Таблица 9. Корелации между изследваните цитокини в серумите на изследваните пациенти. Резултатите са представени с коефициент на корелация на Pearson (r) при съответното ниво на значимост (p)

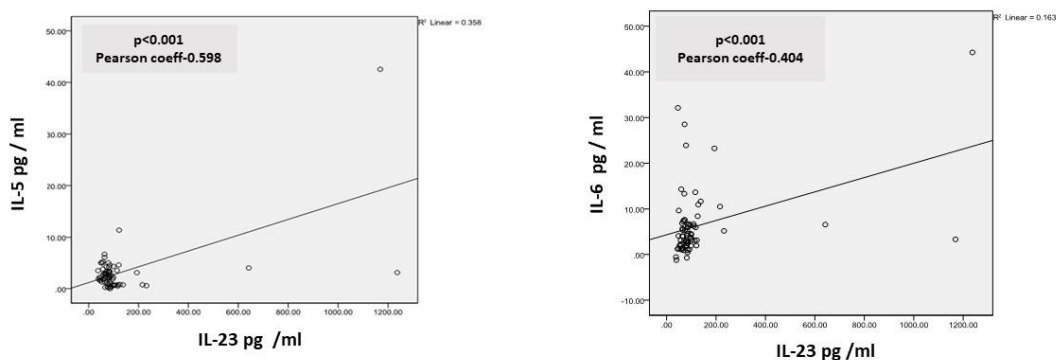
Цитокини в серум	Коефициент на корелация, (r)	Ниво на значимост, (p)
IL-5 и IL-23	$r=0.598$	$p<0.001$
IL-33 и IL-6	$r=0.276$	$p=0.024$
IL-33 и IL-23	$r=0.273$	$p=0.026$
IL-6 и IL-23	$r=0.404$	$p<0.001$

Установихме, че съществуват статистически значими корелации между изследваните инфламаторни цитокини:

- Откриваме значителна ($r=0.598$), положителна и статистически значима ($p<0.001$) корелация между цитокиновите нива на IL-5 и IL-23, измерени в серум
- Откриваме слаба ($r=0.276$), положителна и статистически значима ($p=0.024$) корелация между цитокиновите нива на IL-33 и IL-6, измерени в серум
- Откриваме слаба ($r=0.273$), положителна и статистически значима ($p=0.026$) корелация между цитокиновите нива на IL-33 и IL-23, измерени в серум

- Откриваме умерена ($r=0.404$), положителна и статистически значима ($p<0.001$) корелация между цитокиновите нива на IL-23 и IL-6, измерени в серум

Фигура 6. Зависимост между нивата на цитокините IL-5 и IL-23; IL-6 и IL-23 в серум. Корелацията е представена чрез коефициента на Pearson при съответното ниво на значимост (p)



От графиката се вижда, че корелацията между IL-5 и IL-23 е положителна и статистически значима ($p < 0.001$), а зависимостта е значителна (Pearson coeff. = 0.598).

В изследвания назален лаваж на 15 от болните, наблюдавахме корелации между следните двойки цитокини, представни на таблица 10, фигура 7.

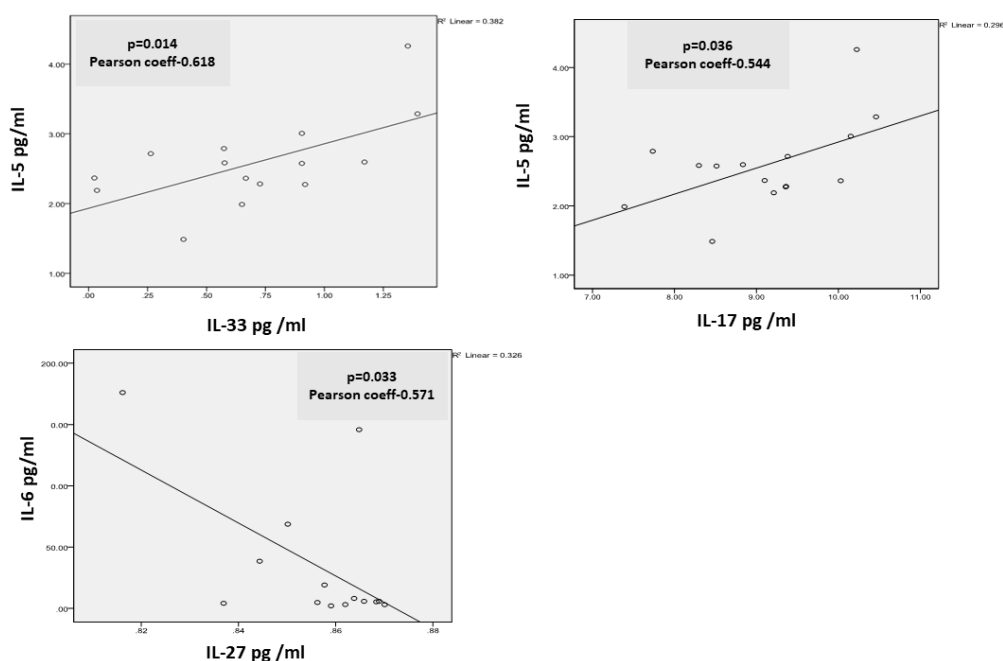
Таблица 10. Корелации между изследваните цитокини в назален лаваж сред изследваните пациенти

Резултатите са представени с коефициент на корелация на Pearson (r) при съответното ниво на значимост (p)

Цитокини в лаваж	Коефициент на корелация	Ниво на значимост
IL-5 и IL-17A	$r=0.544$	$p=0.036$
IL-5 и IL-33	$r=0.618$	$p=0.014$
IL-6 и IL-27	$r=0.571$	$p=0.033$

- Откриваме значителна ($r=0.544$), положителна и статистически значима ($p=0.036$) корелация между цитокиновите нива на IL-5 и IL-17A, измерени в назален лаваж
- Откриваме значителна ($r=0.618$), положителна и статистически значима ($p=0.014$) корелация между цитокиновите нива на IL-5 и IL-33, измерени в назален лаваж
- Откриваме значителна ($r=0.571$), положителна и статистически значима ($p=0.033$) корелация между цитокиновите нива на IL-6 и IL-27, измерени в назален лаваж

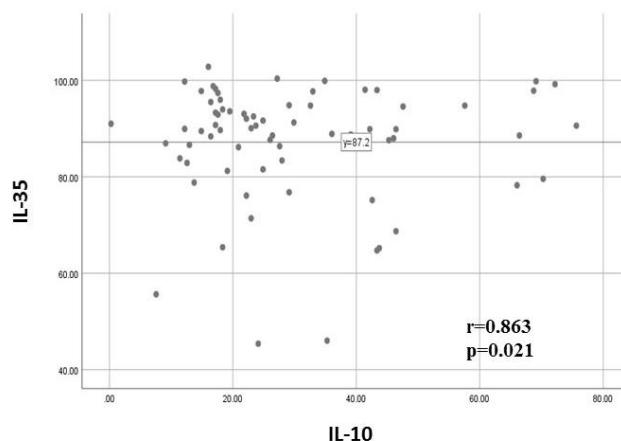
Фигура 7. Графично представяне на корелацията между нивата на цитокините IL-5 и IL-33; IL-5 и IL-17A; IL-6 и IL-27 в назален лаваж. Корелацията е представена чрез коефициента на Pearson при съответното ниво на значимост (p)



Корелацията между IL-5 и IL-33 е статистически значима ($p = 0.014$), а зависимостта е значителна (Pearson coeff. = 0.618).

Изследваните регулаторни цитокини - IL-35 и IL-10 сред пациентите с респираторна алергия се очаква да търпят синергични изменения. Потърси се корелация между тях в серум. Установихме, че съществува силна и статистически значима корелация ($r=0.863$, $p=0.021$), представена на фигура 8.

Фигура 8. Зависимост между нивата на цитокините IL-35 и IL-10 в серум. Корелацията е представена с коефициента на Pearson при съответното ниво на значимост (p)



2. Втора група изследвани пациенти, представящи връзката между двата дихателни пътя, оценени на базата на хронична кашлица

2.1. Характеризиране на пациентите с хронична кашлица

2.1.1. Извърши се разпределение на пациентите и здрави контроли по пол и възраст

Резултатите от възрастово-половото разпределение на изследваните лица с кашлица са представени на таблица 11 и фигура 9.

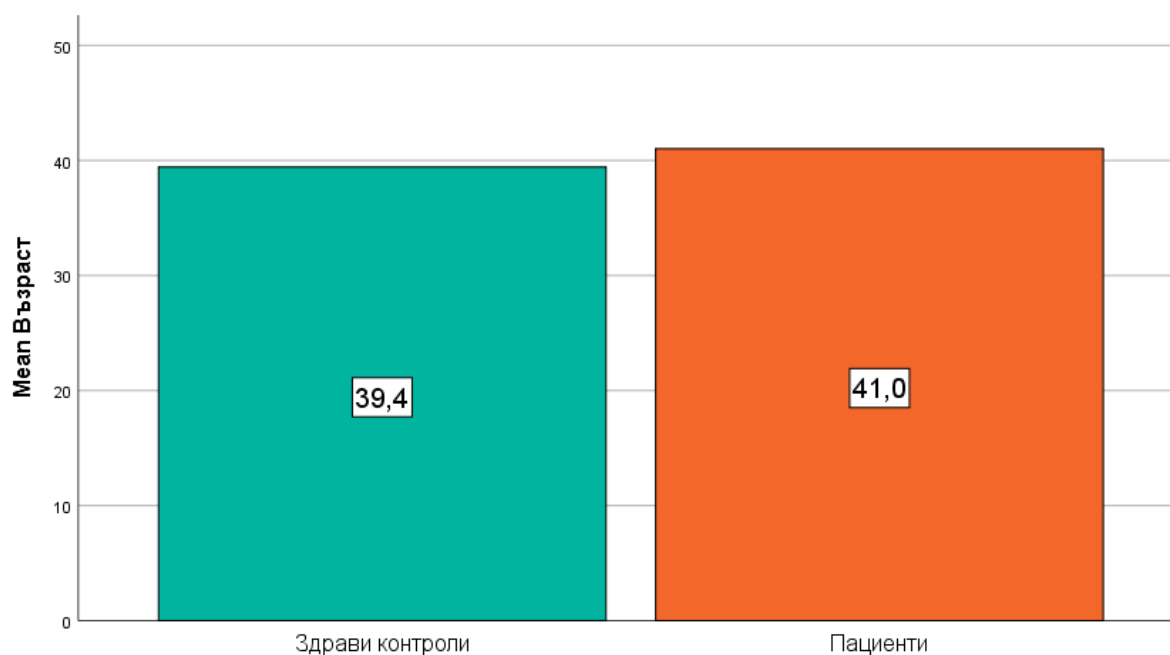
Таблица 11. Разпределение на пациентите с хронична кашлица и здрави контроли по пол и възраст

	ХК пациенти	Здрави лица	p-value
Брой	110 (78.6%)	30 (21.4%)	
Мъже	29 (26.4%)	11(36.7%)	p=0.266*
Жени	81 (73.6%)	19 (63.3%)	
Възраст $\pm$ SD	41.03 $\pm$ 15.01	39.43 $\pm$ 7.75	p=0.904**

*Chi-Square Test; ** Mann-Whitney Test

От изследваните 110 пациента (болни) с кашлица и 30 здрави (контроли) лица, установихме, че болните и здравите не се различават статистически значимо по пол (точен критерий на Фишер, $p=0.226$) и възраст (Тест на Ман-Уитни, $p=0.904$). Средната възраст на пациентите с кашлица е 41.03 години със стандартно отклонение 15.012, а медианата е 39 години.

Фигура 9. Представяне на възрастово разпределение на всички пациенти с хронична кашлица и здрави контроли



2.1.2. Осъществихме разпределение на пациентите с хронична кашлица по възрастови групи

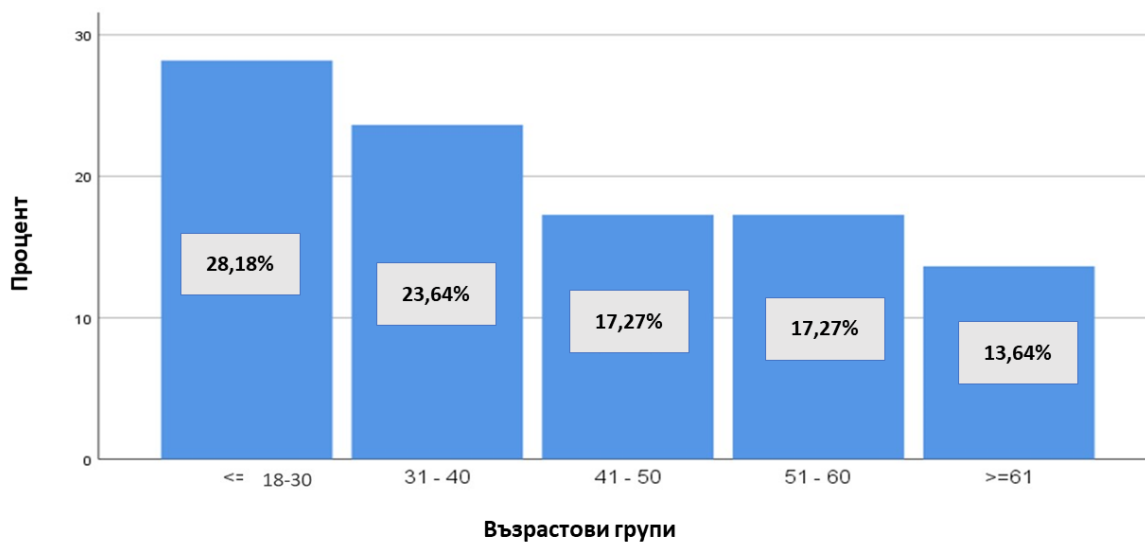
Най-голям брой пациенти има в групата 18-30 години (28.2%), следва 31-40 години (23.6%), 41-50 години (17.3%), над 61 години – 13.6%.

На таблица 12 и фигура 10 е представено разпределението на пациентите с хронична кашлица по възрастови групи.

Таблица 12. Честотно разпределение на пациентите с хронична кашлица по възрастови групи

Възрастово разпределение				
	Честота	Процент	Валидиран процент	Кумулативен процент
18 - 30	31	28.2	28.2	28.2
31 - 40	26	23.6	23.6	51.8
41 - 50	19	17.3	17.3	69.1
51 - 60	19	17.3	17.3	86.4
>=61	15	13.6	13.6	100.0
Общо	110	100.0	100.0	

Фигура 10. Разпределение на пациентите с хронична кашлица по възрастови групи



2.1.3. За диагностично уточняване на кашличния синдром при всички пациенти с хронична кашлица и здрави лица се проведе функционално изследване на дишането (Табл. 13)

Таблица 13. Представяне параметрите от функционалното изследване на дишане измерени при здрави лица и всички пациенти с хронична кашлица

Данните са представени като средна стойност $\pm$ SD

Показатели	Здрави	Пациенти	p-value
FVC%	109.70 $\pm$ 13.06	99.56 $\pm$ 18.25	p=0.005*
FEV1%	106.63 $\pm$ 11.43	99.02 $\pm$ 20.64	p=0.005*
FEV1/FVC%	101.43 $\pm$ 7.32	104.40 $\pm$ 11.96	p=0.047*
FEF ₂₅₋₇₅ %	94.67 $\pm$ 23.50	90.04 $\pm$ 31.78	p=0.610
FEF 25%	100.23 $\pm$ 20.28	101.44 $\pm$ 94.57	p=0.250
FEF 50%	95.17 $\pm$ 24.04	89.20 $\pm$ 31.71	p=0.544
FEF 75%	87.17 $\pm$ 31.62	90.42 $\pm$ 39.32	p=0.698
PEF%	100.80 $\pm$ 16.39	89.87 $\pm$ 19.68	p=0.003*

*Статистически значима разлика

За сравняване е използван подходящ статистически метод в зависимост от вида на разпределенията. От проведеното функционално изследване на дишането, средните стойности на показателите при болните FVC% (p=0.005), FEV1% (p=0.005), FEV1/FVC% (p=0.047), както и PEF% (p=0.003) се различават статистически значимо от здравите контроли.

2.1.4. Параклинични изследвания при пациентите с хронична кашлица

При пациентите с хронична кашлица проведохме изследване на хематологични и биохимични показатели: пълна кръвна картина (ПКК), кръвна захар, скорост на утаяване

на еритроцитите (CUE) и С-реактивен протеин (CRP). Потърси се зависимост между всички пациенти с хронична кашлица и здрави контроли, представени на таблица 14.

Таблица 14. Зависимост между някои лабораторни показатели при пациентите с хронична кашлица и здрави контроли.

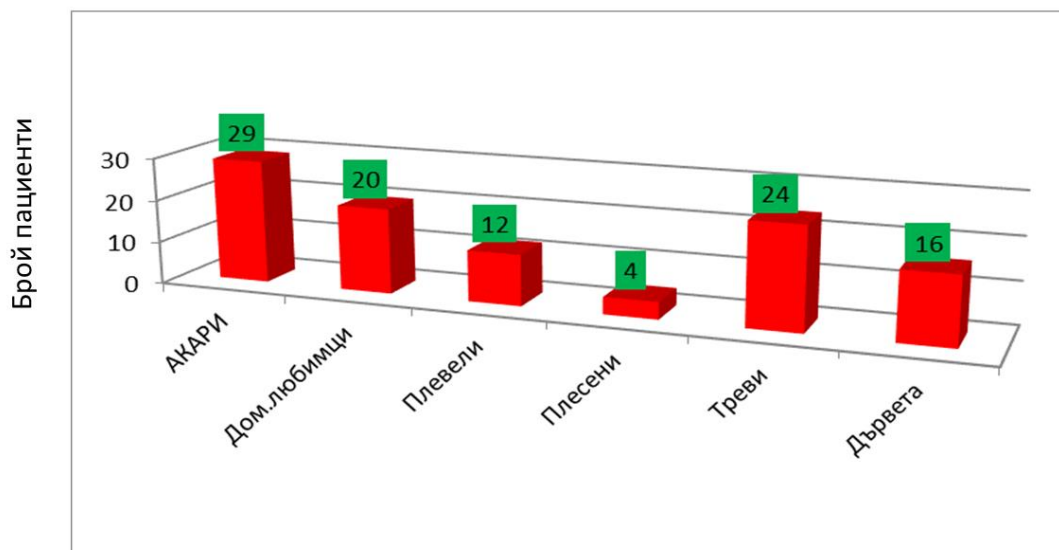
Показатели	Здрави	Пациенти	p-value
С-реактивен протеин, mg/dl	1.71±1.24	3.10±5.62	p=0.563
CUE, mm/h	7.51±3.88	7.57±6.85	p=0.968
Левкоцити $\times 10^9/l$	6.73±1.62	7.10±2.27	p=0.931
Еозинофили $\times 10^9/l$	0.09±0.09	28.37±168.82	p<0.0001
Хемоглобин, G/l	141.30±10.17	139.86±12.49	p=0.890
Глюкоза, mmol/l	4.645±0.60	5.30±0.67	p<0.0001

От проведените параклинични изследвания се установи статистическа значима разлика между двете подгрупи по отношение броя на еозинофилите (**p<0.0001**) и глюкоза (**p<0.0001**). Поради статистически значимо завишените еозинофили в кръвта при пациентите с кашлица в сравнение със здравите контроли, показва че резултатът е с висока специфичност като маркер за еозинофилно възпаление, но броят им не е достатъчен за приемане на критерия като показател за системна еозинофилия. При всички пациенти, включени в изследването С-реактивният протеин е в нормални граници. Не се установи зависимост между двете подгрупи изследвани лица, относно нивата на CRP въпреки, че са два пъти по-високи при болните от тези при здрави лица. По-отношение на CUE и броя на Левкоцитите, нивата бяха приблизително еднакви.

2.1.5. Установяване на сенсibiliзация към инхалаторни алергени

За установяване на сенсibiliзация при пациентите с алергичен ринит, се проведе кожно-алергично изследване с инхалаторни алергени посредством тест с убождане (SPT). На фигура 11 са представени най-честите алергени, към които са чувствителни изследваните пациенти с хронична кашлица и алергичен ринит.

Фигура 11. Свърхчувствителност към аероалергени при пациенти с алергичен ринит



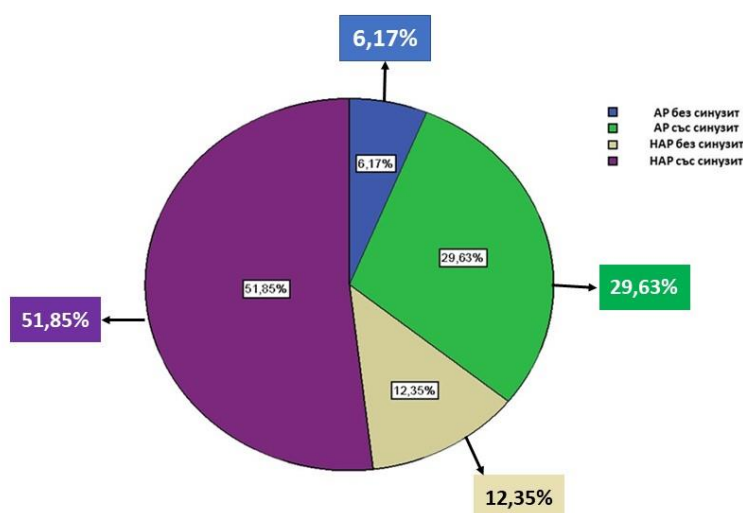
При определяне на атопичния статус, сред пациентите с хронична кашлица най-честата сенсibilизация беше установена към акари от домашен прах (*D.pteronyssinus* и *D.farinae*) - 29 (9.7%) и тревни полени - 24 (8%), както и сенсibilизация към други алергени представени на фигура 11.

2.2. Проучване и характеризиране на заболяванията от горните дихателни пътища при болни с хронична кашлица

2.2.1. Описание на най-честите заболявания от горните дихателни пътища

При изследваната от нас група пациенти с хронична кашлица, подлежащите заболявания обхващат предимно засягане на горните дихателни пътища. Алергичният ринит се диагностицира при **29 пациента (27.4%)**, неалергичен ринит - **52 (49.1%)**, докато **хроничен риносинусит** се установи при **93 (84.5%)**, като голяма част от тях са и с придружаващ неалергичен ринит – **42 (51.9%)**, по-малка част имат и АР – **24 (29.6%)**. Сред възпалителните заболявания на ГДП потърсихме и полипоза. При изследване на нашата група пациенти се установи, че при пациентите с НАР, преобладава полипоза в максиларните синуси - **10 (19.2%)**, при **2 души (3.8%)** полипите засягат носната лигавица, докато при пациентите с алергичен ринит само при **4 (13.8%)** се открива полипоза в максиларни синуси.

На фигура 12 са представени пациентите с хронична кашлица, разпределени според възпалителното заболяване на ГДП: АР без придружаващ синусит – 5(6.2%), при 24 (29.6%) се установява коморбидитет между АР с ХРС, докато НАР без синусит се наблюдава при 10 (12.3%), а 42 пациента (51.9%) са с НАР+ ХРС.

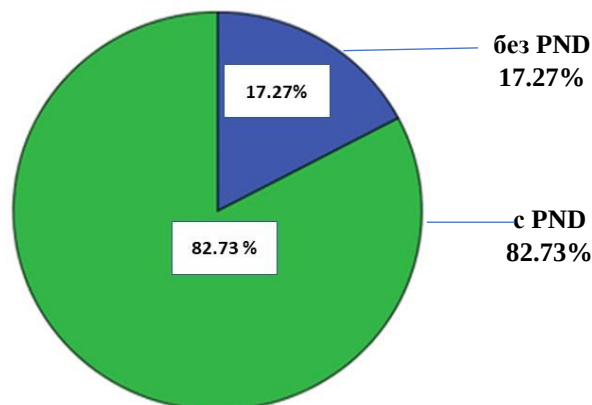


Фигура 12. Относително разпределение на пациентите с алергичен ринит (АР), неалергичен ринит (НАР) и хроничен риносинусит (ХРС) в изследваната група с хронична кашлица

2.2.2. Описание на най-честите симптоми сред изследваните пациенти с хронична кашлица

Най-често съобщените оплаквания при изследваните пациенти бяха кашлица, усещане за задно носно стичане на секрет, запушване на носа, ринорея и експекторация. При провеждане на физикален и консултативен преглед с УНГ специалист, установихме че от 110 пациента всичките 100% са проявили кашлица през повече от последните 8 седмици, което е било основната причина за консултация. Обективизирани са: задно носно стичане (post nasal drip – PND) - 91 души (82.7%) – фиг. 13, от тях усещане за PND са съобщили 62 (73.8%) от пациентите, назална обструкция се установи при 83 души (77.6%), предна ринорея - 79 души (71.8%), експекторация - 23 (20.9%).

Фигура 13. Разпределение на пациентите според наличието на задно носно стичане (PND)

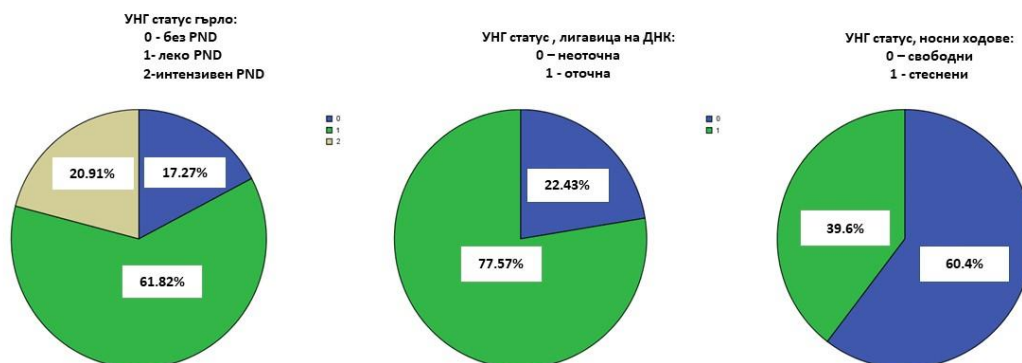


От получените данни става ясно, че сред водещите признаци на възпаление от ГДП, най-често установените са PND и назалната обструкция.

2.2.3. Резултати от физикален преглед на горните дихателни пътища от УНГ специалист

От проведената клинична консултация с УНГ специалист за оценка състоянието на лигавицата на носа и фаринкса при пациентите с хронична кашлица и засягане на ГДП, се установиха следните патологични изменения съответстващи на възпалителните заболявания на ГДП (фиг. 14). При 83 пациента (77.6%) се установи оток на долна носна конха, при 40 (39.6%) се наблюдава стеснение на носните ходове, а според интензитета на PND – при 23 души (20.9%) интензивно стичащ се обилен секрет по носоглътката, при 68 (61.8%) секретът по задна фарингеална стена е в по-малко количество и леко стичащ се, а при 19 (17.3%) – не се установява стичане на секрет.

Фигура 14. Представяне на най-честите изменения на лигавицата на носа и фаринкса при пациентите с хронична кашлица



2.2.4. Честотно разпределение на пациентите с хронична кашлица и възпалителни заболявания на ГДП без PND

Възпалителните заболявания на ГДП не винаги са придружени от PND. При 19 души (17.3%) от всички пациентите с хронична кашлица **не се установява PND**. От тях 13 (16%) пациента са с диагностициран ринит, от пациентите със синусит при 13 пациента (16%) не се установява PND, 3 от пациентите с полипоза (14.3%), при пациентите приемащи ACE инхибитор диагностицирани с хронична кашлица са 3 (100%), 5 (20.8%) от пациентите с новодиагностицирана бронхиална астма, 2 души (8.7%) са с VCD.

3. Оценка на задно носно стичане посредством изследване на зависимостта му с други показатели

3.1. Вида на ринита и PND

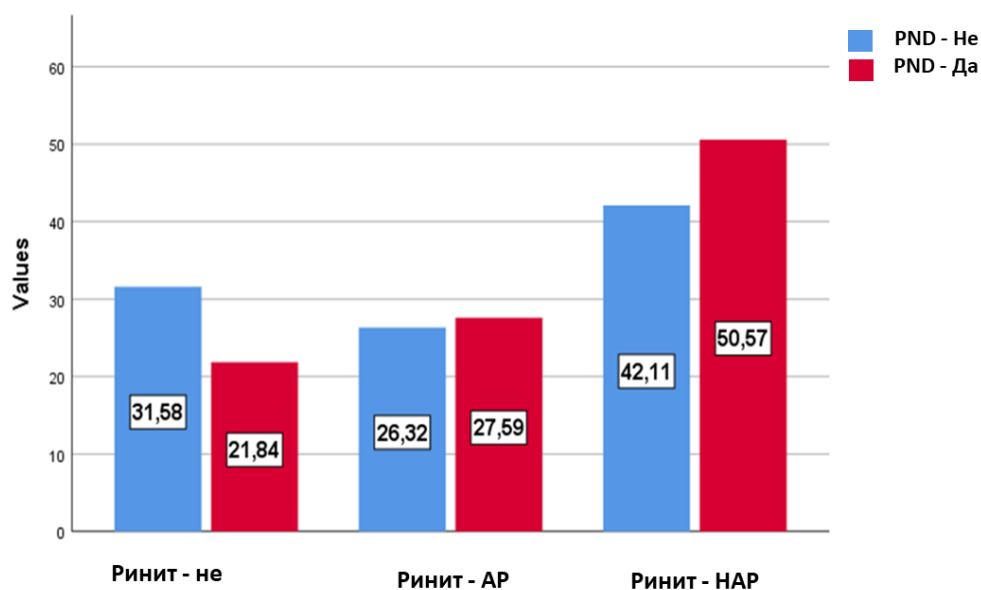
Сред пациентите с хронична кашлица и заболяванията на ГДП, потърсихме зависимост между вида на ринита и PND, представени на таблица 15 и фигура 15.

Таблица 15. Разпределение и зависимост между вида на ринита и PND сред пациентите с хронична кашлица, представени в брой (%)

Показател	Ринит-не	АР	НАР	Общо	p-value
PND - не	6 (31.6 %)	5 (26.3%)	8 (42.1%)	19(100%)	p= 0.649
PND - да	19 (21.8 %)	24 (27.6%)	44 (50.6%)	87(100%)	
Общо	25 (23.6 %)	29 (27.4%)	52 (49.1 %)	106(100%)	

За да анализираме данните с цел оценка на зависимостта между липсата на ринит, вида на ринита и PND, се използва Chi-square (χ^2) тест. Стойността на полученото $p=0.649$ показва, че липсва зависимост между променливите.

Фигура 15. Представяне разпределението на пациентите според вида на ринита и PND



3.2. Зависимост между ХРС и PND

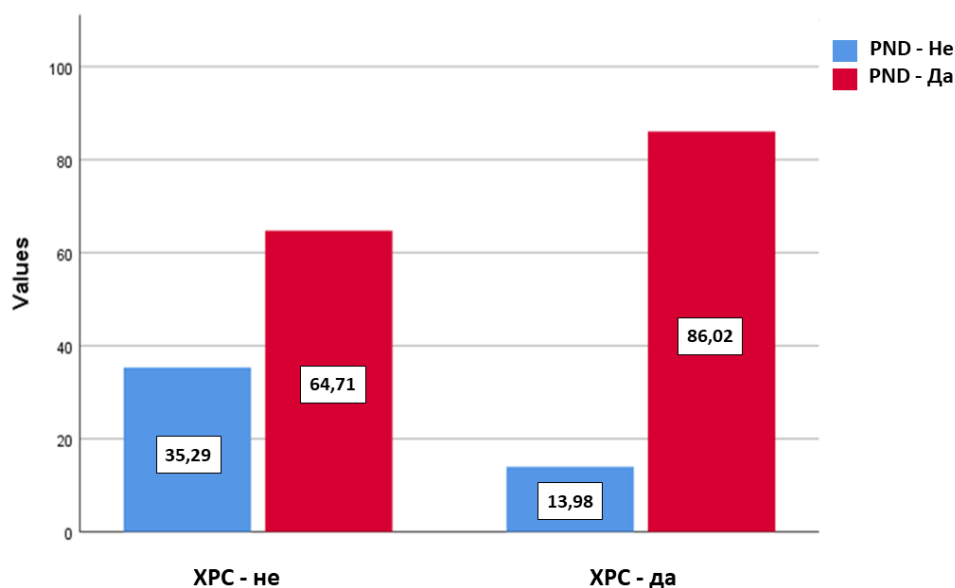
От всички изследвани пациенти с хронична кашлица - 93 души (84.5%) са диагностицирани с ХРС, който не се установи при 17 от пациентите (15.5%). Потърсихме зависимост между ХРС и PND, представени на таблица 16 и фигура 16.

Таблица 16. Разпределение и зависимост между ХРС и PND сред пациентите с хронична кашлица, представени в брой (%)

Показател	ХРС - не	ХРС - да	Общо	p-value
PND - не	6 (35.3%)	13 (14%)	19 (17.3%)	p= 0.073
PND - да	11 (64.7%)	80 (86%)	91 (82.7%)	
Общо	17 (100 %)	93 (100%)	110 (100%)	

При по-голям брой от пациентите 80 (86%) с ХРС се установява PND. Посредством точния критерий на Фишер не се установява статистически значима зависимост между двете променливи: ХРС и PND сред изследваните пациенти (p= 0.073).

Фигура 16. Представяне разпределението на пациентите според ХРС и PND



3.3. PND и полипоза

Сред пациентите с хронична кашлица и засягане на ГДП, при 21(19.1%) от пациентите се диагностицира полипоза, която не се установи при по-голяма част от болните - 89 (80.2%) (табл. 17, фиг. 17).

Таблица 17. Честотно разпределение на пациентите с хронична кашлица и полипоза

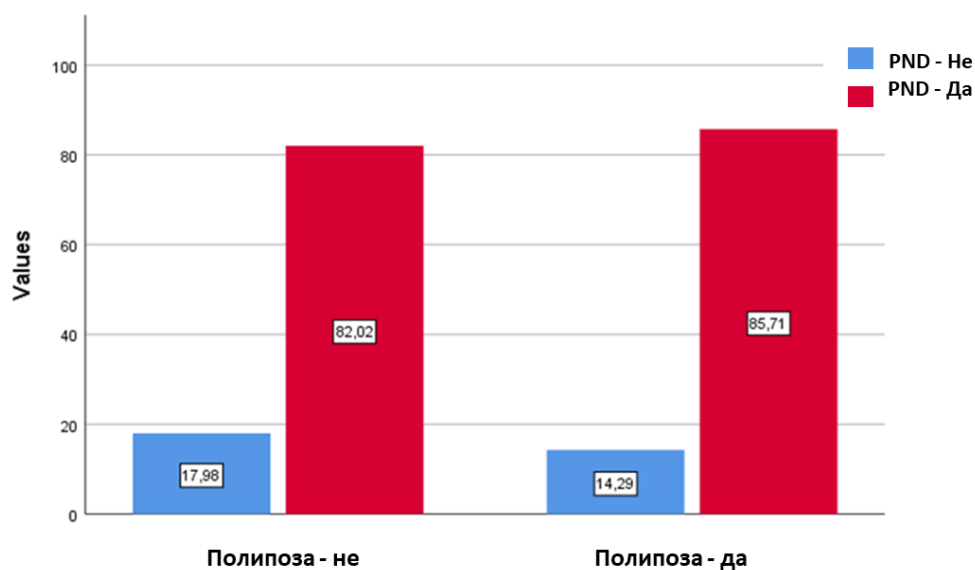
		Полипоза			
		Честота	Процент	Валидиран процент	Кумулативен процент
полипоза	няма	89	80.2	80.9	80.9
	има	21	18.9	19.1	100.0
	Общо	110	99.1	100.0	

Потърсихме зависимост между двете променливи - полипоза и PND сред пациентите с хронична кашлица (табл. 18).

Таблица 18. Разпределение и зависимост между полипоза и PND, представени в брой (%)

Показател	полипоза - не	полипоза - да	Общо	p-value
PND - не	16 (18%)	3 (14.3%)	19 (17.3%)	p= 1.000
PND - да	73 (82%)	18 (85.7%)	91 (82.7%)	
Общо	89 (100 %)	21 (100 %)	110 (100%)	

При сравнение на двете променливи - полипоза и PND, не се установява статистическа значима зависимост, $p= 1.000$.

Фигура 17. Представяне разпределението на пациентите според PND и полипоза

3.4. PND и FEV1 (< 80% и ≥ 80%)

Разпределение на пациентите с хронична кашлица според спирометричния показател - форсиран експираторен обем за 1 секунда (FEV1 < 80% и ≥ 80%), показател за бронхообструкция измерен посредством функционално изследване на дишането (табл. 19).

Таблица 19. Честотно разпределение на пациентите с хронична кашлица според FEV1 < 80% и ≥ 80%, представени в брой (%)

		Честота	Процент	Валидиран процент	Кумулативен процент
FEV1	<80%	14	12.7	12.7	12.7
	≥80%	96	87.3	87.3	100.0
	Общо	110	100.0	100.0	

От таблицата се вижда, че при 14 пациента (12.7%) с хронична кашлица е измерен FEV1 < 80%, които са били с бронхообструкция, докато при 96 (87.3%) не се установява такава.

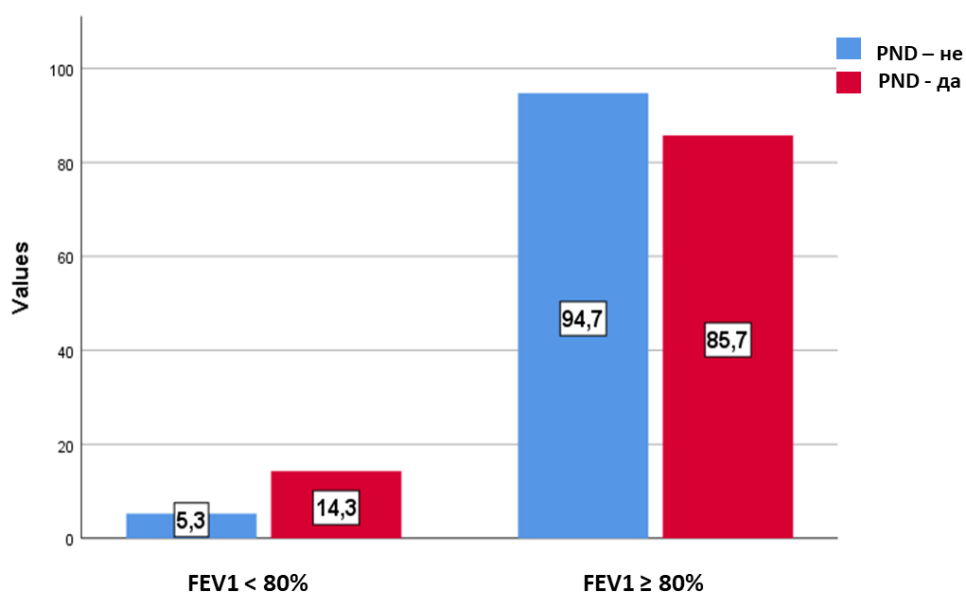
Потърсихме зависимост между PND и FEV1 ($< 80\%$ и $\geq 80\%$) сред пациентите с хронична кашлица в подкрепа на връзката между двата дихателни пътя (ГДП и ДДП) (табл. 20, фиг. 18).

Таблица 20. Разпределение и зависимост между променливите PND и FEV1 ($< 80\%$ и $\geq 80\%$), представени в брой (%)

Показател	FEV1 $< 80\%$	FEV1 $\geq 80\%$	Общо	p-value
PND - не	1 (5.3%)	18 (94.7%)	19 (100%)	p= 0.457
PND - да	13 (14.3%)	78 (85.7%)	91 (100%)	
Общо	14 (12.7 %)	96 (87.3 %)	110 (100%)	

При 13 пациента (14.3%) се установява PND и бронхиална обструкция FEV1 $< 80\%$, докато по-голям е броят на пациентите без бронхиална обструкция (FEV1 $\geq 80\%$) и PND 78 (85.7%). В популацията от която е направена извадката не се очаква тези честоти да се различават статистически значимо. При използване на точния критерий на Фишер не се установява значима зависимост между двете променливи PND и FEV1 (p= 0.457).

Фигура 18. Представяне разпределението на пациентите според PND и FEV1



3.5. PND и FEF₂₅₋₇₅ ($\leq 65\%$ и $> 65\%$)

Разпределение на пациентите с хронична кашлица според спирометричния показател FEF₂₅₋₇₅ - форсиран експираторен поток между 25% и 75% от FVC (табл. 21), като ранен маркер за увреждане на дихателните пътища. Доказано е, че FEF₂₅₋₇₅ е надежден маркер за определяне хиперреактивност на МДП и ранно бронхиално засягане при алергичен ринит.

Таблица 21. Честотно разпределение на пациентите с хронична кашлица според FEF₂₅₋₇₅

Разпределение по FEF ₂₅₋₇₅					
		Честота	Процент	Валидиран процент	Кумулативен процент
FEF ₂₅₋₇₅	$> 65\%$	84	75.7	76.4	76.4
	$\leq 65\%$	26	23.4	23.6	100.0
	Total	110	99.1	100.0	

От таблицата се вижда, че при 26 пациента (23.6%) с хронична кашлица е измерен FEF₂₅₋₇₅ $\leq 65\%$ което е показател за засягане на МДП, докато при 84 (76.4%) не се установява такова засягане.

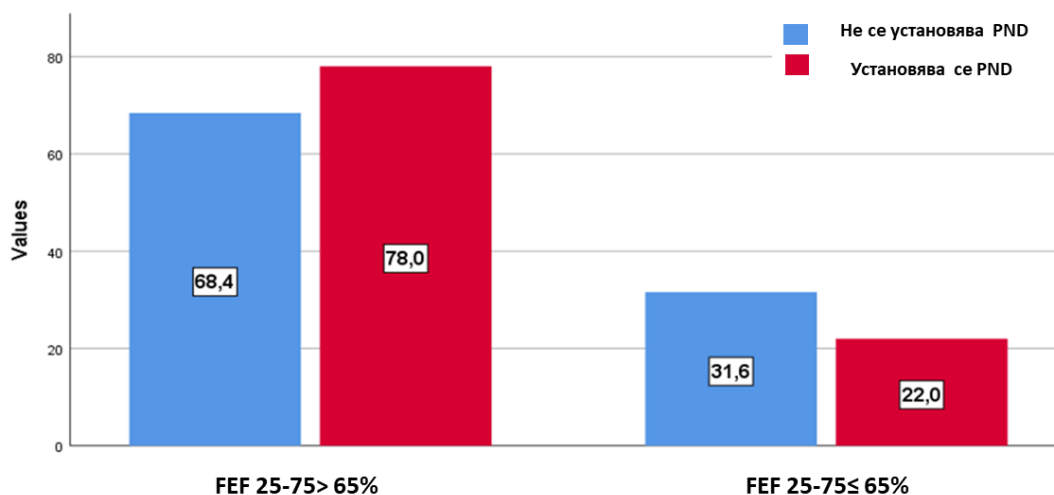
Потърсихме зависимост между PND и FEF₂₅₋₇₅ ($\leq 65\%$ и $> 65\%$) сред изследваните пациентите с хронична кашлица (табл. 22).

Таблица 22. Разпределение и зависимост между променливите PND и FEF₂₅₋₇₅ ($\leq 65\%$ и $> 65\%$)

Показател	FEF ₂₅₋₇₅ $> 65\%$	FEF ₂₅₋₇₅ $\leq 65\%$	Общо	p-value
PND - не	13 (68.4%)	6 (31.6%)	19 (100%)	p= 0.383
PND - да	71 (78 %)	20 (22 %)	91 (100%)	
Общо	84(76.4 %)	26 (23.6%)	110 (100%)	

При 20 пациента (22%) се установява PND и $FEF_{25-75} \leq 65\%$, докато по-голям е броят на пациентите без засягане на МДП и PND -71 (78%), (фиг. 19). Не открихме зависимост между двете променливи ($p = 0.383$).

Фигура 19. Представяне разпределението на пациентите според PND и FEF_{25-75}



3.6. PND и сенсibilизация към полени

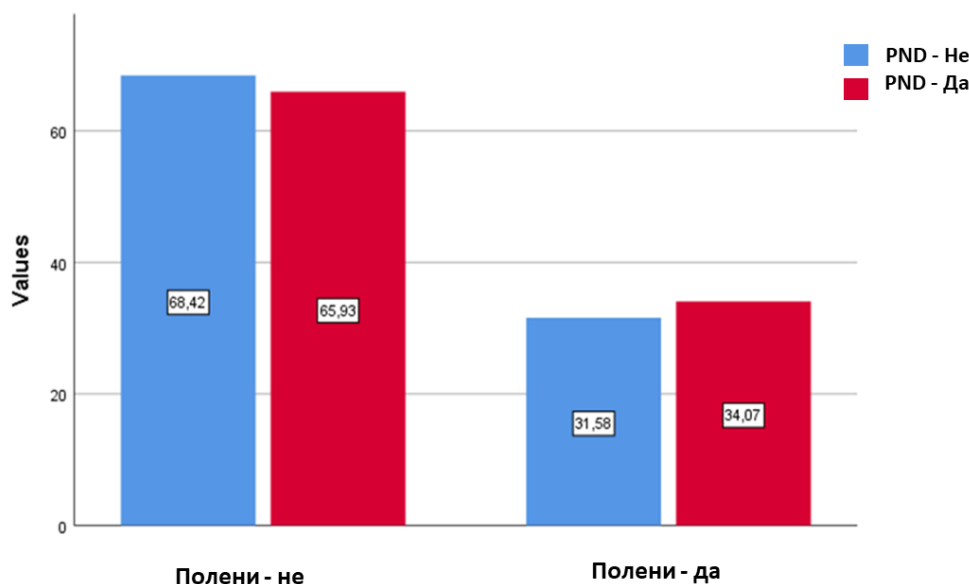
Потърсихме зависимост между PND и сенсibilизация към най-честите полени (бреза, върба, бук, живовляк, амброзия, пелин и треви) установена посредством SPT и клинично проявена със симптоми на AP и/или БА (табл. 23). Установихме, че 37 души (33.6%) са сенсibilизирани към полени, докато при 73 (66.4%) не се установява положителна кожна реактивност към тях.

Таблица 23. Разпределение и зависимост на променливите PND и Полени, представени в брой (%).

Показател	Полени - не	Полени - да	Общо	p-value
PND - не	13 (68.4%)	6 (31.6%)	19 (100%)	p=1.000
PND - да	60 (65.9%)	31 (34.1%)	91 (100%)	
Общо	73(66.4%)	37 (33.6%)	110 (100%)	

При 31 (34.1%) пациента с хронична кашлица и PND се установява полиноза, докато при 60 души (65.9%) не се установява поленова сенсibilизация (фиг. 20). Не се установява статистически значима зависимост между двете променливи ($p=1.000$).

Фигура 20. Представяне на пациентите с PND и сенсibilизация към полени



3.7. PND и сенсibilизация към акари от домашен прах

Потърсихме зависимост между PND и сенсibilизацията към акари от домашен прах сред изследваните пациенти (табл. 24).

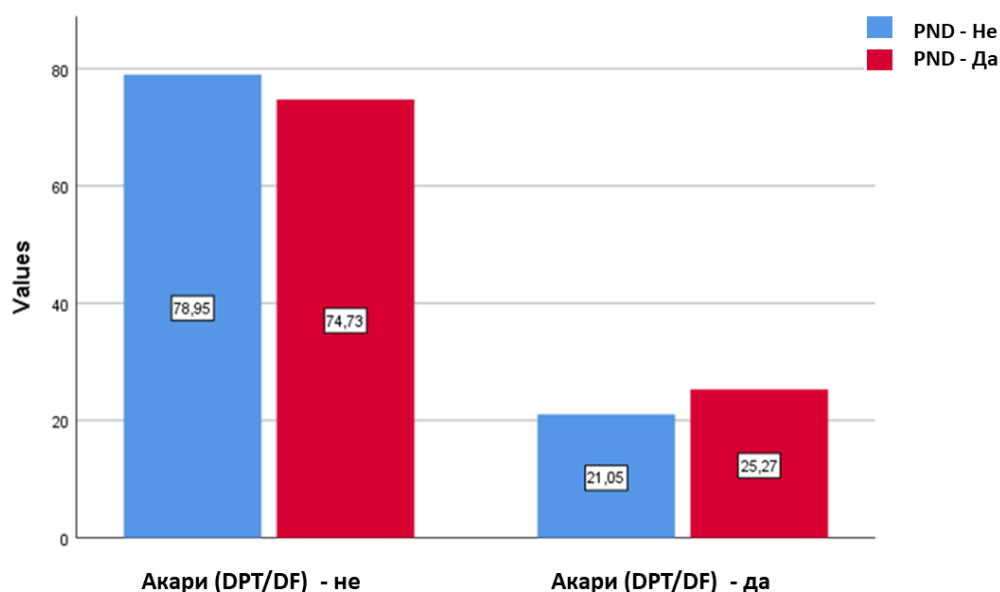
Таблица 24. Разпределение и зависимост на променливите PND и сенсibilизация към акари от домашен прах (DPT/DF), представени в брой (%)

Показател	Акари (DPT/DF) - не	Акари (DPT/DF) - да	Общо	p-value
PND - не	15 (78.9%)	4 (21.1%)	19 (100%)	p=1.000
PND - да	68 (74.7%)	23 (25.3%)	91 (100%)	
Общо	83 (75.5%)	27 (24.5%)	110 (100%)	

При 23 (25.3%) пациента с хронична кашлица с PND се установява сенсibilизация към акари от домашен прах, докато липсва такава при 68 (74.7%)

пациента (фиг. 21). Точният критерий на Фишер показва, че няма статистически значима зависимост между променливите PND и акари – $p=1.000$.

Фигура 21. Представяне на пациентите с PND и сенсibilизация към акари от домашен прах (DPT/DF)



4. Давност на кашлицата и на възпалителните заболявания от ГДП

Давността на кашлицата и на възпалителните заболявания на ГДП, определихме като времеви интервал от началото на симптомите до момента на включване на пациентите в изследването. По този показател обособихме четири групи пациенти, представени на таблица 25.

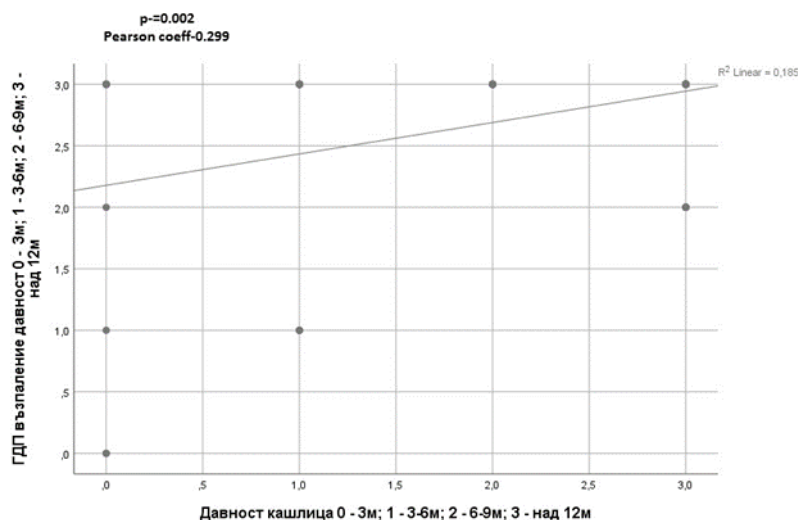
Таблица 25. Представяне на давността по месеци на възпалителните заболявания на ГДП и хронична кашлица. Данните са представени в брой (%)

Давност	Възпаление на ГДП	Кашлица
3 месеца	2 (1.8%)	10 (9.1%)
3-6 месеца	5 (4.5%)	14 (12.7%)
6-9 месеца	7 (6.4%)	8 (7.3%)
Над 12 месеца	96 (87.3%)	78 (70.9%)
Общо	110 (100%)	110 (100%)

В проведеното клинично изследване преобладават пациентите с възпалителни заболявания на ГДП с давност над 12 месеца - 96 болни (87.3%) и хронична кашлица над 12 месеца - 78 болни (70.9%).

За давността на двете състояния – възпаление на ГДП и хронична кашлица, извършихме корелационен статистически анализ. Между двете променливи се установи слаба, но статистическа значима положителна корелация $r=0.299$, $p=0.002$ (фиг. 22).

Фигура 22. Корелационна зависимост между давността на възпаление на ГДП и давност на хроничната кашлица. Силата на корелация е оценена с коефициент на Pearson при съответното ниво на значимост



За целите на статистическия анализ данните на отделните четири групи по давност на протичане по месеци обединихме и представихме в две групи – **1 група** включва пациентите с давност на състоянието (възпаление на ГДП и кашлица) от 3-9 месеца и **2 група** – над 12 месеца, представени на таблици 26 и 27.

Таблица 26. Честотно разпределение на пациентите с ХК по давност на възпалението на ГДП

Давност на възпалението на ГДП					
		Честота	Процент	Валидиран процент	Кумулативен процент
Давност	Група 1	14	12.7	12.7	12.7
	Група 2	96	87.3	87.3	100.0
	Общо	110	100.0	100.0	

Таблица 27. Честотно разпределение на пациентите с ХК по давност на кашлицата

Давност на кашлицата					
		Честота	Процент	Валидиран процент	Кумулативен процент
Давност	Група 1	32	29.1	29.1	29.1
	Група 2	78	70.9	70.9	100.0
	Общо	110	100.0	100.0	

Потърсихме зависимост между давност на възпалението на ГДП и давност на хроничната кашлица (табл. 28).

Таблица 28. Представяне на зависимост между възпалителните заболявания на ГДП и хронична кашлица, според давността на състоянието. Данните са представени в брой (%), оценени чрез ниво на значимост p

			Давност на възпалението на ГДП		Общо	p-value
			Група 1	Група 2		p= 0.024
Давност на кашлицата	Група 1 (3-9 м)	Брой	8	24	32	
		%	57.1%	25.0%	29.1%	
	Група 2 (≥ 12 м)	Брой	6	72	78	
		%	42.9%	75.0%	70.9%	
Общо		Брой/%	14 (100%)	96 (100%)	110 (100%)	

След проведеното обединение на пациентите в две групи, отново преобладават пациентите с възпалителни заболявания на ГДП и хронична кашлица с давност на състоянието над 12 месеца. Потърсихме зависимост между двете променливи – давност на възпалението на ГДП и давност на хроничната кашлица. Установи се, че между тях има статистически значима разлика $p=0.024$, което показва силната връзка на хроничния процес на кашлицата с по-голямата давност на възпалението на ГДП.

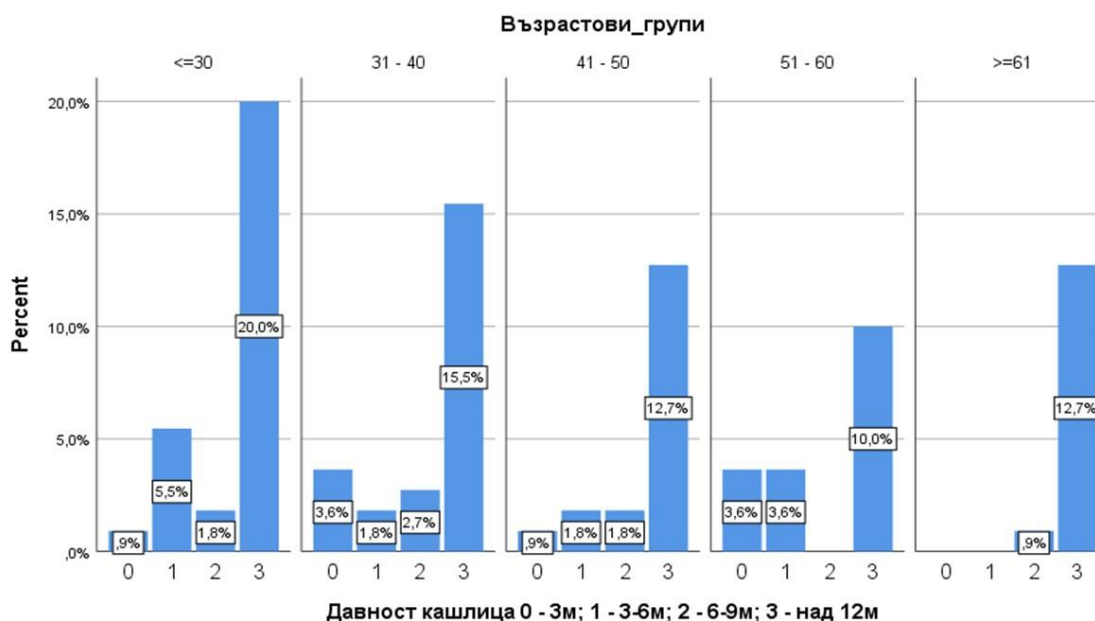
4.1. Разпределение на пациентите по възрастови групи според давността на кашлицата

Най-висок е процента на пациентите с хронична кашлица с давност над 12 месеца във възрастовата категория 18-30 г (20%).

При давност на кашлицата над 12 месеца, разпределението на възрастовите групи по проценти е както следва (фиг. 23):

- Във възрастовата група 18-30 г - 20%
- Във възрастовата група 31-40 г – 15.5%
- Във възрастовата група 41-50 г – 12.7%
- Във възрастовата група 51-60 г – 10%
- Във възрастовата група ≥ 60 г – 12%

Фигура 23. Разпределение на пациентите според давността на кашлицата по възрастови групи



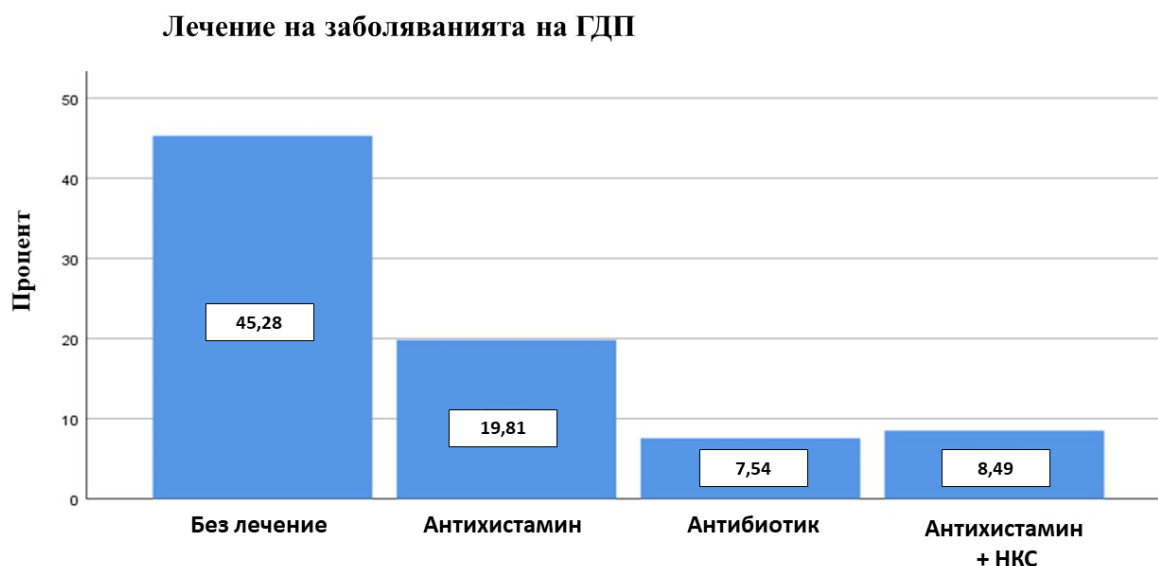
Разпределение на пациентите според терапевтичното им поведение, преди диагностициране на хроничната кашлица

Представяне на най-често провежданото лечение при пациентите със симптоми от ГДП и кашлица до постъпването им в клинична обстановка за диагностично уточняване. Установено беше, че до диагностициране на хроничната кашлица голяма част от пациентите не са провеждали лечение.

4.2. Терапевтично поведение на възпалителните заболявания от ГДП преди постъпване на пациентите в клинична обстановка за диагностика и лечение

Сред пациентите постъпили в Клиниката по Алергология за диагностично уточняване на кашлицата най-често са провеждали следното лечение по повод на оплакванията от ГДП: с антихистамини са лекувани – 21(19.8%) души; антибиотик са приемали - 8 (7.5%); комбинацията от антихистамин с локален назален кортикостероид - 9 от пациентите (8.5%), а без лечение са били - 48 от пациентите (45.3%), (фигура 24).

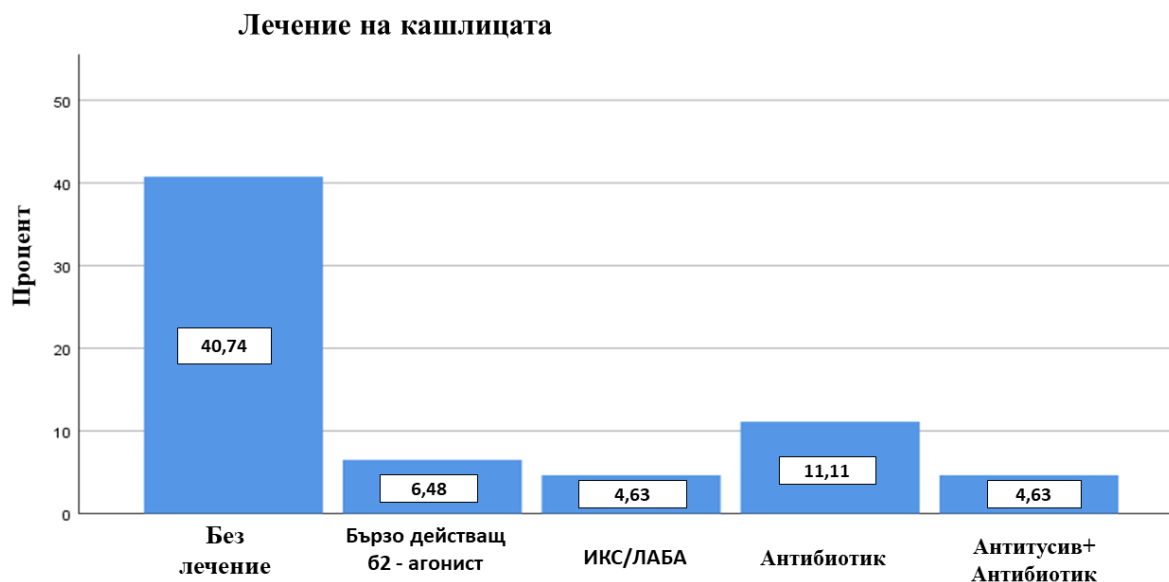
Фигура 24. Представяне на лечението на заболяванията от ГДП при изследваните пациенти преди хоспитализация



4.3. Терапевтично поведение на кашлицата преди постъпване на пациентите в клинична обстановка за диагностика и лечение

Сред пациентите с кашлица най-често провежданото лечение: с антибиотик са се лекували - 12 пациента (11.1%); бързо действащ б-2 агонист са прилагали - 7 души (6.5%); комбинацията инхалаторен кортикостероид / дългодействащ б-2 агонист (ИКС/ЛАБА) - 5 пациента (4.6%); антитусивни средства с антибиотик - 5 (4.6%) от болните постъпили за диагностично уточняване, а без лечение са били 44 от пациентите (40.7%) (фиг. 25).

Фигура 25. Представяне на лечението на кашлицата при изследваните пациенти преди хоспитализация



5. Идентифициране на най-честите причини за хронична кашлица сред изследваните пациенти

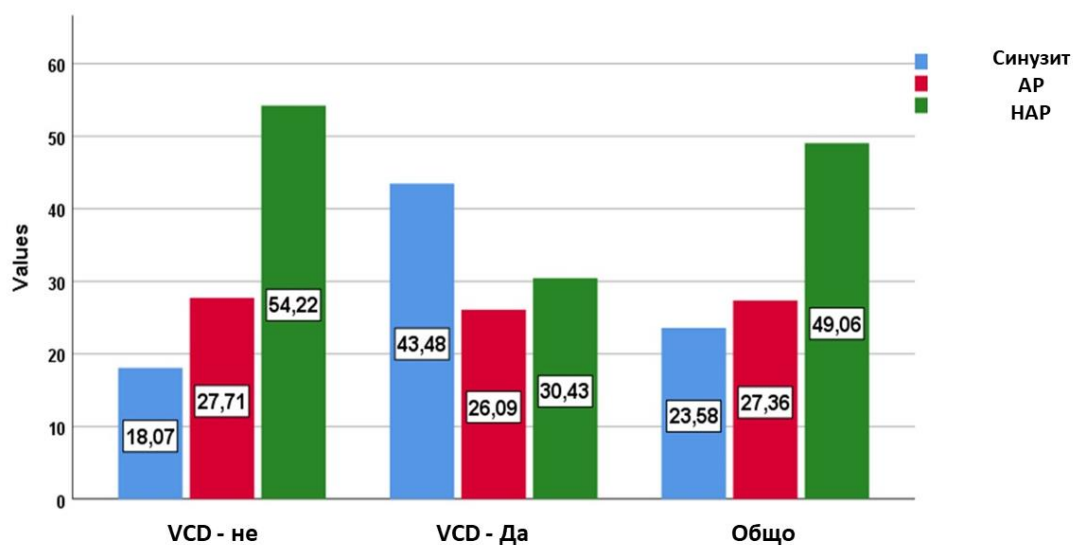
5.1. Дисфункция на гласните връзки (Vocal Cord Dysfunction - VCD)

От изследваните 110 пациента с кашлица, посредством провеждане на физикален преглед, консултация с УНГ специалист се установи при 23 (20.9%) души ларингеална дисфункция на гласните връзки (VCD). При по-голямата част от тези пациенти 21 (91.3%) се установи PND по задна фарингеална стена. От всички пациенти с VCD с възпалителни заболявания на ГДП са: 10 (43.5%) със синусит, с придружаващ AP са 6 (20.7%), а с НАР 7 (13.5%), (фиг. 26). Потърсихме зависимост между VCD и възпалителното заболяване на ГДП - синусит, вида на ринита. Точният критерий на Фишер показва, че се установява статистическа зависимост между показателите – $p=0.030$, (табл. 29).

Таблица 29. Разпределение и зависимост между VCD и възпалителното заболяване от ГДП

Възпаление на ГДП	VCD - не	VCD - да	Общо	p-value
Синузит	15 (18.1%)	10 (43.5%)	25 (23.6%)	p= 0.030
АР	23 (27.7 %)	6 (26.1%)	29 (27.4 %)	
НАР	45 (54.2 %)	7 (30.4%)	52 (49.1 %)	
Общо	83 (100%)	23 (100%)	106 (100%)	

Фигура 26. Представяне на пациентите с VCD и възпалителните заболявания от ГДП



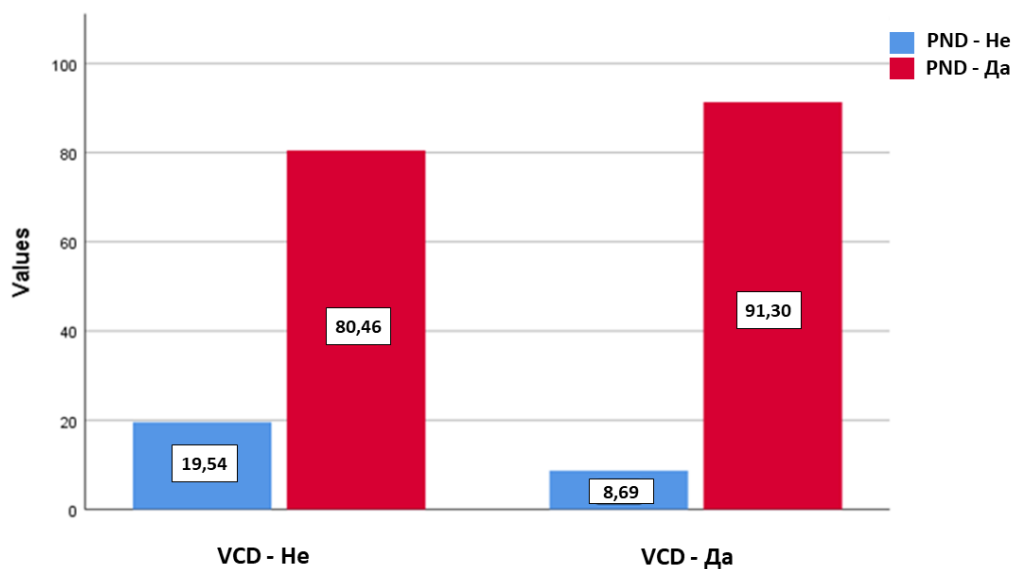
Сред пациентите с VCD потърсихме има ли значение за кашлицата симптомът на задно носно стичане (табл. 30).

Таблица 30. Разпределение и зависимост между VCD и PND сред пациентите с хронична кашлица, представени в брой (%)

Показател	VCD - не	VCD - да	Общо	p-value
PND - не	17 (19.5%)	2 (8.7%)	19 (17.3%)	p= 0.353
PND - да	70 (80.5%)	21 (91.3%)	91 (82.7%)	
Общо	87 (100%)	23 (100%)	110 (100%)	

В изследваната популация с хронична кашлица, от които 23 души са с VCD, при 21 (91.3%) от тях се установява PND по задна фарингеална стена. Не се открива PND при 2 (8.7%) от пациентите с VCD. Точният критерий на Фишер показва, че не се установява статистически значима зависимост между променливите – $p=0.353$. Въпреки липсата на значима разлика, в по-големият процент от пациенти с VCD се открива PND (фиг. 27), който е една от причините за директното дразнене на гласните връзки.

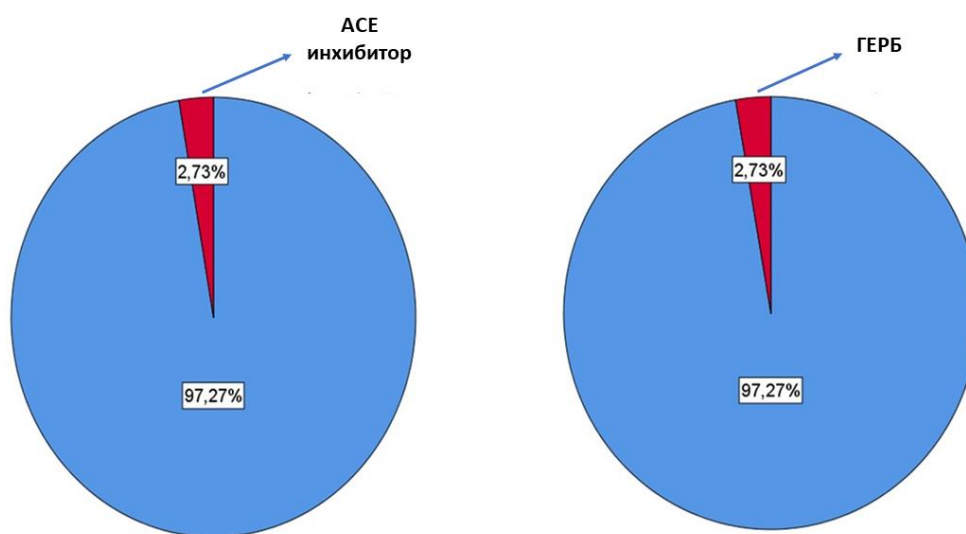
Фигура 27. Представяне на пациентите с VCD и PND



5.2. Други причини за хронична кашлица

На базата на подробни анамнестични данни, инструментални методи - провеждане функционално изследване на дишането при пациентите с хронична кашлица за изключване на бронхиална астма, рентгенография на гръден кош, консултация с кардиолог при пациенти с артериална хипертония приемащи инхибитори на ангиотензин конвертиращия ензим (АСЕ - инхибитор), при малък брой пациенти се установи по-рядка причина за кашлицата в изследваната популация - при 3 души (2.7%) – кашлица индуцирана от прием на АСЕ - инхибитор. При други 3 души (2.7%) се установи гастроезофагиална рефлуксна болест (ГЕРБ), поради анамнестични данни за пирозис и след консултация с гастроентеролог, от УНГ специалист се установи промяна в долната част на лигавицата на фаринкса от рефлукса на киселинно стомашно съдържимо (фиг. 28).

Фигура 28. Представяне на по-рядко срещаната причина за хронична кашлица при изследваните пациенти



5.3. Новодиагностицирана бронхиална астма

5.3.1. Асоциация между ринит и бронхиална астма

От всички пациенти с хронична кашлица - 110, при **24 (21.8%)** от тях се установи новодиагностицирана бронхиална астма.

Разпределението на пациентите според вида на ринита и новодиагностицирана бронхиална астма са представени на таблица 31 и фигура 29. Потърсихме зависимост между вида на ринита и развитието на бронхиална астма.

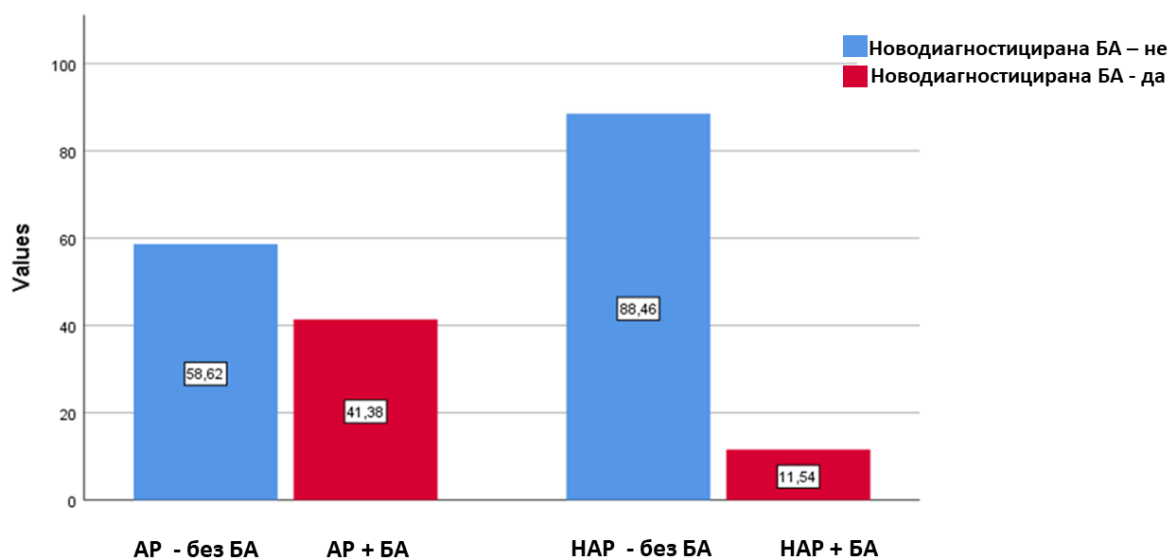
Таблица 31. Разпределение и зависимост между вида на ринита и новодиагностицирана бронхиална астма

Показател	АР	НАР	Общо	p-value
Новодиагностицирана БА - не	17 (58.6%)	46 (88.5%)	63 (77.8%)	p= 0.004
Новодиагностицирана БА - да	12 (41.4%)	6 (11.5%)	18 (22.2%)	
Общо	29 (100%)	52 (100%)	81(100%)	

Сред изследваните пациенти се открива статистически значима зависимост между вида на ринита и новодиагностицирана бронхиална астма. Алергичният ринит се асоциира с висок коморбидитет с бронхиална астма, спрямо пациентите с неалергичен ринит - **12 (41.4%)** спрямо **6 (11.5%), p=0.004**.

При пациентите с риносинусит при **18 души (19.4%)** от тях се диагностицира бронхиална астма, като при пациентите само със синусит (без АР или НАР), новодиагностицирана БА се установи при 6 души. Тези данни са в подкрепа на доказателство за връзката между възпалителните заболявания на горните и долни дихателни пътища.

Фигура 29. Представяне на пациентите с ринит и новодиагностицирана бронхиална астма



5.3.2. Атопия и бронхообструкция

Потърсихме връзка между атопичния статус на пациентите, проявяващ се с полиноза и бронхиална обструкция ($FEV1 < 80\%$) при пациентите с хронична кашлица (табл. 32).

Таблица 32. Разпределение и зависимост между полиноза и форсиран експираторен обем за 1 секунда ($FEV1$) при пациентите с хронична кашлица

Показател	Полиноза - не	Полиноза - да	Общо	p-value
$FEV1 < 80\%$	10 (13.7%)	4 (10.8%)	14 (12.7 %)	p= 0.770
$FEV1 \geq 80\%$	63 (86.3%)	33 (89.2%)	96 (87.3%)	
Общо	73 (100 %)	37 (100 %)	110 (100%)	

Само при 4 пациента (10.8%) се установява бронхиална обструкция и полиноза.

От таблицата се вижда, че не се установява зависимост между двете променливи $FEV1$ и полиноза сред изследваната популация, $p = 0.770$.

6. Характеризиране на пациентите с хронична кашлица според вида на ринита - алергичен и неалергичен ринит

Потърсихме зависимост между вида на ринита и някои характеристики – давност на кашлицата, пол и възраст, функционални и хематологични показатели.

6.1. Вида на ринита и давност на кашлицата

Потърсихме зависимост между вида на ринита и давност на кашлицата сред пациентите участващи в изследването, представени на таблица 33.

Таблица 33. Определяне зависимостта между вида на ринита и продължителност на кашлицата. Показателите са представени в брой (%)

Продължителност на кашлицата	Алергичен ринит брой (%)	Неалергичен ринит брой (%)	p - value
3 месеца	1(3.4)	5(9.6)	p=0.587
3-6 месеца	2(6.9)	7(13.5)	
6-9 месеца	2(6.9)	5(9.6)	
Над 12 месеца	24(82.8)	35(67.3)	

Не се установи статистическа значима зависимост между вида на ринита и давността на кашлицата, изчислена посредством Точния критерий на Фишер, $p=0.587$. Това показва, че вида на ринита не влияе върху продължителността на кашлицата.

6.2. Потърсихме зависимост между пола на пациентите с хронична кашлица и вида на ринита

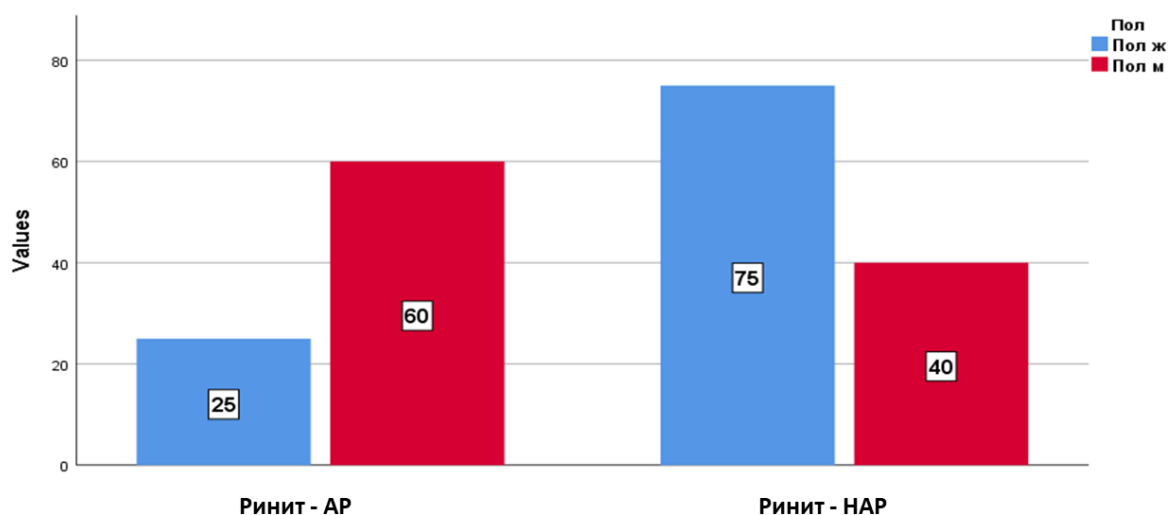
Точният критерий на Фишер показва, че има статистически значима зависимост между пола и вида на ринита (АР – НАР, $p=0.005$). На таблица 24 се вижда, че 75% от жените имат НАР, докато при мъжете този процент е 40%. Това до голяма степен определя установената зависимост (различна честота на НАР – по-голяма при жените), докато при мъжете по-голяма е честотата на АР – 60% срещу 25% при жените.

Разпределение на пациентите според пола и вида на ринита са представени на таблица 34 и фигура 30.

Таблица 34. Разпределение и зависимост между пола и вида на ринита сред пациентите с хронична кашлица, представени в брой (%)

Пол	Алергичен ринит Брой/процент	Неалергичен ринит Брой/процент	p=value
женски	14 (25%)	42 (75%)	p=0.005
мъжки	15 (60%)	10 (40%)	

Фигура 30. Разпределение на пациентите по пол и вида на ринита



6.3. Потърсихме зависимост между възрастта и вида на ринита на пациентите участващи в изследването

Таблица 35. Разпределение по възраст на изследваните пациенти според вида на ринита

Показатели	Средна стойност	Брой	Стандартно отклонение	Медиана	Минимум	Максимум
1-АР	34.97	29	12.049	34.00	18	63
2-НАР	41.58	52	15.674	39.00	20	69
Общо	39.21	81	14.751	36.00	18	69

Tests of Normality							
	Ринит 1 - АР; 2 - НАР	Kolmogorov-Smirnov(a)			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Възраст	1- Алергичен ринит	,118	29	,200(*)	,949	29	,173
	2-Неалергичен ринит	,152	52	,004	,919	52	,002
* This is a lower bound of the true significance.							
a Lilliefors Significance Correction							

За проверка на нормалното разпределение (test of normality) на възрастта на пациентите беше използван тестът на *Shapiro-Wilk*. Относно възрастта на пациентите с алергичен ринит 34.97 ± 12.049 и неалергичен ринит 41.58 ± 15.674 не се установи статистически значима разлика ($p=0.109$) в популацията от която е направена извадката (табл. 35).

6.4. Зависимост между вида на ринита и някои показатели от функционалното изследване на дишането

За да анализираме данните с цел оценка на зависимостта между вида на ринита (АР или НАР) и засягане на дихателните пътища, оценени чрез функционалните показатели FEV1 и FEF₂₅₋₇₅, използвахме Chi-square (χ^2) тест.

6.4.1. Потърсихме зависимост между вида на ринита и FEV1

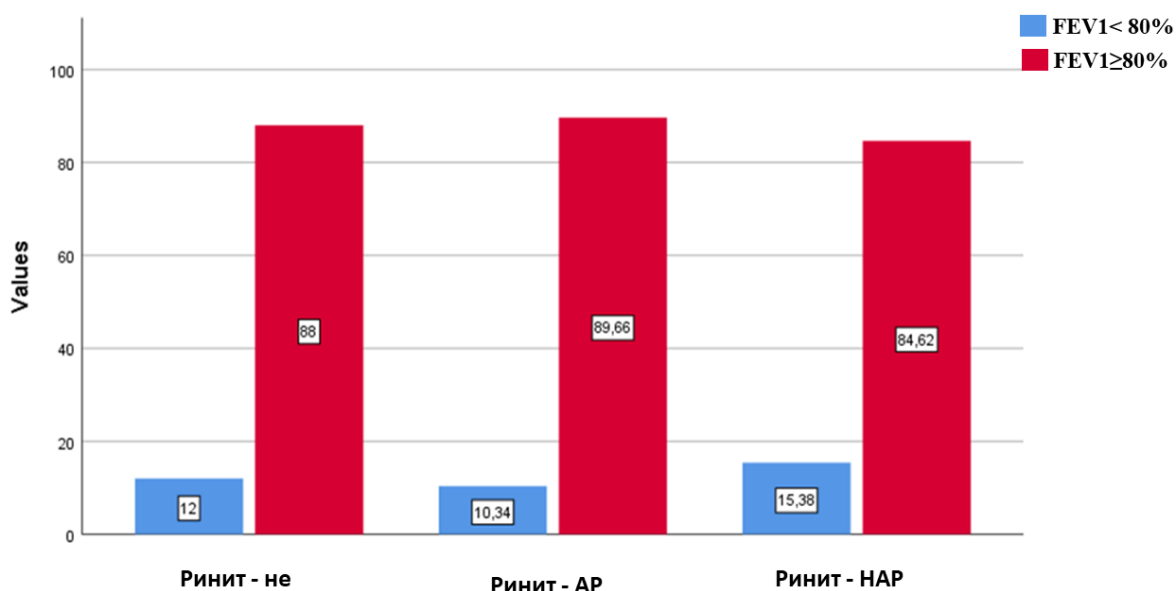
Разпределението на пациентите според вида на ринита и FEV1 са представени на таблица 36 и фигура 31.

Таблица 36. Разпределени и зависимост между вида на ринита и FEV1 сред пациентите с хронична кашлица, представени в брой (%)

Показател	Ринит - не	АР	НАР	Общо	p-value
FEV1 < 80%	3 (12%)	3(10.3%)	8 (15.4%)	14 (13.2%)	p= 0.797
FEV1 ≥ 80%	22(88%)	26(89.7%)	44(84.6%)	92(86.8%)	
Общо	25(100 %)	29(100 %)	52 (100%)	106 (100%)	

Не се установява връзка между вида на ринита (АР и НАР) и форсирания експираторен обем за 1 секунда (FEV1), тъй като резултатът на полученото $p = 0.797$ не е статистически значим.

Фигура 31. Разпределение на пациентите според вида на ринита и FEV1



6.4.2. Вид на ринита и FEF₂₅₋₇₅

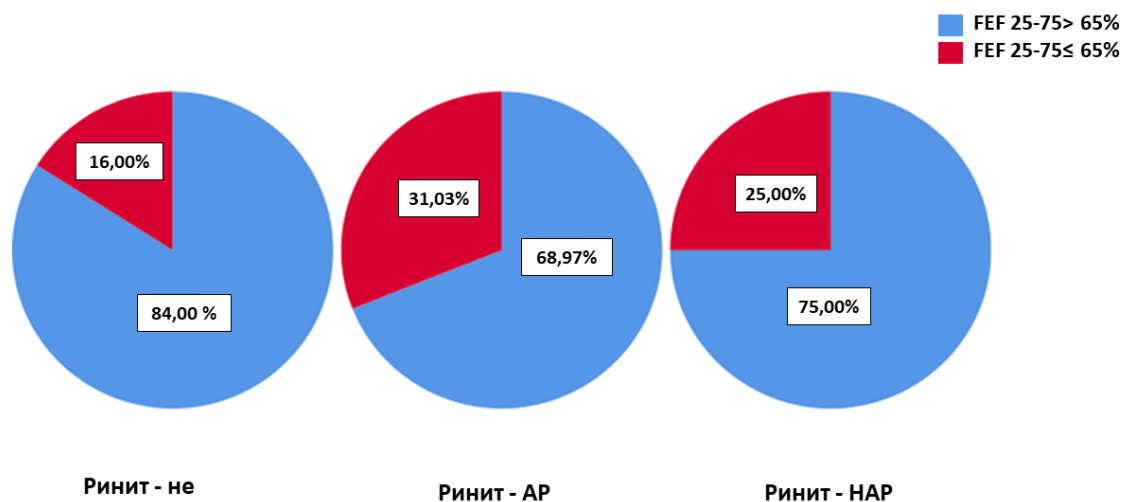
Потърсихме зависимост между вида на ринита и засягане на малките дихателни пътища в бронхиалното дърво, оценено посредством функционалния показател FEF_{25-75} . Разпределението на пациентите според вида на ринита и FEF_{25-75} са представени на таблица 37 и фигура 32.

Таблица 37. Разпределение и зависимост между вида на ринита и FEF_{25-75} сред пациентите с хронична кашлица, представени в брой (%)

Показател	Ринит - не	АР	НАР	Общо	p-value
$FEF_{25-75} > 65\%$	21(84%)	20 (69%)	39 (75%)	80 (75.5%)	p= 0.438
$FEF_{25-75} \leq 65\%$	4 (16%)	9 (31%)	13 (25%)	26 (24.5%)	
Общо	25 (100 %)	29 (100 %)	52 (100%)	106(100%)	

Не се установява статистически значима зависимост между вида на ринита (АР и НАР) и FEF_{25-75} ($p = 0.438$).

Фигура 32. Графично представяне разпределението на пациентите според вида на ринита и FEF_{25-75}



6.5. Зависимост между вида на ринита и хематологични показатели

Според вида на ринита се потърси връзка с хематологичните показатели получени от кръвни изследвания. От проведените параклинични изследвания се установява

статистически значима разлика по отношение вида на ринита (между АР и НАР) спрямо скорост на утаяване на еритроцитите (СУЕ), $p=0.015$ и стойностите на хемоглобина ($p=0.029$), докато липсва такава по отношение на останалите количествени показатели: абсолютен брой еозинофили, левкоцити и С – реактивен протеин (CRP), (табл. 38). За статистическа обработка на резултатите е използван теста на Ман – Уитни.

Таблица 38. Представяне на връзката между вида на ринита - алергичен и неалергичен и параклиничните изследвания проведени от кръвен тест. Данните са представени като средна стойност $\pm$ SD

Показател	Алергичен ринит	Неалергичен ринит	p - value
WBC ($\times 10^9/l$)	7.63 $\pm$ 2.73	6.65 $\pm$ 1.84	p=0.104
Hb g/l	145.85 $\pm$ 10.9	139.16 $\pm$ 13.17	p=0.029
Eo ($\times 10^9/l$)	50.23 $\pm$ 254.9	14.23 $\pm$ 98.96	p=0.326
СУЕ mm/h	5.04 $\pm$ 4.37	7.82 $\pm$ 5.9	p=0.015
CRP mg/l	4.02 $\pm$ 7.03	3.01 $\pm$ 5.63	p=0.608

От таблицата се вижда по-висок абсолютен брой еозинофили (Ео $\times 10^9/l$ - **50.23**) в групата пациенти с АР спрямо тези с НАР (Ео $\times 10^9/l$ - **14.23**), но въпреки трикратно по-голямата разлика между тях липсва статистически значима разлика.

VI. Обсъждане

В проучванията си изследвахме две групи – *първата* с алергично възпалително заболяване на ГДП и ДДП, проявяващо се с АР и лека атопична БА и *втора група*, включва болни с хронична кашлица и водещо възпалително заболяване на ГДП. При всяка една от групите пациенти имаше контролна група от здрави лица.

При първата група пациенти с алергично възпаление на респираторния тракт, проведохме изследване на цитокинов профил от назален лаваж и кръвен серум за оценка на локалното алергично възпаление на носната лигавица както и в системното

кръвообращение, за да се оцени влиянието на възпалителния процес на системно ниво в целият дихателен път.

1. Обсъждане на резултатите от първа група пациенти с изследван цитокинов профил

За да оценим алергичното възпаление на локално и системно ниво, изследвахме цитокинов профил при пациенти с алергични респираторни заболявания засягащи дихателния път.

Проучването имаше за цел да оцени и опише връзката между АР и БА по отношение на участието на възпалителни и регулаторни цитокини, някои с плеiotропно действие в алергичното възпаление при засягане на единния дихателен път. Изследването на ключовите протеини се осъществи от назален лаваж и кръвен серум, които са събирани извън поленов сезон, с което се очакват по-ниски нива спрямо изследването им при повишена алергенна концентрация в околната среда, както е описано в литературата [274]. Вземането на назален лаваж е лесно достъпно и безопасно за пациента за изпълнение в клиничната практика. Може да се разгледа като методологичен подход за рутинно изпълнение.

1.1. Демографски характеристики

В проведеното разпределение на изследваните лица по демографски характеристики, средната възраст на изследваните подгрупи пациенти с АР и АР+БА е 33 години, а на здравите контроли 31 години. Преобладаващият пол сред пациентите е мъжки (АР -70.3%, АР+БА – 72.7%), а сред изследваните здрави контроли – женски пол (60%). При проведения статистически анализ, не установихме значима разлика на показателите пол и възраст между изследваните подгрупи.

Въз основа на проведен системен анализ сред пациенти от цял свят, преобладава мъжкият пол при разпространението на съпътстващи АР и астма в детска възраст. При подрастващите се наблюдава изместване към женския пол. Такава промяна е по-слабо изразена за АР. Въпреки това, специфичните за пола данни за над 14-годишна възраст са оскъдни, поради което са необходими допълнителни проучвания относно алергичната коморбидност в различни популации, особено при възрастни [275].

По данни от литературата АР и БА засягат предимно момчетата, но в зряла възраст водещ е женския пол. Въпреки това, не е ясно дали това разпространение на смяната на пола при съответното алергично респираторно заболяване се среща и при АР и съпътстваща астма [276].

1.2. Вид на сенсibiliзацията

При разпределение на подгрупите пациенти по **сезонност** на протичане на алергичното заболяване се установи, че в най-голям процент от пациентите са с водещо сезонно протичане на алергичното заболяване. Не се установи значима разлика относно сезонността между двете изследвани групи с АР и АР+БА, ($p=0.392$). Относно давността на алергичното заболяване установихме, че продължителността на протичане на АР при 70 пациента (98.6%) е с повече от 3 години.

Според вида сенсibiliзация, определихме **атопичния статус** на пациентите с алергични респираторни заболявания, засягащи ГДП и ДДП установихме, че водещите алергени към които са сенсibiliзирани изследваните от нас пациенти са със сезонна характеристика. Най-голям брой пациенти са със сенсibiliзация към дървесни полени (83.58%) следвани от пациенти със сенсibiliзация към плевели (76.12%) и тревни полени (71.64%).

1.3. Функционално изследване на дишането

А по отношение на функционалното изследване на дишането, установихме статистически значима разлика за всички функционални показатели (FVC, FEV1, FEV1/FVC, FEF25, FEF50, FEF25-75, PEF) между двете изследвани подгрупи (АР и АР+БА). Получените след статистическа обработка резултати на функционалните показатели са по-високи в подгрупата пациенти с АР спрямо подгрупата с АР+БА което показва, че въпреки леката по тежест БА има засягане на ДДП в подгрупата с АР+БА. Последното се доказва и с установените стойности на FEF25-75% (69.71 ± 22.01) **под 70%**, показател за засягане на МДП. Подобни данни се съобщават и в други проучвания. Ciprandi G. и сътр. [79] показват, че намаляването на FEF25-75 с повече от 70%, може да се приеме като *маркер за ранна бронхиална патология* при пациенти страдащи от АР.

Пациентите с АР и липсващи клинични данни за астма, често проявяват неспецифична БХР, което показва засягане на ДДП [46]. При тези пациенти когато

астмата се прояви, БХР може да се оцени посредством нарушения функционален FEF_{25-75} при измерени нормални FEV1 и FEV1/FVC [277].

1.4. Определяне на цитокинов профил в периферна кръв и назален лаваж

За нас беше важно да изследваме набор от цитокини в периферна кръв, за да установим системното им влияние върху отделните анатомични компоненти лежащи в основата на единния дихателния път, а за да установим и алергичното възпаление на локално ниво изследвахме цитокинов профил в назален лаваж.

Цитокините представляват разнообразна група имуномодулиращи, сигнални молекули с широк спектър на действие. Първоначално е установено, че произхождат от лимфоцитите, а днес е известно, че се произвеждат от много различни типове клетки включително имунни, структурни и органо-специфични. Те организират отговорите на гостоприемника към инфекция и травма, както и потенциално увреждащите реакции, наблюдавани при алергични, възпалителни и автоимунни заболявания. Цитокините играят съществена роля в медирането на алергичното възпаление [278]. Те са критични в алергичните междуклетъчни комуникационни мрежи и допринасят за патологията на заболяването чрез привличане и активиране на провъзпалителни левкоцити. Постоянните усилия за характеризиране на тези и други цитокини ще бъдат от съществено значение за разбирането на сложните патогенетични механизми, които стоят в основата на алергичното заболяване [279].

Участието на Th2 клетките и цитокини се открива в дихателните пътища на пациентите с алергична БА и броят на инфилтриращите Th2 клетки положително корелира с тежестта на заболяването [280]. Затова Th2 се разглеждат като ключови клетки в патогенезата на алергичните заболявания.

Известно е, че АР и един от фенотипите на БА са Th2-доминиращи нарушения с главна роля на цитокините IL-4, IL-5, IL-13. IL-4 има съществено значение за производството на IgE. IL-5, участва в крайната диференциация и оцеляване на еозинофилите, а главната роля на IL-13 е да стимулира секрецията на слуз, хиперреактивност на дихателните пътища и тъканното ремоделиране [279]. Участие в Th2 възпалителния отговор в патогенезата на АР и БА намира и IL-33 [281].

Участието на цитокините от други подгрупи на Т-клетки също представляват интерес в нашето изследване. През последните години се заговори за участие на Th17 и

освободените от тях интерлевкини - IL-17A при алергичното възпаление. Някои автори откриват повишени нива на IL-17 сред пациентите с АР и връзка с тежестта на протичането му [231], но ролята им все още се оспорва. IL-23 е в тясна връзка и са необходими за пълното придобиване на ефекторна функция на Th17 клетките [235], докато IL-27 е **регулаторен цитокин**, инхибиращ Th2 и Th17 възпалителния отговор [252]. IL-6 повлиява CD4 T - клетъчна съдба, като стимулира производството на IL-4 по време на Th2 диференциацията, инхибиране на Th1 диференциацията и заедно с TGF β , стимулира Th17 клетъчна диференциация [181].

Проведохме изследване на цитокините: **IL-5, IL-6, IL-13, IL-17A, IL-23, IL-27, IL-33, IL-10, IL-35** при пациенти с АР и новодиагностицирана алергична БА с леко протичане.

В нашето изследване, с изключение на IL-5 се установи статистически значима разлика в серумните нива на останалите цитокини **IL-6, IL-13, IL-17A, IL-23, IL-27** при всички пациенти спрямо здрави контроли. При сравнение нивата на изследваните цитокини в **кръвен серум** спрямо **назален лаваж** на всички болни, нивата на **IL-5, IL-17A и IL-13** са по-високи в серум, докато нивата на **IL-6, IL-10, IL-23, IL-27, IL-33, IL-35** са повишени в назален лаваж.

Относно резултатите между отделните подгрупи пациенти с алергични респираторни заболявания (**АР и АР+БА**), статистическа значима разлика се установява за IL-17A в подгрупата АР+БА (серум спрямо назален лаваж, $p=0.024$) и подгрупата пациенти с АР (серум спрямо назален лаваж, $p=0.013$) и IL-27 в подгрупата на АР (серум спрямо назален лаваж, $p<0.001$).

Не установихме значима разлика в нивата на цитокините измерени в **кръвен серум и назален лаваж** между двете подгрупи болни с АР и АР+БА, което може да се обясни с лекото и сезонно протичане на БА, както и с Единния дихателен път – еднакво възпаление в ГДП и ДДП (възпалението на назалната лигавица отразява възпалителния модел в бронхите) и вероятно поради събиране на изследвания материал извън поленов сезон. Извършихме събиране на пробите извън поленов сезон, за да покажем, че въпреки не достатъчно високото ниво на алергени в естествената среда (което да провокира изобилно производство на възпалителни медиатори), алергичното възпаление продължава да персистира в респираторния тракт (minimal persistent inflammation - MPI)[68].

В нашето оригинално изследване нивата на IL-5 измерени в серума на здрави лица са по-високи спрямо групата на всички пациенти, както и между отделните групи, като този резултат не достигна значима разлика. Подобни резултати описват и Venson M. и сътр. [282], по-ниски нива на IL-5 извън поленовия сезон и значително повишени нива на IL-5 и относителния брой на еозинофилиите в назален смив при пациенти с АР по време на поленовия сезон, и значително намаление след лечение с будезонид. Установяват и тенденция към по-високи нива на IL-5 в контролите отколкото при алергичните пациенти.

От една страна количеството алергени в естествената среда не е достатъчно високо, за да провокира обилно производство на възпалителни медиатори, но от друга страна това не може да обясни намаляването. Не може да се даде категорично обяснение и да се изключи методологична причина за нормалните или дори понижени стойности на IL-5 в серума на изследваните болни, един от главните интерлевкини участващи в алергичното възпаление. Подобни резултати с понижени нива на Th2 цитокини - IL-4 и IL-13 са измерени в назален смив при пациенти със сезонно протичащ АР в друго проучване [283].

За разлика от по-ниско измерените нива на един от водещите в алергичното възпаление цитокин IL-5, в нашето изследване установихме трикратно повишени нива в серум и значимост на резултата относно други Th2 цитокини - IL-6 ($p<0.001$) и IL-13 ($p<0.001$), при всички пациенти спрямо здрави лица. За сметка на това, разликата между двете подгрупи (АР и АР+БА) е незначима.

Нивата на IL-13 показат тенденция за по-висока концентрация в серум спрямо назален лаваж, макар и да не достигна статистическа значимост ($p=0.09$). Докато в изследване на König K. и сътр. [283], подобно на измерените ниски нива на IL-5 в нашето изследване, не установяват повишени нива на маркерите на индуцирана от Th2, В-клетъчна стимулация IL-4 и IL-13.

За разлика от останалите интерлевкини, нивата на IL-6 са пет пъти по-високи в серум и назален лаваж при всички болни. Това е един от цитокините, който се произвежда от белодробните епителни клетки и е увеличен при пациенти с астма в сравнение със здрави контроли [284]. Установихме многократно по-високи нива на IL-6 в назален лаваж спрямо серумната концентрация, въпреки липсата на значима разлика ($p=0.83$). Тези резултати предполагат роля на локално произведения IL-6 в патогенезата

на алергичното възпаление от ГДП. Някои автори го разглеждат като *неспецифичен маркер на възпалението*, тъй като може да бъде произведен от различни възпалителни клетки и да участва в патогенезата на различни заболявания. Измерени са повишени нива на цитокина в назален лаваж и при респираторна инфекция с грипен вирус [285], както и при алергични заболявания и се наблюдава нарастване на концентрацията с прогресия на АР [187, 286]. Подобни резултати за липсата на статистическа значимост на измерените нива на IL-6 в назален лаваж и някои други медиатори спрямо контролите е представено в изследване на König K. и сътр. [283].

Говорейки за Th2 цитокини, друг с важна роля е **IL-33**, като член на IL-1 фамилията се освобождава след епителна увреда, поради което е наричан алармин. Има важна роля в Th2 – имунния отговор, като стимулира производството на свързаните с него цитокини. Рецепторът му **ST2** е експресиран върху мастоцити и селективно върху Th2 клетки. IL-33 и ST2 могат да участват в Th2-медиацията имуноен отговор. За нас представляваше интерес изследването му поради участието му в алергичното възпаление. Получените от нас резултати са изненадващи, тъй-като измерените нива на цитокина са по-високи в **серума от здрави контроли**, отколкото в серума на всички изследвани болни. Получените резултати достигнаха статистически значима разлика ($p < 0.001$). Посредством ANOVA анализ и между трите подгрупи (зdravi/АР/ АР+БА, $p < 0.001$) достигна статистическа значимост. В нашето проучване не се установи такава между двете подгрупи АР спрямо АР+БА, $p = 0.627$.

От проведеното изследване на епител-освобождаващия цитокин (IL-33) в **назален лаваж** се откриват по-високи нива при всички болни и всяка подгрупа поотделно спрямо измерените нива в серума на същите болни. Получените резултати не достигнаха статистическа значимост в **серум** спрямо **лаваж** при всички болни ($p = 0.82$), между изследваните подгрупи (АР+БА спрямо АР, $p = 0.323$) и при всяка подгрупа поотделно. Подобни резултати описват и други автори, за сравнително високо измерени нива на цитокина от назален лаваж при пациенти с АР (сенситизирани към дом. прах и японски кедър), спрямо липсата на детекция в серума на двете групи болни [287].

Въпреки това, данните за IL-33 са противоречиви и в литературата. Baumann и сътр. [288] не откриват IL-33 в назален лаваж събран по време на поленов сезон и повишена поленова концентрация, както и след назална провокация с алерген. В други проучвания нивата на цитокина са значително по-високи в серума на болните с АР спрямо неатоичните контроли [289].

Парадигмата Th1/Th2 през последните години се разви в новата парадигма - Th1/Th2/Th17[290]. Разглеждайки и участието на Th17 клетките с водещ инфламаторен цитокин **IL-17**, за който е известно, че играе основна роля при възпалителни и автоимунни заболявания, през последните години се публикуваха повече данни, изясняващи ролята му при алергичните заболявания. Представиха се редица доказателства за участието му в алергичното възпаление [226, 291, 233].

Murdaca G. и сътр. [292], предложиха IL-17A да се разглежда като нов биомаркер при прогресия на заболяването и алергия. При лека добре контролирана БА се наблюдава по-слабо повишение на IL-17F от бронхиална лигавица, което предполага по-лека изява на минималното персистиращо възпаление, зависимо от IL-17. Тежката БА се характеризира с по-интензивно протичащо IL-17 възпаление в носната лигавица, сравнено с леката БА. Това подчертава тясно съществуващата патогенетична връзка между носа и бронхите и показва взаимодействието и едновременното протичане на възпаление на двата дихателни пътя [293].

В резултатите от нашето изследване стойностите на IL-17A са сигнификантно по-високи в серума на всички изследвани пациенти спрямо здрави лица ($p < 0.001$). В подгрупата пациенти AP+БА, средните стойности (48.20 pg/ml) са значително по-високи спрямо тези при здрави контроли (0.26 pg/ml), $p < 0.001$. Можем да спекулираме, че това повишение се дължи на засягането на двата дихателни пътя. Серумният IL-17 може да бъде използван като индикатор за тежестта на астмата, но в нашата подгрупа изследваните лица са с лека БА и ние не сме изследвали връзката с тежестта на астмата, за разлика от други изследователи [294]. Данните от литературата показват, че при различна по тежест астма, серумните нива на IL-17 са значително по-високи при пациенти с лека до тежка персистираща астма, отколкото при интермитентна астма или здрави контроли [295].

Относно изследването на IL-17A в отделните подгрупи пациенти (AP и AP+БА) се установи тенденция за по-високи нива в **серума** при пациентите с **AP+БА**, спрямо тези само с AP (гранично ниво на значимост, $p = 0.056$). И други проучвания потвърждават по-високите стойности на IL-17 измерени в серум при двете заболявания AP и БА, отколкото само при едното. В проучване на Lv H и сътр. [296] също се установяват сигнификантно повишени серумни нива на IL-17 ($p < 0.05$) при пациенти с БА и AP (по време на астматичен пристъп и ремисия) сравнени със здрави контроли.

Също така, при деца с астма може да се открие повишен серумен IL-17, докато при деца с астма и АР са измерени по-високи серумни стойности [297].

При **всички пациенти в серум спрямо лаваж** и в подгрупите пациенти с **АР и АР+БА** се измериха сигнификантно по-високи нива на IL-17A. В изследване на Xu G и сътр. [298] са установили повишени нива на IL-17A и IL-17 F (както и IL-25/IL-17E и TSLP) от назален лаваж при пациенти с АР и сенсibiliзация към домашен прах. Има вероятност цитокиновите профили да се различават според вида на сенсibiliзиращия алерген (полен или целогодишен алерген) или според използвания метод на събиране на назалния лаваж.

Намирането на по-ниските нива на цитокина от назален лаваж в нашето изследване, вероятно се дължи на метода на пробовземане с добавяне на физиологичен разтвор към назалната лигавица, което води до разреждане на назалния секрет и съответно измерване на сравнително по-ниски нива [299]. Тъй-като при някои изследвания се използва така наречения *дисков метод* за събиране на назален смив. Подобно на нашите резултати и в други проучвания установяват по-ниски нива на IL-17 в назален смив на 24ч след назален провокационен тест със сезонен алерген [300] или липсващи нива при пациенти със САР, но повишени в група пациенти с вирус-индуциран ринит [301].

Ние установихме и позитивна статистически значима, умерена към силна корелация между IL-5 и IL-17 ($r=0.544$, $p=0.036$) изследвани в назален лаваж сред проучваните пациенти, което може да се разгледа като потвърждаване на връзката между Th2 и Th17 механизмите и участие на цитокиновия им профил в алергичното възпаление [302]. Новите проучвания показват, че при потвърдено участие на IL-17, miRNA могат да служат като неинвазивни биомаркери за диагностициране, характеризиране и таргетна терапия [303].

Въпреки наличните публикации, относно връзката между IL-23 и Th17 в неутрофилното възпаление и автоимунните заболявания [236], съществуват по-малко публикации относно ролята на **IL-23** при алергичното възпаление на дихателните пътища при БА и АР [241, 304]. Понижената експресия на IL-23p19 mRNA в мононуклеарните клетки от периферна кръв на деца със САР, след сублингвална имунотерапия, предполага участие на този цитокин в патогенезата на САР [305]. Пътят на **IL-23/IL-17** е свързан с локалния тъканен възпалителен отговор. Смята се, че IL-23

играе важна роля в ранните етапи на алергичните възпалителни реакции, тъй като директно индуцира производството на IL-17, миграция и натрупването на неутрофили [306]. В действителност, IL-23 е важен за антиген-зависимото активиране както на Th2, така и на Th17 клетките, както и в активната фаза на алергично възпаление на дихателните пътища [307].

В нашето изследване установихме повишени нива на IL-23 в серум и назален лаваж при всички пациенти с алергични респираторни заболявания участващи в изследването спрямо здрави контроли. Този резултат може да се разглежда, като потвърждаване участието на IL-23 в алергичното възпаление и подкрепя на данните за засилване на медираното от Th2 еозинофилно възпаление на дихателните пътища [238].

Серумните нива на IL-23 при всички болни (125.5 pg/ml) са сигнификантно по-високи спрямо здравите контроли (16.25 pg/ml), ($p=0.017$). Посредством проведения ANOVA анализ се установи статистически значима разлика между трите изследвани подгрупи – здрави лица, спрямо AP+БА, спрямо AP ($p=0.042$). От изследвания **назален лаваж**, има тенденция за по-високи нива на цитокина при всички болни (130.28 pg/ml), но липсва значима разлика спрямо измерените нива в кръвен серум, $p=0.92$. В отделните подгрупи, въпреки по-високите нива на IL-23 в назален лаваж в подгрупата на AP+БА, не се установи значима разлика спрямо същата подгрупа в серум ($p=0.434$). Липсва такава и в подгрупата на пациентите с AP, сравнявайки нивата в серум спрямо назален лаваж.

В проучване за определяне ендотипи на CAP сред деца чрез клъстърен анализ на база изследвания цитокинов профил в назален лаваж, един от клъстърите показва по-високи нива на IL-17, IL-23 и IFN- γ и междинни нива на IL-5 [308].

С нашите резултати ние също потвърждаваме участието на **IL-23 / IL-17** в алергичното възпаление на дихателните пътища, оценени чрез локална и системна експресия на цитокините.

За разлика от другите изследвани цитокини, моноцит-свързания цитокин **IL-27** се разглежда като инхибиторен цитокин. Последните проучвания показват, че има голямо влияние върху Th1, Th2 и Th17 субпопулациите от Т клетки и Treg клетки. Има данни, че потиска имунните отговори чрез инхибиране развитието на Th17 и индуцира производството на IL-10 [309].

Съобщава се, че IL-27 повлиява Th2 имунния отговор при АР. В това изследване експресията на IL-27 серумния протеин при пациенти с АР е значително по-ниска в сравнение с контролите [310].

В нашето изследване в подгрупата пациенти с АР установихме по-високи нива в лаваж. Когато сравнихме нивата на IL-27 в **серум** спрямо **назален лаваж** при болните с АР, установихме значима разлика ($p < 0.001$). Нивата на IL-27 в лаваж и серум при **всички болни** бяха приблизително еднакви $p = 0.37$. Подобна липса на разлика наблюдавахме и при пациентите в подгрупата с АР+БА.

През последните години интерес представляват и други регулаторни цитокини IL-35 и IL-10. **IL-35** е новооткрит инхибиторен цитокин, който се произвежда от регулаторните В - и Т - лимфоцити и принадлежи към семейството на IL-12. Открива се неговата потискаща роля при възпалителни заболявания при човека [311]. IL-35 се експресира главно от Treg клетки и индуцира пролиферацията им [312]. **IL-10** е основен регулаторен цитокин при възпалителни реакции. При провеждане на алерген специфична имунотерапия се наблюдават повишени нива на регулаторните IL-10 и TGF- β . **Treg клетки** са отговорни за поддържане на имунната хомеостаза с регулаторни механизми и потискат цитокините участващи в Th1- и Th2 – медираните имунни отговори [259]. Последни данни подчертават ролята на регулаторните В клетки, произвеждащи IL-10 и „защитни“ антитела, които вероятно допринасят за дългосрочна толерантност [272].

В нашето изследване установихме сигнификантна разлика в нивата на IL-35 ($p < 0.001$) и IL-10 ($p = 0.006$) в серума на здрави лица спрямо всички пациенти. Нивата на IL-35, показват гранично ниво на значимост ($p = 0.057$), посредством проведения ANOVA анализ между здрави лица и двете подгрупи пациенти. Измерените нива са с по-ниска стойност в двете подгрупи пациенти спрямо контролите. Има данни, че IL-35 потиска Th2-медираното алергично възпаление на дихателните пътища и IL-17 медирания имунен отговор, при пациенти с АР. Получените от нас резултати ни карат да мислим, че намалената секреция на IL-35 има роля в патогенезата на АР и БА.

Също така в нашето изследване **серумните нива** на IL-35 и IL-10 са повишени при здрави, като се забелязва повече от трикратно по-високи нива на IL-10, което показва активността на антиалергичния регулаторен механизъм на имуномодулиращия цитокин при лица без подлежащо алергично заболяване.

Обратно на това, нивата на двата регулаторни цитокина са значимо повишени в **назалния лаваж** на всички болни спрямо здрави контроли.

Установихме статистически значима разлика ($p=0.020$) в нивата на IL-10 измерени в **назален лаваж**, между двете подгрупи пациенти AP (205.13 pg/ml) и AP+БА(152.9 pg/ml). Такава разлика не се установи между двете подгрупи за IL-35 ($p=0.850$), но в подгрупата на пациентите с AP в назален лаваж нивата на IL-35 са значимо по-високи ($p=0.014$), отколкото в същата подгрупа измерени в серум. В проучване на Nie и сътр. [313], при пациенти с AP след провокация с *Dermatophagoides pteronyssinus* и *Aspergillus fumigatus*, се установяват сигнификантно повишени нива на IL-35 в назални епителни клетки и инхибиране продукцията на IL-25, IL-33 и TSLP. А при мишки с AP третиран с IL-35, се измерва намалена експресия на IL-33, IL-25, TSLP, еотаксин-1, еотаксин-2 и еотаксин-3 в назален лаваж. Потискането на Th2 цитокините предполага важната роля на IL-35 при развитието на AP.

В серума на двете подгрупи пациенти с AP и AP+БА се установяват значително **по-ниски нива** на IL-10 и IL-35 спрямо здрави лица, което потвърждава регулаторната им роля. Не открихме разлика в нивата на двата цитокина IL-35 и IL-10 в серума между двете подгрупи пациенти с AP и AP+БА, това може да се тълкува като сходно ниво на алергичното възпаление и антиалергичен механизъм в двете подгрупи болни.

Като се има предвид ограничения брой проучвания при хора, подобни данни за понижени серумни нива на IL-35 при болни спрямо здрави контроли се съобщават и в проучвания на Wang и сътр. които показаха, че IL-35 потиска секрецията на IL-4 при пациенти с алергична астма [261]. В проучвания на Bayrak Degirmenci Pet и сътр. [226] и Kouzaki H. и сътр. [262], серумното ниво на IL-35 е по-ниско при пациенти с AP, отколкото при контролната група.

IL-35 и IL-10 са важни противовъзпалителни цитокини, чиято биологична роля включва понижаване регулацията на Th2 клетки. Тези открития показват, че инхибиторните цитокини може да проявят антиалергични ефекти при лечение на алергични респираторни заболявания.

1.5. Определяне на корелационна зависимост между отделните цитокини изследвани в серум и назален лаваж

След като направихме **сравнителни анализи** за нивата на цитокини в серум и лаваж при различните подгрупи пациенти, определихме и какви корелации има между нивата на цитокини в серум и лаваж.

Интересни данни се получиха при анализ на корелационните зависимости между отделни двойки цитокини изследвани в кръвен серум и назален лаваж на пациентите с респираторни алергични заболявания (АР и АР+БА).

Резултатите от серум показаха значима и положителна корелация за двойките цитокини: **IL-5 и IL-23 ($r=0.598$)** и **IL-6 и IL-23 ($r=0.404$)** и слаба по-сила за **IL-33 и IL-23 ($r=0.273$)** и **IL-33 и IL-6 ($r=0.276$)**. Установихме силна корелация между регулаторните **IL-35 и IL-10** в серум (**$r=0.863$, $p=0.021$**), която е статистически значима.

Относно изследваните цитокини в **назален лаваж** се установи статистически значима и положителна корелация, която е значителна по-сила за двойките **IL-5 и IL-17 ($r=0.544$)**; **IL-6 и IL-27 ($r=0.571$)** и **IL-5 и IL-33 ($r=0.618$)**. В съответствие с данни от научната литература IL-5 и IL-33 се асоциират с Th2 имунно възпаление [314]. Установяването на тези цитокини в назален лаваж е индикация за повишения риск от развитие на БА при пациенти с АР. Докато положителната корелация между IL-5 и IL-17, показва връзката между Th2 и Th17 възпалението.

2. Обсъждане на резултати от втора група пациенти с хронична кашлица

2.1. Възрастово-полови характеристики

Сред изследваната група пациенти с хронична кашлица **110 (100%)** средната възраст е **41.03 години**. При извършения анализ на възрастово - половите показатели между пациенти и здрави контроли, не се установи значима разлика. Хроничната кашлица се проявява най-често при по-възрастни пациенти, като повечето от тях са на възраст над 50 години [315]. Преобладаването на **женския пол** при **81 (73.6%)** от изследваните пациенти е в съответствие с литературните данни, че хроничната кашлица е по-чест проблем при жените [316]. Характерно за женския пол е повишената

чувствителност на кашличния рефлекс [317]. При разпределение на пациентите по възрастови групи според **давността на кашлицата** установихме, че най-висок е процента на пациентите с хронична кашлица във възрастовата категория **18-30 г. (20%)** с давност на кашлицата **над 12 месеца**, най-малък във възрастовата група **над 61 години** – **13.6%**.

При постъпване в Клиниката по Алергология за диагностично уточняване на кашличния синдром, при проведените изследвания и според честотата на симптомите от страна на ГДП, се направи разпределение на пациентите по **давност на заболяването**, като давността се определи като времеви интервал от началото на симптомите до момента на включване на пациентите в изследването. При разпределение на пациентите в **четири групи (3м; 3-6м; 6-9м; над 12м)** според продължителността на кашлицата и **възпалителните заболявания на ГДП**, установихме че преобладават пациентите с по-голяма продължителност на засягане на ГДП с давност **над 12 месеца - 96 болни (87.3%)** и **хронична кашлица над 12 месеца - 78 болни (70.9%)**. При анализ на корелационните зависимости между двете състояния, възпалението на ГДП и хроничната кашлица резултатите показаха **положителна зависимост**, слаба по сила с коефициент на корелация **$r=0.299$** , но статистическа значима **$p=0.002$** . За целите на статистическия анализ обособихме четирите групи в други две (1 група от 3-9 месеца; 2 група над 12 месеца) по давност на протичане. С най-голям относителен дял остава групата с давност на заболяването **над 12 месеца**. Потърсихме зависимост между давността на двете променливи – възпаление на ГДП и хроничната кашлица. Връзката между хроничния процес на кашлицата с по-голяма давност на възпалението на ГДП е важна и се доказва посредством установената статистически значима зависимост между тях, **$p = 0.024$** .

2.2. Параклинични изследвания и атопичен статус при пациентите с хронична кашлица

За изключване на инфекциозна генеза на кашлицата, проведохме лабораторни изследвания. От параклиничните изследвания: пълна кръвна картина с диференциално броене на левкоцити (ПКК+ДКК), кръвна захар, скорост на утаяване на еритроцитите (СУЕ) и С-реактивен протеин (CRP), потърсихме разлика при разпределението на показателите между двете подгрупи (пациенти с хронична кашлица и здрави контроли). По отношение на диференциалното броене на левкоцитите, установихме данни за

еозинофилия в подгрупата на болните. Повишената кръвна еозинофилия и еозинофилно възпаление на дихателните пътища се свързва със заболявания като БА често коморбидна с АР, както и синусит с полипоза, заболявания приемани за честа причина на КСГДП [318]. По литературни данни еозинофилното възпаление на дихателните пътища се наблюдава при 30-50% от пациентите с хронична кашлица при заболяванията: неастматичен еозинофилен бронхит, КВА и КСГДП [319]. Относно установената разлика и по-високият абсолютен брой кръвни еозинофили ($Eo \times 10^9/l - 28.37 \pm 168.82$) в подгрупата пациенти с хронична кашлица спрямо здрави ($Eo \times 10^9/l - 0.09 \pm 0.09$), ни насочва към наблюдението за еозинофилно възпаление на дихателните пътища сред изследваните от нас пациенти. Въпреки това, полученият от нас резултат не е достатъчен, за да се приеме като признак за кръвна еозинофилия, тъй като приетия референтен брой на еозинофилите в периферна кръв е над **300 кл/мкл**, докато граничната им стойност в храчка е определена на 3% [320]. В допълнение към това не сме провеждали допълнителни изследвания (назална цитология, индуцирана храчка, FeNO), за да оценим еозинофилното възпаление от ГДП и ДДП, както и изследването на допълнителни биомаркери за да приемем, че се касае за еозинофилно възпаление на дихателните пътища.

Установихме и статистически значима разлика в нивата на кръвната захар сред пациентите ($p < 0.0001$) спрямо здравите контроли, което няма отношение към хроничната кашлица в изследваната от нас група. Освен в случаите описани в литературата при пациенти с Диабет тип 2, който е свързан с повишено разпространение на респираторни симптоми в сравнение с общата популация [321]. Между останалите хематологични показатели, не се установи значима разлика.

При определяне атопичния статус на пациентите с хронична кашлица най-често установената сенсibiliзация беше към акари от домашен прах (*D.pteronyssinus* и *D.farinae*) и тревни полени.

2.3. Потърсихме най-честите заболявания на ГДП и зависимостта им с други показатели сред пациентите от нашето изследване

Най-често установените възпалителни заболявания на ГДП при изследваната група с хронична кашлица са: ХРС, алергичен, неалергичен ринит и полипоза. Установените от нас заболявания съответстват на няколко проучвания и обзори,

фокусирани върху заболяванията на ГДП в основата на патогенезата на КСГДП [146, 322, 323].

В изследване на Dabrowska и сътр. [324] установяват, че сред пациентите с КСГДП, водещ е НАР при 52% от изследваните пациенти, а по-малко от тях са засегнати от АР (36%). В нашето проучване също се установява висок процент на НАР, но най-честото заболяване на ГДП асоциирано с хроничната кашлица е ХРС при 84.5% от пациентите, като според вида на придружаващия ринит по-голяма честота се пада на НАР – 52 души (49.1%), спрямо пациентите с АР при 29 (27.4%).

Потърсихме няколко зависимости между вида на ринита (АР/НАР) спрямо възрастта на участващите пациенти, пол, давност на хроничната кашлица, някои функционални показатели от ФИД, параклинични изследвания.

Относно вида на ринита и възрастта на пациентите (АР - 34.97 ± 12.049) и (НАР - 41.58 ± 15.674) не се установи статистически значима разлика ($p=0.109$) в популацията от която е направена извадката. Потърсихме зависимост между вида на ринита и давността на кашлицата. Установи се, че най-голям брой пациенти с АР 24 (82.8%) и НАР 35 (67.3%) има в групата с най-голяма давност на хроничната кашлица над 12 месеца. Съпоставянето на двата вида ринит с продължителността на кашлицата в отделните групи с различна давност на протичане, не показва статистически значима разлика ($p=0.587$). Докато по отношение пола на пациентите участващи в изследването и вида на ринита, се установи статистически значима зависимост между двете променливи ($p=0.005$). 75% от жените имат НАР, докато при мъжете този процент е 40%. При мъжете по-голяма е честотата на АР – 60% спрямо 25% при жените. Това не съответства на литературните данни, тъй като в детска възраст от АР и БА са засегнати предимно момчетата, а при подрастващите и в зряла възраст страда предимно женския пол [276].

Известно е, че БА е обратимо бронхообструктивно заболяване и FEV1 се използва, като златен стандарт за неговата оценка [96]. Има данни, че измерването на FEF₂₅₋₇₅ може да се разглежда, като по-чувствителен показател за хронична обструкция на въздушния поток отколкото FEV1 [325]. При пациентите с лека астма и нормален FEV1 може да се наблюдава промяна само в FEF₂₅₋₇₅ [326]. По литературни данни намалените стойности на FEF₂₅₋₇₅ може да се разглеждат като маркер за ранно засягане на бронхите при пациенти с АР [327]. Simons и сътр. [328] показват, че FEF₂₅₋₇₅ $\leq 65\%$ от предвидения може да покаже наличие на клинично значима обратима обструкция при

деца с БА при нормални стойности на FEV1. Поради това потърсихме зависимост между вида на ринита и някои показатели от ФИД, за да установим дали при някои от пациентите с хронична кашлица не се касае за БА, проявена предимно с кашлица (КБА). В получените от нас резултати сред изследваните възрастни пациенти над 18 годишна възраст с хронична кашлица не се установи клинично значима зависимост между вида на ринита (АР и НАР) и показателите от ФИД – FEV1 ($p=0.797$) и FEF₂₅₋₇₅ ($p=0.438$). Пациентите с АР и FEF₂₅₋₇₅ $\leq 65\%$ бяха **9 (31%)**, а с FEF₂₅₋₇₅ $\leq 65\%$ и НАР **13 (25%)**. Вероятна причина за липсата на клинично значим резултат е малкият брой пациенти с ринит и FEF₂₅₋₇₅ $\leq 65\%$.

В едно от проучванията е представено, че хроничния ринит или риносинуситът е независим рисков фактор за развитието на хронична кашлица [329]. Докато Millqvist E. и сътр. [330], разглеждат ХРС при 8-81% от пациентите, като първична етиологична причина за хронична кашлица. Други проучвания и доклади, свързани с патогенезата на КСГД, бяха насочени към АР и ХРС [322, 148]. Сред изследваните от нас пациенти с възпалителни заболявания на ГДП потърсихме и полипоза, като при пациентите с НАР, преобладава полипоза в максиларните синуси - **10 (19.2%)**, при 2 души (**3.8%**) полипите засягат носната лигавица, докато при пациентите с АР само при **4 (13.8%)** се открива полипоза в максиларни синуси. По данни от литературата хроничната кашлица е ключов симптом на асоциирана БА при АР и ХРС с назална полипоза [318].

2.4. Параклинични изследвания и вида на ринита

От проведените параклинични изследвания се установява статистически значима разлика по отношение на СУЕ за сметка на АР (29.84) спрямо НАР (42.75), **$p=0.015$** . Установи се и разлика при разпределение на стойностите на Hb сред групите пациенти с ринит и хронична кашлица – по-висока стойност при пациентите с АР 145.85 ± 10.9 в сравнение с 139.16 ± 13.17 в групата на НАР, (**$p=0.029$**). Докато липсва такава по отношение на останалите количествени показатели: абсолютен брой еозинофили, левкоцити и CRP. Абсолютният брой еозинофили ($Eo \times 10^9/l$ - **50.23**) в групата пациенти с АР е трикратно по-голям спрямо тези с НАР ($Eo \times 10^9/l$ - **14.23**), но въпреки тази разлика между тях не се установи статистическа значимост. Повишените стойности на

левкоцитите, СУЕ, CRP са показатели за възпалителен процес по-често от инфекциозен произход, което не се наблюдава сред изследваните от нас пациенти.

2.5. Възпалителни заболявания на ГДП и засягане на ДДП

Всички пациенти страдащи от хронични заболявания на ГДП и персистираща кашлица, трябва да бъдат системно изследвани за БА. Сред нашите пациенти се установи, че при **24 (21.8%)** от тях причина за хроничната кашлица е **новодиагностицирана БА**. Редица автори представят доказателства, че ринитът е рисков фактор за развитие на БА [27, 331]. Потърсихме зависимост между вида на ринита и новодиагностицираната БА. Установихме статистически значима зависимост между АР и новодиагностицирана БА. АР се асоциира с висок коморбидитет с БА - **12 души (41.4%)** спрямо пациентите с НАР - **6 души (11.5%), ($p=0.004$)**. От всички пациенти с новодиагностицирана БА - **18 души (19.4%)** от тях са с риносинусит, но в съчетание с АР или НАР, докато само **6 души** от изследваните пациенти със синусит без придружаващ ринит са с новодиагностицирана БА. Това е в подкрепа на доказателство за връзката между ГДП и ДДП [332, 41].

Въпреки това, точните механизми на хроничната кашлица при пациенти с риносинусит не са напълно изяснени. Първоначално се е приемало, че патогенезата на КСГДП е тясно свързана със синдрома на задно носно стичане. Тази гледна точка се оспорва от наблюденията в изследване от 2006 на О'Нара и сътр., че само малка част от пациентите с PND се оплакват от хронична кашлица [175], а от друга страна някои пациенти с КСГДП не страдат от PND. В нашето изследване обаче, само при **19 (17.3%)** пациента не се установи PND. Тези пациенти са със следните заболявания: 13 (16%) пациента са с диагностициран ринит, от пациентите със синусит при 13 пациента (16%) не се установява PND, 3 от пациентите с полипоза (14.3%), при пациентите приемащи ACE инхибитор – 3 (100%), 5 (20.8%) от пациентите с новодиагностицирана БА и 2 души (8.7%) с VCD.

Понастоящем се приема, че патомеханизмът на КСГДП е по-сложен и включва постназално стичане, хронично възпаление на дихателните пътища и сензорна невронна свръхчувствителност [318, 333]. В други проучвания се приема, че водеща причина за хронична кашлица в до **81%** от пациентите е PND [334]. PND се диагностицира често при голяма част от пациентите със заболявания на ГДП, както и в наше изследване от

2018 г. [335]. В популацията от нашето оригинално изследване обект на част от дисертационния труд, от 110 души сред **91 души (82.7%)** от изследваните пациенти се установи PND посредством физикален преглед от УНГ. Подобно на проучванията от други изследователи, които също описват като най-чест симптом PND - **63.7%** от пациентите с хронична кашлица и КСГДП [177]. В проспективно проучване на Dąbrowska M. и сътр. сред 143 болни с КСГДП - **62%** се установява PND, като най-чест симптом [324]. В изследване на Watelet и сътр., PND се открива при **38.9%** [318].

Най-често съобщените оплаквания при изследваните от нас пациенти бяха: кашлица, задно носно стичане, назална обструкция, ринорея, експекторация.

От 110 пациента всичките 100% са проявили кашлица през повече от последните 8 седмици, което е било основната причина за консултация. Усещане за секрет по задна фарингеална стена са съобщили 62 (73.8%) от изследваните пациенти. Подобно на други проучвания свързани с хроничната кашлица Watelet и сътр.[318], Dąbrowska и сътр. [324] назалната обструкция, ринорея и PND бяха водещите симптоми сред изследваните пациенти. Посредством проведената от УНГ консултация сред изследваните от нас болни: чрез фарингоскопия PND се обективизира при **91 души (82.7%)**, назална обструкция се установи при 83 души (77.6%), предна ринорея - 79 души (71.8%), експекторация - 23 (20.9%).

Основна цел на представената работа е да се проучи зависимостта на заболяванията от ГДП и свързания с тях PND, спрямо други показатели имащи отношение към хроничната кашлица.

При определяне влиянието на PND спрямо засягане на ДДП посредством показатели от ФИД, представено чрез FEV1 отразяващ засягане на големите дихателни пътища и FEF₂₅₋₇₅ показател отразяващ засягане на МДП, не установихме сигнификантно различие. При **13 пациента (14.3%)** се установи PND и бронхиална обструкция FEV1 < 80%, при **20 (22%)** - PND и FEF₂₅₋₇₅ ≤ 65%. По-голям е броят на изследваните пациенти с PND и нормална белодробна функция. При използване на точния критерий на Фишер не се установява значима зависимост между PND и изследваните функционални показатели. Този резултат показва, че PND в изследваната от нас подгрупа пациенти не е фактор, влияещ върху засягането на белодробното дърво.

Подобно на КВА, (разглеждан като субтип на астмата) се характеризира със симптоми на хронична кашлица без хрипове или диспнея, има почти нормална

белодробна функция и лека БХР и се повлиява благоприятно от бронходилататорно лечение [336]. КВА е често срещана причина за подостра и хронична кашлица в Япония, САЩ и Обединеното Кралство [337].

Тъй-като PND е резултат от възпалителните заболявания на ГДП, потърсихме връзката му с най-честите възпалителни заболявания на горния респираторен тракт. По данни на Irwin и сътр., етиологични причини за PNDS са хроничен синусит (39%) и АР (23%) [172]. Има данни, че PND води до хиперреактивност на дихателните пътища, особено при пациенти с риносинусит. Чести болестни състояния свързани с PND, включват АР и НАР, инфекции на синусите и риносинусит [164]. От анализиранията зависимост на PND спрямо възпалението на назалната лигавица, оценено посредством **вида на ринита** – АР и НАР и възпалението на параназалната лигавица - **ХРС и полипоза**, получихме следните резултати: пациентите с АР бяха **24 (27.6%)**, повече от тях са тези с НАР **44 (50.6%)** и **19 (21.8%)** пациента при които не се установява ринит, но се визуализира PND по задна фарингеална стена. Между вида ринит и PND не беше установена зависимост ($p = 0.649$) което показва, че PND не зависи от **вида възпаление** на назалната лигавица, проявяващо се с различно етиологично обусловен ринит. Относно пациентите с ХРС се диагностицира при **93 души (84.5%)**, докато сред тях при **80 (86%)** се установи PND по задна фарингеална стена. Полипоза се установи при **21 (19.1%)** от пациентите, а PND при по-голяма част от тях – **18 (85.7%)**. Въпреки, че PND се установи при по-голяма част от пациентите с възпалителни заболявания на ГДП, не се установява значима разлика между него и другите възпалителни заболявания засягащи ГДП, както и при **ХРС - PND ($p=0.073$)**, **полипоза – PND, ($p=1.000$)**. По литературни данни PND е често срещано оплакване сред пациентите с хроничен синусит. В проучване на Orlandi и Terrell [344] сред 57 пациента с ХРС, най-честите симптоми са назална обструкция (80%), назална конгестия (70%), PND (67%) и умора (67%). В друго изследване сред пациенти с ХРС, 17% съобщават за PND като основно оплакване, а 61% съобщават за PND като основен симптом [345].

Според вида сенсibilизация потърсихме връзка на PND с атопичния статус на изследваните пациенти с хронична кашлица. Относно положителната сенсibilизация на пациентите към **полени - 31 (34.1%)** и **акари от домашен прах** (*Dermatophagoides pteronyssinus* и *Dermatofagoides*) – **23 (25.3%)** не се установи статистически значима зависимост с PND и при двата вида свръхчувствителност ($p=1.000$).

КСГДП не е свързан само със заболявания засягащи назалната лигавица, може да бъде повлиян и от хронично възпаление засягащо фаринкс или ларинкс. Те могат да възникнат в резултат на продължителен контакт със секрети от носа или синусите, които да стимулират продължително хронично възпаление на фаринкс или ларинкс, което да доведе до локализирані възпалителни прояви като еритемна и оточна лигавица [338]. В тази връзка проведохме анализ относно влиянието на PND сред пациентите с VCD, тъй като стичането на секрета по задна фарингеална стена може да причини директно дразнене на гласните връзки, което да инициира или обостри VCD [339, 340]. В повечето случаи VCD не може да се демонстрира с помощта на обичайни диагностични методи, поради самоограничаващи се симптоми за по-малко от една до две минути [341]. Ларинксът изпълнява защитна роля на трахеята и белите дробове от инхалиране на вредни причинители поради което се приема, че хроничното задно носно стичане може да доведе до повишена чувствителност на ларинкса и последваща хиперреактивност. Висса и сътр. [164], проследява група пациенти с ХРС и потвърждават хиперреактивността на ГДП чрез измерване концентрацията на хистамина, която води до 25% понижаване на средния инспираторен поток (MIF50). Откриват, че 76 (72%) от 106 пациенти са имали екстраторакална хиперреактивност, а 46 (52%) са имали както бронхиална така и екстраторакална хиперреактивност.

Сред изследваните от нас пациенти, при **23 (20.9%) души** се диагностицира VCD. От тях със **синусит са 10 пациента (43.5%)**, с **АР - 6 пациента (20.7%)**, а с **НАР 7 (13.5%)**. Потърсихме зависимост между възпалението на ГДП и VCD. Точният критерий на Фишер показва статистически значима разлика (**$p=0.030$**) между изследваните променливи, което ни показва, че VCD се влияе от вида възпаление на ГДП. Подобна връзка на този етап не открихме описана в литературата.

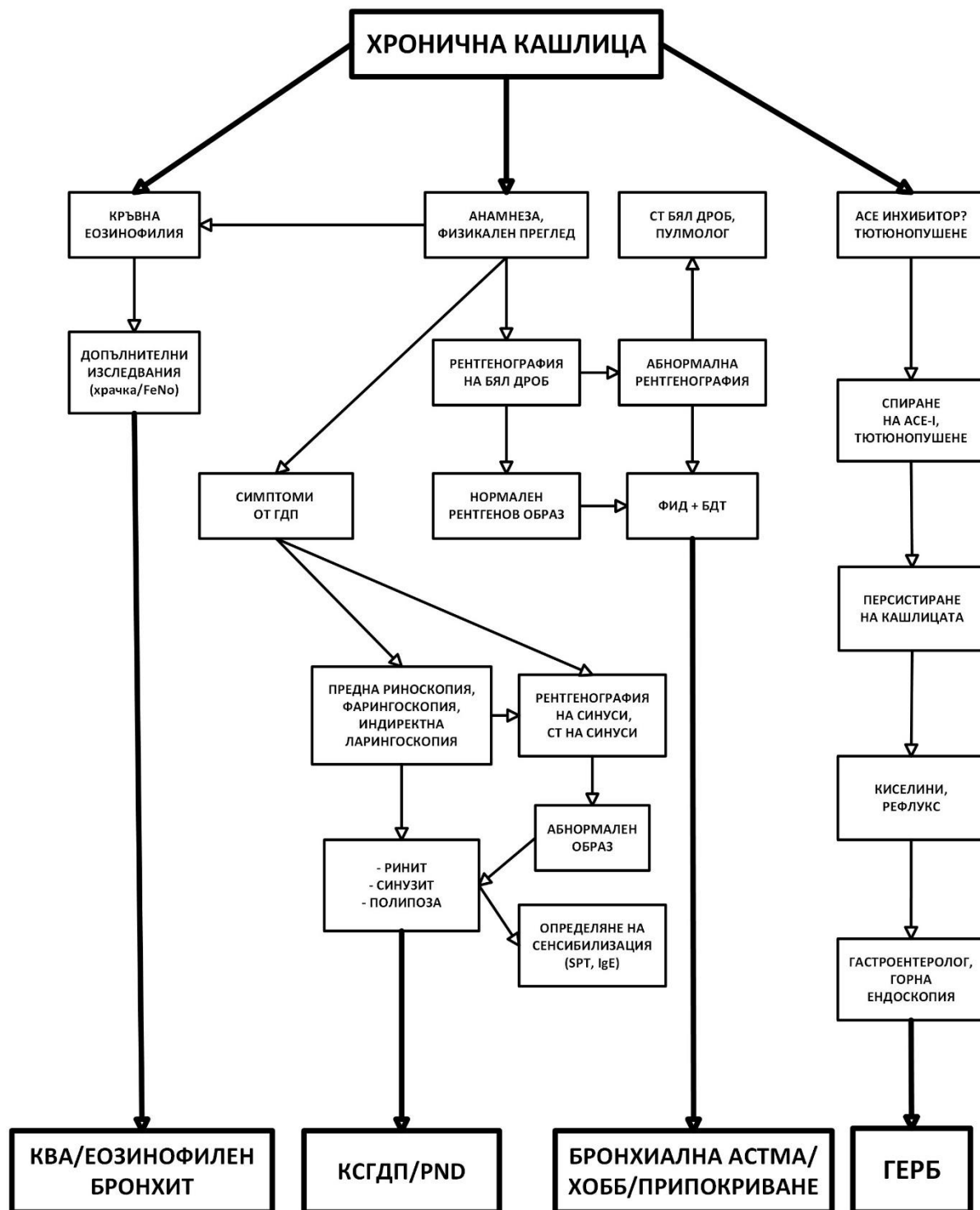
При по-голямата част от тези пациенти **21 (91.3%)** се установи PND по задна фарингеална стена. По отношение връзката “**PND-VCD**” не намерихме публикувано проучване при пациентите с хронична кашлица и VCD. От нашите данни установихме, че липсва сигнификантна разлика между двата показателя ($p=0.353$), което може да се разгледа, като липса на влияние на PND върху VCD. Въпреки, че патофизиологията на VCD не е напълно изяснена се подозира негативно влияние на ГЕРБ, PND, както и вдишване на неспецифични дразнители от околната среда, които водят до неадекватна реакция за защита на дихателни пътища с парадоксална аддукция на гласните връзки при инспириум [342]. Друга етиологична причина при VCD е повишеният тонус на

вегетативната нервна система, както и психичното състояние на пациента. Вероятен водещ патогенетичен механизъм е инервацията на гласните връзки и повишената чувствителност под влияние на неспецифични дразнители от околната среда [343].

Обобщено на гореизложените резултати и обсъждане на най-честите причини за хронична кашлица, беше предложен клинично-диагностичен алгоритъм, който би дал насоки в клиничната практика посредством стъпаловиден подход за диагностициране на хроничната кашлица в контекста на „Единния дихателен път“.

Изготвеният алгоритъм включва достъпни и най-често използвани методи за диагностика. Алгоритъмът е съобразен с възможността за използването му в ежедневната клинична практика и е представен на фигура 33.

Фигура 33. Кратък клинико - диагностичен алгоритъм за поведение при диагностично уточняване етиологията на хроничната кашлица при възрастни пациенти



КВА - кашличен вариант на астма, КСГДП - кашличен синдром на горни дихателни пътища, PND - postnasal drip, ХОББ - хронична обструктивна белодробна болест, ГЕРБ - гастроезофагеална рефлуксна болест, АСЕ-I - инхибитори на ангиотензин конвертиращия ензим, СТ - компютърна томография, FeNO - фракция на издишания азотен оксид, SPT - кожен тест с убождане

VII. Заключение

Редица са публикуваните статии относно връзката между двата дихателни пътя. Не случайно носят се разглежда, като „отворен прозорец към бронхите“. Възпалителните му заболявания са път към засягане на белия дроб и заболяванията на ДДП във висок процент са коморбидни с назалната патология. Концепцията за Единен Дихателен Път е разглеждана в основата на алергичното възпаление, докато през последните години доказателства се откриват и в сложната патогенетична мрежа на неалергичното възпаление.

С поглед към хроничната кашлица, която е многофакторна, в комбинация с редица утежняващи фактори в допълнение към повишения кашличен рефлекс, все още е предизвикателство в диагностично и терапевтично отношение. Въпреки напредъка в диагностичен аспект, леснодостъпен за клинициста, все още етиологията не е напълно изяснена. Добре известни са причини като обструктивни заболявания на дихателните пътища, заедно с други белодробни и извънбелодробни състояния.

Много са и изследванията относно ролята на PND за хроничната кашлица, който изследователите определят като една от водещите етиологични причини след изключване на белодробна патология. Разгледаният проблем е противоречив и все още се оспорва. Поради тази причина е включен и обобщен като КСГДП. Все още не е ясно дали механизмите на кашлицата свързана с PND се дължат на дрениране на секрети от носа или параназалните синуси във фаринкса, или на директното стимулиране на рецепторите за кашлица от ГДП [12]. Въпреки че по-голямата част от секретите не навлизат в ДДП, възрастните хора и пациентите с мозъчно-съдова болест често имат нарушен локален рефлекс на преглъщане и са податливи на аспирационна пневмония. Следователно не може да се изключи възможността ранен стадий на възпаление на дихателните пътища, причинено от аспирация, да доведе до повишена кашлична чувствителност [338].

В резултат на това, КСГДП е преди всичко клинична диагноза, за която липсва чувствителен или специфичен тест. Затова може да се приеме като етиологична причина за хроничната кашлица при някои пациенти, разглеждайки се като тригер за кашлична свръхчувствителност. Съществуват публикации, че симптомите от ГДП отразяват

генерализираното възпаление на дихателните пътища в резултат на БА или рефлукс на дихателните пътища [144].

С настоящият дисертационен труд и проведените от нас изследвания, оценяващи възпалителните заболявания на ГДП във връзка с хроничната кашлица, както и изследвания цитокинов профил на системно и локално ниво, леко „приповдигнахме завесата“ и прибавяме допълнителни данни в подкрепа на сложната патогенеза за Единния Дихателен Път. Установихме важна, статистически значима връзка между продължителното възпаление на ГДП с по-голямата давност на хроничната кашлица. Потвърдихме повишената честота на коморбидитет на АР с БА спрямо НАР. Сред изследваната от нас българска популация с хронична кашлица (повечето диагностицирани с възпалителни заболявания на ГДП) обективизирахме висока честота на PND - 91(82.7%) макар, че не установихме статистически значим резултат спрямо други изследвани показатели, можем да заключим, че това е водещата причина за хронична кашлица сред изследваните от нас пациенти в основата на КСГДП.

Посредством изследвания цитокинов профил, за да потвърдим връзката между двата дихателни пътя на имунологично ниво, чрез нашите резултати установихме повишени серумни нива на водещи инфламаторни интерлевкини при всички пациенти спрямо здрави лица. Подкрепихме участието на оспорваната Th17 клетъчната линия в алергичното възпаление с главен представител IL-17A и установихме наличието му дори и при леко протичаща БА, тъй като на този етап цитокинът е свързан с тежестта на алергични респираторни заболявания.

Изследвахме и потвърдихме участието и на инхибиторните цитокини (IL-10, IL-27 и IL-35), показващи статистически значими по-високи нива в серума на здравите лица спрямо цялата група пациенти с алергични респираторни заболявания. Този резултат ни насочва към разсъжденията, че този тип имуносупресивни цитокини могат да играят важна роля за намаляване активността на подлежащото алергично възпаление.

Не установихме зависимост между изследвания профил цитокини между отделните подгрупи с АР и АР+БА, вероятно поради лекото протичане на БА или поради събиране на изследвания биологичен материал извън поленов сезон, но най-вероятната причина е единното засягане и алергично възпаление на респираторния тракт.

Поради гореизложеното може да разглеждаме възпалението на дихателния път, като локализирана проява на системен възпалителен отговор.

VIII. Изводи

В резултат на проведеното проучване на изследваните групи пациенти могат да се направят следните изводи :

1. Сред изследваните пациенти с хронична кашлица, най-често установеният и водещ симптом при **91 души (82.7%)** е PND. Не установихме зависимост с други показатели.
2. Водещите заболявания сред изследваната група пациенти с хронична кашлица са свързани предимно със засягане на ГДП – ХРС, НАР, АР, полипоза.
3. Най-често установената сенсibiliзация сред пациентите с хронична кашлица е към акари от домашен прах, а сред сезонните към тревни полени.
4. Установихме положителна корелация и статистическа значимост между по-голямата давност (над 12 месеца) на възпалителните заболявания от ГДП и кашлицата.
5. Причина за кашлицата от страна на белия дроб - при 24 души (21.8%) диагностицирахме БА. Като доказателство за връзката между двата дихателни пътя и водещо участие на алергичното възпаление от ГДП, установихме зависимост между алергичен ринит с новодиагностицирана БА.
6. По-рядко установени причини за кашлицата бяха ГЕРБ и ятроген - индуцирана от АСЕ инхибитори.
7. Друга причина за кашлицата е VCD (20.9%). Не се установи зависимост с PND, но при по-голямата част от пациентите с VCD се открива PND. В нашето изследване установихме зависимост на VCD с възпалителните заболявания от ГДП.
8. Представихме участието на цитокините свързани с Th2, Th17 и Treg клетъчни линии в алергичното възпаление на системно (в серум) и локално ниво (назален лаваж) в подкрепа на концепцията за Единен Дихателен Път.
9. Сред пациентите със сезонно протичащи алергични респираторни заболявания установихме, персистиране на алергичното възпаление извън поленов сезон. Посредством получената статистически значима разлика в нивата на Th2

цитокините изследвани в серума (събиран извън поленов сезон), между всички пациенти (АР и АР+БА) и здрави лица.

10. Участието на IL-17A се свързва с тежестта на протичане на алергичните респираторни заболявания, в нашето изследване установихме повишени нива на IL-17A сред пациентите с лека по тежест атопична БА спрямо подгрупата с АР.
11. Статистически значимо повишените нива на регулаторните цитокини IL-35 и IL-10 (pg/ml) в серума на здрави контроли спрямо всички пациенти, както и установената силна корелация между двата цитокина, могат да играят важна роля за намаляване активността на подлежащото алергично възпаление при алергични респираторни заболявания.

IX. Приноси

Теоретични приноси

1. За пръв път в страната беше направено проучване на възпалителните заболявания на горните дихателни пътища сред българската популация пациенти с хронична кашлица.
2. Потвърди се значимостта на **по-голямата давност на възпалението на ГДП** относно **по-голямата продължителност** на хроничната кашлица – над 12 месеца.
3. За пръв път сред изследваната популация български пациенти се установи като най-чест симптом сред пациентите с хронична кашлица – **задно носно стичане (post nasal drip - PND)**.
4. Беше проведено подробно проучване на влиянието на PND спрямо други показатели от ГДП и ДДП сред пациентите с хронична кашлица, непубликувано досега в медицинската литература.
5. Сред изследваните от нашата популация пациенти, най-често установените заболявания водещи до кашлица са: заболявания на ГДП, новодиагностицирана БА, VCD, ГЕРБ, ятрогенна кашлица от приема на ACE инхибитор.
6. Чрез настоящия дисертационен труд беше реализирано оригинално изследване на клинично и имунологично ниво посредством цитокинов профил – изследван от назален лаваж, оценяващ локалното алергично възпаление на ГДП и от периферна кръв – определящ влиянието му на системно ниво.

7. Според нас за пръв път в страната беше проведено изследване на **регулаторни цитокини – IL-10, IL-27 и IL-35** сред пациенти с алергични респираторни заболявания, проявяващи се с АР и АР+ лека атопична БА.
8. Представихме участието на оспорвания **IL-17A** в алергичното възпаление, установявайки **повишените му нива в серумни проби** при всички пациенти и в отделните подгрупи с **алергични респираторни заболявания (АР и АР+БА)**. По-високи нива на цитокина измерихме при **леко протичаща БА**.

Приложни приноси

1. Извърши се проучване на най-често установеният сред пациентите с хронична кашлица симптом от ГДП – PND. За пръв път се потърси зависимост между него и други показатели от ГДП и ДДП – като вида възпаление на ГДП (ринит – АР, НАР; ХРС; Полипоза), VCD, от ФИД - FEV1, FEF₂₅₋₇₅. И въпреки липсата на статистическа значимост, търсенето на зависимост с гореизброените показатели не беше описана досега в медицинската литература.
2. Дисертационният труд проучи и намери висока честота на най-оспорвания през последните години симптом - PND, като причина за кашлицата. На този етап в България липсват други публикации по този проблем.
3. Посредством проведените изследвания сред пациентите с хронична кашлица, ние публикувахме първото за нашата страна изследване за участието на болестите на ГДП, като етиологична причина за хроничната кашлица.
4. Беше предложен клинично-диагностичен алгоритъм, който би дал насоки в клиничната практика посредством стъпаловиден подход на действие при алергични и неалергични болести на ГДП и ДДП в контекста на „ Единния дихателен път “.

Х. Публикации свързани с дисертационния труд:

1. Velikova Ts, **Naydenova K**, Dimitrov V. (2018). Mucosal Inflammation in Allergic Rhinitis and Bronchial Asthma - Two Sides of a Coin. *Clinical Research in Immunology*.1(1):1-2.
2. **Найденова К**, Русеков Н, Димитров В. (2018). Корелации между алергичен ринит и бронхиална астма като доказателство за Единния дихателен път. *Алергии, Хиперсензитивност и Астма*, 14(1):53-58.
3. **Найденова К**, Димитров В. (2018). Алергичният ринит като предшественик на астмата. *Торакална медицина*,11(1); 30-41.
4. **Найденова К**, Великова Ц, Димитров В. (2020). Оценка на алергичното възпаление на носната и бронхиална лигавица чрез изследване на цитокини в периферна кръв във връзка с диференциалната диагноза на бронхиалната астма. *Торакална медицина*, 12 (2-3).
5. **Naydenova K**, Dimitrov V, & Velikova T. V. (2021). Study of some aspects of IL-5 role in the allergic respiratory pathology - allergic rhinitis and associated bronchial asthma. *American International Journal of Biology and Life Sciences*, 3(1): 33–39.
6. **Найденова К**, Димитров В. (2021). Диференциална диагноза на кашлицата при пациенти със заболявания на горните дихателни пътища. *Обща медицина*, 23(6) 67-72.
7. Doneva M, Milushewa P, Dimitrova M, Kamusheva M, Stoitchkov J, Petrova G, **Naydenova K**, Krusheva B, Dimitrov V, Laki D (2022) Quality of life, control of treatment and satisfaction of patients with asthma in Bulgaria: a pilot study, *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 36:1, 481-488. (IF= 1.762)
8. Участие в научен конкурс „Млад изследовател 2020“ (Договор № Д-75/24.06.2020г, вх. № 8299/19.11.2019), оценен с висока оценка.

XI. Библиография

1. Skoner DP. Allergic rhinitis: definition, epidemiology, pathophysiology, detection, and diagnosis. *J Allergy Clin Immunol*. 2001 Jul;108(1 Suppl):S2-8.
2. Licari A, Manti S, Ciprandi G. What are the effects of rhinitis on patients with asthma? *Expert Rev Respir Med*. 2019 Jun;13(6):503-505.
3. Feng CH, Miller MD, Simon RA. The united allergic airway: connections between allergic rhinitis, asthma, and chronic sinusitis. *Am J Rhinol Allergy*. 2012 May-Jun;26(3):187-90.
4. Leynaert B, Neukirch F, Demoly P, Bousquet J. Epidemiologic evidence for asthma and rhinitis comorbidity. *J Allergy Clin Immunol*. 2000 Nov;106(5):201-5.
5. Global Asthma Report. The global asthma report 2014. 2014; 1–96.
6. Enilari O, Sinha S. The Global Impact of Asthma in Adult Populations. *Ann Glob Health*. 2019 Jan 22;85(1):2.
7. Global Initiative for Asthma, Global Strategy for Asthma Management and Prevention,(2018)<http://ginasthma.org/2018-gina-report-global-strategy-for-asthma-management-and-prevention/>,Accesseddate:April 2018.
8. Amorim MM, Araruna A, Caetano LB, Cruz AC, Santoro LL, Fernandes AL. Nasal eosinophilia: an indicator of eosinophilic inflammation in asthma. *Clin Exp Allergy*. 2010 Jun;40(6):867-74.
9. Sorbello V, Ciprandi G, Di Stefano A, Massaglia GM, Favatà G, Conticello S, Malerba M, Folkerts G, Profita M, Rolla G, Ricciardolo FL. Nasal IL-17F is related to bronchial IL-17F/neutrophilia and exacerbations in stable atopic severe asthma. *Allergy*. 2015 Feb;70(2):236-40.
10. Ciprandi G, Caimmi D, Miraglia Del Giudice M, La Rosa M, Salpietro C, Marseglia GL. Recent developments in United airways disease. *Allergy Asthma Immunol Res*. 2012 Jul;4(4):171-7.
11. Hens G, Vanaudenaerde BM, Bullens DM, Piessens M, Decramer M, Dupont LJ, Ceuppens JL, Hellings PW. Sinonasal pathology in nonallergic asthma and COPD: 'united airway disease' beyond the scope of allergy. *Allergy*. 2008 Mar;63(3):261-7.
12. Pratter MR. Chronic upper airway cough syndrome secondary to rhinosinus diseases (previously referred to as postnasal drip syndrome): ACCP evidence-based clinical practice guidelines. *Chest*. 2006 Jan;129(1):63-71.

13. Giavina-Bianchi P, Aun MV, Takejima P, Kalil J, Agondi RC. United airway disease: current perspectives. *J Asthma Allergy*. 2016 May 11;9:93-100.
14. Bousquet J, Khaltaev N, Cruz AA., et al. World Health Organization; GA(2)LEN; AllerGen. Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) 2008 update (in collaboration with the World Health Organization, GA(2)LEN and AllerGen). *Allergy*. 2008 Apr;63 Suppl 86:8-160.
15. De Greve G, Hellings PW, Fokkens WJ, Pugin B, Steelant B, Seys SF. Endotype-driven treatment in chronic upper airway diseases. *Clin Transl Allergy*. 2017 Jul 12;7:22.
16. Liva GA, Karatzanis AD, Prokopakis EP. Review of Rhinitis: Classification, Types, Pathophysiology. *J Clin Med*. 2021 Jul 19;10(14):3183.
17. Fokkens WJ, Lund VJ, Mullol J, Bachert C, Alobid I, Baroody F, et al. EPOS 2012: European position paper on rhinosinusitis and nasal polyps 2012. A summary for otorhinolaryngologists. *Rhinology*. 2012;50(1):1–12.
18. Katelaris CH, Lee BW, Potter PC, Maspero JF, Cingi C, Lopatin A, Saffer M, Xu G, Walters RD. Prevalence and diversity of allergic rhinitis in regions of the world beyond Europe and North America. *Clin Exp Allergy*. 2012 Feb;42(2):186-207.
19. Hastan D, Fokkens WJ, Bachert C, Newson RB, Bislimovska J, Bockelbrink A, Bousquet PJ, Brozek G, Bruno A, Dahlén SE, Forsberg B, Gunnbjörnsdóttir M, Kasper L, Krämer U, Kowalski ML, Lange B, Lundbäck B, Salagean E, Todo-Bom A, Tomassen P, Toskala E, van Drunen CM, Bousquet J, Zuberbier T, Jarvis D, Burney P. Chronic rhinosinusitis in European underestimated disease. A GA²LEN study. *Allergy*. 2011 Sep;66(9):1216-23.
20. Bousquet J, Schünemann HJ, Samolinski B, Demoly P, Baena-Cagnani CE, Bachert C, et al. Allergic rhinitis and its impact on asthma (ARIA): achievements in 10 years and future needs. *J Allergy Clin Immunol*. 2012;130(5):1049–62.
21. Fasano MB. Combined airways: impact of upper airway on lower airway. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg*. 2010 Feb;18(1):15-20.
22. Hellings PW, Klimek L, Cingi C, Agache I, Akdis C, Bachert C, Bousquet J, Demoly P, Gevaert P, Hox V, Hupin C, Kalogjera L, Manole F, Mösges R, Mullol J, Muluk NB, Muraro A, Papadopoulos N, Pawankar R, Rondon C, Rundenko M, Seys SF, Toskala E, Van Gerven L, Zhang L, Zhang N, Fokkens WJ. Non-allergic rhinitis: Position paper of the European Academy of Allergy and Clinical Immunology. *Allergy*. 2017 Nov;72(11):1657-1665.
23. Papadopoulos NG, Bernstein JA, Demoly P, Dykewicz M, Fokkens W, Hellings PW, Peters AT, Rondon C, Togias A, Cox LS. Phenotypes and endotypes of rhinitis and their impact on management: a PRACTALL report. *Allergy*. 2015 May;70(5):474-94.

24. Eguiluz-Gracia I, Testera-Montes A, Rondon C. Medical algorithm: Diagnosis and treatment of local allergic rhinitis. *Allergy*. 2021 Sep;76(9):2927-2930.
25. Avdeeva KS, Fokkens WJ, Reitsma S. Towards a new epidemiological definition of chronic rhinitis: prevalence of nasal complaints in the general population. *Rhinology*. 2021 Jun 1;59(3):258-266.
26. Chiang WC, Chen YM, Tan HK, Balakrishnan A, Liew WK, Lim HH, Goh SH, Loh WY, Wong P, Teoh OH, Goh A, Chay OM. Allergic rhinitis and non-allergic rhinitis in children in the tropics: prevalence and risk associations. *Pediatr Pulmonol*. 2012 Oct;47(10):1026-33.
27. Bousquet J, Van Cauwenberge P, Khaltaev N; Aria Workshop Group; World Health Organization. Allergic rhinitis and its impact on asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2001 Nov;108(5 Suppl):S147-334.
28. Nur Husna SM, Tan HT, Md Shukri N, Mohd Ashari NS, Wong KK. Allergic Rhinitis: A Clinical and Pathophysiological Overview. *Front Med (Lausanne)*. 2022 Apr 7;9:874114.
29. Nathan RA, Meltzer EO, Selner JC, Storms W. Prevalence of allergic rhinitis in the United States. *J Allergy Clin Immunol* 1997 June ;99:808–814.
30. Meng Y, Wang C, Zhang L. Recent developments and highlights in allergic rhinitis. *Allergy*. 2019 Dec;74(12):2320-2328.
31. Revez JA, Matheson MC, Hui J, Baltic S; Australian Asthma Genetics Consortium (AAGC) collaborators, James A, Upham JW, Dharmage S, Thompson PJ, Martin NG, Hopper JL, Ferreira MA. Identification of STOML2 as a putative novel asthma risk gene associated with IL6R. *Allergy*. 2016 Jul;71(7):1020-30.
32. Black S, Teixeira AS, Loh AX, Vinall L, Holloway JW, Hardy R, Swallow DM. Contribution of functional variation in the IL13 gene to allergy, hay fever and asthma in the NSHD longitudinal 1946 birth cohort. *Allergy*. 2009 Aug;64(8):1172-8.
33. Sun Q, Liu Y, Zhang S, Liu K, Zhu X, Liu J, Yang C. Thymic stromal lymphopoietin polymorphisms and allergic rhinitis risk: a systematic review and meta-analysis with 6351 cases and 11472 controls. *Int J Clin Exp Med*. 2015 Sep 15;8(9):15752-8.
34. Mahillon V, Saussez S, Michel O. High incidence of sensitization to ornamental plants in allergic rhinitis. *Allergy*. 2006 Sep;61(9):1138-40.
35. Biedermann T, Winther L, Till SJ, Panzner P, Knulst A, Valovirta E. Birch pollen allergy in Europe. *Allergy*. 2019 Jul;74(7):1237-1248.
36. Bergmann KC, Buters J, Karatzas K, Tasioulis T, Werchan B, Werchan M, Pfaar O. The development of birch pollen seasons over 30 years in Munich, Germany-An EAACI Task Force report. *Allergy*. 2020 Dec;75(12):3024-3026.

37. Brożek JL, Bousquet J, Agache I, et al. Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) guidelines-2016 revision. *J Allergy Clin Immunol*. 2017 Oct;140(4):950-958.
38. Linneberg A, Henrik Nielsen N, Frølund L, Madsen F, Dirksen A, Jørgensen T; Copenhagen Allergy Study. The link between allergic rhinitis and allergic asthma: a prospective population-based study. *The Copenhagen Allergy Study. Allergy*. 2002 Nov;57(11):1048-52.
39. Togias A. Mechanisms of nose-lung interaction. *Allergy*. 1999;54 Suppl 57:94-105.
40. Compalati E, Ridolo E, Passalacqua G, Braidò F, Villa E, Canonica GW. The link between allergic rhinitis and asthma: the united airways disease. *Expert Rev Clin Immunol*. 2010 May;6(3):413-23.
41. Caimmi D, Marseglia A, Pieri G, Benzo S, Bosa L, Caimmi S. Nose and lungs: one way, one disease. *Ital J Pediatr*. 2012 Oct 25;38:60.
42. Bergeron C, Hamid Q. Relationship between Asthma and Rhinitis: Epidemiologic, Pathophysiologic, and Therapeutic Aspects. *Allergy Asthma Clin Immunol*. 2005 Jun 15;1(2):81-7.
43. Passalacqua G, Ciprandi G, Canonica GW. The nose-lung interaction in allergic rhinitis and asthma: united airways disease. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2001 Feb;1(1):7-13.
44. Blaiss MS. Rhinitis-asthma connection: epidemiologic and pathophysiologic basis. *Allergy Asthma Proc*. 2005 Jan-Feb;26(1):35-40.
45. Valero A, Pereira C, Loureiro C, Martínez-Cócerca C, Murio C, Rico P, Palomino R, Dávila I. Interrelationship between skin sensitization, rhinitis, and asthma in patients with allergic rhinitis: a study of Spain and Portugal. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2009;19(3):167-72.
46. Borish L. Allergic rhinitis: systemic inflammation and implications for management. *J Allergy Clin Immunol*. 2003 Dec;112(6):1021-31.
47. Braunstahl GJ, Kleinjan A, Overbeek SE, Prins JB, Hoogsteden HC, Fokkens WJ. Segmental bronchial provocation induces nasal inflammation in allergic rhinitis patients. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000 Jun;161(6):2051-7.
48. Thomas M. Allergic rhinitis: evidence for impact on asthma. *BMC Pulm Med*. 2006 Nov 30;6 Suppl 1(Suppl 1):S4.
49. Burrows B, Lebowitz MD, Barbee RA, Cline MG. Findings before diagnoses of asthma among the elderly in a longitudinal study of a general population sample. *J Allergy Clin Immunol*. 1991 Dec;88(6):870-7.
50. Giovannini-Chami L, Paquet A, Sanfiorenzo C, Pons N, Cazareth J, Magnone V, Lebrigand K, Chevalier B, Vallauri A, Julia V, Marquette CH, Marcet B, Leroy S, Barbry P.

The "one airway, one disease" concept in light of Th2 inflammation. *Eur Respir J*. 2018 Oct 25;52(4):1800437.

51. Paiva Ferreira LKD, Paiva Ferreira LAM, Monteiro TM, Bezerra GC, Bernardo LR, Piuvezam MR. Combined allergic rhinitis and asthma syndrome (CARAS). *Int Immunopharmacol*. 2019 Sep;74:105718.

52. Som PM, Naidich TP. Illustrated review of the embryology and development of the facial region, part 1: Early face and lateral nasal cavities. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2013 Dec;34(12):2233-40.

53. Pohunek P. Development, structure and function of the upper airways. *Paediatr Respir Rev*. 2004 Mar;5(1):2-8.

54. Serrano C, Valero A, Picado C. Rhinitis and asthma: one airway, one disease. *Arch Bronconeumol*. 2005 Oct;41(10):569-78.

55. Passalacqua G, Ciprandi G, Canonica GW. United airways disease: therapeutic aspects. *Thorax*. 2000 Oct;55 Suppl 2:26-7.

56. Ciprandi G, Cirillo I. The lower airway pathology of rhinitis. *J Allergy Clin Immunol*. 2006 Nov;118(5):1105-9.

57. Cingi C, Muluk NB, Cobanoglu B, Çatli T, Dikici O. Nasobronchial interaction. *World J Clin Cases*. 2015 Jun 16;3(6):499-503.

58. Galli SJ, Tsai M, Piliponsky AM. The development of allergic inflammation. *Nature*. 2008 Jul 24;454(7203):445-54.

59. Sanico AM, Stanis AM, Gleeson TD, Bora S, Proud D, Bienenstock J, Koliatsos VE, Togias A. Nerve growth factor expression and release in allergic inflammatory disease of the upper airways. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000 May;161(5):1631-5.

60. Smith CH, Barker JN, Lee TH. Adhesion molecules in allergic inflammation. *Am Rev Respir Dis*. 1993 Dec;148(6 Pt 2):S75-8.33.

61. Canonica GW, Ciprandi G, Buscaglia S, Pesce G, Bagnasco M. Adhesion molecules of allergic inflammation: recent insights into their functional roles. *Allergy*. 1994 Mar;49(3):135-41.

62. Ciprandi G, Pronzato C, Ricca V, Bagnasco M, Canonica GW. Evidence of intercellular adhesion molecule-1 expression on nasal epithelial cells in acute rhinoconjunctivitis caused by pollen exposure. *J Allergy Clin Immunol*. 1994 Oct;94(4):738-46.

63. Okano M, Kariya S, Ohta N, Imoto Y, Fujieda S, Nishizaki K. Association and management of eosinophilic inflammation in upper and lower airways. *Allergol Int*. 2015 Apr;64(2):131-8.

64. Ahlstrom-Emanuelsson CA, Greiff L, Andersson M, Persson CG, Erjefält JS. Eosinophil degranulation status in allergic rhinitis: observations before and during seasonal allergen exposure. *Eur Respir J*. 2004 Nov;24(5):750-7.
65. Braunstahl GJ, Overbeek SE, Kleinjan A, Prins JB, Hoogsteden HC, Fokkens WJ. Nasal allergen provocation induces adhesion molecule expression and tissue eosinophilia in upper and lower airways. *J Allergy Clin Immunol*. 2001 Mar;107(3):469-76.
66. Pawankar R. Inflammatory mechanisms in allergic rhinitis. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2007 Feb;7(1):1-4.
67. Gauvreau GM, El-Gammal AI, O'Byrne PM. Allergen-induced airway responses. *Eur Respir J*. 2015 Sep;46(3):819-31.
68. Canonica GW, Compalati E. Minimal persistent inflammation in allergic rhinitis: implications for current treatment strategies. *Clin Exp Immunol*. 2009 Dec;158(3):260-71.
69. Jartti T, Gern JE. Role of viral infections in the development and exacerbation of asthma in children. *J Allergy Clin Immunol*. 2017 Oct;140(4):895-906.
70. Bousquet J, Vignola AM, Demoly P. Links between rhinitis and asthma. *Allergy*. 2003 Aug;58(8):691-706.
71. Bousquet J, Jacot W, Vignola AM, Bachert C, Van Cauwenberge P. Allergic rhinitis: a disease remodeling the upper airways? *J Allergy Clin Immunol*. 2004 Jan;113(1):43-9.
72. Portelli MA, Hodge E, Sayers I. Genetic risk factors for the development of allergic disease identified by genome-wide association. *Clin Exp Allergy*. 2015 Jan;45(1):21-31.
73. Ochoa-Avilés C, Morillo D, Rodriguez A, Cooper PJ, Andrade S, Molina M, Parra M, Parra-Ullauri A, Mejía D, Neira A, Rodas-Espinoza C, Ochoa-Avilés A. Prevalence and risk factors for asthma, rhinitis, eczema, and atopy among preschool children in an Andean city. *PLoS One*. 2020 Jul 10;15(7):e0234633.
74. Ciprandi G, Cirillo I, Pistorio A. Impact of allergic rhinitis on asthma: effects on spirometric parameters. *Allergy*. 2008 Mar;63(3):255-60.
75. Miller MR, Hankinson J, Brusasco V, Burgos F, Casaburi R, Coates A, Crapo R, Enright P, van der Grinten CP, Gustafsson P, Jensen R, Johnson DC, MacIntyre N, McKay R, Navajas D, Pedersen OF, Pellegrino R, Viegi G, Wanger J; ATS/ERS Task Force. Standardisation of spirometry. *Eur Respir J*. 2005 Aug;26(2):319-38.
76. Marseglia GL, Cirillo I, Vizzaccaro A, Klersy C, Tosca MA, La Rosa M, Marseglia A, Licari A, Leone M, Ciprandi G. Role of forced expiratory flow at 25-75% as an early marker of small airways impairment in subjects with allergic rhinitis. *Allergy Asthma Proc*. 2007 Jan-Feb;28(1):74-8.

77. Ciprandi G, Tosca MA, Castellazzi AM, Cairello F, Salpietro C, Arrigo T, Miraglia Del Giudice M. FEF(25-75) might be a predictive factor for bronchial inflammation and bronchial hyperreactivity in adolescents with allergic rhinitis. *Int J Immunopathol Pharmacol*. 2011 Oct;24(4 Suppl):17-20.
78. Ciprandi G, Cirillo I, Vizzaccaro A, Tosca M, Passalacqua G, Pallesstrini E, Canonica GW. Seasonal and perennial allergic rhinitis: is this classification adherent to real life? *Allergy*. 2005 Jul;60(7):882-7.
79. Ciprandi G, Cirillo I, Signori A. Impact of allergic rhinitis on bronchi: an 8-year follow-up study. *Am J Rhinol Allergy*. 2011 Mar-Apr;25(2):e72-6.
80. Bousquet J, Khaltaev N, Cruz AA, et al. World Health Organization; GA(2)LEN; AllerGen. Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) 2008 update (in collaboration with the World Health Organization, GA(2)LEN and AllerGen). *Allergy*. 2008 Apr;63 Suppl 86:8-160.
81. Bousquet J, Hellings PW, Agache I, et al. ARIA 2016: Care pathways implementing emerging technologies for predictive medicine in rhinitis and asthma across the life cycle. *Clin Transl Allergy*. 2016 Dec 30;6:47.
82. Chawes BL. Upper and lower airway pathology in young children with allergic- and non-allergic rhinitis. *Dan Med Bull*. 2011 May;58(5):B4278.
83. Guerra S, Sherrill DL, Martinez FD, Barbee RA. Rhinitis as an independent risk factor for adult-onset asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2002 Mar;109(3):419-25.
84. Corren J, Adinoff AD, Buchmeier AD, Irvin CG. Nasal beclomethasone prevents the seasonal increase in bronchial responsiveness in patients with allergic rhinitis and asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 1992 Aug;90(2):250-6.
85. Wilson AM, Orr LC, Sims EJ, Lipworth BJ. Effects of monotherapy with intra-nasal corticosteroid or combined oral histamine and leukotriene receptor antagonists in seasonal allergic rhinitis. *Clin Exp Allergy*. 2001 Jan;31(1):61-8.
86. Crystal-Peters J, Neslusan C, Crown WH, Torres A. Treating allergic rhinitis in patients with comorbid asthma: the risk of asthma-related hospitalizations and emergency department visits. *J Allergy Clin Immunol*. 2002 Jan;109(1):57-62.
87. Adams RJ, Fuhlbrigge AL, Finkelstein JA, Weiss ST. Intranasal steroids and the risk of emergency department visits for asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2002 Apr;109(4):636-42.
88. Greiff L, Andersson M, Svensson C, Linden M, Wollmer P, Brattsand R, Persson CG. Effects of orally inhaled budesonide in seasonal allergic rhinitis. *Eur Respir J*. 1998 Jun;11(6):1268-73.

89. Eifan AO, Shamji MH, Durham SR. Long-term clinical and immunological effects of allergen immunotherapy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2011 Dec;11(6):586-93.
90. Satia I, Badri H, Lahousse L, Usmani OS, Spanevello A. Airways diseases: asthma, COPD and chronic cough highlights from the European Respiratory Society Annual Congress 2018. *J Thorac Dis*. 2018 Sep;10(25):2992-2997.
91. Ford AC, Forman D, Moayyedi P, Morice AH. Cough in the community: a cross sectional survey and the relationship to gastrointestinal symptoms. *Thorax*. 2006 Nov;61(11):975-9.
92. Morice AH, Fontana GA, Belvisi MG, Birring SS, Chung KF, Diczpinigaitis PV, Kastelik JA, McGarvey LP, Smith JA, Tatar M, Widdicombe J; European Respiratory Society (ERS). ERS guidelines on the assessment of cough. *Eur Respir J*. 2007 Jun;29(6):1256-76.
93. Singh D, Agusti A, Anzueto A, Barnes PJ, Bourbeau J, Celli BR, Criner GJ, Frith P, Halpin DMG, Han M, López Varela MV, Martinez F, Montes de Oca M, Papi A, Pavord ID, Roche N, Sin DD, Stockley R, Vestbo J, Wedzicha JA, Vogelmeier C. Global Strategy for the Diagnosis, Management, and Prevention of Chronic Obstructive Lung Disease: the GOLD science committee report 2019. *Eur Respir J*. 2019 May 18;53(5):1900164.
94. Rabe KF, Hurd S, Anzueto A, Barnes PJ, Buist SA, Calverley P, Fukuchi Y, Jenkins C, Rodriguez-Roisin R, van Weel C, Zielinski J; Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease: GOLD executive summary. *Am J Respir Crit Care Med*. 2007 Sep 15;176(6):532-55.
95. Kim V, Criner GJ. Chronic bronchitis and chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 2013 Feb 1;187(3):228-37.
96. Global Initiative for Asthma, Global Strategy for Asthma Management and Prevention, (2014) <http://ginasthma.org/2014-gina-report-global-strategy-forasthma-management-and-prevention/>, Accessed date: 2014.
97. Ferkol T, Schraufnagel D. The global burden of respiratory disease. *Ann Am Thorac Soc*. 2014 Mar;11(3):404-6.
98. Dusser D, Montani D, Chanez P, de Blic J, Delacourt C, Deschildre A, Devillier P, Didier A, Leroyer C, Marguet C, Martinat Y, Piquet J, Raheison C, Serrier P, Tillie-Leblond I, Tonnel AB, Tunon de Lara M, Humbert M. Mild asthma: an expert review on epidemiology, clinical characteristics and treatment recommendations. *Allergy*. 2007 Jun;62(6):591-604.

99. Global Initiative for Asthma, Global Strategy for Asthma Management and Prevention, (2018) <http://ginasthma.org/2018-gina-report-global-strategy-for-asthma-management-and-prevention/>, Accessed date: April 2018.
100. Sadatsafavi M, Lynd L, Marra C, Carleton B, Tan WC, Sullivan S, Fitzgerald JM. Direct health care costs associated with asthma in British Columbia. *Can Respir J*. 2010 Mar-Apr;17(2):74-80
101. Tan WC. Insights into early treatment of mild asthma: do inhaled corticosteroids make a difference? *Paediatr Drugs*. 2007;9(4):219-26.
102. Fuhlbrigge AL, Adams RJ, Guilbert TW, Grant E, Lozano P, Janson SL, Martinez F, Weiss KB, Weiss ST. The burden of asthma in the United States: level and distribution are dependent on interpretation of the national asthma education and prevention program guidelines. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002 Oct 15;166(8):1044-9.
103. British Thoracic Society, British Guidelines on the Management of Asthma, (2016) <https://www.brit-thoracic.org.uk/document-library/clinical-information/asthma/btssign-asthma-guideline-2016>
104. National Asthma Education and Prevention Program, Expert Panel Report 3: Guidelines for the Diagnosis and Management of Asthma, (2007) https://www.nhlbi.nih.gov/sites/default/files/media/docs/asthgdln_1.pdf
105. National Institute for Health and Care Excellence, Asthma: Diagnosis, Monitoring and Chronic Asthma Management, (2017) <https://www.nice.org.uk/guidance/ng80>
106. "Global strategy for asthma management and prevention: GINA executive summary." E.D. Bateman, S.S. Hurd, P.J. Barnes, J. Bousquet, J.M. Drazen, J.M. FitzGerald, P. Gibson, K. Ohta, P. O'Byrne, S.E. Pedersen, E. Pizzichini, S.D. Sullivan, S.E. Wenzel and H.J. Zar. *Eur Respir J* 2008; 31: 143-178. *Eur Respir J*. 2018 Jan 31;51(2):0751387.
107. Reddel H. The impact of the Global Initiative for Asthma (GINA): Compass, Concepts, Controversies and Challenges. *Rev*.2019;5(1):4-18.
108. Lötvall J, Akdis CA, Bacharier LB, Björner L, Casale TB, Custovic A, Lemanske RF Jr, Wardlaw AJ, Wenzel SE, Greenberger PA. Asthma endotypes: a new approach to classification of disease entities within the asthma syndrome. *J Allergy Clin Immunol*. 2011 Feb;127(2):355-60.
109. Wenzel SE. Asthma phenotypes: the evolution from clinical to molecular approaches. *Nat Med*. 2012 May 4;18(5):716-25.
110. Agache I, Akdis C, Jutel M, Virchow JC. Untangling asthma phenotypes and endotypes. *Allergy*. 2012 Jul;67(7):835-46.

111. Pauwels RA, Pedersen S, Busse WW, Tan WC, Chen YZ, Ohlsson SV, Ullman A, Lamm CJ, O'Byrne PM; START Investigators Group. Early intervention with budesonide in mild persistent asthma: a randomised, double-blind trial. *Lancet*. 2003 Mar 29;361(9363):1071-6.
112. O'Byrne PM, Barnes PJ, Rodriguez-Roisin R, Runnerstrom E, Sandstrom T, Svensson K, Tattersfield A. Low dose inhaled budesonide and formoterol in mild persistent asthma: the OPTIMA randomized trial. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001 Oct 15;164(8 Pt 1):1392-7.
113. O'Byrne PM, Pedersen S, Lamm CJ, Tan WC, Busse WW; START Investigators Group. Severe exacerbations and decline in lung function in asthma. *Am J Respir Crit Care Med*. 2009 Jan 1;179(1):19-24.
114. Bergeron C, Al-Ramli W, Hamid Q. Remodeling in asthma. *Proc Am Thorac Soc*. 2009 May 1;6(3):301-5.
115. Fehrenbach H, Wagner C, Wegmann M. Airway remodeling in asthma: what really matters. *Cell Tissue Res*. 2017 Mar;367(3):551-569.
116. Andrani F, Aiello M, Bertorelli G, Crisafulli E, Chetta A. Cough, a vital reflex. mechanisms, determinants and measurements. *Acta Biomed*. 2019 Jan 15;89(4):477-480.
117. Irwin RS, Baumann MH, Bolser DC, Boulet LP, Braman SS, Brightling CE, Brown KK, Canning BJ, Chang AB, Diczpinigaitis PV, Eccles R, Glomb WB, Goldstein LB, Graham LM, Hargreave FE, Kvale PA, Lewis SZ, McCool FD, McCrory DC, Prakash UBS, Pratter MR, Rosen MJ, Schulman E, Shannon JJ, Hammond CS, Tarlo SM. Diagnosis and management of cough executive summary: ACCP evidence-based clinical practice guidelines. *Chest*. 2006 Jan;129(1 Suppl):1S-23S.
118. Morice AH, Fontana GA, Sovijarvi AR, Pistolesi M, Chung KF, Widdicombe J, O'Connell F, Geppetti P, Gronke L, De Jongste J, Belvisi M, Diczpinigaitis P, Fischer A, McGarvey L, Fokkens WJ, Kastelik J; ERS Task Force. The diagnosis and management of chronic cough. *Eur Respir J*. 2004 Sep;24(3):481-92.
119. Chamberlain SA, Garrod R, Douiri A, Masefield S, Powell P, Bücher C, Pandyan A, Morice AH, Birring SS. The impact of chronic cough: a cross-sectional European survey. *Lung*. 2015 Jun;193(3):401-8.
120. Song WJ, Chang YS, Faruqi S, Kim JY, Kang MG, Kim S, Jo EJ, Kim MH, Plevkova J, Park HW, Cho SH, Morice AH. The global epidemiology of chronic cough in adults: a systematic review and meta-analysis. *Eur Respir J*. 2015 May;45(5):1479-81.
121. Gibson PG, Dolovich J, Denburg J, Ramsdale EH, Hargreave FE. Chronic cough: eosinophilic bronchitis without asthma. *Lancet*. 1989 Jun 17;1(8651):1346-8.

122. Committee for the Japanese Respiratory Society Guidelines for Management of Cough, Kohno S, Ishida T, Uchida Y, Kishimoto H, Sasaki H, Shioya T, Tokuyama K, Niimi A, Nishi K, Fujimura M, Matsuse H, Suzaki H. The Japanese Respiratory Society guidelines for management of cough. *Respirology*. 2006 Sep;11 Suppl 4:S135-86.
123. Kogahara T, Kanai K, Asano K, Suzaki H. Evidence for passing down of postnasal drip into respiratory organs. *In Vivo*. 2009 Mar-Apr;23(2):297-301.
124. Forer M, Ananda S. The management of postnasal drip. *Aust Fam Physician*. 1999 Mar;28(3):223-8.
125. Magni C, Chellini E, Zanasi A. Cough variant asthma and atopic cough. *Multidiscip Respir Med*. 2010 Apr 30;5(2):99-103.
126. Niimi A. Cough and Asthma. *Curr Respir Med Rev*. 2011 Feb;7(1):47-54.
127. Fujimura M, Ogawa H, Nishizawa Y, Nishi K. Comparison of atopic cough with cough variant asthma: is atopic cough a precursor of asthma? *Thorax*. 2003 Jan;58(1):14-8.
128. Niimi A. Geography and cough aetiology. *Pulm Pharmacol Ther*. 2007;20(4):383-7.
129. Brugts JJ, Arima H, Remme W, Bertrand M, Ferrari R, Fox K, DiNicolantonio J, MacMahon S, Chalmers J, Zijlstra F, Caliskan K, Simoons ML, Mourad JJ, Boersma E, Akkerhuis KM. The incidence and clinical predictors of ACE-inhibitor induced dry cough by perindopril in 27,492 patients with vascular disease. *Int J Cardiol*. 2014 Oct 20;176(3):718-23.
130. Dicpinigaitis PV. Angiotensin-converting enzyme inhibitor-induced cough: ACCP evidence-based clinical practice guidelines. *Chest*. 2006 Jan;129(1 Suppl):169S-173S.
131. Yu JL, Becker SS. Postnasal drip and postnasal drip-related cough. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg*. 2016 Feb;24(1):15-9.
132. Irwin RS, French CL, Curley FJ, Zawacki JK, Bennett FM. Chronic cough due to gastroesophageal reflux. Clinical, diagnostic, and pathogenetic aspects. *Chest*. 1993 Nov;104(5):1511-7.
133. Naik RD, Vaezi MF. Extra-esophageal gastroesophageal reflux disease and asthma: understanding this interplay. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*. 2015 Jul;9(7):969-82.
134. Daum C, Sweis R, Kaufman E, Fuelleman A, Anggiansah A, Fried M, Fox M. Failure to respond to physiologic challenge characterizes esophageal motility in erosive gastro-esophageal reflux disease. *Neurogastroenterol Motil*. 2011 Jun;23(6):517-e200.
135. Burke JM, Jackson W, Morice AH. The role of high resolution oesophageal manometry in occult respiratory symptoms. *Respir Med*. 2018 May;138:47-49.

136. Johansson A, Millqvist E, Nordin S, Bende M. Relationship between self-reported odor intolerance and sensitivity to inhaled capsaicin: proposed definition of airway sensory hyperreactivity and estimation of its prevalence. *Chest*. 2006 Jun;129(6):1623-8.
137. Millqvist E, Bende M, Löwhagen O. Sensory hyperreactivity a possible mechanism underlying cough and asthma-like symptoms. *Allergy*. 1998 Dec;53(12):1208-12.
138. Millqvist E. Cough provocation with capsaicin is an objective way to test sensory hyperreactivity in patients with asthma-like symptoms. *Allergy*. 2000 Jun;55(6):546-50.
139. Nilius B, Owsianik G, Voets T, Peters JA. Transient receptor potential cation channels in disease. *Physiol Rev*. 2007 Jan;87(1):165-217.
140. Nilius B. TRP channels in disease. *Biochim Biophys Acta*. 2007 Aug;1772(8):805-12.
141. Mazzone SB, Chung KF, McGarvey L. The heterogeneity of chronic cough: a case for endotypes of cough hypersensitivity. *Lancet Respir Med*. 2018 Aug;6(8):636-646.
142. A.H. Morice, E. Millqvist, M.G. Belvisi, K. Bieksiene, S.S. Birring, K.F. Chung, R.W. Dal Negro, P. Dicpinigaitis, A. Kantar, L.P. McGarvey, A. Pacheco, R. Sakalauskas, J.A. Smith, Expert opinion on the cough hypersensitivity syndrome in respiratory medicine, *Eur. Respir. J.* 2014 (44) (2014) 1132–1148.
143. Irwin RS, Boulet LP, Cloutier MM, Fuller R, Gold PM, Hoffstein V, Ing AJ, McCool FD, O'Byrne P, Poe RH, Prakash UB, Pratter MR, Rubin BK. Managing cough as a defense mechanism and as a symptom. A consensus panel report of the American College of Chest Physicians. *Chest*. 1998 Aug;114(2 Suppl Managing):133S-181S.
144. Morice AH, Millqvist E, Bieksiene K, Birring SS, Dicpinigaitis P, Domingo Ribas C, Hilton Boon M, Kantar A, Lai K, McGarvey L, Rigau D, Satia I, Smith J, Song WJ, Tonia T, van den Berg JWK, van Manen MJG, Zacharasiewicz A. ERS guidelines on the diagnosis and treatment of chronic cough in adults and children. *Eur Respir J*. 2020 Jan 2;55(1):1901136.
145. Polverino M, Polverino F, Fasolino M, Andò F, Alfieri A, De Blasio F. Anatomy and neuro-pathophysiology of the cough reflex arc. *Multidiscip Respir Med*. 2012 Jun 18;7(1):5.
146. Lucanska M, Hajtman A, Calkovsky V, Kunc P, Pecova R. Upper Airway Cough Syndrome in Pathogenesis of Chronic Cough. *Physiol Res*. 2020 Mar 27;69(Suppl 1):S35-S42.
147. Ando A, Smallwood D, McMahon M, Irving L, Mazzone SB, Farrell MJ. Neural correlates of cough hypersensitivity in humans: evidence for central sensitisation and dysfunctional inhibitory control. *Thorax*. 2016 Apr;71(4):323-9.
148. Plevkova J, Song WJ. Chronic cough in subjects with upper airway diseases - analysis of mechanisms and clinical applications. *Asia Pac Allergy*. 2013 Apr;3(2):127-35.

149. Lalloo UG, Barnes PJ, Chung KF. Pathophysiology and clinical presentations of cough. *J Allergy Clin Immunol.* 1996 Nov;98(5 Pt 2):S91-6.
150. Meltzer EO, Szwarcberg J, Pill MW. Allergic rhinitis, asthma, and rhinosinusitis: diseases of the integrated airway. *J Manag Care Pharm.* 2004 Jul-Aug;10(4):310-7.
151. Pecova R, Zucha J, Pec M, Neuschlova M, Hanzel P, Tatar M. Cough reflex sensitivity testing in in seasonal allergic rhinitis patients and healthy volunteers. *J Physiol Pharmacol.* 2008 Dec;59 Suppl 6:557-64.
152. Weinfeld D, Ternesten-Hasséus E, Löwhagen O, Millqvist E. Capsaicin cough sensitivity in allergic asthmatic patients increases during the birch pollen season. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2002 Oct;89(4):419-24.
153. O'Hanlon S, Facer P, Simpson KD, Sandhu G, Saleh HA, Anand P. Neuronal markers in allergic rhinitis: expression and correlation with sensory testing. *Laryngoscope.* 2007 Sep;117(9):1519-27.
154. Lim KG, Rank MA, Kita H, Patel A, Moore E. Neuropeptide levels in nasal secretions from patients with and without chronic cough. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2011 Oct;107(4):360-3.
155. Thach BT. Maturation and transformation of reflexes that protect the laryngeal airway from liquid aspiration from fetal to adult life. *Am J Med.* 2001 Dec 3;111 Suppl 8A:69S-77S.
156. Canning BJ, Mori N, Mazzone SB. Vagal afferent nerves regulating the cough reflex. *Respir Physiol Neurobiol.* 2006 Jul 28;152(3):223-42.
157. Bucca CB, Bugiani M, Culla B, Guida G, Heffler E, Mietta S, Moretto A, Rolla G, Brussino L. Chronic cough and irritable larynx. *J Allergy Clin Immunol.* 2011 Feb;127(2):412-9.
158. Bucca C, Rolla G, Brussino L, De Rose V, Bugiani M. Are asthma-like symptoms due to bronchial or extrathoracic airway dysfunction? *Lancet.* 1995 Sep 23;346(8978):791-5.
159. Vertigan AE, Kapela SL, Gibson PG. Chronic cough in Vocal Cord Dysfunction: Description of a clinical entity. *Respir Med.* 2020 Jul;168:105990.
160. Ibrahim WH, Gheriani HA, Almohamed AA, Raza T. Paradoxical vocal cord motion disorder: past, present and future. *Postgrad Med J.* 2007 Mar;83(977):164-72.
161. Smyrnios NA, Irwin RS, Curley FJ, French CL. From a prospective study of chronic cough: diagnostic and therapeutic aspects in older adults. *Arch Intern Med.* 1998 Jun 8;158(11):1222-8.
162. Irwin RS, Pratter MR, Holland PS, Corwin RW, Hughes JP. Postnasal drip causes cough and is associated with reversible upper airway obstruction. *Chest.* 1984 Mar;85(3):346-52.

163. Macedo P, Saleh H, Torrego A, Arbery J, MacKay I, Durham SR, Chung KF. Postnasal drip and chronic cough: An open interventional study. *Respir Med*. 2009 Nov;103(11):1700-5.
164. Bucca C, Rolla G, Scappaticci E, Chiampo F, Bugiani M, Magnano M, D'Alberto M. Extrathoracic and intrathoracic airway responsiveness in sinusitis. *J Allergy Clin Immunol*. 1995 Jan;95(1 Pt 1):52-9.
165. Frank J. *De Curandis Hominum Morbis Epitome*. Mannhemii 1794;124-125.
166. Sanu A, Eccles R. Postnasal drip syndrome. Two hundred years of controversy between UK and USA. *Rhinology*. 2008 Jun;46(2):86-91.
167. Ichimura K, Sugimura H, Naito A, Maeda Y. How to manage patients with hard-to-recognize postnasal drip? *Rhinology*. 1999 Dec;37(4):164-7.
168. Lai K, Chen R, Lin J, Huang K, Shen H, Kong L, Zhou X, Luo Z, Yang L, Wen F, Zhong N. A prospective, multicenter survey on causes of chronic cough in China. *Chest*. 2013 Mar;143(3):613-620.
169. Yasuda K. Upper airway cough syndrome may be the main cause of chronic cough in Japan: a cohort study. *Fam Pract*. 2021 Nov 24;38(6):751-757.
170. Gao F, Gu QL, Jiang ZD. Upper airway cough syndrome in 103 children. *Chin Med J (Engl)*. 2019 Mar 20;132(6):653-658.
171. Koo HK, Jeong I, Lee SW, Park J, Kim JH, Park SY, Park HY, Rhee CK, Kim YH, Jung JY, Kim SK, Kim YH, Choi EY, Moon JY, Shin JW, Kim JW, Min KH, Kim SW, Yoo KH, Kim JH, Jang SH, Yoon HK, Kim HJ, Jung KS, Kim DK. Prevalence of chronic cough and possible causes in the general population based on the Korean National Health and Nutrition Examination Survey. *Medicine (Baltimore)*. 2016 Sep;95(37):e4595.
172. Irwin RS, Curley FJ, French CL. Chronic cough. The spectrum and frequency of causes, key components of the diagnostic evaluation, and outcome of specific therapy. *Am Rev Respir Dis*. 1990 Mar;141(3):640-7.
173. Fokkens W, Lund V, Mullol J; European Position Paper on Rhinosinusitis and Nasal Polyps group. European position paper on rhinosinusitis and nasal polyps 2007. *Rhinol Suppl*. 2007;20:1-136.
174. Rosenfeld RM, Piccirillo JF, Chandrasekhar SS, Brook I, Ashok Kumar K, Kramper M, Orlandi RR, Palmer JN, Patel ZM, Peters A, Walsh SA, Corrigan MD. Clinical practice guideline (update): adult sinusitis. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2015 Apr;152(2 Suppl):S1-S.
175. O'Hara J, Jones NS. "Post-nasal drip syndrome": most patients with purulent nasal secretions do not complain of chronic cough. *Rhinology*. 2006 Dec;44(4):270-3.

176. Lee J, Kim M, Kim JH, Lee YR, Kim S, Kim Y. A cheaper, faster way to resolve chronic cough. *J Fam Pract.* 2007 Aug;56(8):641-6.
177. Nakajima T, Nagano T, Nishimura Y. Retrospective Study of the Effects of Post-nasal Drip Symptoms on Cough Duration. *In Vivo.* 2021 May-Jun;35(3):1799-1803.
178. Visca D, Beghè B, Fabbri LM, Papi A, Spanevello A. Management of chronic refractory cough in adults. *Eur J Intern Med.* 2020 Nov;81:15-21.
179. Chung KF, Barnes PJ. Cytokines in asthma. *Thorax.* 1999 Sep;54(9):825-57.
180. Kamimura D, Ishihara K, Hirano T. IL-6 signal transduction and its physiological roles: the signal orchestration model. *Rev Physiol Biochem Pharmacol.* 2003 Apr; 149:1-38.
181. Dienz O, Rincon M. The effects of IL-6 on CD4 T cell responses. *Clin Immunol.* 2009 Jan;130(1):27-33.
182. Kicic A, Sutanto EN, Stevens PT, Knight DA, Stick SM. Intrinsic biochemical and functional differences in bronchial epithelial cells of children with asthma. *Am J Respir Crit Care Med.* 2006 Nov15;174(10):1110-8.
183. Stankiewicz W, Dabrowski MP, Chcialowski A, Plusa T. Cellular and cytokine immunoregulation in patients with chronic obstructive pulmonary disease and bronchial asthma. *Mediators Inflamm.* 2002 Oct;11(5):307-12.
184. Erin EM, Zacharasiewicz AS, Nicholson GC, Tan AJ, Neighbour H, Engelstätter R, Hellwig M, Kon OM, Barnes PJ, Hansel TT. Rapid effect of inhaled ciclesonide in asthma: a randomized, placebo-controlled study. *Chest.* 2008 Oct;134(4):740-745.
185. Neveu WA, Allard JL, Raymond DM, Bourassa LM, Burns SM, Bunn JY, Irvin CG, Kaminsky DA, Rincon M. Elevation of IL-6 in the allergic asthmatic airway is independent of inflammation but associates with loss of central airway function. *Respir Res.* 2010 Mar 8;11(1):28.
186. Ciprandi G, Silvestri M, Pistorio A, Tosca MA, Cirillo I. Clustering analysis in outpatients with allergic rhinitis in clinical practice. *Allergy.* 2019 Mar;74(3):607-610.
187. Gao S, Yu L, Zhang J, Li X, Zhou J, Zeng P, Zhang X. Expression and clinical significance of VCAM-1, IL-6, and IL-17A in patients with allergic rhinitis. *Ann Palliat Med.* 2021 Apr;10(4):4516-4522.
188. Wills-Karp M. Interleukin-13 in asthma pathogenesis. *Immunol Rev.* 2004 Dec;202:175-90.
189. Defrance T, Carayon P, Billian G, Guillemot JC, Minty A, Caput D, Ferrara P. Interleukin 13 is a B cell stimulating factor. *J Exp Med.* 1994 Jan 1;179(1):135-43.

190. McKenzie GJ, Emson CL, Bell SE, Anderson S, Fallon P, Zurawski G, Murray R, Grencis R, McKenzie AN. Impaired development of Th2 cells in IL-13-deficient mice. *Immunity*. 1998 Sep;9(3):423-32.
191. Coyle AJ, Le Gros G, Bertrand C, Tsuyuki S, Heusser CH, Kopf M, Anderson GP. Interleukin-4 is required for the induction of lung Th2 mucosal immunity. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 1995 Jul;13(1):54-9.
192. Wills-Karp M, Luyimbazi J, Xu X, Schofield B, Neben TY, Karp CL, Donaldson DD. Interleukin-13: central mediator of allergic asthma. *Science*. 1998 Dec 18;282(5397):2258-61.
193. Minty A, Chalon P, Derocq JM, Dumont X, Guillemot JC, Kaghad M, Labit C, Leplatois P, Liauzun P, Miloux B, et al. Interleukin-13 is a new human lymphokine regulating inflammatory and immune responses. *Nature*. 1993 Mar 18; 362(6417):248-50.
194. de Vries JE. The role of IL-13 and its receptor in allergy and inflammatory responses. *J Allergy Clin Immunol*. 1998 Aug;102(2):165-9.
195. Kuperman DA, Huang X, Koth LL, Chang GH, Dolganov GM, Zhu Z, Elias JA, Sheppard D, Erle DJ. Direct effects of interleukin-13 on epithelial cells cause airway hyperreactivity and mucus overproduction in asthma. *Nat Med*. 2002 Aug;8(8):885-9.
196. Zhu Z, Zheng T, Homer RJ, Kim YK, Chen NY, Cohn L, Hamid Q, Elias JA. Acidic mammalian chitinase in asthmatic Th2 inflammation and IL-13 pathway activation. *Science*. 2004 Jun 11;304(5677):1678-82.
197. Kroegel C, Julius P, Matthys H, Virchow JC Jr, Luttmann W. Endobronchial secretion of interleukin-13 following local allergen challenge in atopic asthma: relationship to interleukin-4 and eosinophil counts. *Eur Respir J*. 1996 May;9(5):899-904.
198. Chupp GL, Lee CG, Jarjour N, Shim YM, Holm CT, He S, Dziura JD, Reed J, Coyle AJ, Kiener P, Cullen M, Grandsaigne M, Dombret MC, Aubier M, Pretolani M, Elias JA. A chitinase-like protein in the lung and circulation of patients with severe asthma. *N Engl J Med*. 2007 Nov 15;357(20):2016-27.
199. Miyahara S, Miyahara N, Matsubara S, Takeda K, Koya T, Gelfand EW. IL-13 is essential to the late-phase response in allergic rhinitis. *J Allergy Clin Immunol*. 2006 Nov;118(5):1110-6.
200. Lambrecht BN, Hammad H, Fahy JV. The Cytokines of Asthma. *Immunity*. 2019 Apr 16;50(4):975-991.
201. Lambrecht BN, Hammad H. The immunology of asthma. *Nat Immunol*. 2015 Jan;16(1):45-56.

202. Hogan SP, Rosenberg HF, Moqbel R, Phipps S, Foster PS, Lacy P, Kay AB, Rothenberg ME. Eosinophils: biological properties and role in health and disease. *Clin Exp Allergy*. 2008 May;38(5):709-50.
203. Galdiero MR, Varricchi G, Seaf M, Marone G, Levi-Schaffer F, Marone G. Bidirectional Mast Cell-Eosinophil Interactions in Inflammatory Disorders and Cancer. *Front Med (Lausanne)*. 2017 Jul 24;4:103.
204. Nakajima H, Takatsu K. Role of cytokines in allergic airway inflammation. *Int Arch Allergy Immunol*. 2007;142(4):265-73.
205. Wood LJ, Sehmi R, Dorman S, Hamid Q, Tulic MK, Watson RM, Foley R, Wasi P, Denburg JA, Gauvreau G, O'Byrne PM. Allergen-induced increases in bone marrow T lymphocytes and interleukin-5 expression in subjects with asthma. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002 Sep 15;166(6):883-9.
206. Ohno T, Morita H, Arae K, Matsumoto K, Nakae S. Interleukin-33 in allergy. *Allergy*. 2012 Oct;67(10):1203-14.
207. Rogala B, Glück J. The role of interleukin-33 in rhinitis. *Curr Allergy Asthma Rep*. 2013 Apr;13(2):196-202.
208. Miller AM. Role of IL-33 in inflammation and disease. *J Inflamm (Lond)*. 2011 Aug 26;8(1):22.
209. Smithgall MD, Comeau MR, Yoon BR, Kaufman D, Armitage R, Smith DE. IL-33 amplifies both Th1- and Th2-type responses through its activity on human basophils, allergen-reactive Th2 cells, iNKT and NK cells. *Int Immunol*. 2008 Aug;20(8):1019-30.
210. Ho LH, Ohno T, Oboki K, Kajiwara N, Suto H, Iikura M, Okayama Y, Akira S, Saito H, Galli SJ, Nakae S. IL-33 induces IL-13 production by mouse mast cells independently of IgE-FcεRI signals. *J Leukoc Biol*. 2007 Dec;82(6):1481-90.
211. Coffman RL. Origins of the T(H)1-T(H)2 model: a personal perspective. *Nat Immunol*. 2006 Jun;7(6):539-41.
212. Romagnani S. T-cell subsets (Th1 versus Th2). *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2000 Jul;85(1):9-18.
213. Steinman L. A brief history of T(H)17, the first major revision in the T(H)1/T(H)2 hypothesis of T cell-mediated tissue damage. *Nat Med*. 2007 Feb;13(2):139-45.
214. Schmidt-Weber CB, Akdis M, Akdis CA. TH17 cells in the big picture of immunology. *J Allergy Clin Immunol*. 2007 Aug;120(2):247-54.
215. Fort MM, Cheung J, Yen D, Li J, Zurawski SM, Lo S, Menon S, Clifford T, Hunte B, Lesley R, Muchamuel T, Hurst SD, Zurawski G, Leach MW, Gorman DM, Rennick DM. IL-

- 25 induces IL-4, IL-5, and IL-13 and Th2-associated pathologies in vivo. *Immunity*. 2001 Dec;15(6):985-95.
216. Wang YH, Angkasekwinai P, Lu N, Voo KS, Arima K, Hanabuchi S, Hippe A, Corrigan CJ, Dong C, Homey B, Yao Z, Ying S, Huston DP, Liu YJ. IL-25 augments type 2 immune responses by enhancing the expansion and functions of TSLP-DC-activated Th2 memory cells. *J Exp Med*. 2007 Aug 6;204(8):1837-47.
217. Manel N., Unutmaz D., Littman D.R. The differentiation of human T(H)-17 cells requires transforming growth factor-beta and induction of the nuclear receptor RORgammat. *Nat. Immunol*. 2008;9:641–649.
218. Veldhoen M, Stockinger B. TGFbeta1, a "Jack of all trades": the link with pro-inflammatory IL-17-producing T cells. *Trends in immunology*. 2006 Aug;27(8):358-361.
219. Kimura A, Naka T, Kishimoto T. IL-6-dependent and -independent pathways in the development of interleukin 17-producing T helper cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2007 Jul 17;104(29):12099-12104.
220. Ichiyama K, Yoshida H, Wakabayashi Y, Chinen T, Saeki K, Nakaya M, et al. Foxp3 inhibits RORgammat-mediated IL-17A mRNA transcription through direct interaction with RORgammat. *The Journal of biological chemistry*. 2008 Jun 20;283(25):17003-17008.
221. Liu Y, Zeng M, Liu Z. Th17 response and its regulation in inflammatory upper airway diseases. *Clin Exp Allergy*. 2015 Mar;45(3):602-12.
222. Huang X, Chen Y, Zhang F, Yang Q, Zhang G. Peripheral Th17/Treg cell-mediated immunity imbalance in allergic rhinitis patients. *Braz J Otorhinolaryngol*. 2014 Apr;80(2):152-5.
223. Lim H, Kim YU, Yun K, Drouin SM, Chung Y. Distinct regulation of Th2 and Th17 responses to allergens by pulmonary antigen presenting cells in vivo. *Immunology Letters* 2013, 156:140–148.
224. Janeway CA Jr, Travers P, Walport M, et al. *Immunobiology: The Immune System in Health and Disease*. 5th edition. New York: Garland Science; 2001. The production of IgE. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK27117/>
225. Milovanovic M, Drozdenko G, Weise C, Babina M, Worm M. Interleukin-17A promotes IgE production in human B cells. *J Invest Dermatol*. 2010 Nov;130(11):2621-8.
226. Bayrak Degirmenci P, Aksun S, Altin Z, Bilgir F, Arslan IB, Colak H, Ural B, Solakoglu Kahraman D, Diniz G, Ozdemir B, Kirmaz C. Allergic Rhinitis and Its Relationship with IL-10, IL-17, TGF- β , IFN- γ , IL 22, and IL-35. *Dis Markers*. 2018 Mar 6;2018:9131432.

227. Oboki K, Ohno T, Saito H, Nakae S. Th17 and allergy. *Allergol Int.* 2008 Jun;57(2):121-34.
228. Shahsavan S, Pirayesh A, Samani OZ, Shirzad H, Zamani MA, Amani S, Kazemi SM, Moghni M, Deris F, Bageri N, Salimzadeh L, Tavakoli G, Arjenaki MG. The relationship between IL-17A and IL-22 expression and clinical severity in patients with moderate/severe persistent allergic rhinitis. *Am J Otolaryngol.* 2019 Mar-Apr;40(2):173-178.
229. Gu ZW, Wang YX, Cao ZW. Neutralization of interleukin-17 suppresses allergic rhinitis symptoms by downregulating Th2 and Th17 responses and upregulating the Treg response. *Oncotarget.* 2017 Apr 4;8(14):22361-22369.
230. Quan SH, Zhang YL, Han DH, Iwakura Y, Rhee CS. Contribution of interleukin 17A to the development and regulation of allergic inflammation in a murine allergic rhinitis model. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2012 May;108(5):342-50.
231. Ciprandi G, De Amici M, Murdaca G, Fenoglio D, Ricciardolo F, Marseglia G, Tosca M. Serum interleukin-17 levels are related to clinical severity in allergic rhinitis. *Allergy.* 2009 Sep;64(9):1375-8.
232. Ciprandi G, Filaci G, Battaglia F, Fenoglio D. Peripheral Th-17 cells in allergic rhinitis: New evidence. *Int Immunopharmacol.* 2010 Feb;10(2):226-9.
233. Tsvetkova-Vicheva VM, Gecheva SP, Komsa-Penkova R, Velkova AS, Lukanov TH. IL-17 producing T cells correlate with polysensitization but not with bronchial hyperresponsiveness in patients with allergic rhinitis. *Clin Transl Allergy.* 2014 Jan 15;4(1):3.
234. Oppmann B, Lesley R, Blom B, Timans JC, Xu Y, Hunte B, Vega F, Yu N, Wang J, Singh K, Zonin F, Vaisberg E, Churakova T, Liu M, Gorman D, Wagner J, Zurawski S, Liu Y, Abrams JS, Moore KW, Rennick D, de Waal-Malefyt R, Hannum C, Bazan JF, Kastelein RA. Novel p19 protein engages IL-12p40 to form a cytokine, IL-23, with biological activities similar as well as distinct from IL-12. *Immunity.* 2000 Nov;13(5):715-25.
235. McGeachy MJ, Bak-Jensen KS, Chen Y, Tato CM, Blumenschein W, McClanahan T, Cua DJ. TGF-beta and IL-6 drive the production of IL-17 and IL-10 by T cells and restrain T(H)-17 cell-mediated pathology. *Nat Immunol.* 2007 Dec;8(12):1390-7.
236. Langrish CL, Chen Y, Blumenschein WM, Mattson J, Basham B, Sedgwick JD, McClanahan T, Kastelein RA, Cua DJ. IL-23 drives a pathogenic T cell population that induces autoimmune inflammation. *J Exp Med.* 2005 Jan 17;201(2):233-40.
237. Li Y, Sun M, Cheng H, Li S, Liu L, Qiao H, Hua S, Lu J. Silencing IL-23 expression by a small hairpin RNA protects against asthma in mice. *Exp Mol Med.* 2011 Apr 30;43(4):197-204.

238. Li Y, Hua S. Mechanisms of pathogenesis in allergic asthma: role of interleukin-23. *Respirology*. 2014 Jul;19(5):663-9.
239. Quan SH, Zhang YL, Han DH, Iwakura Y, Rhee CS. Contribution of interleukin-17A to the development and regulation of allergic inflammation in a murine allergic rhinitis model. *Ann Allergy Asthma Immunol*. March 2012; 108:342-50.
240. Wang M, Zhang W, Shang J, Yang J, Zhang L, Bachert C. Immunomodulatory effects of IL-23 and IL-17 in a mouse model of allergic rhinitis. *Clin Exp Allergy*. 2013 Aug;43(8):956-66.
241. Nakajima H, Hirose K. Role of IL-23 and Th17 Cells in Airway Inflammation in Asthma. *Immune Netw*. 2010 Feb;10(1):1-4.
242. Xuekun Huang, Qintai Yang, Yulian Chen, Peng Li, Gehua Zhang, Yuan Li. (2011). Expression of IL-17, IL-21 and IL-23 in the serum of allergic rhinitis patients. *J Med Biochem* 30:323–327.
243. Lee HS, Park DE, Lee JW, Chang Y, Kim HY, Song WJ, Kang HR, Park HW, Chang YS, Cho SH. IL-23 secreted by bronchial epithelial cells contributes to allergic sensitization in asthma model: role of IL-23 secreted by bronchial epithelial cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2017 Jan 1;312(1):L13-L21.
244. Pflanz S, Timans JC, Cheung J, Rosales R, Kanzler H, Gilbert J, Hibbert L, Churakova T, Travis M, Vaisberg E, et al.. IL-27, a heterodimeric cytokine composed of EBI3 and p28 protein, induces proliferation of naive CD4⁺ T cells. *Immunity*. 2002 Jun;16(6):779-90.
245. Jones GW, Hill DG, Cardus A, Jones SA. IL-27: a double agent in the IL-6 family. *Clin Exp Immunol*. 2018 Jul;193(1):37-46.
246. Owaki T, Asakawa M, Morishima N, Hata K, Fukai F, Matsui M, Mizuguchi J, Yoshimoto T. A role for IL-27 in early regulation of Th1 differentiation. *J Immunol*. 2005 Aug 15;175(4):2191-200.
247. Yoshimoto T, Yasuda K, Mizuguchi J, Nakanishi K. IL-27 suppresses Th2 cell development and Th2 cytokines production from polarized Th2 cells: a novel therapeutic way for Th2-mediated allergic inflammation. *J Immunol*. 2007 Oct 1;179(7):4415-23.
248. Wang RX, Yu CR, Mahdi RM, Egwuagu CE. Novel IL27p28/IL12p40 cytokine suppressed experimental autoimmune uveitis by inhibiting autoreactive Th1/Th17 cells and promoting expansion of regulatory T cells. *J Biol Chem*. 2012 Oct 19;287(43):36012-21.
249. Artis D, Villarino A, Silverman M, He W, Thornton EM, Mu S, Summer S, Covey TM, Huang E, Yoshida H, Koretzky G, Goldschmidt M, Wu GD, de Sauvage F, Miller HR, Saris

- CJ, Scott P, Hunter CA. The IL-27 receptor (WSX-1) is an inhibitor of innate and adaptive elements of type 2 immunity. *J Immunol*. 2004 Nov 1;173(9):5626-34.
250. Gan H, Du J, Ouyang H, Cheng J, Mao H. Interleukin-27 inhibits helper T cell type-2 response in allergic rhinitis. *Auris Nasus Larynx*. 2020 Feb;47(1):84-89.
251. Elazab SZ, Hessam WF. Effect of Allergen Specific Immunotherapy on Serum levels of IL-17 and IL-35 in Allergic Rhinitis Patients. *Egypt J Immunol*. 2017 Jun;24(2):101-107.
252. Ouyang H, Cheng J, Du J, Gan H, Zheng L. Interleukin-27 Suppresses T Helper-17 Inflammation in Allergic Rhinitis. *Iran J Immunol*. 2020 Dec;17(4):275-282.
253. Sawant DV, Hamilton K, Vignali DA. Interleukin-35: Expanding Its Job Profile. *J Interferon Cytokine Res*. 2015 Jul;35(7):499-512.
254. Collison LW, Workman CJ, Kuo TT, Boyd K, Wang Y, Vignali KM, Cross R, Sehy D, Blumberg RS, Vignali DA. The inhibitory cytokine IL-35 contributes to regulatory T-cell function. *Nature*. 2007 Nov 22;450(7169):566-9.
255. Lloyd CM, Hawrylowicz CM. Regulatory T cells in asthma. *Immunity*. 2009 Sep 18;31(3):438-49.
256. Hawrylowicz CM. Regulatory T cells and IL-10 in allergic inflammation. *J Exp Med*. 2005 Dec 5;202(11):1459-63.
257. Liu W, Zeng Q, Wen Y, Tang Y, Yan S, Li Y, Zhou L, Luo R. Inhibited interleukin 35 expression and interleukin 35-induced regulatory T cells promote type II innate lymphoid cell response in allergic rhinitis. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2021 Feb;126(2):152-161.e1.
258. Wang W, Wei C, Cheng Z, Yang J. Aberrant Th2 Immune Responses Are Associated With a Reduced Frequency of IL-35-Induced Regulatory T Cells After Allergen Exposure in Patients With Allergic Asthma. *Allergy Asthma Immunol Res*. 2020 Nov;12(6):1029-1045.
259. Vignali DA, Collison LW, Workman CJ. How regulatory T cells work. *Nat Rev Immunol*. 2008 Jul;8(7):523-32.
260. Kanai K, Park AM, Yoshida H, Tsunoda I, Yoshie O. IL-35 Suppresses Lipopolysaccharide-Induced Airway Eosinophilia in EBI3-Deficient Mice. *J Immunol*. 2017 Jan 1;198(1):119-127.
261. Wang W, Li P, Chen YF, Yang J. A potential immunopathogenic role for reduced IL-35 expression in allergic asthma. *J Asthma*. 2015 Oct;52(8):763-71.
262. Kouzaki H, Arai Y, Nakamura K, Murao T, Tojima I, Shimizu S, Yuta A, Shimizu T. Anti-inflammatory roles of interleukin-35 in the pathogenesis of Japanese cedar pollinosis. *Asia Pac Allergy*. 2021 Jul 21;11(3):e34.

263. Yokota M, Suzuki M, Nakamura Y, Ozaki S, Murakami S. Cytokine modulation by IL-35 in mice with allergic rhinitis. *Am J Rhinol Allergy*. 2015 Jul-Aug;29(4):251-6.
264. Huang CH, Loo EX, Kuo IC, Soh GH, Goh DL, Lee BW, Chua KY. Airway inflammation and IgE production induced by dust mite allergen-specific memory/effector Th2 cell line can be effectively attenuated by IL-35. *J Immunol*. 2011 Jul 1;187(1):462-71.
265. Dong J, Wong CK, Cai Z, Jiao D, Chu M, Lam CW. Amelioration of allergic airway inflammation in mice by regulatory IL-35 through dampening inflammatory dendritic cells. *Allergy*. 2015 Aug;70(8):921-32.
266. Suzuki M, Yokota M, Nakamura Y, Ozaki S, Murakami S. Intranasal administration of IL-35 inhibits allergic responses and symptoms in mice with allergic rhinitis. *Allergol Int*. 2017 Apr;66(2):351-356.
267. Chen C., Deng Y., Chen H., Wu X., Cheng S., Xu Y., Xiong W., Xie J. Decreased concentration of IL-35 in plasma of patients with asthma and COPD. *Asian Pac. J. Allergy Immunol*. 2014;32:211–217.
268. Fiorentino DF, Bond MW, Mosmann TR. Two types of mouse T helper cell. IV. Th2 clones secrete a factor that inhibits cytokine production by Th1 clones. *J Exp Med*. 1989 Dec 1;170(6):2081-95.
269. Moore KW, de Waal Malefyt R, Coffman RL, O'Garra A. Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. *Annu Rev Immunol*. 2001;19:683-765.
270. Mauri C, Bosma A. Immune regulatory function of B cells. *Annu Rev Immunol*. 2012;30:221-41.
271. Akdis M, Verhagen J, Taylor A, Karamloo F, Karagiannidis C, Cramer R, Thunberg S, Deniz G, Valenta R, Fiebig H, Kegel C, Disch R, Schmidt-Weber CB, Blaser K, Akdis CA. Immune responses in healthy and allergic individuals are characterized by a fine balance between allergen-specific T regulatory 1 and T helper 2 cells. *J Exp Med*. 2004 Jun 7;199(11):1567-75.
272. Shamji MH, Durham SR. Mechanisms of allergen immunotherapy for inhaled allergens and predictive biomarkers. *J Allergy Clin Immunol*. 2017 Dec;140(6):1485-1498.
273. Del Prete G, De Carli M, Almerigogna F, Giudizi MG, Biagiotti R, Romagnani S. Human IL-10 is produced by both type 1 helper (Th1) and type 2 helper (Th2) T cell clones and inhibits their antigen-specific proliferation and cytokine production. *J Immunol*. 1993 Jan 15;150(2):353-60.

274. Wosinska-Becler K, Plewako H, Håkansson L, Rak S. Cytokine production in peripheral blood cells during and outside the pollen season in birch-allergic patients and non-allergic controls. *Clin Exp Allergy*. 2004 Jan;34(1):123-30.
275. Almqvist C, Worm M, Leynaert B; working group of GA2LEN WP 2.5 Gender. Impact of gender on asthma in childhood and adolescence: a GA2LEN review. *Allergy*. 2008 Jan;63(1):47-57.
276. Fröhlich M, Pinart M, Keller T, Reich A, Cabieses B, Hohmann C, Postma DS, Bousquet J, Antó JM, Keil T, Roll S. Is there a sex-shift in prevalence of allergic rhinitis and comorbid asthma from childhood to adulthood? A meta-analysis. *Clin Transl Allergy*. 2017 Dec 5;7:44.
277. Raji H, Haddadzadeh Shoushtari M, Idani E, Tavakol H, Afrakhteh S, Dastoorpoor M, Borsi SH. Forced Expiratory Flow at 25-75% as a Marker for Airway Hyper Responsiveness in Adult Patients with Asthma-like Symptoms. *Tanaffos*. 2018 Feb;17(2):90-95.
278. Scadding G. Cytokine profiles in allergic rhinitis. *Curr Allergy Asthma Rep*. 2014 May;14(5):435.
279. Williams CM, Rahman S, Hubeau C, Ma HL. Cytokine pathways in allergic disease. *Toxicol Pathol*. 2012;40(2):205-15.
280. Larché M, Robinson DS, Kay AB. The role of T lymphocytes in the pathogenesis of asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2003 Mar;111(3):450-63.
281. Rogala B, Glück J. The role of interleukin-33 in rhinitis. *Curr Allergy Asthma Rep*. 2013 Apr;13(2):196-202. Ding W, Zou GL, Zhang W, Lai XN, Chen HW, Xiong LX. Interleukin-33: Its Emerging Role in Allergic Diseases. *Molecules*. 2018 Jul 9;23(7):1665.
282. Benson M, Strannegård IL, Wennergren G, Strannegård O. Interleukin-5 and interleukin-8 in relation to eosinophils and neutrophils in nasal fluids from school children with seasonal allergic rhinitis. *Pediatr Allergy Immunol*. 1999 Aug;10(3):178-85.
283. König K, Klemens C, Eder K, San Nicolás M, Becker S, Kramer MF, Gröger M. Cytokine profiles in nasal fluid of patients with seasonal or persistent allergic rhinitis. *Allergy Asthma Clin Immunol*. 2015 Sep 22;11(1):26.
284. Marini M, Vittori E, Hollemborg J, Mattoli S. Expression of the potent inflammatory cytokines, granulocyte-macrophage-colony-stimulating factor and interleukin-6 and interleukin-8, in bronchial epithelial cells of patients with asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 1992 May;89(5):1001-9.

285. Gentile D, Doyle W, Whiteside T, Fireman P, Hayden FG, Skoner D. Increased interleukin-6 levels in nasal lavage samples following experimental influenza A virus infection. *Clin Diagn Lab Immunol*. 1998 Sep;5(5):604-8.
286. Ferreira MA. Cytokine expression in allergic inflammation: systematic review of in vivo challenge studies. *Mediators Inflamm*. 2003 Oct;12(5):259-67.
287. Asaka D, Yoshikawa M, Nakayama T, Yoshimura T, Moriyama H, Otori N. Elevated levels of interleukin-33 in the nasal secretions of patients with allergic rhinitis. *Int Arch Allergy Immunol*. 2012;158(1):47-50.
288. Baumann R, Rabaszowski M, Stenin I, Tilgner L, Gaertner-Akerboom M, Scheckenbach K, Wiltfang J, Chaker A, Schipper J, Wagenmann M. Nasal levels of soluble IL-33R ST2 and IL-16 in allergic rhinitis: inverse correlation trends with disease severity. *Clin Exp Allergy*. 2013 Oct;43(10):1134-43.
289. Glück J, Rymarczyk B, Rogala B. Serum IL-33 but not ST2 level is elevated in intermittent allergic rhinitis and is a marker of the disease severity. *Inflamm Res*. 2012 Jun;61(6):547-50.
290. Luo W, Hu J, Xu W, Dong J. Distinct spatial and temporal roles for Th1, Th2, and Th17 cells in asthma. *Front Immunol*. 2022 Aug 12;13:974066.
291. Sheha D, El-Korashi L, AbdAllah AM, El Begermy MM, Elzoghby DM, Elmahdi A. Lipid Profile and IL-17A in Allergic Rhinitis: Correlation With Disease Severity and Quality of Life. *J Asthma Allergy*. 2021 Feb 4;14:109-117.
292. Murdaca G, Colombo BM, Puppo F. The role of Th17 lymphocytes in the autoimmune and chronic inflammatory diseases. *Intern Emerg Med*. 2011 Dec;6(6):487-95.
293. Sorbello, V., Ciprandi, G., Di Stefano, A., Massaglia, G. M., Favatà, G., Conticello, S., Malerba, M., Folkerts, G., Profita, M., Rolla, G., & Ricciardolo, F. L. Nasal IL-17F is related to bronchial IL-17F/neutrophilia and exacerbations in stable atopic severe asthma. *Allergy*, 2015; 70(2), 236–240.
294. Agache I, Ciobanu C, Agache C, Anghel M. Increased serum IL-17 is an independent risk factor for severe asthma. *Respir Med*. 2010 Aug;104(8):1131-7.
295. Chien JW, Lin CY, Yang KD, Lin CH, Kao JK, Tsai YG. Increased IL-17A secreting CD4+ T cells, serum IL-17 levels and exhaled nitric oxide are correlated with childhood asthma severity. *Clin Exp Allergy*. 2013 Sep;43(9):1018-26.
296. Lv H, Lu B, Qian XJ, Huang JA, Qiu TF. Serum IL-17 & eotaxin levels in asthmatic patients with allergic rhinitis. *Pak J Med Sci*. 2016 May-Jun;32(3):700-4.

297. Tao B, Ruan G, Wang D, Li Y, Wang Z, Yin G. Imbalance of Peripheral Th17 and Regulatory T Cells in Children with Allergic Rhinitis and Bronchial Asthma. *Iran J Allergy Asthma Immunol.* 2015 Jun;14(3):273-9.
298. Xu G, Zhang L, Wang DY, Xu R, Liu Z, Han DM, Wang XD, Zuo KJ, Li HB. Opposing roles of IL-17A and IL-25 in the regulation of TSLP production in human nasal epithelial cells. *Allergy.* 2010 May;65(5):581-9.
299. Riechelmann H, Deutschle T, Friemel E, Gross HJ, Bachem M. Biological markers in nasal secretions. *Eur Respir J.* 2003 Apr;21(4):600-5.
300. Baumann R, Rabaszowski M, Stenin I, Tilgner L, Scheckenbach K, Wiltfang J, Schipper J, Chaker A, Wagenmann M. Comparison of the nasal release of IL-4, IL-10, IL-17, CCL13/MCP-4, and CCL26/eotaxin-3 in allergic rhinitis during season and after allergen challenge. *Am J Rhinol Allergy.* 2013 Jul-Aug;27(4):266-72.
301. Klemens C, Rasp G, Jund F, Hilgert E, Devens C, Pfrogner E, Kramer MF. Mediators and cytokines in allergic and viral-triggered rhinitis. *Allergy Asthma Proc.* 2007 Jul-Aug;28(4):434-41.
302. Sun L, Peng B, Zhou J, Wang P, Mo Y, Xu G, Tao Y, Song H, Tang W, Jin M. Difference of Serum Cytokine Profile in Allergic Asthma Patients According to Disease Severity. *J Asthma Allergy.* 2022 Mar 6;15:315-326.
303. Naydenova K, Dimitrov V, Velikova T. Immunological and microRNA Features of Allergic Rhinitis in the Context of United Airway Disease. *Sinusitis.* 2021; 5(1):45-52.
304. Huang X, Yang Q, Chen Y, P Li P, Zhang G, Li Y. Expression of IL-17, IL-21 and IL-23 in the serum of allergic rhinitis patients. *J Med Biochem.* 2011;30:323–327.
305. Nieminen K, Valovirta E, Savolainen J. Clinical outcome and IL-17, IL-23, IL-27 and FOXP3 expression in peripheral blood mononuclear cells of pollen-allergic children during sublingual immunotherapy. *Pediatr Allergy Immunol.* 2010 Feb;21(1 Pt 2):e174-84.
306. Beadling C, Slifka MK. Regulation of innate and adaptive immune responses by the related cytokines IL-12, IL-23, and IL-27. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz).* 2006 Jan-Feb;54(1):15-24.
307. Wakashin H, Hirose K, Iwamoto I, Nakajima H. Role of IL-23-Th17 cell axis in allergic airway inflammation. *Int Arch Allergy Immunol.* 2009;149 Suppl 1:108-12.
308. Malizia V, Ferrante G, Cilluffo G, Gagliardo R, Landi M, Montalbano L, Fasola S, Profita M, Licari A, Marseglia GL, La Grutta S. Endotyping Seasonal Allergic Rhinitis in Children: A Cluster Analysis. *Front Med (Lausanne).* 2022 Jan 26;8:806911.

309. Iwasaki Y, Fujio K, Okamura T, Yamamoto K. Interleukin-27 in T cell immunity. *Int J Mol Sci*. 2015 Jan 27;16(2):2851-63.
310. Luo X, Zeng Q, Li Y, Tang Y, Liu W, Luo R. The Inhibition of Group II Innate Lymphoid Cell Response by IL-27 in Allergic Rhinitis. *J Immunol Res*. 2020 Dec 16;2020:6661524.
311. Li W, Gao R, Xin T, Gao P. Different expression levels of interleukin-35 in asthma phenotypes. *Respir Res*. 2020 Apr 16;21(1):89.
312. Collison LW, Chaturvedi V, Henderson AL, Giacomini PR, Guy C, Bankoti J, Finkelstein D, Forbes K, Workman CJ, Brown SA, Rehg JE, Jones ML, Ni HT, Artis D, Turk MJ, Vignali DA. IL-35-mediated induction of a potent regulatory T cell population. *Nat Immunol*. 2010 Dec;11(12):1093-101.
313. Nie M, Zeng Q, Xi L, Tang Y, Luo R, Liu W. The Effect of IL-35 on the Expression of Nasal Epithelial-Derived Proinflammatory Cytokines. *Mediators Inflamm*. 2021 Dec 3;2021:1110671.
314. Kurowska-Stolarska M, Kewin P, Murphy G, Russo RC, Stolarski B, Garcia CC, Komai-Koma M, Pitman N, Li Y, Niedbala W, McKenzie AN, Teixeira MM, Liew FY, Xu D. IL-33 induces antigen-specific IL-5⁺ T cells and promotes allergic-induced airway inflammation independent of IL-4. *J Immunol*. 2008 Oct 1;181(7):4780-90.
315. Morice AH, Jakes AD, Faruqi S, Birring SS, McGarvey L, Canning B, Smith JA, Parker SM, Chung KF, Lai K, Pavord ID, van den Berg J, Song WJ, Millqvist E, Farrell MJ, Mazzone SB, Diczpinigaitis P; Chronic Cough Registry. A worldwide survey of chronic cough: a manifestation of enhanced somatosensory response. *Eur Respir J*. 2014 Nov;44(5):1149-55.
316. Kavalcikova-Bogdanova N, Buday T, Plevkova J, Song WJ. Chronic Cough as a Female Gender Issue. *Adv Exp Med Biol*. 2016;905:69-78.
317. Bai H, Sha B, Xu X, Yu L. Gender Difference in Chronic Cough: Are Women More Likely to Cough? *Front Physiol*. 2021 May 7;12:654797.
318. Watelet JB, Van Zele T, Brusselle G. Chronic cough in upper airway diseases. *Respir Med*. 2010 May;104(5):652-7.
319. Diver S, Russell RJ, Brightling CE. Cough and Eosinophilia. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2019 Jul-Aug;7(6):1740-1747.
320. Spanevello A, Confalonieri M, Sulotto F, Romano F, Balzano G, Migliori GB, Bianchi A, Michetti G. Induced sputum cellularity. Reference values and distribution in normal volunteers. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000 Sep;162(3 Pt 1):1172-4.

321. De Santi F, Zoppini G, Locatelli F, Finocchio E, Cappa V, Dauriz M, Verlato G. Type 2 diabetes is associated with an increased prevalence of respiratory symptoms as compared to the general population. *BMC Pulm Med*. 2017 Jul 17;17(1):101.
322. Saleh H. Rhinosinusitis, laryngopharyngeal reflux and cough: an ENT viewpoint. *Pulm Pharmacol Ther*. 2009 Apr;22(2):127-9.
323. Truba O, Dąbrowska M, Grabczak E, Arcimowicz M, Rybka A, Rybka M, Krenke R. Upper airway disorders in patients with upper airway cough syndrome. *ERS 2017* 50: PA4043.
324. Dąbrowska M, Arcimowicz M, Grabczak EM, Truba O, Rybka A, Białek-Gosk K, Klimowicz K, Jamróz B, Niemczyk K, Krenke R. Chronic cough related to the upper airway cough syndrome: one entity but not always the same. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2020 Oct;277(10):2753-2759.
325. Ferguson AC. Persisting airway obstruction in asymptomatic children with asthma with normal peak expiratory flow rates. *J Allergy Clin Immunol*. 1988 Jul;82(1):19-22.
326. Lipworth BJ, Clark DJ. Effects of airway calibre on lung delivery of nebulised salbutamol. *Thorax*. 1997 Dec;52(12):1036-9.
327. Wallace DV, Dykewicz MS, Bernstein DI, Blessing-Moore J, Cox L, Khan DA, Lang DM, Nicklas RA, Oppenheimer J, Portnoy JM, Randolph CC, Schuller D, Spector SL, Tilles SA; Joint Task Force on Practice; American Academy of Allergy; Asthma & Immunology; American College of Allergy; Asthma and Immunology; Joint Council of Allergy, Asthma and Immunology. The diagnosis and management of rhinitis: an updated practice parameter. *J Allergy Clin Immunol*. 2008 Aug;122(2):1-84.
328. Simon MR, Chinchilli VM, Phillips BR, Sorkness CA, Lemanske RF Jr, Szeffler SJ, Taussig L, Bacharier LB, Morgan W; Childhood Asthma Research and Education Network of the National Heart, Lung, and Blood Institute. Forced expiratory flow between 25% and 75% of vital capacity and FEV1/forced vital capacity ratio in relation to clinical and physiological parameters in asthmatic children with normal FEV1 values. *J Allergy Clin Immunol*. 2010 Sep;126(3):527-34.e1-8.
329. Guerra S, Sherrill DL, Baldacci S, Carrozzi L, Pistelli F, Di Pede F, Viegi G. Rhinitis is an independent risk factor for developing cough apart from colds among adults. *Allergy*. 2005 Mar;60(3):343-9.
330. Millqvist E, Bende M. Role of the upper airways in patients with chronic cough. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2006 Feb;6(1):7-11.

331. Leynaert B, Neukirch C, Kony S, Guénégou A, Bousquet J, Aubier M, Neukirch F. Association between asthma and rhinitis according to atopic sensitization in a population-based study. *J Allergy Clin Immunol*. 2004 Jan;113(1):86-93.
332. Cruz AA, Popov T, Pawankar R, Annesi-Maesano I, Fokkens W, Kemp J, Ohta K, Price D, Bousquet J; ARIA Initiative Scientific Committee. Common characteristics of upper and lower airways in rhinitis and asthma: ARIA update, in collaboration with GA(2)LEN. *Allergy*. 2007;62 Suppl 84:1-41.
333. Tatar M, Plevkova J, Brozmanova M, Pecova R, Kollarik M. Mechanisms of the cough associated with rhinosinusitis. *Pulm Pharmacol Ther*. 2009 Apr;22(2):121-6.
334. French CT, Fletcher KE, Irwin RS. A comparison of gender differences in health-related quality of life in acute and chronic coughers. *Chest*. 2005 Jun;127(6):1991-8.
335. Найденова К, Русеков Н, Димитров В. Корелации между алергичен ринит и бронхиална астма като доказателство за Единния дихателен път. *Алергии, Хиперсензитивност и Астма*. 2018; 14(1):53-58.
336. Corrao WM, Braman SS, Irwin RS. Chronic cough as the sole presenting manifestation of bronchial asthma. *N Engl J Med*. 1979 Mar 22;300(12):633-7.
337. Niimi A, Ohbayashi H, Sagara H, Yamauchi K, Akiyama K, Takahashi K, Inoue H, Wakayama T, Kobayashi H, Hasegawa M, Kimura G, Yokoe T, Adachi M. Cough variant and cough-predominant asthma are major causes of persistent cough: a multicenter study in Japan. *J Asthma*. 2013 Nov;50(9):932-7.
338. Yu L, Xu X, Lv H, Qiu Z. Advances in upper airway cough syndrome. *Kaohsiung J Med Sci*. 2015 May;31(5):223-8.
339. Rothe TB, Karrer W. Functional upper airway obstruction and chronic irritation of the larynx. *Eur Respir J*. 1998 Feb;11(2):498-500.
340. Shusterman D. Review of the upper airway, including olfaction, as mediator of symptoms. *Environ Health Perspect*. 2002 Aug;110 Suppl 4(Suppl 4):649-53.
341. Kenn K, Balkissoon R. Vocal cord dysfunction: what do we know? *Eur Respir J*. 2011 Jan;37(1):194-200.
342. Mikita JA, Mikita CP. Vocal cord dysfunction. *Allergy Asthma Proc*. 2006 Jul-Aug;27(4):411-4.
343. Weinberger M, Doshi D. Vocal cord dysfunction: a functional cause of respiratory distress. *Breathe (Sheff)*. 2017 Mar;13(1):15-21.
344. Orlandi RR, Terrell JE. Analysis of the adult chronic rhinosinusitis working definition. *Am J Rhinol*. 2002 Jan-Feb;16(1):7-10.

345. Rosbe KW, Jones KR. Usefulness of patient symptoms and nasal endoscopy in the diagnosis of chronic sinusitis. *Am J Rhinol.* 1998 May-Jun;12(3):167-71.
346. Петрова Д, Георгиев О. Хронична кашлица: етиология, диференциална-диагноза, най-чести заболявания. Алгоритъм за поведение. *Инспиро.* 2010 Юли; 2(10):15-23