

# FYZIOLÓGIA A PATOBYZIOLÓGIA NOSA, JEJ VÝZNAM PRE FUNKCIU DOLNÝCH DÝCHACÍCH CIEST

Mariana Brozmanová & Jana Plevková  
2020, Martin

Univerzita Komenského v Bratislave  
Jesseniova lekárska fakulta v Martine  
Ústav patologickej fyziológie

Autori: Mariana Brozmanová & Jana Plevková

# Fyziológia a patofyziológia nosa, jej význam pre funkciu dolných dýchacích ciest

*Recenzenti: doc. MUDr. Vladimír Čalkovský PhD., prof. MUDr. Daniela Mokrá PhD.*

*ISBN 978-80-8187-084-2*

*EAN 9788081870842*

© Mariana Brozmanová & Jana Plevková

2020, Martin

## PREDHOVOR

Ústav patologickej fyziológie JLF UK sa v rámci svojho výskumného zamerania venuje problematike ochorení respiračného systému už niekoľko dekád. Jednou z nosných tém sú aj patologické procesy v nosovej dutine a ich vplyv na funkciu dolných dýchacích ciest predovšetkým vo vzťahu k astme a syndrómu chronického kašľa. Pracovisko školí množstvo doktorandov ako aj študentov v rámci ŠVOČ, ktorí so záujmom pracujú v laboratóriách ústavu patologickej fyziológie, píšú svoje diplomové práce a z mnohých sa stávajú naši doktorandi a následne kolegovia.

Druhé, obohatené vydanie sme pripravili ako učebnicu venovanú predovšetkým im – študentom prichádzajúcim na naše pracovisko v rámci ŠVOČ a prípravy diplomovej práce a tým, ktorých zaujíma problematika komplexných vzťahov horných a dolných dýchacích ciest.

Nos je prvou časťou dýchacieho systému, ktorá sa dostáva do kontaktu s vdychovaným vzduchom, monitoruje jeho kvalitu, podieľa sa na jeho zohrievaní, zvlhčovaní, odstraňovaní korpuskulárnych nečistôt, a tak chráni dolné dýchacie cesty a pľúca pred prienikom týchto potenciálne nebezpečných faktorov. Studený a suchý vzduch, alergény, korpuskulárne znečisteniny, chemikálie – všetky uvedené skupiny ovplyvňujú fyziológiu dolných dýchacích ciest a môžu viesť k vzniku patologických procesov, ktoré ovplyvňujú kvalitu života pacientov. Preto, ak funkcie nosovej sliznice sú oslabené alebo úplne chýbajú, dochádza k dysfunkcii dolných dýchacích ciest pomerne často.

Z klinickej praxe je známe, že počet pacientov trpiacich rôznymi formami rinosinusopatií narastá tak v detskej ako i dospeljej populácii. Hoci tieto ochorenia neohrozujú pacienta priamo na živote, svojou prítomnosťou a priebehom ovplyvňujú kvalitu života a môžu viesť k vzniku závažných komplikácií v dôsledku existujúcich anatomických ako aj funkčných vzťahov.

V rámci vedecko-výskumnej činnosti počas našej praxe sme sa venovali modelovaniu rôznych patologických procesov v horných dýchacích cestách, detailne sme preštudovali ich vplyv na respiračný systém ako celok a preto ponúkame svoje poznatky a skúsenosti aj študentom fyziológie, patologickej fyziológie a otorinolaryngológie vo forme vysokoškolskej učebnice.

*Autorky*

## Obsah

PREDHOVOR .....	1
1 NOSOVÁ DUTINA .....	4
1.1 Anatómia a fyziológia – opakovanie základných poznatkov .....	4
1.2 Sliznica nosovej dutiny a jej štruktúra .....	6
1.3 Inervácia nosovej dutiny .....	8
1.3.1 Charakteristika nervových zakončení v sliznici nosovej dutiny .....	10
1.4 Cievné zásobenie nosovej sliznice a jeho regulácia .....	16
1.5 Žliazky nosovej sliznice a regulácia ich aktivity .....	18
Literatúra .....	20
2 FUNKCIE NOSOVEJ DUTINY .....	23
2.1 Súčasť dýchacích ciest, regulácia prietokového odporu dýchacích ciest .....	24
2.2 Úprava fyzikálnych vlastností vdychovaného vzduchu, zohrievanie a zvlhčovanie .....	27
2.3 Filtrácia častíc z vdychovaného vzduchu .....	30
2.4 Funkcia a význam povrchovej tekutiny .....	32
2.5 Obranné a ochranné reflexy vyvolané podráždením aferentných nervových zakončení v nose .....	35
2.5.1 Apnoický reflex .....	35
2.5.2 Kýchanie a sniffing .....	36
2.5.3 Kardiovaskulárne reakcie vyvolané stimuláciou aferentných nervových zakončení v sliznici nosovej dutiny .....	37
2.5.4 Lokálne reflexy, nazo-nazálne a trigemino-vágové nazobronchiálne reflexy .....	38
2.6 Imunitné funkcie nosovej sliznice .....	39
2.6.1 Mechanizmy vrodenej imunity .....	40
2.6.2 Mechanizmy získanej imunity .....	44
Literatúra .....	45
3 NAZÁLNA REAKTIVITA A HYPERREAKTIVITA, NAJČASTEJŠIE OCHORENIA NOSOVEJ SLIZNICE .....	48
3.1 Reaktivita nosovej sliznice .....	48
3.2 Teórie vysvetľujúce zvýšenie reaktivity nosovej sliznice .....	49
3.2.1 Vzostup epitelovej permeability .....	49
3.2.2 Dysfunkcia komplexného nervového systému nosovej sliznice .....	50
3.3 Zisťovanie reaktivity sliznice nosovej dutiny .....	52
3.4 Metodické problémy provokačných testov nosovej sliznice v experimentálnych podmienkach .....	56
3.4.1 Mechanické dráždenie aferentných nervových zakončení .....	56
3.4.2 Chemické dráždenie aferentných nervových zakončení .....	56
3.5 Najčastejšie ochorenia nosovej dutiny, ich príčiny a dôsledky .....	58

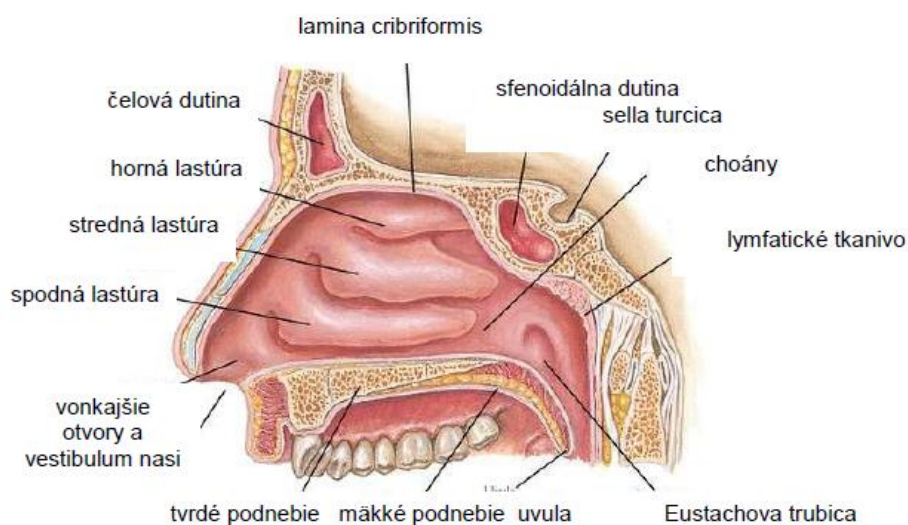
3.5.1 Infekčná (vírusová/bakteriálna) rinitída .....	58
3.5.2 Alergická rinitída.....	60
3.5.3 Nealergické neinfekčné rinitídy – vazomotorická rinitída .....	63
Literatúra .....	67
4 DYSFUNKCIA NOSA A JEJ VPLYV NA DOLNÉ DÝCHACIE CESTY .....	70
4.1 Syndróm zatekania hlienu do hypofaryngu a laryngu (post nasal drip syndróm).....	71
4.2 Mikroaspirácia nosového sekrétu pri nekompletnej obštrukcii nosovej dutiny .....	73
4.3 Kompletná obštrukcia nosovej dutiny – neadekvátne úprava vdychovaného vzduchu .	74
4.3.1 Dôsledky vdychovania studeného a suchého vzduchu .....	75
4.3.2 Nedostatočná filtrácia nečistôt v horných dýchacích cestách .....	78
4.3.3 Charakteristika najčastejších vzdušných znečistenín .....	81
4.3.4 Syndróm reaktívnej dysfunkcie dýchacích ciest a iritantmi vyvolaná astma.....	83
4.3.5 Pôsobenie vzdušných znečistenín – úloha neurogénneho zápalu .....	84
4.3.6 Molekulárne mechanizmy účinku vzdušných znečistenín .....	86
4.3.7 Dôsledky inhalácie škodlivín pre respiračný systém .....	88
4.4 Nazobronchiálny reflex .....	89
4.5 Propagácia zápalu z nosovej dutiny .....	90
4.6 Nervové mechanizmy podieľajúce sa na modulácii kašľa u subjektov s rinosinusopatiou .....	91
Literatúra .....	93
5 MOŽNOSTI VYUŽITIA ZVIERACÍCH MODELOV NA ŠTÚDIUM FUNKCIE A DYSFUNKCIE HORNÝCH DÝCHACÍCH CIEST .....	96
5.1 Základné princípy pri práci s laboratórnymi zvieratami .....	96
5.2 Modely experimentálnej alergickej rinitídy .....	103
5.2.1 Model rinitídy využívajúci ovalbumín .....	105
5.2.2 Model rinitídy využívajúci antigény roztočov .....	108
5.2.3 Model využívajúci aktiváciu TRP kanálov nervového systému nosovej sliznice	112
Literatúra .....	113
Zoznam a zdroje použitých obrázkov .....	117

# 1 NOSOVÁ DUTINA

## 1.1 Anatómia a fyziológia – opakovanie základných poznatkov

Nosovú dutinu tvorí zložito konfigurovaný priestor v tvárovej časti hlavy nad ústnou dutinou a pod prednou a strednou lebečnou jamou, ktorý patrí k horným dýchacím cestám. Je to vlastne kostená a chrupavková štruktúra vystlaná sliznicou, vpredu ohraničená vonkajšími nosovými otvormi a vzadu ústiaca cez choány do nosohltana. Ako prvá časť dýchacieho systému, ktorá sa dostáva do kontaktu s vdychovaným vzduchom zabezpečuje funkcie súvisiace predovšetkým s dýchaním, čuchom ako i obrannými a ochrannými mechanizmami dýchacieho systému.

Steny nosovej dutiny tvoria: nosová kosť, čelová kosť, čuchová kosť a časť klinovej kosti, ktoré formujú strop nosovej dutiny. Premaxilla, maxilla – jej podnebný výbežok spolu s podnebnou kosťou tvoria spodinu nosovej dutiny. Na stavbe laterálnej steny participuje slzná kosť, čuchová kosť, maxilla, podnebné kosti a processus klinovej kosti (*Obr. č. 1*).



**Obrázok 1:** Pohľad na laterálnu stenu nosovej dutiny (popis v texte)

Nosová dutina je rozdelená priehradkou - septom na dve časti, pravú a ľavú. Rozdelenie na pravú a ľavú časť býva často asymetrické. Z laterálnych stien nosovej dutiny odstupujú **konvexné kostené výbežky – lastúry**, ktoré rozdeľujú príslušné časti na prieduchy – horný, stredný a dolný. V dolnom prieduchu sa nachádza ústie slzného kanála, v strednom sa nachádza ústie čelovej a čelústnej dutiny, predných a stredných čuchových dutiniek.

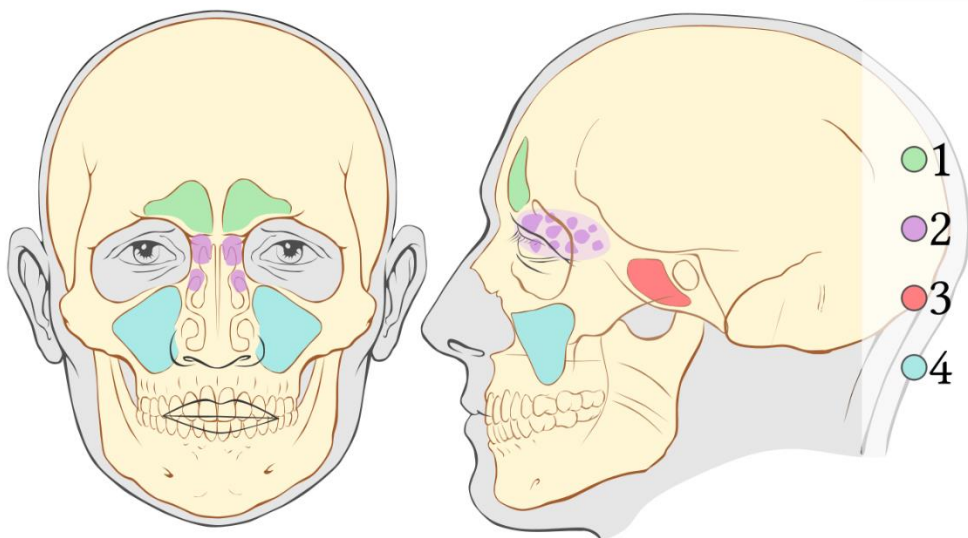
Takéto anatomické usporiadanie nosovej sliznice – záhyby sliznice vytvorené na nosových lastúrach – niekoľko násobne **zväčšuje jej efektívny povrch**, čo má mimoriadny význam pre správnu funkciu nosovej dutiny.

Lastúry svojou prítomnosťou okrem ďalšieho predelenia nosovej dutiny na prieduchy významne zväčšujú povrch sliznice v horných dýchacích cestách. Kým dolná a stredná lastúra predovšetkým usmerňujú prúd vzduchu, horná lastúra má aj ochrannú funkciu – chráni bulbus olfactorius, ktorý je súčasťou čuchového analyzátoru.

Sliznica pokrývajúca lastúry obsahuje špecifické cievne štruktúry, ktoré svojou funkciou pripomínajú erektilné tkanivo, čím sliznica môže v krátkom čase meniť svoj objem cestou vazomotorickej regulácie. Deje sa tak na základe naplnenia, či vyprázdnenia venózných sínusov. Takto dochádza k regulácii prietokového odporu nosových prieduchov. Preto aj pri minimálnom opuchu sliznice môže dochádzať k významnému ovplyvneniu prietokového odporu, čo sa napríklad u pacientov prejaví subjektívnym pocitom obštrukcie nosových prieduchov a zhoršeného dýchania nosom. Podrobnejšie informácie uvedieme v samostatnej kapitole o cievnom zásobení nosovej sliznice a jeho regulácii.

Nosová dutina komunikuje so **systémom prinosových dutín**, ktoré sa postupne formujú v priebehu života. Pri narodení sú vyvinuté zárodoky dutiniek čuchovej kosti. **Čelová, čeľustná** a dutina **klinovej kosti** sa vyvíjajú následne, do ukončenia puberty. Vývoj je ukončený približne v 20. roku života. **Dutinky čuchovej kosti** tvorí komplex 10 až 15 dutín, ktoré sú vzájomne prepojené. Za fyziologických podmienok je každá prinosová dutina spojená prirodzeným otvorom s nosovou dutinou. Z klinického hľadiska je významným miestom tzv. ostiomeátalna jednotka (komplex), kde nachádzame ústie prednej skupiny prinosových dutín do vlastnej nosovej dutiny. Pri patologickom náleze v tejto oblasti dochádza k rozvoju chorobných procesov v prinosových dutinách (*Obr. č. 2*).

Funkcia a význam existencie prinosových dutín je často predmetom diskusií. Dutiny znižujú hmotnosť lebky a podieľajú sa významne na niektorých ďalších funkciách – ako je napríklad **produkcia oxidu dusnatého - NO**. Dostatočná produkcia oxidu dusnatého v prinosových dutinách sa podieľa na regulácii tonusu hladkého svalstva v stene dolných dýchacích ciest. Okrem toho, oxid dusnatý má preukázané imunomodulačné vlastnosti. Rezonanciou štruktúr nosa a prinosových dutín dochádza aj k akustickej modulácii hlasu. Preto pri opuchu nosa a slizníc v prinosových dutinách získava hlas charakteristické zafarbenie – zavretá rinolália (rhinolalia clausa).



**Obrázok 2:** Frontálny a laterálny pohľad na nosovú dutinu a prinosové dutiny. 1 – čelová dutina, 2 – čuchové dutiny, 3- čeľusťná dutina, 4 – klinová dutina

## 1.2 Sliznica nosovej dutiny a jej štruktúra

Celá nosová dutina ako aj prinosové dutiny sú pokryté sliznicou, ktorá začína vpredu na limen nasi a na obode choán plynule prechádza do sliznice nosohltanu. Podľa vzhľadu a funkcie rozlišujeme **pars olfactoria** nosovej sliznice (čuchovú časť) a **pars respiratoria sliznice**, čiže dýchaciu časť.

**Pars olfactoria** pokrýva plochu približne 5 cm<sup>2</sup> a nachádza sa na časti concha superior, na odstupe concha media, v hornej tretine nosovej priehradky a priľahlej časti stropu nosovej dutiny. Tvoria ju bazálne bunky, podporné bunky a čuchové bunky, teda vlastné receptory čuchu. Sú to bipolárne bunky, ktoré na voľnom povrchu majú 6-8 cílií zanorených v hliene pokrývajúcim sliznicu a predstavujú vlastnú receptorovú časť bunky. Z bazálneho konca čuchovej bunky vychádza nervové vlákno - **neurit**. Súbory neuritov čuchových receptorov prechádzajú cez lamina cribrosa a tvoria fila olfactoria a neskôr **nervus olfactorius**. Súčasťou **pars olfactoria** sú aj žliazky, tzv. *glandulae olfactoriae*, ktorých sekrét má schopnosť rozpúšťať a chemicky modifikovať látky vnímané čuchom.

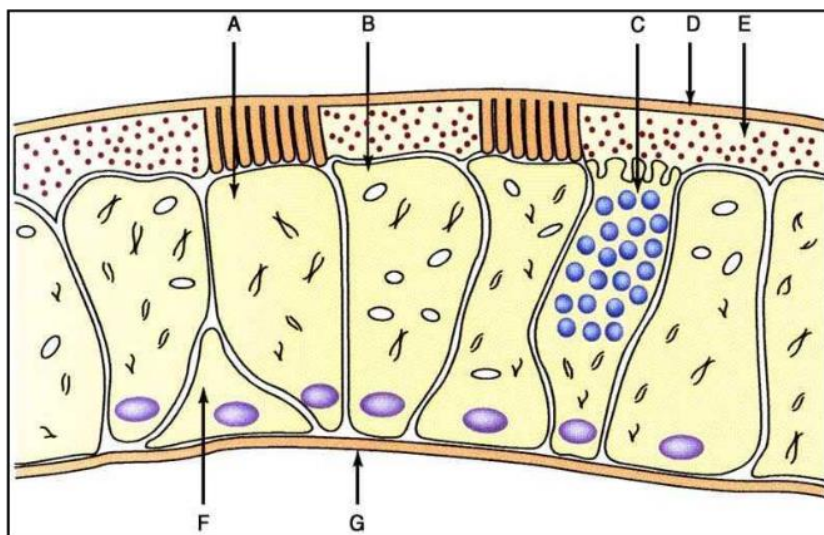
**Pars respiratoria** sliznice pokrýva väčšiu časť nosovej dutiny. Na povrchu je pseudostratifikovaný riasinkový epitel, typický pre dýchacie cesty. Respiračný epitel má tri hlavné typy buniek. **Bazálne bunky**, ktoré slúžia ako progenitorové bunky pre ďalšie dva bunkové typy a tiež napomáhajú adhézii kolumnárneho respiračného epitelu na bazálnu membránu. Druhým typom sú **cylindrické bunky** – s riasinkami i bez riasiniek. Bunky



s riasinkami disponujú na svojom povrchu cca 100 riasinkami a nachádzajú sa hneď za predným okrajom spodnej nosovej lastúry. Posledným typom sú **pohárikovité bunky**. Ich denzita v epiteli nosovej sliznice je porovnateľná s ich výskytom v dolných dýchacích cestách. V menšom množstve prispievajú k produkcii nosového sekréту.

Hlien, ktorý pokrýva túto časť sliznice, je produkováný pohárikovitými bunkami a tuboalveolárnymi žliazkami. Zachytávajú sa na ňom prachové častice nachádzajúce sa vo vdychovanom vzduchu a pohybmi riasinkového epitelu sú posúvané dorzálnym smerom až do nosohltana. Hlien prispieva k zvlhčovaniu vdychovaného vzduchu. Táto časť sliznice je bohato prekrvená, čo umožňuje zohrievanie vdychovaného vzduchu. Týmto procesom sa budeme venovať detailnejšie v nasledujúcich kapitolách.

Pod bazálnou membránou sa nachádza lamina propria, ktorá obsahuje množstvo žliazok a cievnych štruktúr (*Obr. č. 3*).



**Obrázok 3:** Štruktúra respiračného epitelu nosovej sliznice A – bunka s riasinkami, B – bunka bez riasiniek, C – pohárikovitá bunka, D – vrstva tekutiny gél, E – vrstva tekutiny sól, F – bazálna bunka, G – bazálna membrána.

Povrch sliznice je pokrytý tekutinou, ktorá je **bilaminárna** – má dve zreteľne odlišné vrstvy – riedku, seróznú vrstvu, ktorá obklopuje cílie riasinkového epitelu a nazýva sa aj periciliárna tekutina a na jej povrchu sa nachádza viskóznejšia hlienová vrstva, ktorá má význam v obrane a ochrane respiračných slizníc.

Pre správnu funkciu nosa je veľmi dôležitá regulácia produkcie sekréту a regulácia prekrvenia sliznice. Dôležitú úlohu v regulácii týchto procesov majú nervový a humorálny signálny systém.

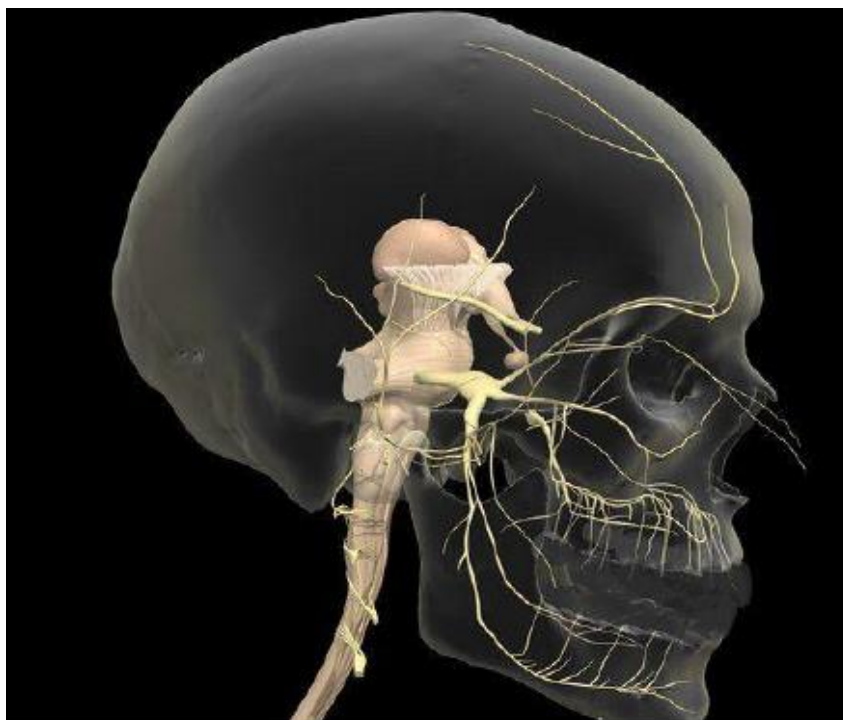
### 1.3 Inervácia nosovej dutiny

Hoci by sa zdalo, že primárnou funkciou nosa ako zmyslového orgánu je zabezpečovať detekciu čuchových podnetov, inervácia nosovej sliznice je komplexná a okrem už uvedenej zmyslovej - olfaktorickej inervácie, je primárne zameraná na:

- a) reguláciu prietoku krvi nosovou sliznicou, ktorá má rozhodujúci význam v regulácii prietokového odporu nosových pasáží,
- b) reguláciu sekrécie hlienu a
- c) ochranu/obranu ďalších častí dýchacích ciest pred potenciálne patogénnymi faktormi, ktoré by mohli byť vdýchnuté.

**Senzitívnu inerváciu** sliznice nosovej dutiny a prinosových dutín zabezpečujú vetvy trojklaného nervu, a to *n. ophthalmicus* a *n. maxillaris*. *N. ophthalmicus* vychádza z *ggl. Gasseri* ventrálnym smerom popri laterálnej stene sinus cavernosus. V týchto miestach príberá postgangliové vlákna, z krčnej časti sympatického systému. Telá týchto neurónov sa nachádzajú v *ggl. cervicothoracicum* - tzv. *ggl. stellatum*. Do nosovej dutiny prestupuje z orbity ako *n. ethmoidalis* cez rovnomenný otvor. Tento nerv zabezpečuje senzitívnu a autonómnou sympatickú inerváciu štruktúr v nosovej dutine a prinosových dutinách.

*N. maxillaris* po opustení *ggl. Gasseri* prebieha tiež ventrálnym smerom, pričom príberá vlákna parasympatického systému, ktoré pochádzajú z jadier mozgového kmeňa, cestou *n. petrosus major*. Tieto vlákna sú interpolované v *ggl. sphenopalatinum*. Vlákna sympatického systému z *ggl. stellatum* prichádzajú k tomuto nervu cestou *n. petrosus profundus*. Do nosovej dutiny prestupuje vetva z *n. maxillaris* cez *foramen sphenopalatinum* ako *n. nasalis posterior*. Ten sa podieľa na senzitívnej, sympatickej i parasympatickej inervácii (Obr. č. 4).



**Obrázok 4:** *Priebeh vlákien trojklaného nervu. Jeho tri hlavné vetvy – n. ophthalmicus, n. maxillaris a n. mandibularis obsahujú jednak aferentné vlákna inervujúce senzitivne štruktúry očnice, hornej a dolnej čeľuste, tváre, nosovej dutiny a prínosových dutín, pričom telá týchto senzitivných neurónov sú uložené v gangliu trojklaného nervu – ggl. Gasseri n. trigemini a informácia sa prenáša na neuróny vyšších rádo v spinálnom (senzitivnom) jadre trojklaného nervu.*

Autonómna inervácia je rozhodujúca v regulácii cievneho tonusu a prietoku krvi nosovou sliznicou a regulácii sekrécie hlienu pokrývajúceho povrch sliznice. Dynamická rovnováha medzi sympatikom a parasympatikom zabezpečuje optimálnu priechodnosť nosovej dutiny vplyvom na cievny tonus a permeabilitu ciev, optimálnu produkciu nosového sekrétu vplyvom na žľazy a cievy. V kapitole o dysfunkcii nosovej sliznice detailne uvádzame, k akým procesom dochádza v prípade, že tonus parasympatika prevládne nad sympatikom.

Senzitívna inervácia má význam v detekcii fyziologických ako aj noxických podnetov z vonkajšieho prostredia a tiež je významná z hľadiska iniciácie obranných a ochranných reflexov dýchacích ciest.

### 1.3.1 Charakteristika nervových zakončení v sliznici nosové dutiny

Aferentné nervové zakončenia v sliznici nosa pochádzajú buď z *n. olfactorius* a sú zodpovedné za percepciu čuchových podnetov alebo ide o aferentné zakončenia trojklaného nervu, ktorý zabezpečuje senzitivnu a nociceptívnu inerváciu nosovej sliznice. Ide o nervové zakončenia tak myelinizovaných ako i nemyelinizovaných nervových vlákien.

Stimuláciou aferentných nervových zakončení vhodným podnetom je možné vyvolať vnemy ako **bolesť, svrbenie, šteklenie, pálenie, dotyk, rozlišovanie tepelných podnetov a transmurálny tlak**. Na základe fyziologických štúdií bolo identifikovaných niekoľko druhov aferentných nervových zakončení v sliznici nosovej dutiny, pričom prebiehajúci intenzívny výskum v oblasti neurofyziológie, neurofarmakológie poskytuje stále novšie poznatky o týchto typoch nervových zakončení, lokalizácii tiel senzitivných neurónov v gangliu, ako aj ich centrálnych prepojeniach na neuróny druhého a vyšších rádo v centrálnom nervovom systéme.

#### Chemosenzitívne nociceptívne zakončenia

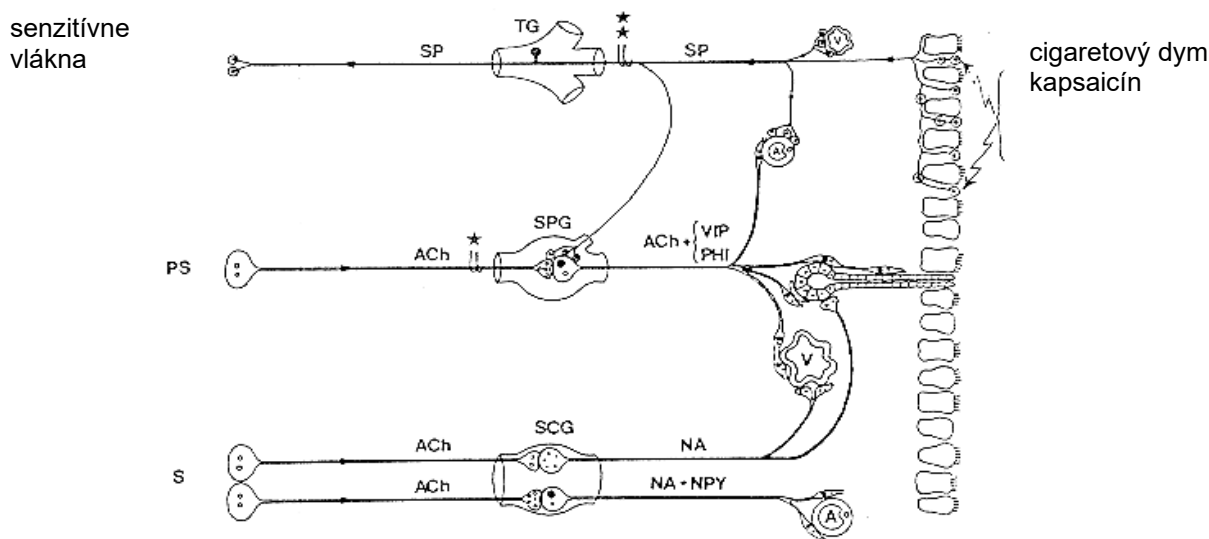
Sú to voľné nervové zakončenia nemyelinizovaných C a A $\delta$  vlákien, ktoré reagujú na podanie amoniaku, nikotínu alebo kapsaicínu. Taylor-Clark a spolupracovníci opísali lokalizáciu tiel aferentných neurónov zabezpečujúcich inerváciu nosovej sliznice pomocou intranazálnej instilácie farbiva DiI, ktoré bolo retrográdne transportované aferentnými vláknami až do tiel nervových buniek v *ggl. Gasseri*. DiI - pozitívne neuróny boli lokalizované v strednej časti ganglia, odkiaľ pochádzajú vlákna *n. ophthalmicus* a jeho terminálne vetvy pre nosovú sliznicu (*n. ethmoidalis*). V zadnej a hornej časti ganglia boli identifikované DiI - pozitívne neuróny, ktorých vlákna prebiehajú cez *n. maxillaris* a jeho terminálnu vetvu pre nosovú sliznicu (*n. nasalis posterior*). Na základe sledovania neurofyziologických vlastností DiI - pozitívnych neurónov uvedení autori opisujú heterogenitu chemosenzitívnych zakončení – ich schopnosť reagovať na rozličné stimuly.

Komplexnými metodikami molekulárnej biológie, ako je reverzná polymerázová reakcia z jednotlivých buniek (single cell RT PCR), boli identifikované kanály – receptory, ktoré sú zodpovedné za vznik aktivácie príslušných aferentných nervov po expozícii relevantným podnetom – napríklad receptory pre histamín, bradykinín, adenosín, ale aj heterogénna skupina viacdoménových transmembránových kanálov z rodiny TRP (Transient Receptor Potential). Tieto kanály sú exprimované na neurónoch, ktoré je možné charakterizovať ako termosenzitívne, pretože kanály TRPA1 a TRPM8 sú primárne aktivované zmenou teploty. Tieto kanály sú aktivované aj chemickými ligandmi, ako napríklad

alylizotiokyanát (pálivá látka z chrenu), cinamonaldehyd (zo škorice), alicín (z cesnaku) – uvedené látky sú agonisty TRPA1 kanála exprimovaného na nervových zakončeníach trojklaného nervu. Tento kanál je aktivovaný väčšinou **environmentálnych vzdušných nečistôt**. Kanál TRPM8 – tiež identifikovaný primárne ako termosenzitívny, je napríklad aktivovaný teplotou v spektre príjemného chladenia, a tiež má aj potentných agonistov z kategórie chemických látok s chladivým účinkom ako je mentol, či eukalyptol.

Najviac známy je kanál TRPV1 – kanál, aktivovaný vysokou teplotou (má charakter nociceptora) a kapsaicínom (extraktom z pálivej papriky), ktorého podráždenie iniciuje obranné a ochranné reflexné reakcie v horných dýchacích cestách. O úlohe daných iónových kanálov exprimovaných na nervových zakončeníach v nosovej sliznici hovorí nasledujúca kapitola.

Z uvedenej heterogenity a polymodality nervových zakončení v sliznici nosovej dutiny zrejme vyplýva aj komplexná percepcia stimulov aplikovaných na nosovú sliznicu, ktorá sa môže prejaviť ako spektrum subjektívnych pocitov pacienta – **svrbenie, šteklenie, pálenie a bolesť** (Obr. č. 5).



**Obrázok 5:** Inervácia nosovej sliznice. PS – parasympatikus, S – sympatikus, TG – ganglion n. trigemini, SP – substancia P, SCG – sympatické ganglion stellatum, SPG – ggl. sphenopalatinum, ACh – acetylcholín, VIP – vazoaktívny intestinálny polypeptid, PHI – peptid histidín izoleucín, NA – noradrenalín, NPY – neuropeptid Y, A – artéria, V – vena.

#### Nervové zakončenia reagujúce na mechanické podnety (cold/flow) receptory

Sú zakončenia nemyelinizovaných C a myelinizovaných A $\delta$  vlákien. Stimulom pre ich aktiváciu je **prúdenie vzduchu nosovými prieduchmi a pokles teploty** v nosovej dutine pri

konštantnom prietoku vzduchu. Sú citlivé aj na *l* – mentol pridaný ku vdychovanému vzduchu, podobne ako je to u chladových receptorov v laryngu. Sú aktívne počas inšpiria a expíria, nie sú aktívne pri oklúzii nosovej dutiny a pri tracheotómii. Aplikáciou agonistov týchto receptorov, ako je napríklad mentol, či eukalyptol, je možné vyvolať pocit zvýšeného prietoku cez nos pri objektívne nezmenenej rezistencii nosových prieduchov, čo je možné klinicky využiť na zmiernenie subjektívnych symptómov pri ochoreniach nosa.

### Mechanoreceptory

Tieto nervové zakončenia sa podľa indexu adaptácie a trvania výboja klasifikujú na rýchlo sa adaptujúce a pomaly sa adaptujúce receptory (RAR, SAR – rapidly a slowly adapting receptors). Je možné použiť i klasifikáciu, ktorú použil Sant'Ambrogio primárne pre laryngeálne receptory, avšak táto klasifikácia je relevantná aj pre nervové zakončenia v nosovej sliznici a to: **drive receptor** – aktívne počas dýchania nezávisle na zmene tlaku v nosovej dutine, **tlakové (pressure) receptor** – ktoré sú aktívne počas zmien intranazálneho tlaku, napríklad pri obštrukcii nosovej dutiny. Uvedené zakončenia sú stimulované počas dychového cyklu a navodzujú „pocit“ správneho dostatočného dýchania nosom. V prípade zúženia nosových prieduchov a nižšej stimulácie drive receptorov dochádza k vzniku pocitu obštrukcie nosa a zhoršeného dýchania, keďže na nádych a prekonanie zvýšeného prietokového odporu je potrebný vyšší tlak, ktorý dráždi tlakové receptory.

#### *1.3.1.1 Bližší pohľad na TRP kanály a ich význam pre funkciu horných dýchacích ciest*

Prvé TRP (angl. Transient Receptor Potential) kanály boli identifikované v roku 1969 dvojicou vedcov Cosensa a Manninga u octomieliek (drozofil) ako fotoreceptory. Svoj názov dostali podľa toho, že neuróny s TRP kanálmi odpovedali u octomieliek na dlhodobé intenzívne osvetlenie prechodným membránovým prúdom. Pred samotným objavom TRP kanálov boli známe len dva druhy kanálov priepustných pre vápnikové katióny: ligandom riadené a napätím riadené kanály. TRP kanály teda predstavujú novú triedu  $\text{Ca}^{2+}$  permeabilných kanálov.

TRP kanály pracujú ako bunkové senzory rôznych fyzikálnych aj chemických stimulov a do bunkových procesov sa zapájajú predovšetkým prostredníctvom zmien membránového napätia a zvyšovaním intracelulárneho  $\text{Ca}^{2+}$ . Presná úloha všetkých TRP kanálov v ľudskom tele však zatiaľ nebola podrobne opísaná, pretože spomínané kanály sú zapojené do širokej škály najrôznejších procesov, čo si vyžaduje detailné a časovo i technicky náročné skúmanie.

Okrem iných vedných disciplín, sú TRP kanály častým objektom záujmu aj v oblasti patofyziológie rozličných ochorení. TRP kanály a ich úloha v patofyziologických procesoch rôznych ochorení sú v súčasnosti predmetom veľmi intenzívneho výskumu práve preto, že dané kanály odpovedajú na množstvo odlišných podnetov a sú hojne distribuované v rozličných tkanivách a orgánoch ľudského tela. TRP kanály exprimované predovšetkým na plazmatických membránach slúžia hlavne ako senzory chemických a fyzikálnych podnetov (osmolarita, sladká i horká chuť, teplo, chlad). Intracelulárne lokalizované TRP kanály (napr. v endoplazmatickom retikule) majú pravdepodobne funkciu modulátorov  $\text{Ca}^{2+}$  homeostázy.

**Tabuľka 1:** Rozdelenie TRP kanálov do podskupín

	<i>Podskupina</i>	<i>Charakteristika typu podskupiny</i>
<b>1</b>	TRPC	Kanonický alebo klasický typ
<b>2</b>	TRPM	Melastatínový typ
<b>3</b>	TRPV	Vaniloidový typ
<b>4</b>	TRPA	Ankyrínový typ
<b>5</b>	TRPML	Mukolipínový typ
<b>6</b>	TRPP	Polycystínový typ
<b>7</b>	TRPN	8 až 29 opakujúcich sa ankyrínových molekúl v N-zakončení

Zo štruktúrneho hľadiska TRP kanály pozostávajú zo šiestich transmembránových domén (respektíve segmentov S1–S6), hydrofóbnej poréznej štrbiny medzi piatou a šiestou doménou a z dvoch zakončení C a N lokalizovaných intracelulárne. Porézna štrbina je typická hlavne pre napäťovo riadené kanály, no napriek tomu TRP kanály viažu aj špecifické ligandy. Vo všeobecnosti sú TRP kanály málo citlivé na depolarizáciu a viac odpovedajú na prítomnosť liganda, respektíve zmeny vlastnej bielkoviny kanála. Ako už bolo uvedené, väčšinou ide o  $\text{Ca}^{2+}$  a  $\text{Na}^{+}$  permeabilné kanály, niektoré z nich sú priepustné aj pre kationy  $\text{Mg}^{2+}$ .

U cicavcov bolo identifikovaných dosiaľ približne 30 génov pre TRP kanály. Na základe sekvenčnej homológie aminokyselín sa superrodina TRP kanálov člení do 7 podskupín, pričom podskupina TRPN sa v hojnom počte vyskytuje u bezstavovcov a rýb, ale jej zástupca u ľudí nebol identifikovaný. Jediný zástupca TRPA rodiny (TRPA1) vyskytujúci sa u ľudí bol identifikovaný na transformovaných fibroblastoch a jeho objav bol publikovaný v roku 1999

tímom švajčiarskych vedcov. N-zakončenie TRPA1 proteínu obsahuje 14 ankyrinových molekúl.

Polymodálnosť TRP kanálov sa prejavuje aj tým, že okrem chemických podnetov, niektoré TRP kanály odpovedajú aj na zmeny fyzikálnych veličín ako sú napríklad zmeny teploty a tak nám umožňujú vnímanie tepla a chladu. Medzi doteraz známe TRP podskupiny citlivé na zmeny teploty patria TRPV, TRPA a TRPM. Ich proteíny vytvárajú kationové kanály, ktoré reagujú na teplotu, ale zároveň sú aj nociceptívne.

Zaujímavosťou je tiež, že takmer všetky neuróny zadných miechových ganglií (angl. dorsal root ganglia, DRG) exprimujúce TRPA1 zároveň exprimujú aj TRPV1, ale TRPV1 nachádzame aj v iných neurónoch ako DRG a tu nie sú exprimované spolu s TRPA1. Tento fakt môže pravdepodobne vysvetľovať pojem „paradoxného chladu“, kedy lokalizovaný tepelný stimul vyvolá presne opačný vnem – pocit chladenia. Presný význam koexpresie TRPA1 a TRPV1 za normálnych podmienok nebol však dodnes celkom objasnený.

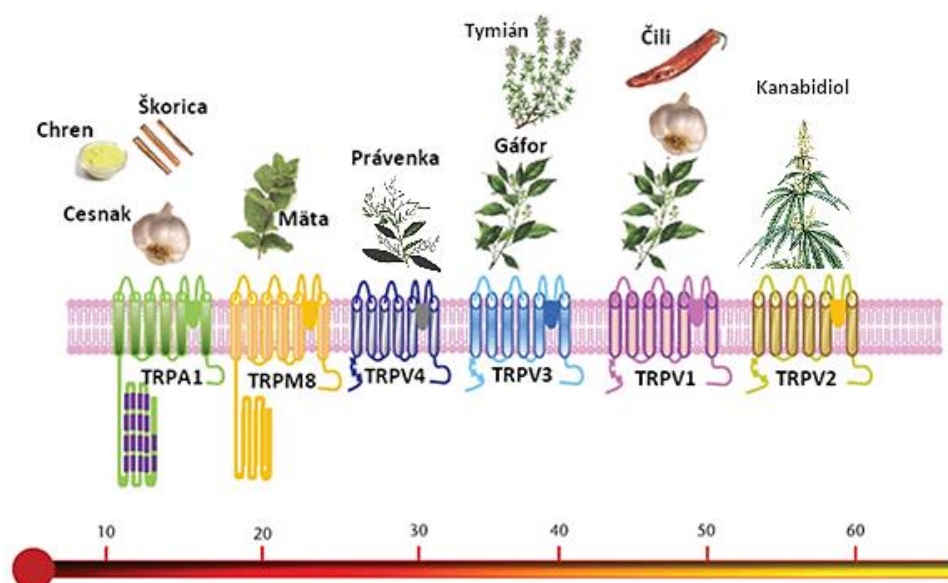
Všetky teplocitlivé TRP kanály sa vyznačujú špecifickým teplotným prahom a navyše ich aktivujú aj niektoré rastlinné alebo syntetické látky (*Obr. č. 6*). Napríklad rastlina pôvodom z Indie, používaná v ajurvédскеj medicíne, so slovenským názvom právenka latnatá (lat. *Andrographis paniculata*) sa vyznačuje vysokým obsahom bisandrografolidu (bisandrografolid je TRPV4 agonista) a v súčasnosti je táto rastlina považovaná za „kráľovnú horkosti“.

TRP kanály okrem teploty odpovedajú na rozličné ďalšie stimuly z prostredia ako je teplota, pH, osmolarita, feromóny, stimulujú ich tiež chuťové vnemy, rastlinné zložky a intracelulárne podnety ako  $\text{Ca}^{2+}$  fosfatidylinozitolové signálne cesty. Avšak stále nie je úplne objasnený presný mechanizmus aktivácie týchto kanálov *in vivo*.

## TRPA1

TRPA1 transmembránový iónový kanál, obsahuje 14 ankyrinových kópií v  $\text{NH}_2$  terminálnom zakončení, podľa čoho je aj pomenovaný. V horných dýchacích cestách má tento iónový kanál predovšetkým úlohu ako senzor pre vzdušné nečistoty a tým sa významne podieľa na obrane a ochrane dýchacích ciest. Jeho aktivácia na nervových zakončeniach iniciuje obranné a ochranné reflexné i nereflexné procesy.





**Obrázok 6:** Schematické znázornenie termosenzitívnych TRP-kanálov u cicavcov. Každý sa skladá zo šiestich domén, poréznej štrbiny medzi piatym a šiestym segmentom a z dvoch zakončení C a N

Množstvo toxických chemických látok vznikajúcich pri environmentálnom a priemyselnom znečistení patrí medzi agonistov TRPA1 receptora. Akroleín, jedna zo zložiek fotochemického smogu a znečisteného ovzdušia je agonista TRPA1 kanála. V kultúrach senzorických neurónov jeho aplikácia vyvoláva TRPA1 mediovaný influx  $\text{Ca}^{2+}$  iónov. Avšak aj ďalšie chemické látky a znečisteniny, ktoré sú súčasťou smogu a cigaretového dymu, sú potenciálne aktivátory TRPA1. Patria sem najmä alfa, beta nenasýtené aldehydy - metaakroleín, metylvinylketón, krotónaldehyd. TRPA1 zohráva aj dôležitú úlohu v chemosenzitivite na zložky cigaretového dymu.

TRPA1 receptor je aktivovaný aj celým radom endogénnych molekúl. Sú to predovšetkým voľné kyslíkové radikály (VKR) a ďalšie produkty oxidačného stresu vznikajúce peroxidáciou lipidov. Oxidačný stres prebieha pri akútnych aj chronických zápalových procesoch dýchacích ciest.

## TRPM8

Úloha TRPM8 ako senzitívneho/senzorického kanála bola zistená pri skúmaní trigeminálnych mentolových receptorov bioinformatickými postupmi s využitím sekvenčnej homológie TRP kanálov. TRPM8 je aktivovaný teplotne a to teplotami v intervale 8 až 28°C

a taktiež aj chemikáliami vyvolávajúcimi chladivý pocit ako je napríklad mentol, eukalyptol alebo icilín. Práve jedným z najznámejších prirodzených aktivátorov TRPM8 receptora je mentol. Prahové hodnoty koncentrácie pre aktiváciu TRPM8 kanála mentolom sa pohybujú rádovo v mikromóloch. Za superagonistu TRPM8 sa považuje látka icilín. Icilín vyvoláva účinky podobné mentolu už pri oveľa nižších koncentráciách, no mechanizmus aktivácie TRPM8 kanálov mentolom a chladom sa zdá byť odlišný od mechanizmu aktivácie tohto kanála icilínom, čo svedčí o polymodálnosti TRPM8 kanála.

Vdychovanie príliš chladného vzduchu môže v niektorých prípadoch indukovať autonómne respiračné odpovede ako zúženie dýchacích ciest, kašeľ, zvýšenú sekréciu hlienu, extravazáciu plazmatických proteínov, spôsobiť astmatický záchvat alebo zhoršiť priebeh už trvajúceho ochorenia. Úlohu TRPM8 kanála v iniciovaní uvedených autonómnych reakcií na chlad nie je možné vylúčiť, hoci kanál odpovedá na tzv. „príjemný chlad.“ Na teploty nižšie ako 8°C odpovedá už TRPA1 kanál exprimovaný vo veľkej miere na nociceptívnych neurónoch.

TRPM8 receptory sú primárne exprimované na aferentných senzorických neurónoch trigeminálnych ganglií a dorzálnych spinálnych ganglií, menej na vagových nodózných a jugulárnych neurónoch a nachádzame ich aj na epitelových bunkách, žliazkach a hladkých svaloch v dýchacom systéme. Nervové vlákna exprimujúce TRPM8, ktoré sa nachádzajú v sliznici nosa, sú lokalizované prevažne v blízkosti ciev a tak jednou z ich úloh by mohlo byť sprostredkovanie neurovaskulárnych reflexov.

#### 1.4 Cievne zásobenie nosovej sliznice a jeho regulácia

Cievne zásobenie nosovej sliznice je veľmi bohaté a pochádza z viacerých zdrojov. Artérie privádzajúce krv do cievnych štruktúr nosovej sliznice sú vetvy etmoidálnych, palatinálnych a labiálnych artérií. Klinicky je dôležité rozlišovať zdroje cievneho zásobenia (*a. carotis interna* a *a. carotis externa*).

Bohatá vaskularizácia nosovej sliznice je dôležitým prvkom, ktorý podporuje jej funkcie – v tomto prípade je to predovšetkým súčasť „výmenníka“, ktorý zabezpečuje ohrievanie a zvlhčovanie vdychovaného vzduchu. Množstvo ciev však predstavuje aj určité riziko. Miesto s najhustejšou sieťou ciev v nosovej sliznici sa nachádza v prednej tretine nosového septa a nazýva sa *locus Kiesselbachi* a vzadu na septe je *Woodrufov venózný plexus*. Poranenie ciev v tejto oblasti mechanicky (úder do nosa, opakované silné vyfúkanie nosa) alebo poškodenie chronickým zápalom môže viesť ku krvácaniu – epistaxe. Okrem lokálnych príčin krvácania

z nosa existujú aj iné závažné ochorenia, ktorých prvým prejavom je práve opakovaná epistaxa. Ide o hypertenziu a poruchy hemostázy, žiaľ niekedy spôsobené aj hematologickými malignitami, či inými problémami krvotvorby.

Cievna sieť sa bohato vetví v sliznici a vytvára **dve kapilárne siete** – povrchovú (subepiteliálnu) a hlbokú (periglandulárnu). Okrem mikrocirkulácie, arteriol a venúl sa tu nachádzajú **arteriovenózne anastomózy a venózne sinusoidy**, ktoré predstavujú kapacitnú časť riečiska (*Obr. č.7*). Charakteristickou vlastnosťou kapacitných cievnych štruktúr nosovej sliznice je, že sa dokážu v krátkom čase efektívne naplniť, prípadne vyprázdniť a tak sa podieľajú na regulácii prietokového odporu nosových prieduchov. **Stupeň vaskulárnej kongescie je najdôležitejším faktorom ovplyvňujúcim prietokový odpor.**

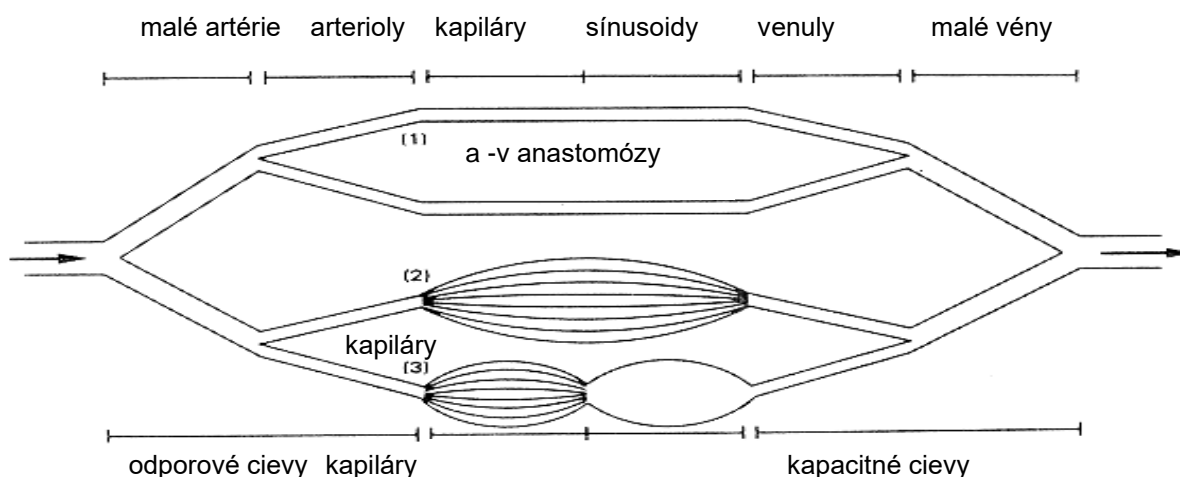
Prietok krvi v nosovej sliznici a tým aj rozsah kongescie sliznice v nosových prieduchoch je ovplyvňovaný nasledovnými mechanizmami:

- vzostup arteriálnej rezistencie nastáva dôsledkom **vazokonstrikcie arteriol**,
- zvýšenie kongescie sliznice nastáva **otvorením arteriovenózných anastomóz a naplnením venózných rezervoárov**,
- odtokom krvi cez venózne pletene sa kongescia zmierni.

Reguláciu tonusu hladkého svalstva týchto cievnych štruktúr zabezpečuje **vegetatívny nervový systém**. Sympatikus prostredníctvom noradrenalínu a neuropeptidu Y vedie k zníženiu prekrvenia nosovej sliznice. Rovnaký efekt majú aj látky s adrenergickým účinkom na  $\alpha_1$  receptory, napríklad adrenalín. Vedú ku zvýšeniu arteriálnej rezistencie. Parasympatikus prostredníctvom acetylcholínu a VIP (vazoaktívny intestinálny polypeptid) znižuje rezistenciu ciev ovplyvnením tonusu prekapilárnych odporových ciev. Ďalej sa na regulácii lúmenu kapacitných ciev podieľa **lokálne uvoľňovanie neuropeptidov**, akými sú napríklad neurokinín A a substancia P, ktoré sa uvoľňujú pri podráždení senzitívnych nervových zakončení typu C vlákien v sliznici. Ich účinok spočíva v dilatácii prekapilárnych rezistentných ciev. Neuropeptidy zo senzitívnych nervových vlákien ovplyvňujú cievny tonus prostredníctvom axónových reflexov.

Pri zápale nosovej sliznice zasahuje do regulácie cievneho tonusu účinok **zápalových mediátorov**, ktoré sa vylučujú v priebehu zápalovej reakcie. Pri alergickom zápale je to uvoľnenie histamínu a ďalších mediátorov, ktoré sú v mastocytoch uložené v zásobnej forme. Ďalej dochádza ku tvorbe derivátov kyseliny arachidonovej, prostaglandínov, tromboxanov

a leukotriénov. Okrem mediátorov, ktoré pochádzajú zo zápalových buniek, dochádza pri zápalovej reakcii aj ku extracelulárnej tvorbe mediátorov, predovšetkým bradykinínu a lyzylbradykinínu. Väčšina zápalových mediátorov (histamín, prostaglandíny, bradykinín) má vazodilatačný účinok na cievy v nosovej sliznici a vedie ku kongescii cievneho systému, zvýšeniu permeability submukózných ciev a tvorbe exsudátu.



*Obrázok 7: Jednotlivé typy cievnych štruktúr nosovej sliznice*

### 1.5 Žliazky nosovej sliznice a regulácia ich aktivity

Nosová sliznica obsahuje množstvo žliazok, ktorých hlavnou úlohou je produkcia hlienu. Hlien je súčasťou bilaminárnej vrstvy povrchovej tekutiny, ktorá má vo vzťahu k respiračnému systému ochrannú a imunomodulačnú úlohu.

Sekrécia hlienu v nosovej dutine prebieha v **epitelových pohárikových a serózných bunkách a podslizničných séro–mukózných žliazkach**.

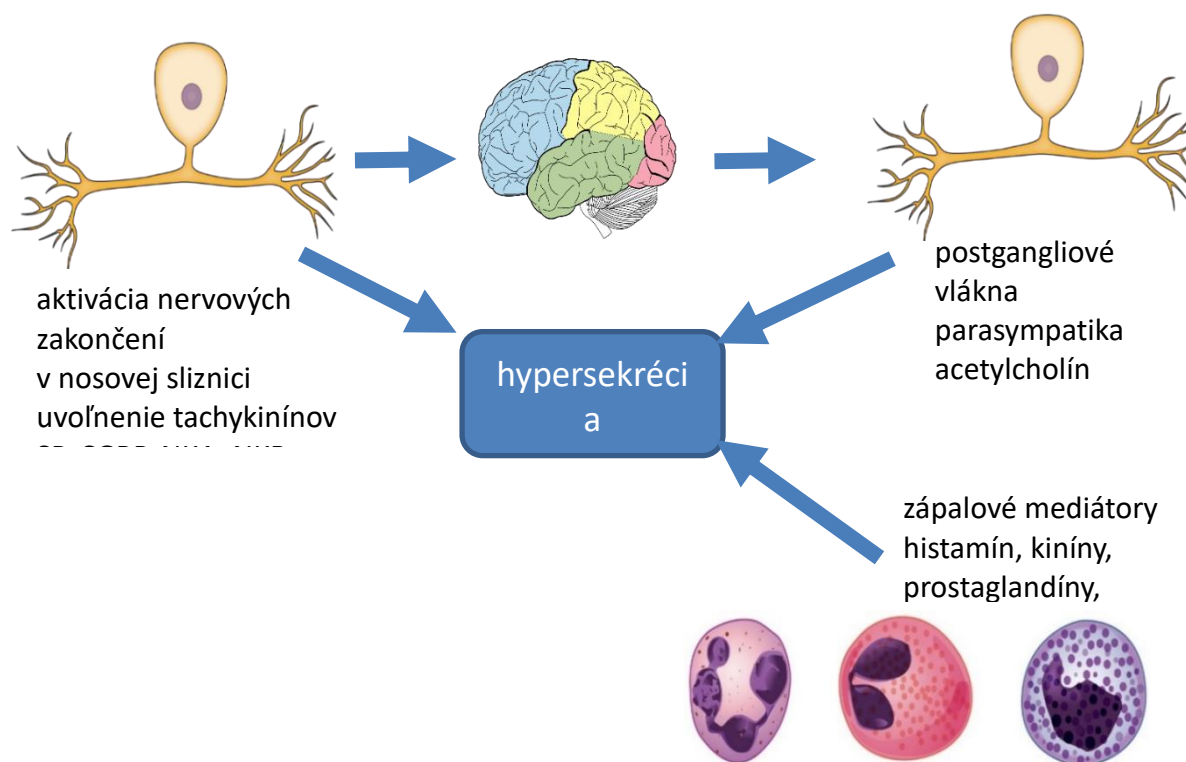
Počas zápalových ochorení nosovej sliznice prispieva k produkcii sekrétu aj únik plazmy z cievneho systému. Do procesu zvyšovania sekrécie v nosovej dutine sa zapájajú viaceré mechanizmy, ako napríklad dilatácia artériovenózných anastomóz, extravazácia plazmy z kapilárnej subepiteliálnej siete, exocytóza buniek v žliazkach, zvýšenie žliazkovej permeability, kontrakcia myoepiteliálnych buniek a zvýšenie epitelovej permeability. Tieto pochody sú regulované **nervovým systémom a humorálne**.

V nervovej kontrole nosovej sekrécie má dominantné miesto **cholinergný parasympatický systém**, ktorého tonická aktivita udržiava bazálnu sekréciu v slizničných žliazkach prostredníctvom muskarínových receptorov. Naopak, sympatický nervový systém

sekréciu znižuje – nie priamym účinkom na žliazky, ale nepriamo, prostredníctvom zníženého prekrvenia. Vtedy žliazky disponujú „menším množstvom“ tekutiny, ktorú môžu použiť na tvorbu hlienu a povrchovej tekutiny.

Dôležité miesto v regulácii nosovej sekrécie za patologických okolností má **podráždenie senzitívnych nervových zakončení** mechanickými, termickými a chemickými podnetmi. Tieto nervové zakončenia obsahujú **neuropeptidy**, ktoré sa uvoľnia po ich podráždení do okolitého tkaniva. Neuropeptidy sa ďalej podieľajú na ovplyvnení cievneho tonusu i sekrécie. Nervový systém reguluje sekréciu prostredníctvom centrálnych a axónových reflexov (*Obr. č. 8*).

V **humorálnej regulácii** nosovej sekrécie bolo študované veľké množstvo mediátorov, vrátane neuropeptidov. Tieto látky (histamín, prostaglandíny a iné zápalové mediátory, substancia P (SP), neurokinín A (NKA), či calcitonin gene related peptid (CGRP) sa podieľajú vo všeobecnosti na zvýšení sekrécie v nosovej dutine. Zvýšená sekrécia má charakter obranného mechanizmu v zmysle „zriediť“ noxu (ak ide o chemickú látku), ktorá pôsobí na sliznicu a nervové zakončenia a tak uľahčiť jej elimináciu mukociliárnym transportom. Zvýšená nosová sekrécia je jedným z prejavov reaktivity nosovej sliznice ako aj jedným z dôsledkov zápalových ochorení v horných dýchacích cestách.



**Obrázok 8:** Schéma - mechanizmy vedúce k zvýšeniu žliazkovej sekrécie za fyziologických a patologických podmienok.

## Literatúra

**Andre E a kol.:** Cigarette smoke-induced neurogenic inflammation is mediated by alpha, beta-unsaturated aldehydes and the TRPA1 receptor in rodents. *J Clin Invest.* 2008; 118: 2574-2582.

**Antosova a kol.:** Nasal nitric oxide in healthy adults—reference values and affecting factors. *Physiological Research* 2017; 66: S247, 2017.

**Baraniuk JN a Kaliner M:** Neuropeptides and nasal secretion. *Am J Physiol* 1991; 261: 223-235.

**Baraniuk JN a Marck SJ:** New concepts of neural regulation in human nasal mucosa. *Acta Clin Croat.* 2009; 48: 65-73.

**Bautista DM a kol.:** TRPA1 mediates the inflammatory action of environmental irritants and proalgesic agents. *Cell.* 2006; 124: 1269-1282.

**Bessac BF a Jordt SE.:** Breathtaking TRP channels: TRPA1 and TRPV1 in airway chemosensation and reflex control. *Physiology.* 2008; 23: 360-370.

**Bessac BF a kol.:** TRPA1 is a major oxidant sensor in murine airway sensory neurons. *J Clin Invest.* 2008; 118:1899-1910.

**Brooks SM:** Irritant induced airway disorders. *Otolaryngol Clin North Am.* 2010, 43:85-96.

- Caterina MJ:** Chemical biology: Sticky spices. *Nature*. 2007; 445: 491-492.
- Clapham DE:** TRP channels as cellular sensors. *Nature*. 2003; 426: 517-524.
- Čihák R:** Anatomie 2. 2. Rozšířené vydanie. *Praha: Grada Publishing, spol s.r.o.* 2002, s. 172-179. ISBN 978-80-247-0143-1.
- Davies RJ a Devalia JL:** Air pollution and airway epithelial cells. *Agents Actions Suppl*. 1993; 43, 87-96.
- Doerner a kol.:** Transient receptor potential channel A1 is directly gated by calcium Ions. *J Biol Chem*. 2007; 282: 13180-13189.
- Eccels R:** Menthol and related cooling compounds. *J Pharm*. 1994; 46, 8: 618-630.
- Eccles R:** Innervation of the nose. In. *Proctor DF, and Andersen IB. (eds): The Nose: Upper airway physiology and the atmospheric environment. Amsterdam, Elsevier Biomedical, 1982.*
- Galeotti N a kol.:** Local anaesthetic activity of (+)- and (-)-menthol. *Planta Med*. 2001; 67, 2: 174-176.
- Gees a kol.:** Mechanisms of transient receptor potential vanilloid 1 activation and sensitization by allyl-isothiocyanate. *Mol Pharmacol*. 2013; 84: 325-334.
- Grace MS a kol.:** Pre-clinical studies in cough research: role of Transient Receptor Potential (TRP) channels. *Pulm Pharmacol Ther*. 2013; 26: 498-507.
- Klementsson H:** Eosinophils and the pathophysiology of allergic rhinitis. *Clin Exp Allergy* 1992; 22:1058-1064.
- Lacroix JS a kol.:** Neuropeptide Y: presence in sympathetic and parasympathetic innervation of the nasal mucosa. *Cell Tissue Res* 1990; 259:119-128.
- Lung MA a kol.:** Control of nasal vasculature and airflow resistance in the dog. *J Physiol* 1984; 349:535-551.
- Naclerio RM a kol.:** Inflammatory mediators in nasal secretions during induced rhinitis. *Clin Allergy* 1986; 16: 101-110.
- Namimatsu A a kol.:** Mechanism of nasal secretion mediated via nerve reflex in guinea pigs and evaluation of antiallergic drugs. *Int Arch Allergy Immunol* 1992; 97:139-145.
- Ooi EH a kol.:** Innate immunity in the paranasal sinuses: a review of nasal host defenses. *American Journal of Rhinology* 2008, 22: 13-19.
- Petersson G a Svensjö E:** Nasal mucosal permeability after methacholine, substance P, and capsaicin challenge in the rat. *Int J Microcirc Clin Exp* 1990; 9: 205-212.
- Raphael a kol.:** How and why the nose runs. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2007; 457-467: 1991.

**Sekizawa S a Tsubone H:** Nasal receptors responding to noxious chemical irritants. *Respir Physiol* 1994; 96:37-48.

**Sekizawa S a kol.:** Nasal receptors responding to cold and l- menthol airflow in the guinea pigs. *Respir Physiol* 1996; 103: 211-219.

**Stjarne P a kol.:** Compartment analysis of vascular effects of neuropeptides and capsaicin in the pig nasal mucosa. *Acta Physiol Scand* 1991; 141:335-342.

**Taylor-Clark TE a kol.:** Nasal sensory nerves responding to histamine and capsaicin *J Allergy Clin Immunol* 2005, 116, 1282-1288.

**Wallois F a kol.:** Trigeminal nasal receptors related to respiration and to various stimuli in cats. *Respir Physiol* 1991; 85:111-125.

**Widdicombe JG a Phill D:** The physiology of the nose. In: *Widdicombe JG (eds). Clinics in chest medicine, vol 7: The upper airways. P. 159-169, W.B. Saunders, Philadelphia, 1986.*



## 2 FUNKCIE NOSOVEJ DUTINY

Dýchanie nosom je esenciálne pre prežitie niektorých druhov, vrátane človeka – najmä počas novorodeneckého obdobia. Novorodenec nedokáže súčasne sať materské mlieko ústami a v tom istom čase ústami aj dýchať – preto je dýchanie nosom v tomto období nevyhnutné. Patologické procesy, akými je napríklad atrézia choán, dokazujú dôležitosť optimálnej priechodnosti nosových prieduchov pre správny vývoj vo včasnom postnatálnom období.

Podobná situácia nastáva u detí s hypertrofickými adenoidnými vegetáciami, ktoré nedokážu z dôvodu obštrukcie správne dýchať nosom, preferujú dýchanie ústami, počas dňa i v noci, čo má negatívne dôsledky na funkciu tak horných ako aj dolných dýchacích ciest. Tieto dve vzorové situácie demonštrujú význam dýchania nosom pre ľudský organizmus.

V pokoji sa zdravý jedinec nadychujú nosom a preto je nosová dutina **prvou a neoddeliteľnou súčasťou dýchacích ciest**. Pri fyzickej námahe, reči alebo pri ochoreniach, ktoré vedú k obštrukcii nosových prieduchov, sa nadychujeme cez ústnu dutinu. Bohaté prekrvenie nosovej sliznice má význam pri **ohrievaní vdychovaného vzduchu**. Ďalej sa nosová dutina podieľa na **zvlhčovaní a filtrácii vzduchu**. Tieto funkcie závisia hlavne od nosovej sekrécie a zmien smeru prúdu vdychovaného vzduchu. Prebieha tu „kontrola kvality“ vdychovaného vzduchu. Ak sa nachádza vo vdychovanom vzduchu látka potenciálne škodlivá pre dýchací systém, dochádza k iniciovaniu procesov podieľajúcich sa na **ochrane a obrane dýchacích ciest**.

Častice vzduchu obsahujúce rastlinné alebo živočíšne antigény, sú pre náš organizmus cudzorodými látkami, preto ďalšou funkciou sliznice nosovej dutiny je **imunologický monitoring** vdychovaného vzduchu, prezentácia antigénov B bunkám a sekrécia imunoglobulínov triedy IgA a IgM.

Nakoniec nosová dutina a prinosové dutiny tvoria rezonančné priestory, v ktorých dochádza k modifikácii akustického zafarbenia hlasu. Anatomické usporiadanie, komunikácia s prinosovými dutinami, štruktúra sliznice, bilaminárna vrstva tekutiny, ktorá ju pokrýva, jej bohaté cievne zásobenie, komplexná inervácia – to sú všetko faktory, ktoré podmieňujú funkcie nosovej dutiny. Je ich naozaj mnoho a detailne sa budeme venovať predovšetkým tým, ktoré majú význam pre funkciu dolných dýchacích ciest. Vo všeobecnosti je výpočet funkcií nosovej dutiny nasledovný:

1. *súčasť dýchacích ciest a účasť na regulácii prietokového odporu dýchacích ciest*
2. *úprava fyzikálnych vlastností vdychovaného vzduchu (zohrievanie a zvlhčovanie)*
3. *filtrácia častíc s priemerom nad 10  $\mu\text{m}$  ich impakciou na povrch sliznice*
4. *účasť na reflexných obranných a ochranných mechanizmoch dýchacích ciest*
5. *imunologický monitoring vdychovaného vzduchu – imunitné funkcie*
6. *periférna časť čuchového analyzátora*
7. *produkcia oxidu dusnatého v prínosových dutinách*
8. *rezonančné priestory pre akustické zafarbenie hlasu.*

## 2.1 Súčasť dýchacích ciest, regulácia prietokového odporu dýchacích ciest

Dýchanie cez tracheotómiu alebo „dýchanie ústami“ sú dostatočné z hľadiska zabezpečenia optimálnej výmeny dýchacích plynov počas definovaného časového obdobia. Avšak nadychovanie cez paralelne usporiadané nosové pasáže je preferovaným fyziologickým spôsobom nadychovania v pokoji a miernej fyzickej námahe, ktoré je doplnené aj orálnym dýchaním v prípade potreby zvýšenia ventilácie pri fyzickej námahe alebo závažnej obštrukcii nosovej dutiny spôsobenej ochorením.

**Novorodenci sa nadychujú výhradne nosom** a schopnosť orálneho nádychu sa postupne vyvíja v priebehu života. Anatomické pomery – postavenie epiglottis a relatívna veľkosť jazyka je zodpovedná za to, že novorodencom sa dýcha ústami veľmi ťažko. Vrodená vývojová chyba nosa – obojstranná atrézia choán sa práve preto prejavuje asfyxiou novorodenca a ide o život ohrozujúci stav. Existujú práce, ktoré uvádzajú, že novorodenci môžu dýchať ústami len za určitých okolností, napríklad pri plači.

Niektoré druhy cicavcov počas celého života preferujú dýchanie nosom.

Nosová dutina a jej sliznica je lepšie prispôbena tomu, aby plnila dlhodobé požiadavky organizmu na zvlhčovanie, zohrievanie a filtráciu vdychovaného vzduchu v porovnaní s ústnou dutinou. Zvlhčovanie vzduchu pri jeho prechode ústami je zabezpečované hlavne cestou salivácie – zvýšenej produkcie slín, ktorá z dlhodobého hľadiska úpravy vzduchu nie je dostatočná v porovnaní s podmienkami, ktoré sú zabezpečené nosovou sliznicou. **Preto je nádych nosom preferovaným spôsobom nádychu**, hoci prietokový odpor nosovej dutiny predstavuje viac ako polovicu celkového prietokového odporu dýchacích ciest, kým prietokový

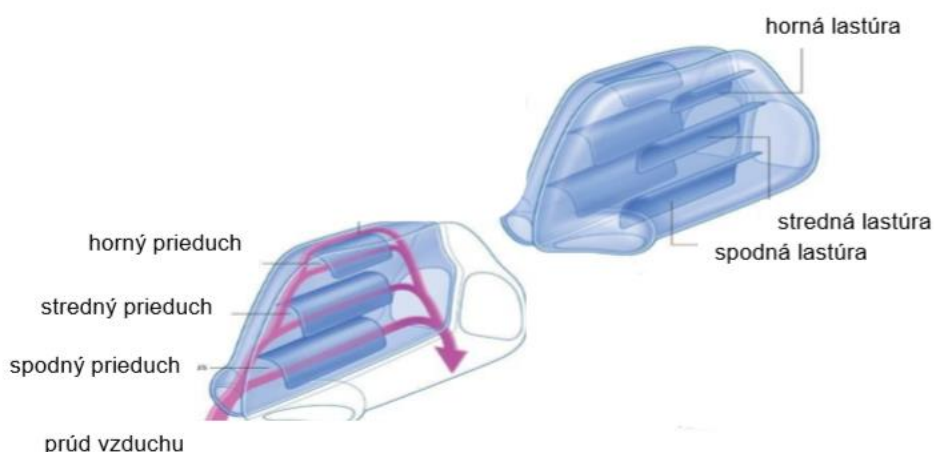
odpor ústnej dutiny pri orálnom dýchaní predstavuje asi len 1/5 tejto hodnoty a bol by menej náročný na vynaloženie inspiračného úsilia.

Hlavným rezistorom nosovej dutiny je miesto tzv. **nosovej chlopne**. Ide o zúžené miesto hneď za *vestibulum nasi*, trojuholníkového prierezu, ktoré je ohraničené mediálne septom, laterálne dolnou časťou chrupavky tvoriacej krídla nosa a je bežne dostupné vyšetreniu pri prednej rinoskopii. Nie je to len anatomicky definovaná štruktúra, ale dynamický funkčný segment dýchacích ciest, ktorého lúmen je modulovaný erektilnou sliznicou, tonusom alárnych svalov a stabilizovaný kosťou a chrupavkou. Okrem funkcie rezistora zodpovedá aj za vznik laminárneho prúdenia v predných častiach nosovej dutiny.

Inspiračný prúd vzduchu nie je kompaktný, ale prechodom okolo mušlí je „usmernený“ a rozdeľuje sa na jednotlivé lokálne prúdy obtekajúce mušle zhora a zdola smerujúce k choanám (fenomén krídel lietadla rozrážajúcich vzduch) (*Obr. č. 9*). **Laminárne prietoky** sú prítomné hlavne v prednej časti nosovej dutiny, v oblasti chlopne a jej blízkosti, smerom k choanám sú prítomné aj **turbulentné prietoky**, čo je spôsobené hlavne zmenou priemeru prieduchov, ako aj zmenou smeru prúdu vzduchu. Vzduch vstupuje pri inspiácii do nosovej dutiny horizontálne orientovanými nostrilami, potom sa prudko stáča a prúdi nosovými prieduchmi, a nakoniec sa opäť prudko stáča smerom dolu v oblasti nosohltana.

**Spôsob prúdenia vzduchu, distribúcia lokálnych prúdov a biofyzikálna charakteristika prietoku vzduchu** sú rozhodujúce pre efektívne zohrievanie, zvlhčovanie a čistenie vdychovaného vzduchu. Pri takomto type anatomického usporiadania nosovej dutiny a biofyzikálnych princípoch prietoku vzduchu v nose je vdychovaný vzduch v úzkom kontakte s čo najväčšou plochou sliznice.

Najviac vzduchu prúdi stredným nosovým prieduchom s minimálnym prúdením pri báze a stope nosovej dutiny. Špecializovaná olfaktorická sliznica je tak „chránená“ od priameho kontaktu s vdychovaným vzduchom a teda aj expozície potenciálne škodlivým vplyvom pochádzajúcim z vonkajšieho prostredia. *Sniffing* alebo čuchanie na základe zmenenej alárnej pozície zabezpečujú prúdenie vzduchu smerom do horných častí priamo k olfaktorickým zakončeniam a tak uľahčuje identifikáciu čuchových podnetov.



**Obrázok 9:** Schéma - rozdelenie nosovej dutiny septom na dve polovice a následne odstup lastúr z laterálnych stien na prieduchy so súčasným znázornením prúdu vzduchu v týchto priestoroch.

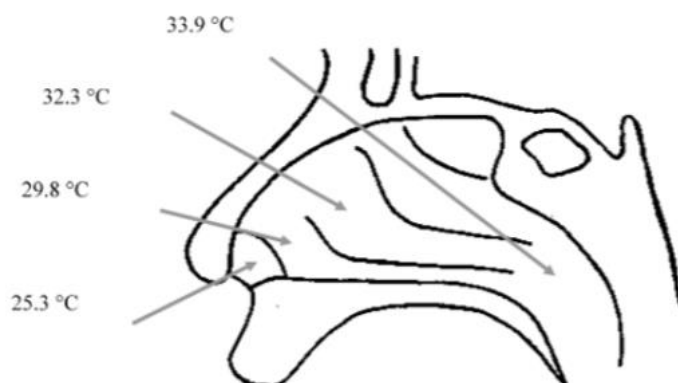
Regulácia prietokového odporu je zabezpečená za fyziologických podmienok prostredníctvom regulácie prekrvenia sliznice, predovšetkým ide o naplnenie a opätovné vyprázdnenie kapacitných cievnych štruktúr sliznice. Regulácia je zabezpečovaná kolísaním tonusu **sympatika a parasympatika**, ako aj pôsobením lokálne vznikajúcich vazomotoricky účinných látok.

U dospelých jedincov je za fyziologických podmienok prítomné spontánne recipročné kolísanie rezistencie pravej a ľavej časti nosovej dutiny s nepravidelným časovým intervalom, ktoré sa nazýva **nosový cyklus**. Kým rezistencia jednej polovice stúpa, na druhej strane nosovej dutiny klesá, pričom celkový odpor nosovej dutiny ako celku je konštantný. Dôkazom vaskulárneho pôvodu nosového cyklu je jeho dočasné potlačenie podaním lokálnych dekongestív. Ďalej k zmenám prietokového odporu nosovej dutiny dochádza pri **fyzickej námahe spojenej s hyperventiláciou** (znižuje sa odpor, aby sa dosahovala vyššia úroveň ventilácie potrebná pre oxygenáciu a elimináciu CO<sub>2</sub>). Ďalej sa prietokový odpor mení **v závislosti od polohy tela** – v ľahu sa zvyšuje a v stoj je prietokový odpor nižší, čo súvisí s venóznym návratom a následne redistribúciou cirkulujúceho objemu v závislosti od polohy tela. V polohe na boku sa odpor kontralaterálnej časti nosovej dutiny znižuje, rovnako ako pri aplikácii tlaku na gluteálnu a skapulárnu oblasť tela u subjektov v stoj.

## 2.2 Úprava fyzikálnych vlastností vdychovaného vzduchu, zohrievanie a zvlhčovanie

Regulácia telesnej teploty je nevyhnutná vlastnosť teplokrvných organizmov pre prežitie v meniacich sa podmienkach vonkajšieho prostredia. Je všeobecne známe, že respiračný systém sa tiež podieľa na regulácii tepelnej homeostázy organizmu. Za fyziologických okolností, v pokoji a miernej fyzickej záťaži sa studený vzduch pochádzajúci z vonkajšieho prostredia ohrieva takmer na teplotu tela prechodom cez horné dýchacie cesty, predovšetkým nosovú dutinu. V prípade potreby zvýšenia ventilácie sú mechanizmy v horných dýchacích cestách slúžiace na úpravu vdychovaného vzduchu nedostatočne účinné a preto sa na jeho konečnej úprave podieľajú aj dolné dýchacie cesty.

U niektorých zdravých jedincov, ale hlavne jedincov s ochoreniami ako sú alergická rinitída, či nealergická vazomotorická rinitída, môže expozícia chladu viesť ku nadmernej kongescii sliznice, opuchu, hypersekrécii a kýchaniu, dokonca k vzniku symptómov „chladom indukovanej rinitídy“.

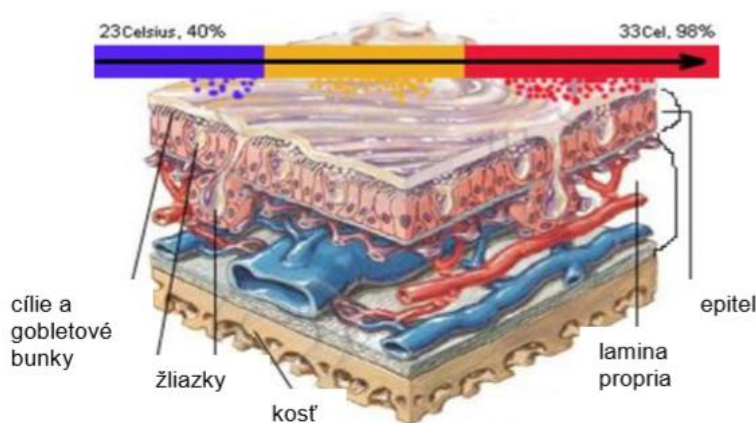


**Obrázok 10:** Zohrievanie vzduchu v horných dýchacích cestách. Vzduch sa pri prechode hornými dýchacími cestami ohrieva na teplotu tela a súčasne sa saturuje vodnými parami. Tento proces je zabezpečený protiprúdovým mechanizmom vymieňajúcim teplo a vlhkosť v horných dýchacích cestách.

Expozícia chladu u pacientov s prieduškovou astmou alebo chronickou obštrukčnou chorobou pľúc (CHOCHP) môže vyvolať kašeľ, dýchavicu, bronchokonstrikciu a všeobecne môže viesť k zhoršeniu klinického priebehu týchto ochorení. Z klinickej praxe poznáme aj „chladom indukovanú astmu“, ktorá je považovaná za dôsledok vdychovania studeného a nedostatočne saturovaného vzduchu do dolných dýchacích ciest a pľúc.

Preto je dôležité, aby vzduch prichádzajúci do dolných dýchacích ciest bol upravený, čo sa týka jeho teploty aj vlhkosti – čo je hlavne úlohou nosovej sliznice. Pri rozličných výkyvoch teploty a vlhkosti vonkajšieho prostredia je vzduch po prechode nosovou dutinou saturovaný takmer na 100% a teplota vzduchu v nosohltane dosahuje 32-33°C (*Obr. č. 10*).

Nosová sliznica disponuje protiprúdovým mechanizmom, ktorý sa efektívne uplatňuje pri úprave teploty a vlhkosti vdychovaného vzduchu (*Obr. č. 11*). Hoci prietokový odpor nosovej dutiny predstavuje približne polovicu celkového odporu dýchacích ciest, v porovnaní s ústnou dutinou (predstavuje asi 1/5 celkového odporu dýchacích ciest), fyziologicky preferujeme nadychovanie cez nosovú dutinu, aj keď si tento nádych nosom vyžaduje vynaloženie väčšieho úsilia.



**Obrázok 11:** Sliznica, bilaminárna vrstva povrchovej tekutiny a jej význam pri zohrievaní a saturácii vdychovaného vzduchu.

Skutočnosť, že v pokojových podmienkach preferujeme nadychovanie nosom sa môže zdať paradoxná, avšak z hľadiska úpravy vdychovaného vzduchu je tento spôsob najvýhodnejší pre zohriatie a saturáciu vzduchu.

Počas nádychu je vzduch aktívne zohrievaný mechanizmami **konvekcie a kondukcie** tepla z povrchu nosovej sliznice, súčasne dochádza k **odparovaniu molekúl vody** z povrchovej tekutiny pokrývajúcej sliznicu v smere koncentračného gradientu. Studený vzduch prichádzajúci z vonkajšieho prostredia nie je schopný „udržať“ vlhkosť. Táto schopnosť sa priamoúmerne zvyšuje s jeho ohrievaním, čiže **vzduch sa ohrieva a saturuje súčasne**. Ohrievaniu a zvlhčovaniu vzduchu napomáha aj laminárny typ prúdenia vzduchu v nosových prieduchoch, pričom sa prúdiaci vzduch dostáva do tesného kontaktu so sliznicou a ohrieva sa.

Počas výdychu prebiehajú tieto procesy opačne, teplo sa odovzdáva sliznici a s ochladzovaním vzduchu pri výdychu sa znižuje jeho schopnosť „udržať“ vlhkosť, preto voda kondenzuje späť na povrchu sliznice. Tento **protiprúdový výmenný mechanizmus** nie je dokonalý a vždy, aj za fyziologických okolností, sa časť tepla ako aj tekutiny z povrchu dýchacích ciest dostáva s vydychovaným vzduchom do vonkajšieho prostredia a je nevyhnutné ich doplniť.

Straty tekutiny sú bezprostredne nahrádzané a to priamo prostredníctvom bohatého cievneho zásobenia nosovej sliznice a jej početných cievnych štruktúr.

Artérová krv pritekajúca do oblasti nosovej sliznice je distribuovaná do kapilárnej siete, ktorá sa nachádza blízko pod povrchom sliznice a tak sa teplo odovzdáva z kapilárnej krvi sliznice a **z nej sa odovzdáva priamo vzduchu** prúdiacemu cez nosové prieduchy. Straty tepla a vody zo sliznice dýchacích ciest sa zhoršujú pri vdychovaní studeného suchého vzduchu. Súčasne so zvýšením prekrvenia, ktoré dodáva sliznici „teplo“, dochádza aj k zvýšeniu cievnej permeability a činnosti žliazok, ktoré zas dopĺňajú množstvo tekutiny pokrývajúcej povrch sliznice.

Kongescia sliznice vyvolaná zvýšením prekrvenia spolu so zvýšením produkcie sekrétu vedú k zvýšeniu prietokového odporu nosových prieduchov. Tento mechanizmus podporuje turbulentné prúdenie vzduchu a tým jeho lepší kontakt so sliznicou. Následne sa významne zlepšuje zohrievanie a zvlhčovanie vdychovaného vzduchu. Problémom môže byť ďalšie zvyšovanie prietokového odporu, ktoré vedie k zmene nádychu z nazálneho na orálny, pričom úprava vzduchu pri nadychovaní cez ústa už nie je taká efektívna.

V prípade zvýšenia spotreby kyslíka v organizme pri fyzickej námahe, či iných procesoch vyžadujúcich zvýšenie ventilácie sa mení spôsob nadychovania – preferuje sa nadychovanie cez ústa. Tento mechanizmus sa aktivuje pri hodnote minútovej ventilácie 40 l/min u dospelého jedinca. Pri orálnom spôsobe nadychovania, prípadne pri nízkej teplote vdychovaného vzduchu sa už do procesu úpravy vzduchu zapájajú aj **dolné dýchacie cesty**, nakoľko sa nosová dutina obchádza.

U zdravých jedincov táto adaptácia prebieha bez nežiaducich klinických dôsledkov, avšak môže byť narušená u pacientov trpiacich ochoreniami dýchacieho systému. Napríklad bolo zdokumentované, že hyperventilácia studeného vzduchu cez ústa vedie k vzniku bronchokonstrikcie u subjektov s prieduškovou astmou.

Podiel dolných dýchacích ciest na úprave vdychovaného vzduchu je limitovaný a obmedzenia sú dané histomorfologickou štruktúrou sliznice. Hoci dýchací systém predstavuje jeden celok, sliznica dolných dýchacích ciest nedisponuje takou výbavou (cievne štruktúry

a žliazky) ako nosová sliznica, ktorá je fyziologicky prispôsobená kontaktu so studeným a suchým vzduchom. V dolných dýchacích cestách preto skôr dochádza k ochladeniu sliznice a nadmernému odparovaniu tekutiny bez možnosti alebo s výrazne limitovanou možnosťou jej adekvátneho doplnenia.

### 2.3 Filtrácia častíc z vdychovaného vzduchu

Nosová dutina je ako prvá časť dýchacieho systému najviac exponovaná nečistotám prítomným vo vdychovanom vzduchu. Vdychovaný vzduch je zmes plynov. Za jeho fyziologické komponenty sa považujú kyslík, dusík, oxid uhličitý a voda, akékoľvek ďalšie súčasti sa považujú za znečisteniny ovzdušia. Ide hlavne o korpuskulárne častice, infekčné agensy a toxické aerosóly.

Vplyv znečistenia ovzdušia na ľudské zdravie je známy už mnoho rokov a dramatické epizódy vážneho poškodenia zdravia boli zdokumentované v Belgicku v roku 1930, ďalej v Pensylvánii, USA v roku 1948 a Londýne v roku 1952. Mnohé z nich boli v minulosti spôsobené oxidmi síry ako produktami spaľovania uhlia pri vykurovaní domácností. V súčasnosti najviac znečistenia pochádza z výfukových plynov automobilov, spaľovania zemného plynu, priemyselných zdrojov a domácností (varenie na zemnom plyne – pri vysokých teplotách vznikajú oxidy dusíka). Je potrebné zdôrazniť, že znečistenie ovzdušia sa netýka len vonkajšieho prostredia. Od roku 1980 bolo identifikovaných viac ako 300 organických látok, tzv. „indoor“ znečistenín pochádzajúcich hlavne zo stavebných materiálov, vykurovacích telies, čistiacich prostriedkov, náterov a farieb a cigaretového dymu. Približne v tomto období bol zdokumentovaný aj **sick building syndrome**, ktorý je charakterizovaný podráždením očí, nosa, hltana, bolesťami hlavy, únavou a ťažkosťami s dýchaním.

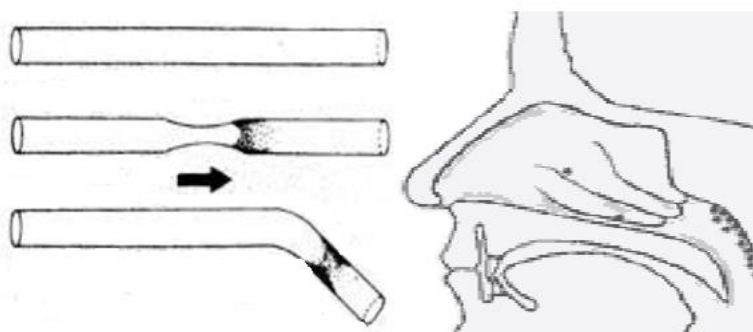
Častice nachádzajúce sa v prúde vdychovaného vzduchu majú tendenciu prilnúť na povrch nosovej sliznice pokrytý hlienom a táto ich tendencia je funkciou ich aerodynamického priemeru.

Približne 80% častíc s priemerom väčším ako 9  $\mu\text{m}$ , 50% častíc s priemerom 2-9  $\mu\text{m}$  a 40% častíc s priemerom menším ako 2  $\mu\text{m}$  sa zachytí na povrch nosovej sliznice. Ostatné nezachytené častice sa dostávajú do ďalších častí dýchacieho systému. Niektoré častice sú hygroskopické – viažu vodu a to ďalej zvyšuje ich možnosti depozície na povrch hlienom pokrytej sliznice. Proces zachytávania korpuskulárnych znečistenín na sliznici nosa sa nazýva **filtrácia**. Hoci je efektívny v ochrane dolných dýchacích ciest pred vstupom korpuskulárnych znečistenín, nosová sliznica je na druhej strane týmto zachyteným škodlivinám exponovaná.



Expozícia nosovej sliznice rôznym látkam prítomným vo vzduchu má vzťah k vzniku niektorých ochorení, napríklad „profesionálnej“ alergickej a nealergickej rinitídy u pracovníkov, ktorí sú v zamestnaní týmto faktorom vystavení.

Filtrácii vdychovaného vzduchu významne napomáha typ prúdenia vzduchu nosovými prieduchmi, ktorý umožňuje, aby sa vzduch dostal do najužšieho kontaktu so sliznicou tak, aby sa častice efektívne deponovali na jej povrch. Existuje niekoľko mechanizmov, ktoré tiež napomáhajú depozícii častíc na povrch sliznice, predovšetkým **elektrostatické interakcie** medzi povrchom sliznice a nábojom častíc prítomných v prúde vdychovaného vzduchu a **impakcia**.



**Obrázok 12:** Fyzikálne princípy impakcie vzdušných korpuskulárnych znečistenín na sliznici horných dýchacích ciest.

**Impakcia** je proces, pri ktorom sa častice deponujú na povrch sliznice na základe „kolízie“ medzi prúdom vzduchu a miestami v nosových prieduchoch, kde dochádza k náhlej zmene priemeru prieduchov (zúženiu, rozšíreniu) a zmene smeru prúdu vzduchu. V horných dýchacích cestách sú dve predilekčné miesta impakcie korpuskulárnych nečistôt a to nosová chlopňa tesne za vestibulom a zadná stena nosohltana (*Obr. č. 12*).

Deponované znečisteniny sú efektívne odstraňované pomocou mukociliárneho transportu. Hlien pochádza z pohárikových buniek, sero-mucinózných a serózných žliazok a transudátu krvnej plazmy. O jeho pôvode svedčia jednak prítomné markery žliazkovej aktivity (laktoferín, laktoglobulín) ako aj markery svedčiace pre transudáciu krvnej plazmy (albumín a iné nízkomolekulové globulíny). Dve vrstvy hlienu – jedna redšia – tzv. sól fáza obklopuje riasinky epitelových buniek, ktoré sa v nej pohybujú kmitavým pohybom. Druhá, hustejšia, tzv. gél fáza je uložená na jej povrchu. Zakončenia riasiniek sa počas svojho pohybu dynamicky zanášajú do gélovej vrstvy a tým posúvajú hlien smerom dozadu do

nosohltana a odtiaľ do hltana, odkiaľ býva nahromadený hlien prevažne neuvedomelo prehltnutý alebo vykašľaný. Mukociliárny transport v prednej časti nosovej dutiny smeruje dopredu a to od predného okraja dolnej lastúry smerom k *vestibulum nasi*.

Funkcia hlienu a mukociliárneho transportu je dôležitá, pretože plní funkciu nielen mechanického eskalátora odstraňujúceho noxické stimuly, ale sa aj aktívne podieľa na inaktivácii, či neutralizácii potenciálne noxických stimulov prítomnosťou makrofágov, bazofilov a žírnych buniek, leukocytov, eozinofilov, obsahom lyzozýmu, laktoferínu a ďalších látok s imunomodulačným a antibakteriálnym účinkom.

Mukociliárny transport v nosovej dutine je značne odolný voči klimatickým extrémom, bežne prítomným vzdušným nečistotám, širokej variácii pH, náporu korpuskulárnych častíc a väčšine lokálnych intranazálne aplikovaných liečiv. Ku zníženiu efektivity mukociliárneho transportu nosovej sliznice môže dochádzať vplyvom benzalkonium chloridu (súčasť niektorých liečiv), detergentných sprayov a hypotonických roztokov, ako aj v dôsledku vysušenia sliznice a infekcie vírusmi patogénnymi pre respiračné sliznice (napr. rinovírusy). Dôsledkom zníženej efektivity mukociliárneho transportu je zvýšená zraniteľnosť sliznice pre vznik primoinfekcie alebo sekundárnej infekcie baktériami po vírusovej primoinfekcii. K úplnému obnoveniu funkcie mukociliárneho transportu po vírusovej, či bakteriálnej rinitíde dochádza až v priebehu niekoľkých týždňov.

Mukociliárny transport prebieha aj na sliznici prinosových dutín, cilié kmitajú smerom k ústiam jednotlivých sínusov, čím dochádza k odstraňovaniu vytvoreného hlienu a súčasne aj očisťovaniu sliznice prinosových dutín.

Ako už bolo uvedené v predchádzajúcej kapitole, činnosť žliazok a teda aj produkcia sekrétu nosovou sliznicou je starostlivo regulovaná jednak nervovými, ale aj humorálnymi mechanizmami. Zamerajme sa teraz na funkciu a význam povrchovej tekutiny, ktorá pokrýva povrch sliznice.

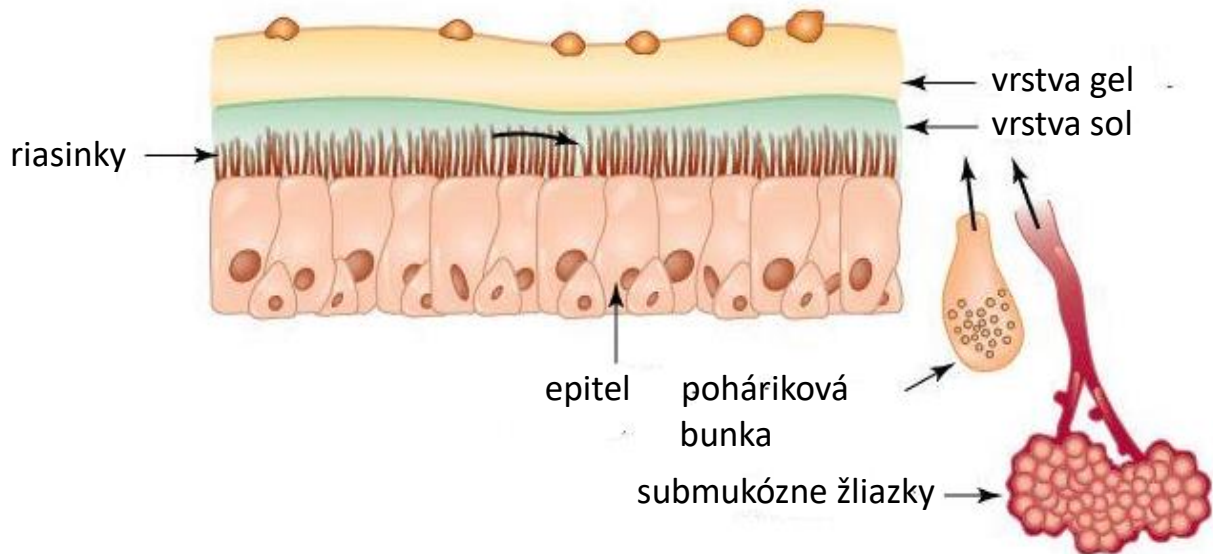
## 2.4 Funkcia a význam povrchovej tekutiny

Prítomnosť bilaminárnej vrstvy povrchovej tekutiny na nosovej sliznici má význam nielen pre funkciu nosovej dutiny, ale predovšetkým v procese ochrany dýchacích ciest ako celku. Ako príklady je možné uviesť atrofickú rinitídu, či stav po chirurgickom odstránení nosovej lastúry z dôvodu hypertrofie, či iných indikácií, ktorý sa nazýva aj **syndróm prázdneho nosa** (*empty nose syndrome*). Ak chýba časť sliznice nosovej dutiny alebo ak je táto atrofická, dochádza k závažnému narušeniu produkcie a obnovy povrchovej tekutiny. To sa

prejaví subjektívne ako pocit suchosti a pálenia v nose a objektívne sa zistí zvýšená predispozícia k častým infekciám dýchacích ciest.

Povrchová tekutina sa podieľa na nasledovných procesoch – zohrievaní a zvlhčovaní vdychovaného vzduchu, filtrácii znečistenín, mukociliárnom transporte a imunitných funkciách.

- 1. Zohrievanie a zvlhčovanie vzduchu** – vdychovanie suchého a studeného vzduchu je škodlivé pre dolné dýchacie cesty, preto sa jeho teplota a saturácia upravuje pri jeho prechode cez nosové priechody, a to predovšetkým kontaktom so sliznicou. Sliznica disponuje protiprúdovým teplo a vlhkosť vymieňajúcim systémom, pričom pri nádychu studeného vzduchu z prostredia sa tento ohrieva a zvlhčuje súčasne tak, že dochádza **k evaporácii povrchovej tekutiny do prúdu vzduchu – molekuly vody ho zvlhčujú a aj ohrievajú súčasne, pretože majú teplotu sliznice.** Pri výdychu sa časť vlhkosti a tepla vracia naspäť, avšak aj za fyziologických okolností dochádza k stratám tepla a tekutiny, ktoré sa musia nahradiť. K nahrádzaniu dochádza prostredníctvom prívodu tepla cievny systémom a doplnením povrchovej tekutiny činnosťou žliazok a pohárikových buniek.
- 2. Filtrácia korpuskulárnych znečistenín a mukociliárny transport** - pri prechode vzduchu priechodmi nosovej dutiny je charakter tohto prúdenia turbulentný, čo výdatne napomáha tomu, aby sa nečistoty, ktoré sa vo vzduchu nachádzajú, dostali do blízkosti povrchu sliznice, kde dochádza k ich adhézii na väzký povrch hlienovej vrstvy. Tento mechanizmus sa nazýva aj **impakcia** a napomáhajú mu jednak **mechanické a elektrostatické interakcie medzi časticami a povrchom hlienovej vrstvy.** Pohybom riasiniek v redšej vrstve periciliárnej tekutiny dochádza k pohybu hornej vrstvy a hlien, ako aj nečistoty na ňom zachytené sú takto efektívne odstraňované do nosohltana a hltana, odkiaľ býva nahromadený hlien prehltnutý alebo vykašľaný (*Obr.č. 13*).



**Obrázok 13:** Princíp mukociliárneho transportu. Obrázok znázorňuje bilaminárnu vrstvu hlienu na povrchu sliznice. Riasinky, ktoré kmitajú vo fáze sol, sa svojimi zakončeniami zanášajú aj do fázy gél. Týmto mechanizmom sa povrchová vrstva gél a aj nečistoty na nej zachytené posúvajú smerom do nosohltana.

- 3. Imunitné funkcie** – ochrana a imunologický dozor je taktiež jednou z funkcií povrchovej tekutiny respiračných slizníc. Tekutina obsahuje imunoglobulíny triedy IgA a IgG produkované „sliznici asociovanými“ plazmatickými bunkami, ktoré sa nachádzajú priamo v sliznici v blízkosti submukózných žliaz. Uvedené imunoglobulíny pôsobia na povrchu sliznice, kde **zabraňujú adhézii a prieniku mikroorganizmov**. Prvá látka s antibakteriálnymi účinkami, ktorá bola identifikovaná Flemingom v roku 1922 v tekutine pokrývajúcej povrch respiračných slizníc, bol **lyzozým**. Odvtedy boli identifikované a charakterizované ďalšie látky, ako je laktoferín, mukózne glykoproteíny, SLIP – sekrečný inhibítor leukoproteázy, kyselina močová, peroxidáza, aminopeptidáza, neutrálna endopeptidáza a ďalšie molekuly s antibakteriálnymi účinkami. Uvedené látky majú veľmi heterogénny mechanizmus účinku. Niektoré z nich **priamo rozrušujú mikrobiálne bunkové steny** a biologické membrány, iné **sekvestrujú potenciálne substráty pre rast a rozmnožovanie mikroorganizmov** alebo pôsobia ako „**pasce**“ tým, že stimulujú adhéziu mikroorganizmov práve v miestach s lokálne vysokou koncentráciou iných antimikrobiálnych látok, čím mikroorganizmus nepriamo znevýhodňujú.

Ako už bolo skôr uvedené, produkcia povrchovej tekutiny nosovou sliznicou je regulovaná nervovo a humorálne (kapitola 1.5).

Ochorenia ako alergická rinitída, infekčné rinitídy, sinusitídy s chronickým priebehom a atrofická rinitída vedú často k poruchám sekrécie povrchovej tekutiny, čo je v konečnom dôsledku nepriaznivé pre sliznicu a tak sa vytvárajú bludné kruhy. Napríklad, ak sa zhorší v dôsledku chronickej rinitídy produkcia povrchovej tekutiny, bude následne sliznica viac vystavená nepriaznivým faktorom – alergénom, vírusom, mikroorganizmom a podobne, čo bude spätne viesť k zhoršeniu ochorenia.

Pacienti s uvedenou skupinou ochorení - alergická rinitída, chronická rinitída, sinusitída, atrofická rinitída a pacienti po chirurgických výkonoch v nose a prínosových dutinách trpia často subjektívnym pocitom suchosti nosovej sliznice, pálenia a tvorby krúst – priškvarov na sliznici, čo vyplýva z deficitu povrchovej tekutiny. Rovnaký pocit môže vzniknúť v zimných mesiacoch pri pobyte v prekúrených priestoroch s nízkou vlhkosťou, kde nemôže efektívne pracovať „teplo a vlhkosť vymieňajúci protiprúdový mechanizmus“ a tekutina sa nadmerne stráca. Objektívne sa u týchto pacientov dokázala zvýšená predispozícia na vznik vírusových a bakteriálnych infekcií v horných dýchacích cestách, nakoľko deficit povrchovej tekutiny vedie logicky k zníženiu lokálnej obranyschopnosti.

V takýchto prípadoch je na mieste substitúcia povrchovej tekutiny napríklad prostredníctvom prípravkov s morskou soľou.

## 2.5 Obranné a ochranné reflexy vyvolané podráždením aferentných nervových zakončení v nose

Podráždenie aferentných nervových zakončení v sliznici nosa vyvoláva reflexné odpovede, pričom niektoré z nich patria do kategórie ochranných alebo obranných mechanizmov dýchacieho systému. Úlohou **ochranných reflexov** je zabrániť vniknutiu škodliviny do dýchacieho systému (apnoe) a úlohou **obránných reflexov** je túto škodlivinu z dýchacích ciest odstrániť, v prípade, že sa tam už nachádza (kašeľ, kýchanie).

### 2.5.1 Apnoický reflex

Kratschmerov apnoický reflex je typickým ochranným reflexom dýchacích ciest. Tento reflexný dej je aj súčasťou reakcie organizmu na ponorenie do studenej vody tzv. „diving response“. Funkciou tohto respiračného reflexného deja je zabrániť vdýchnutiu potenciálne škodlivej noxy (tekutiny) do dolných dýchacích ciest a pľúc. Je možné ho vyvolať stimuláciou

aferentných nervových zakončení nosovej sliznice rôznymi druhmi chemických dráždiel, napríklad pár xylolu, amoniaku či cigaretového dymu. Hoci sú tieto látky veľmi silnými čuchovými podnetmi, *n. olfactorius* sa na vyvolaní apnoického reflexu nepodieľa. Reflexnú odpoveď na podráždenie spomenutými látkami je možné blokovať lokálnou anestéziou nosovej sliznice, ako aj chirurgickým prerušením *n. trigeminus*, čo svedčí o jeho účasti v tomto reflexnom deji.

Apnoický reflex je možné vyvolať aj inými podnetmi, či už mechanickou stimuláciou nosovej sliznice alebo podráždením receptorov nosa a tváre studenou vodou. Vtedy hovoríme o ponáracom (diving) reflexe. Dôsledky tohto reflexného deja sú v niektorých prípadoch považované za príčinu smrti pri ponorení do studenej vody. Tieto dva reflexné deje sú identické, čo sa týka kardiovaskulárnych a respiračných zmien. Odlišujú sa od seba pravdepodobne len charakterom stimulu.

Dýchanie je zastavené vo fáze expíria so súčasnou relaxáciou inspiračných svalov. Ak stimul nie je dostatočne silný, nedôjde k úplnému apnoe, len ku čiastočnej supresii dýchania, čo sa prejaví redukciou frekvencie dýchania a zoslabením intenzity dýchacích pohybov. Respiračné zmeny sú sprevádzané aj znížením frekvencie srdca a vzostupom tlaku krvi.

### 2.5.2 Kýchanie a sniffing

Kýchanie je obranný reflex dýchacích ciest, charakterizovaný prudkým expiračným úsilím, ktorému predchádza jedno alebo niekoľko inšpirií. Spolu s kašľom je to jeden z najdôležitejších obranných reflexov, no na rozdiel od kašľa nie je možné vyvolať kýchanie voluntárne.

Pri zápale nosovej sliznice je kýchanie jedným z najčastejších symptómov. Vzniká pôsobením **zápalových mediátorov** ako chemických podnetov na zakončenia *n. trigeminus*, ako aj iných chemických látok, charakteru vzdušných znečistenín prítomných vo vdychovanom vzduchu. **Mechanickým stimulom** býva nahromadenie sekrétu, ktoré tiež môže iniciovať kýchanie. Významnú úlohu tu zohrávajú **neuropeptidy** (SP) uvoľnené zo zakončení senzitívnych nervových vlákien. V experimentálnych štúdiách na zvieratách bola zistená pozitívna korelácia medzi počtom kýchnutí a koncentráciou SP v nosovej sliznici pri arteficiálne navodenom kýchaní u laboratórnych zvierat.

Najvyššia hustota aferentných zakončení trojklaného nervu (terminálnych častí jeho druhej a tretej vetvy) je lokalizovaná v oblasti strednej a dolnej lastúry a na priľahlej časti

nosového septa. Odtiaľto sú informácie privádzané cestou *n. trigeminus* do centrálného nervového systému. Miestom spracovania aferentných informácií pochádzajúcich z nosovej sliznice sú senzitivne jadrá trojklaného nervu, predovšetkým *subnucleus caudalis a interlobaris n. trigemini*. Na vzniku motorického vzorca reflexu kýchania sa podieľajú viaceré neurónové populácie mozgového kmeňa, obsahujúce premotorické a motorické inspiračné ako i expiračné neuróny.

Mechanizmus kýchania začína jedným alebo niekoľkými **inspiriami cez ústa**. Ide o prevenciu vdýchnutia noxy, či hlienu, ktoré sa nachádzajú na sliznici nosovej dutiny. Hlboké inspirium sa evidentne podieľa na výdatnosti expiračného nárazu a teda aj efektu kýchania. Na expiračnom úsilí sa podieľajú lumbálne, interkostálne a abdominálne svaly. Expiračný náraz charakteristický pre kýchanie vzniká na základe vysokého vnútrohrudného tlaku, ktorý môže byť pri kýchaní ešte vyšší ako pri kašli. Vo fáze formovania vysokého vnútrohrudného tlaku je uzatvorená hlasivková štrbina a nosohltan na základe elevácie mäkkého podnebia. Keď dôjde k relaxácii hlasivkovej a hltanovej konstriktie, dochádza k mohutnému úniku vzduchu z pľúc, ktorý prechádza predovšetkým cez nosovú dutinu v snahe odstrániť dráždidlo, ktoré vyvolalo reflex.

**Sniffing** je považovaný za semireflexný dej. Je charakterizovaný niekoľkými rýchlymi a silnými inspiriami, ktoré sú súčasťou čuchania. Pri pokojnom inspiriu **vzduch prúdi cez dolnú a čiastočne strednú pasáž nosovej dutiny** a neprichádza do kontaktu so sliznicou *regio olfactoria*. Ak dôjde k detekcii neznámeho, či silného čuchového podnetu, dolná časť nosových krídiel sa **reflexne priblíži** k nosovej priehradke a tým dôjde k presmerovaniu prúdu vzduchu do horných častí nosovej dutiny, čím sa uľahčí identifikácia čuchových podnetov.

**Sniffing** však napomáha aj čisteniu nosovej sliznice od iritantov a nahromadených sekrétov. Silným inspiračným prúdom sa dostávajú do faryngu, odkiaľ môžu byť prehĺtnuté alebo vykašľané. Pri nadprodukcii hlienu v nose pri zápale môže zohrávať **sniffing** významnú úlohu pri propagácii zápalu v dýchacích cestách.

### 2.5.3 Kardiovaskulárne reakcie vyvolané stimuláciou aferentných nervových zakončení v sliznici nosovej dutiny

Pri mechanickom podráždení silonovým vláknom alebo pri stimulácii chemickými dráždivkami, ako sú napríklad pary xylolu, amoniak či cigaretový dym, dochádza okrem reflexných respiračných pochodov aj k silným kardiovaskulárnym reakciám. Apnoickú reakciu sprevádza bradykardia. Bradykardia u anestézovaných králikov sa dá inhibovať bilaterálnou vagotómiou alebo atropínom, prerušením cervikálnej miechy alebo podaním propranololu.



Z experimentov vyplýva, že nazálna bradykardia je spôsobená nielen zvýšením tonusu parasympatika cestou *n. vagus*, ale aj poklesom kardiálnej sympatickej aktivity. Počas stimulácie nosovej sliznice dochádza aj k význačným elektrokardiografickým zmenám. V rámci sínusovej bradykardie, ktorá sa zaznamenáva na EKG ako znak prevahy parasympatika, sa objavujú dysrytmie, prevažne komorové extrasystoly. Komorové extrasystoly vznikajú vtedy, ak frekvencia srdca poklesne na polovicu pôvodnej hodnoty.

Chemická stimulácia nosovej dutiny vedie aj k zmenám tlaku krvi v systémovom obeh. Dochádza k vzostupu tlaku krvi napriek tomu, že apnoe a bradykardia majú tendenciu znižovať krvný tlak. Väčšina autorov udáva, že počas stimulácie sliznice nosa dochádza k zvýšeniu periférnej cievnej rezistencie vo svaloch, v koži, pričom obeh krvi je centralizovaný. Vzostup systémovej cievnej rezistencie sa pripisuje zvýšenej aktivite sympatického vazomotorického centra. U niektorých experimentálnych zvierat je vazokonstrikcia tak výrazná, že takmer celý minútový vývrh srdca je redistribuovaný do koronárnej a cerebrálnej cirkulácie. Javorka (1989) sledoval v experimente zmeny hemodynamických parametrov v riečisku *a. pulmonalis*, ktoré sú prítomné počas nosového apnoe u anestézovaných králikov. Z výsledkov experimentu vyplýva, že počas nosovej stimulácie dochádza k poklesu tlaku v *a. pulmonalis*, poklesu tlakového gradientu v pľúcnej cirkulácii i pľúcnej vaskulárnej rezistencii.

Hypertenzná reakcia je charakteristická predovšetkým pre apnoe. Pri takom dráždení nosovej sliznice, ktoré vedie ku kýchaniu, dochádza na základe prudkých zmien vnútrohrudného tlaku k variabilným zmenám v hodnotách krvného tlaku. Pri forsírovaných inspiračno - expiračných dejoch sa zmeny vnútrohrudného tlaku prenášajú na krvný obeh, čo vedie k osciláciám krvného tlaku. Celkovo ale stredný tlak krvi počas reflexných dejov s aktívnym exspíriom vykazuje klesajúcu tendenciu.

#### 2.5.4 Lokálne reflexy, nazo-nazálne a trigemino-vágové nazobronchiálne reflexy

##### a) reflexné ovplyvnenie dolných dýchacích ciest a hrudníka

Reflexný vplyv podráždenia nosovej dutiny na dolné dýchacie cesty sa sledoval predovšetkým vo vzťahu k regulácii tonusu hladkých svalov priedušiek a nazýva sa **nazobronchiálny reflex**. Iritácia nosa mechanickým, termickým, či chemickým podnetom môže spôsobiť bronchodilatáciu i bronchokonstrikciu. Štúdie na dobrovoľníkoch uvádzajú bronchokonstrikčný efekt, ktorý je možné blokovať atropínom. U pacientov s astmou sa predpokladá, že podráždenie nosa môže viesť k zvýšeniu rezistencie dolných dýchacích ciest.



Podrobnejšie analyzujeme tento mechanizmus v kapitole o vplyve dysfunkcie nosovej dutiny na dolné dýchacie cesty.

Tiež je známy fenomén, ktorý sa nazýva nazotorakálny reflex, kde pri poruche dýchania jednou stranou nosovej dutiny dochádza k atrofii tej strany hrudníka, na ktorej je aj zhoršené dýchanie nosom. Pravdepodobne stimulácia aferentných nervov v nosových prieduchoch pri prúde vzduchu a jej následná centrálna interpretácia v nervovom systéme vedie k zníženiu toku trofických impulzov pre svalstvo hrudnej steny.

#### b) nazo-nazálne reflexy a lokálne axónové reflexy

Histamín, podaný do nosovej dutiny monolaterálne, vedie k zvýšeniu nosovej sekrécie a blokade nosovej dutiny nielen na strane podania, ale i kontralaterálne. Nakoľko je možné túto reakciu blokovat' atropínom, ide s najväčšou pravdepodobnosťou o reflexný dej, sprostredkovaný cestou centrálného nervového systému.

Podráždenie aferentných nervových zakončení, predovšetkým nervových zakončení C vlákien, ktoré sú v nosovej sliznici široko distribuované, dáva možnosť vzniku lokálnych axónových reflexov. To znamená, že okrem antegrádneho vedenia podráždenia do centrálného nervového systému dochádza aj k retrográdnemu šíreniu podráždenia s následným uvoľnením neuropeptidov, ktoré môžu ovplyvniť cievny tonus a permeabilitu ciev v sliznici nosovej dutiny i sekréciu žliazok. Tento mechanizmus sa významne podieľa na procese pretrvávania zápalovej reakcie v sliznici respiračného systému – ide o tzv. neurogénny zápal.

## 2.6 Imunitné funkcie nosovej sliznice

Sliznica nosa a prínosových dutín zohráva dôležitú úlohu v imunitnej obrane respiračného traktu, pretože ide o miesto prvého kontaktu s patogénmi prítomnými vo vdychovanom vzduchu. Nosová sliznica zachytáva všetky potenciálne nebezpečné, toxické, či infekčné noxy.

Z hľadiska imunitnej odpovede organizmu rozlišujeme vrodené a získané imunitné procesy. Rozdiely medzi vrodenou a získanou imunitou sú uvedené v tabuľke 2.

**Tabuľka 2:** Rozdiely medzi vrodenu a získanou imunitou

Vrodená imunita	Získaná imunita
prítomná od narodenia	odpovede sa odvíjajú od stretnutia s antigénom
okamžitá odpoveď	pomalšia odpoveď (3–5 dní)
geneticky dané receptory (nešpecifické len asi rádovo stovky receptorov)	T- a B-bunkové receptory špecifické pre príslušný antigén ( $10^{14}$ – $10^{18}$ receptorov)
nezávislé na predchádzajúcej expozícii antigénu	má pamäť na predchádzajúce expozície antigénu
imunitná odpoveď je rovnaká a je nezávislá na type expozície antigénu	efektívnejšia imunitná odpoveď pri každom ďalšom stretnutí s antigénom

### 2.6.1 Mechanizmy vrodenej imunity

Vrodený imunitný systém predstavuje primárnu obranu proti infekciám a poškodeniu spôsobenom mikroorganizmami, s následnou aktiváciou adaptívneho imunitného systému v reakcii na prítomnosť patogénov.

Respiračný epitel sa aktívne podieľa na vrodenej imunitě a to prostredníctvom bariérovej funkcie a mukociliárneho klírensu, ktorý sprostredkuje fyzické odstránenie inšpirovaných patogénov, rozpoznávanie mikroorganizmov pomocou „pattern recognition receptorov“, ktoré sú exprimované epitelovými bunkami, sekréciu rôznych mediátorov zápalu, antimikrobiálnych peptidov a interakcie so systémom adaptívnej imunity. Zlyhanie vrodenej imunity môže viesť ku kolonizácii patogénnymi mikroorganizmami a teda k rozvoju opakujúcich sa infekcií.

Bariérová funkcia sliznice patrí tiež medzi mechanizmy nešpecifickej vrodenej imunity. Epitél s riasinkami sú obklopené vrstvou seróznej tekutiny a na tomto seróznom filme sa nachádza druhá vonkajšia viskózne-elastická vrstva. Táto tekutina je produkovaná pohárikovými bunkami a podslizničnými žliazками. Pohyb hlienovej vrstvy spoločne s materiálom, ktorý je na nej adherovaný patrí medzi dôležité obranné mechanizmy. Hrúbka oboch vrstiev tekutiny je približne 5  $\mu\text{m}$  a hlien na povrchu je obnovovaný každých 10 až 20 minút. Takéto rýchle doplnenie hlienu na povrchu sliznice tiež významne napomáha ochrane sliznice. Spodná – periličiárna vrstva tekutiny sa neobmieňa tak nápadne rýchlo, obsahuje aj mnoho obranných látok. Keďže nosová sliznica nemá na svojom povrchu keratínovú vrstvu, ktorá sa považuje za protektívny faktor, táto funkcia je substituovaná práve prítomnosťou

bilaminárnej vrstvy tekutiny. Tejto funkcii napomáha prítomnosť glykoproteínových molekúl s veľkosťou približne od 200 kDa do 400 kDa a ich schopnosť polymerizovať na väčšie molekuly, ktorých veľkosť presahuje 2000 kDa.

Tieto glykoproteíny predstavujú obnoviteľný flexibilný a súčasne aj pomerne rezistentný povrch, ktorý pokrýva a chráni sliznicu. Táto vrstva izoluje epitel, chráni tekutinu spodnej vrstvy, lubrikuje povrch sliznice a zvlhčuje inhalovaný vzduch. Každá jedna molekula glykoproteínu sama o sebe viaže vodu poskytujúc tak dostatok tekutiny, ktorý je potrebný na ohrievanie a zvlhčovanie vdychovaného vzduchu. Hrúbka a zloženie bilaminárnej vrstvy tekutiny je dôležité pre správny mukociliárny transport. Ak je serózna vrstva príliš tenká, kmitanie riasiniek bude spomalené a obmedzené hlienom na povrchu, ak bude naopak príliš hrubá, tak konce riasiniek nedosiahnu k hlienovej viskózne elastickej vrstve a mukociliárny transport sa tiež spomalí.

Častice zachytené na povrchu hlienovej vrstvy sú transportované pomocou mukociliárneho transport do zadnej časti faryngu s rýchlosťou transportu približne 1 cm / min. Tento hlien je potom buď prehĺtnutý, alebo vykašľaný, pričom ako už bolo uvedené, táto vrstva sa obnoví v priebehu 10-20 min, kedy hlien odstránený z nosovej sliznice je kompletne doplnený. Čiže posun a obnova povrchovej hlienovej vrstvy prebieha súčasne tak, aby sliznica bola vždy dostatočne chránená. Mikroorganizmy a rôzne exogénne častice, ktoré boli na povrch hlienu prichytené, sa takto odstraňujú. Avšak táto vrstva slúži ako selektívny filter, pretože veľké častice sa na povrchu hlienu zachytia a tak sú odstránené, avšak malé častice môžu ľahko penetrovať do povrchovej tekutiny.

Mukociliárny klírens v respiračnom trakte je zabezpečený koordinovaným pohybom riasiniek respiračného epitelu, ktoré kmitajú s frekvenciou asi 10-14 Hz. Konštantný klírens hlienu do hltanu je najdôležitejším ochranným mechanizmom v horných a dolných dýchacích cestách. Rýchlosť klírensu hlienu je 10–24 mm/min v priedušnici, v nose 4,5–7 mm/min a v prieduškách 0,5–2 mm/min. Hoci existuje veľká interindividuálna variabilita tohto parametra, intraindividuálne hodnoty sú pomerne konštantné. Existuje široké spektrum metód na zisťovanie efektivity mukociliárneho transportu. Ide napríklad o sacharínový test, použitie buď  $^{99m}\text{Tc}$ -značených častíc (rinoscintigrafia) alebo  $^{99m}\text{Tc}$ -značených živcových častíc, farbív a kombinácie farbiva a sacharínu. Na meranie celkového nazálneho klírensu deponovanej dávky sa často používa gama scintigrafická metóda s celkovým klírensom roztokov označených  $^{99m}\text{Tc}$ .

Dôležitú úlohu v rozpoznávaní cudzorodých antigénov zohrávajú práve bunky sinonazálnej sliznice. Kým bunky zabezpečujúce adaptívnu imunitu disponujú širokou výbavou

receptorov pre rozpoznávanie konkrétnych patogénov, s ktorými sa organizmus už v priebehu života stretol (receptory B a T lymfocytov), bunky vrodenej imunity majú obmedzené spektrum *pattern recognition receptorov* (PRR) – receptorov detegujúcich “cudzie molekulárne vzory“. Preto systém vrodenej imunity rozoznáva iba obmedzené množstvo generalizovaných a zovšeobecnených vzorov mikroorganizmov a nemá receptor pre každý jeden existujúci antigén. Cudzorodé molekuly, ktoré imunitný systém rozlišuje ako “nie vlastné” sa nazývajú v anglickej literatúre PAMP – čo znamená *pathogen associated molecular patterns* (PAMPs). Príkladom na PAMP sú lipopolysacharidy, peptidoglykán, manány, bakteriálna DNA a iné.

Tieto molekulové vzory sú kritické pre imunitný systém z niekoľkých dôvodov.

1. Sú exprimované mikrobiálnymi patogénmi, ale neprodukujú ich bunky hostiteľa, čím umožňujú efektorom vrodenej imunity bezpečne rozlíšiť, čo je telu vlastné a čo je cudzorodé.
2. PAMPs reprezentujú predovšetkým molekuly, ktoré sú kľúčové pre prežitie a/ alebo patogenitu mikroorganizmov.
3. PAMPs sú obvyčajne rovnaké pre všetky typy patogénov (napr. lipopolysacharid, známy aj ako endotoxin je typický pre Gram negatívne mikroorganizmy).

Receptory systému vrodenej imunity sú exprimované na viacerých typoch efektorových buniek napríklad makrofágoch, dendritických bunkách, B lymfocytoch, ale aj epitelových bunkách respiračného traktu. Zrelé dendritické bunky patria medzi dôležité antigén prezentujúce bunky, ktoré iniciujú imunitnú odpoveď. PRR na povrchu týchto buniek je možné kategorizovať do troch skupín – **sekrečnej, endolytickej a signálnej**. **Sekrečné PRR** fungujú v princípe ako opsoníny a aktivujú fagocytózu a komplement. Najlepšie popísané receptory sú manán-viažuci lecitín a surfaktantový proteín SP-A a SP-D. **Endolytické PRR** sú prítomné na povrchu fagocytytujúcich buniek. Tieto receptory mediujú proces fagocytózy vo fagocytytujúcich a dendritických bunkách, kde sú patogény po fagocytóze prezentované lymfocytom. Príkladom tohto typu receptora je receptor pre manózu v makrofágoch. **Signálne PRR** aktivujú signálne dráhy, ktoré iniciujú transkripciu rôznych zápalových cytokínov a antimikrobiálnych peptidov. Epitelové bunky nosovej sliznice tiež patria medzi antigén prezentujúce bunky. Dokážu zosilniť zápalovú odpoveď na lokálnej úrovni.

### *Sekrečné faktory vrodenej imunity*

Medzi sekrečné faktory vrodenej imunity patria napríklad proteíny komplementu, ktoré sprostredkujú predovšetkým ochranu organizmu voči infekčným agens v procese ich opsonizácie, chemotaxie a lýzy leukocytov ako aj signálnou úlohou, keď komplement navzájom funkčne prepája systémy vrodenej a získanej imunity a nakoniec deštrukciou imunokomplexov a zápalových produktov. Okrem týchto známych prvkov vrodenej imunity je v nosovej sliznici známe pôsobenie ďalších antimikrobiálnych peptidov.

**Endotoxín** – ako jeden z typických antigénov mikroorganizmov dokáže po kontakte s epitelovými bunkami nosovej sliznice stimulovať tvorbu antimikrobiálnych peptidov, ktoré okrem ich primárneho účinku na mikroorganizmy účinkujú aj ako zápalové mediátory. Účinkujú synergicky s **lyzozýmom a laktoferínom a sekrečným inhibítorom leukoproteázy**. V rámci vrodenej imunity je nosová sliznica vybavená s dvoma najdôležitejšími skupinami kationických antimikrobiálnych peptidov a to sú katelidicíny a defenzíny.

**Defenzíny** sú malé kationické peptidy (29-40 AMK), charakteristicky obsahujú cystínové reziduá spojené disulfidovými mostíkmi, sú typicky prítomné na povrchu slizníc, ktoré sú vystavené riziku kolonizácie patogénnymi mikroorganizmami presne ako je tomu aj v horných dýchacích cestách. Poznáme dve kategórie ľudských defenzínov (kategória A a kategória B). **Katelidicíny** sú o niečo väčšie peptidy, sú produkované ako prepropeptidy a sú charakterizované prítomnosťou vysokošpecifickej sekvencie AMK.

Niektoré z týchto antimikrobiálnych peptidov sú priamo baktericídne – dokážu priamo usmrtiť mikroorganizmy (laktoferín, lyzozým). Produkujú ich neutrofily prítomné v nosovej sliznici ale priamo aj epitelové bunky. Lyzozým napríklad predstavuje až 15-30% všetkých proteínov prítomných v nosovom sekréte, čím zabezpečuje významnú antimikrobiálnu ochranu. Je to v podstate 14 kDa veľký enzým, ktorý dokáže štiepiť peptidoglykány bakteriálnej steny, čím baktérie priamo usmrčuje.

Laktoferín je 80 kDa proteín, ktorý má baktériostatický účinok – teda zabraňuje rozmnožovaniu mikroorganizmov svojou schopnosťou vyviazať železo, ktoré v konečnom dôsledku mikroorganizmy potrebujú pre svoj metabolizmus a rast. Okrem tejto funkcie napomáha adhézii polymorfonukleárov na povrch epitelových buniek nosovej sliznice. Tvorí 2-4% proteínov v nosovom sekréte. Koncentrácia oboch uvedených proteínov v nosovom sekréte sa zvyšuje u pacientov zo zápalom v horných dýchacích cestách.

Surfaktantové proteíny sú významnou súčasťou vrodenej imunity. Pozostávajú z fosfolipidov (90%) a proteínov (10%). Charakterizované sú štyri základné typy surfaktantných proteínov SP-A, SP-B, SP-C a SP-D. Práve SP-A a SP-D sa nachádzajú na

povrchu riasinkových buniek respiračného epitelu nosovej sliznice, kde poskytujú ochranu voči širokému spektru baktérií, húb a vírusov.

### 2.6.2 Mechanizmy získanej imunity

Nosová sliznica má vysoký potenciál v oblasti identifikácie patogénov pomocou PRR. Nachádzajú sa v nej Langhansove bunky, ktoré patria do skupiny antigén prezentujúcich buniek detegujúcich prítomnosť cudzorodých makromolekúl a materiálu inhalovaného a následne deponovaného v nose. V sliznici sa nachádza aj niekoľko mastocytov a eozinofilov, početné je zastúpenie T lymfocytov. Výskyt T a B bunkových línií v nosovej sliznici je v pomere 3:1 (T bunky:B bunky) a pomer helperových a efektorových buniek (CD4:CD8) je tiež 3:1.

Z analýzy zloženia nosového sekrétu vyplýva, že obsahuje okrem albumínu a sekrečných antimikrobiálnych peptidov aj protilátky – imunoglobulíny, ktoré sú súčasťou adaptívnej imunity. Nachádzame tu IgG (2 až 4%), sekrečný IgA (SIgA, 15%), nesekrečný IgA (1%) a IgM (<1%).

Imunoglobulíny sú hlavné špecifické mediátory imunitného systému. IgA a IgG sú základné imunoglobulíny v nosovom sekréte a pravdepodobne pôsobia odlišne. IgG je plazmatický proteín, ktorý preniká do nosovej sliznice cez kapilárnu stenu. IgG je difúzne distribuovaný v sliznici, ale nachádza sa hlavne v blízkosti bazálnej membrány. Analýzou plazmatických buniek produkujúcich Ig sa zistilo, že približne 25% plazmatických buniek v nosovej sliznici produkuje IgG, zatiaľ čo zvyšok produkcie je IgA.

Sekrečný IgA viaže mikroorganizmy v lúмене dýchacích ciest a v tejto forme zabraňuje priľnutiu týchto potenciálnych patogénov na sliznicu. Na rozdiel od toho IgG pôsobia primárne v samotnom tkanive a zabraňujú invázii mikroorganizmov, ktoré už dosiahli epitel, do hlbších vrstiev. Hladiny IgG v sekrétoch sa môžu zvýšiť až 125-krát zvýšením vaskulárnej permeability. Nešpecifické antimikrobiálne vlastnosti hlienu a prítomnosť normálneho množstva IgG v nazálnej sekrécii sú schopné dostatočne kompenzovať funkciu sekrečného IgA, pretože väčšina pacientov so selektívnym deficitom IgA nemá príznaky choroby a výskyt nazálnych infekcií u týchto pacientov sa nelíši od štandardnej populácie. Naopak, pacienti, ktorí majú úplný nedostatok IgG alebo nedostatok niektorých podtypov IgG, zvyčajne vyžadujú lekársku starostlivosť kvôli opakujúcim sa respiračným infekciám. Ochranné funkcie poskytované protilátkami IgG sa považujú za dôležitejšie pri prevencii respiračných chorôb ako sekrečný IgA.

## NALT

V lokálnej imunite nosovej sliznice zohráva dôležitú úlohu lymfatické tkanivo nosovej sliznice NALT - z anglického výrazu *nasal-associated lymphoid tissue*. Jeho prítomnosť bola dokázaná u laboratórnych zvierat, zatiaľ však nie u človeka. Funkčným ekvivalentom k NALT je lymfatické tkanivo Waldayerovho okruhu. Podľa niektorých literárnych údajov bola jeho prítomnosť potvrdená u detí. Otázka existencie NALT a jeho významu je dôležitá, pretože podľa literárnych údajov je toto tkanivo dôležité z hľadiska možnosti aktivácie imunokompetentných buniek a navodenia antigén špecifickej imunitnej odpovede. Vedci majú preto veľký záujem o štúdium NALT a možnosti podávania vakcín proti rôznym patogénom priamo na sliznicu nosovej dutiny, čím by sa navodila slizničná tolerancia a nie vznik zápalovej odpovede.

## Literatúra

**Angel James J a Daly MB.** Reflex respiratory and cardiovascular effects of stimulation of receptors in the nose of the dog. *J Physiol.*, 1972, 220, 637-696.

**Antošová a kol.:** Nasal nitric oxide in healthy adults—reference values and affecting factors. *Physiological Research* 2017, 66: S247, 2017.

**Baraniuk JN a Kim D.:** Nasonasal reflexes, the nasal cycle, and sneeze. *Current Allergy and Asthma Reports*, 2007; 7.2: 105-111.

**Barnes PJ:** Neurogenic inflammation in the airways. *Respir Physiol* 2001; 125: 145-154.

**Basu S a Fenton MJ.:** Toll-like receptors: function and roles in lung disease. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology* 2004; 286.5: L887-L892, 2004.

**Bennett WD a kol.:** Nasal contribution to breathing and fine particle deposition in children versus adults. *Journal of Toxicology and Environmental Health* 2007; 71.3: 227-237.

**Braiman A a Priel Z.:** Efficient mucociliary transport relies on efficient regulation of ciliary beating. *Respiratory Physiology & Neurobiology* 2008; 163.1-3: 202-207.

**Cerutti A a kol.:** Immunoglobulin responses at the mucosal interface. *Annual Review of Immunology* 2011; 29: 273-293.

**Cruzz AA a Togias A:** Upper airway reaction to cold air. *Current allergy and asthma reports* 2008; 8 (2):111-117.

**Davies RJ a Devalia JL:** Air pollution and airway epithelial cells. *Agents Actions Supplement* 1993; 43: 87-96.

- De Smet a kol.:** Human antimicrobial peptides: defensins, cathelicidins and histatins. *Biotechnology Letters* 2005; 27.18: 1337-1347.
- Debertin AS a kol.:** Nasal-associated lymphoid tissue (NALT): frequency and localization in young children. *Clinical & Experimental Immunology* 134.3: 503-507, 2003.
- Elad D a kol.:** Air-conditioning in the human nasal cavity. *Respiratory Physiology & Neurobiology* 2008; 163.1-3: 121-127.
- Gazi U a kol.:** Influence of the mannose receptor in host immune responses. *Immunobiology* 2009; 214.7: 554-561.
- Hammad H a Lambrecht BN:** Dendritic cells and airway epithelial cells at the interface between innate and adaptive immune responses. *Allergy* 2011; 66.5: 579-587.
- Holmgren J a Czerkinsky C:** Mucosal immunity and vaccines. *Nature Medicine* 2005; 11.4s: S45.
- Iwassaki A a Medzhitov R.** Toll-like receptor control of the adaptive immune responses. *Nature Immunology* , 2004; 5.10: 987.
- Jakuš J a kol.:** Neuronal determinants of breathing, coughing and related motor behaviors. *Monography published by West, Martin, Slovak Republic, 2004.*
- Javorka K a Tomori Z:** Role of the autonomic nervous system in the development of cardiovascular changes during nasal apnoea and lung inflation. *Physiol Bohemoslov* 1989; 25:511-518.
- Javorka K a kol.:** Lekárska fyziológia. 3. Vydanie. Martin, Osveta, 2009, 742 s, ISBN 978-80-806-3291-5.
- Kim JK a kol.:** Particle image velocimetry measurements for the study of nasal airflow. *Acta Oto-laryngologica* 2006; 126.3: 282-287.
- Kingma PS a Whitsett JA:** In defense of the lung: surfactant protein A and surfactant protein D. *Current Opinion in Pharmacology* 2006; 6.3: 277-283.
- Kokuma S, Imamura T, Masuyama K, Kambara T, Ishikawa T:** Effect of capsaicin as a neuropeptide releasing substance on sneezing reflex in a type 1 allergic animal model. *Int Arch Allergy Immunol* 1992; 98: 256 –261.
- Kolomaznik a kol.:** Pulmonary surfactant and bacterial lipopolysaccharide: the interaction and its functional consequences. *Physiological Research* 2017; 1: 66-71.
- Koren HS a Devlin RB:** Human upper respiratory tract responses to inhaled pollutants with emphasis on nasal lavage. *Ann NY Acad Sci* 1992; 641: 215-224.
- Korpáš J, Galgóczy G:** Pollutants and airway receptors – pathophysiological aspects. *Pathophysiology* 1996; 3: 5-9.



- Korpáš J, Tomori Z:** Cough and the other respiratory reflexes. *Veda, vydavateľstvo SAV*, 1979, 368 s.
- Kotaru C a kol.:** Influence of hyperpnea on airway surface fluid volume and osmolarity in normal humans. *J Appl Physiol* 2002; 93:154-160.
- Kratschmer F:** Über reflexe von der nasenschleimhaut auf athmung und kraislauf. *Sitzber Wiss Wien* 1870; 62: 147-170.
- Kuper CF a kol.:** Lymphoid and non-lymphoid cells in nasal-associated lymphoid tissue (NALT) in the rat. *Cell and Tissue Research* 1990; 259.2: 371-377.
- Lane AP a kol.:** Serum amyloid A, properdin, complement 3, and toll-like receptors are expressed locally in human sinonasal tissue. *American Journal of Rhinology* 2006; 20.1: 117-123.
- Lane AP:** The role of innate immunity in the pathogenesis of chronic rhinosinusitis. *Current Allergy and Asthma Reports* 2009; 9.3: 205-212.
- Leopold DA:** Pollution, the nose and sinuses. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1992; 106: 713-719.
- Lipman M a Schlesinger RB.** Toxicological bases for the setting of health- related air pollution standards. *Annu Rev Public health* 2000; 21:309-333.
- McFadden ER a kol.** Thermal mapping of the airways in humans. *J Appl Physiol* 1985;58:564-570.
- Merre CL a kol.:** Effects of cold dry air nasal stimulation on airway mucosal blood flow in humans. *Arch of Physiol and Biochem* 2003; 111 (4):327-329.
- Sato S a Kiyono H:** The mucosal immune system of the respiratory tract. *Current Opinion in Virology* 2012; 2.3: 225-232.
- Schenider JJ a kol.:** Human defensins. *Journal of Molecular Medicine* 2005; 83.8: 587-595.
- Thornton DJ a kol.:** Structure and function of the polymeric mucins in airways mucus. *Annual Review of Physiology* 2008; 70: 459-486.
- Widdicombe JG a Irwin RS:** Cough. In: *Textbook of Respiratory Medicine* (Murray JF, Nadel JA, eds), pp 553-556, W.B. Saunders, 2000.
- Wilson SS a kol.:** Antiviral mechanisms of human defensins. *Journal of Molecular Biology*, 2013; 425.24: 4965-4980.
- Wine JJ.** Parasympathetic control of airway submucosal glands: central reflexes and the airway intrinsic nervous system. *Autonomic Neuroscience* 2007; 133.1: 35-54.

## 3 NAZÁLNA REAKTIVITA A HYPERREAKTIVITA, NAJČASTEJŠIE OCHORENIA NOSOVEJ SLIZNICE

### 3.1 Reaktivita nosovej sliznice

Fyziologická reaktivita nosovej sliznice predstavuje súbor odpovedí výstelky nosovej dutiny na potenciálne škodlivé stimuly vonkajšieho prostredia, ktoré sa prejavujú predovšetkým zmenami v regulácii priechodnosti nosovej dutiny, sekrécie a vyvolaním obranných a ochranných reflexných procesov. V tejto súvislosti je možné nosovú reaktivitu považovať za fyziologický proces. **Nosová hyperreaktivita je definovaná ako vznik jedného alebo viacerých symptómov ako je sekrécia z nosa, kýchanie, svrbenie, či obštrukcia v dôsledku expozície environmentálnym faktorom napríklad cigaretovému dymu, studenému suchému vzduchu, čistiacim prostriedkom v domácnosti a podobne.** V prípade, že dochádza ku neprimeranej odpovedi nosovej sliznice na nešpecifické stimuly vonkajšieho prostredia, hovoríme o nešpecifickej nosovej hyperreaktivite. Ak ide o neprimeranú odpoveď nosovej sliznice na podaný alergén u senzibilizovaného jedinca hovoríme o špecifickej hyperreaktivite na daný konkrétny alergén. Charakterizujú sa vznikom nosových symptómov po expozícii týmto stimulom.

Nešpecifická hyperreaktivita horných dýchacích ciest je veľmi dobre známou charakteristikou rôznych zápalových i nezápalových ochorení nosovej dutiny a prínosových dutín. Takýmito ochoreniami sú napríklad alergická i nealergická rinitída, avšak informácie o prevalencii nosovej hyperreaktivity v jednotlivých typoch rinitíd sú limitované. Podľa niektorých literárnych údajov je prítomná u viac ako 65% pacientov s nealergickou i alergickou rinitídou. Tieto údaje boli zisťované jednak pomocou analýzy subjektívnych pozorovaní pacientov (dotazníková metóda) ale aj pomocou objektívnych provokačných testov, ktoré sa vykonávajú analogicky ako je tomu pri testoch bronchiálnej hyperreaktivity. Hoci je vzťah medzi nosovou hyperreaktivitou a ochoreniami nosovej sliznice známy, tento proces je pomerne náročné diagnostikovať. V bežnej praxi imunoalergológa, prípadne otorinolaryngológa nie je priestor na vykonanie nosových provokačných testov, napríklad pomocou expozície studenému suchému vzduchu (z angl. CDA – cold dry air vzduch s teplotou nižšou ako 10°C a vlhkosťou nižšou ako 10%), nakoľko tento test trvá približne 45 minút. Okrem časovej náročnosti v bežnej ambulantnej praxi je to aj nízka špecificita a senzitivita daných testov ako aj absencia protokolov, ktoré by boli prijateľné pre pacienta ako aj pre lekára.

**Výšetrenia nosovej hyperreaktivity** (nosové provokačné testy) pomocou hyperosmolárnych látok (manitol, hypertonický fyziologický roztok), **histamínu, metacholínu a studeného vzduchu sa využívajú na výskumné ciele.** Najlepšie tolerovaná a aj najviac odporúčaná je metóda vdychovania studeného suchého vzduchu, ktorá sa ukazuje ako najbezpečnejšia. Laváže nosovej dutiny roztokmi obsahujúcimi histamín, či metacholín nie sú vo všeobecnosti odporúčané, pretože výsledok meraní môže ovplyvniť už samotné mechanické pôsobenie lavážnej tekutiny a nie daná látka, ktorej účinnosť vyvolať nosové symptómy sa skúma. Pri inhlácii studeného suchého vzduchu sa považuje za *cut-off* bod (bod dosiahnutia pozitívneho výsledku s potvrdením hyperreaktivity) pokles PNIF (peak nasal inspiratory flow) pod 20% pôvodných hodnôt.

Patogenéza hyperreaktivity nosovej sliznice nie je celkom známa. Existujú však niektoré hypotézy, ktoré sa pokúšajú objasniť mechanizmy zodpovedné za neprimeranú reaktivitu nosovej sliznice. **Keďže ide o uniformné reakcie, či už po expozícii alergénom, alebo expozícii nešpecifickým podnetom ako je studený vzduch či iritanty, predpokladá sa, že významnú úlohu tu zohráva nervový systém.**

### 3.2 Teórie vysvetľujúce zvýšenie reaktivity nosovej sliznice

#### 3.2.1 Vzostup epitelovej permeability

Na základe najnovších poznatkov sa uvažuje o tom, že na vzniku nosovej hyperreaktivity sa podieľajú environmentálne a mikrobiálne faktory, ktoré majú **negatívny účinok na epitel sliznice.** Znečisteniny s nízkou molekulovou hmotnosťou v pracovnom, životnom i rekreačnom prostredí narušujú integritu epitelových buniek. Nosový epitel predstavuje dôležitú fyzikálnu a imunitnú bariéru a zabezpečuje prevenciu penetrácie patogénov, alergénov a toxínov do hlbších vrstiev sliznice. Individuálne epitelové bunky sú navzájom spojené **komplexami bielkovín tzv. tight junctions.** Tieto spojenia sú tvorené proteínmi ako je **klaudín, okludín** a ďalšie, ktoré zabraňujú penetráciu potenciálne nebezpečných faktorov do hlbších vrstiev sliznice.

U pacientov s nosovou hyperreaktivitou bola zistená **zvýšená priepustnosť epitelovej vrstvy,** ktorý umožňuje lepší prienik dráždivých látok k voľným nervovým zakončeniam, cievam a žliazкам. Pacienti s alergickou rinitídou majú lepší prienik I125 značkovaneho albumínu do nosovej sliznice po lokálnom podaní do nosovej dutiny v porovnaní so zdravými ľuďmi. U pacientov s celoročnou alergickou rinitídou vyvolanou alergénmi roztočov bola

zistená znížená expresia proteínového komplexu *tight junction* a k jej úprave dochádza po liečbe kortikosteroidmi. Zvýšenie priepustnosti nosovej sliznice u pacientov s alergickou rinitídou môže byť spôsobené aj účinkom produktov eozinofilov na sliznicu nosovej dutiny. **Doteraz nezodpovedanou otázkou je, či je disrupcia epitelu príčinou, alebo dôsledkom patologických procesov prebiehajúcich v nosovej sliznici.** Bolo dokázané, že okrem mediátorov alergického zápalu dochádza k narušeniu integrity epitelu aj po expozícii enterotoxínu mikroorganizmu *Staphylococcus aureus*, rovnako k zvýšeniu epitelovej priepustnosti dochádza vplyvom IL4 a IFN- $\gamma$ .

### 3.2.2 Dysfunkcia komplexného nervového systému nosovej sliznice

Patomechanizmy, prostredníctvom ktorých dochádza k vzostupu reaktivity nosovej sliznice sa týkajú rôznych úrovní nervového systému – cez ovplyvnenie aferentných nervových zakončení, eferentných nervov, či spracovania nervových impulzov na úrovni centrálného nervového systému. Nervová regulácia v horných dýchacích cestách je komplexná a pozostáva z viacerých spolupracujúcich nervových systémov. **Bazálna regulácia horných dýchacích ciest je zabezpečovaná sympatikovým adrenergným systémom a parasympatikovým cholinergným systémom, ktoré regulujú činnosť epitelu, ciev a žliazok.** Sympatikové nervy inervujú predovšetkým cievne štruktúry a malé žliazky. Sekrécia postgangliových mediátorov noradrenalinu a NPY spôsobuje predominantne vazokonstrikciu a znižuje nosovú sekréciu.

Na druhej strane prostredníctvom uvoľnenia acetylcholínu a VIP ako neurotransmiterov parasympatika dochádza k zvýšeniu sekrécie a relaxácii ciev s následnou kongesciou (*Obr. č. 14*). **Za fyziologických okolností je dominantný sympatikus.**

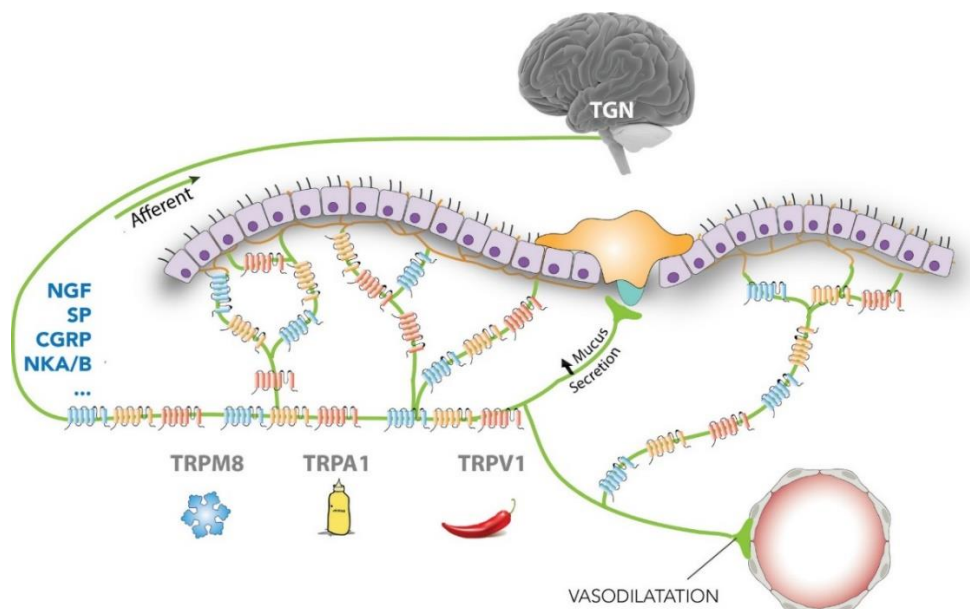
Niektoré z typov nealergickej rinitídy vznikajú jednoduchým narušením rovnováhy medzi týmito dvoma recipročne pôsobiacimi systémami. Napríklad rinitída starých ľudí je spôsobená degeneráciou sympatikového systému v prospech parasympatika. Toto ochorenie je charakterizované prítomnosťou vodnatého sekrétu, ktorý dobre reaguje na podanie ipratropium bromidu – čo je anticholinergikum. Podobne je tomu aj u medikamentózne rinitídy vyvolanej liečivami (paradoxne dekonjestívami), kde je typickým nálezom dysregulácia adrenergných receptorov nosovej sliznice.

V ďalších fenotypoch rinitídy je patogenéza komplexnejšia a zahŕňa aj dysreguláciu v aferentnom nervovom systéme. Pred niekoľkými desaťročiami bola v nosovej sliznici dokázaná prítomnosť non-adrenergného-non-cholinergného systému (NANC). Za fyziologických okolností tento systém spolupracuje s parasympatikovým systémom. Dnes je už

známe, že tieto nervy zohrávajú dôležitú úlohu v regulácii nosových funkcií a dokážu dokonca iniciovať proces nazývaný „neurogénny zápal“, pretože po ich stimulácii dochádza nielen k šíreniu nervových vzruchov ortodrómsne do centrálného nervového systému, ale aj antidrómsne (axónový reflex). Z týchto zakončení C-vlákien sa uvoľňujú tachykiníny (SP, CGRP, NKA, NKB), ktoré majú v nosovej sliznici proinflamačné účinky (*Obr. č. 15*). **Podobné procesy boli už dávnejšie P. Barnesom charakterizované v dolných dýchacích cestách a nazvané termínom neurogénny zápal, keďže jeho iniciátorom je aktivácia nervov aferentného alebo NANC systému.**

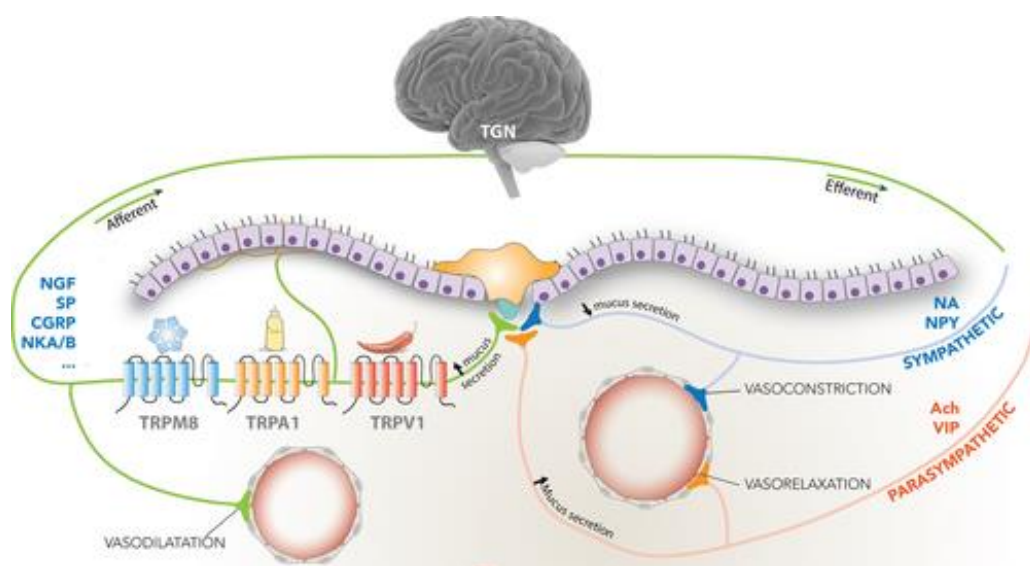
Uvedené vlákna NANC systému reagujú na celú paletu podnetov, na tradičné zápalové mediátory ako histamín a bradykinín, ako aj na iritanty prítomné vo vdychovanom vzduchu. Uvoľnenie týchto peptidov je iniciované prostredníctvom interakcií s iónovými kanálmi TRPV1 a TRPA1, ktoré boli bližšie charakterizované v kapitole o inervácii nosovej sliznice.

**Zvýšená expresia týchto kanálov je kľúčovým faktorom.** Napríklad bolo dokázané, že infekcia rinovírusom 16 vedie k zvýšeniu expresie TRPV1/TRPA1 a TRPM8 na trigeminálnych neurónoch. Podobne bola takáto nadmerná expresia zistená aj u pacientov trpiacich rinitídou vyvolanou iritantmi. Nadmerná expresia TRP kanálov bola zistená aj u pacientov s bronchiálnou hyperreaktivitou, čo len potvrdzuje ich významnú úlohu v patogenéze ochorení horných i dolných dýchacích ciest.



**Obrázok 14:** Schematické znázornenie úlohy aferentného nervového systému pri vzniku hyperreaktivity nosovej sliznice. Silná stimulácia aferentných C- vlákien, ktoré

exprimujú TRP kanály vedie k okamžitému uvoľneniu substancie P (SP), nervového rastového faktora (NGF), neurokinínu A a B (NKA, NKB) a calcitonin gen-related peptidu s následnou aktiváciou buniek produkujúcich hlien a vazodilatáciu. Piktogramy: snehová vločka znázorňuje chlad, čo je aktivátor TRPM8, horčicový olej – alylizotiokyanát je aktivátor TRPA1 a TRPV1 a červená paprika znázorňuje kapsaicín - jej pálivý komponent, ktorý aktivuje TRPV1.



**Obrázok 15:** Schematické znázornenie úlohy aferentného i eferentného nervového systému pri vzniku hyperreaktivity nosovej sliznice. Aktivácia ortodrómej dráhy (napríklad prítomnosť iritantov, teplotné zmeny) podráždi príslušné TRP kanály prítomné na aferentných nervoch a epiteli sliznice – táto informácia sa dostáva prostredníctvom trojkľaného nervu do centrálného nervového systému, ktorý prostredníctvom eferentných dráh zabezpečí vznik vazodilatácie a hypersekrécie (parasympatikus) alebo vazokonstrikcie (sympatikus).

### 3.3 Zisťovanie reaktivity sliznice nosovej dutiny

Doposiaľ nebola spracovaná všeobecne akceptovateľná štandardná metóda pre testovanie reaktivity nosovej sliznice. Nazálne provokačné testy však umožňujú:

- A) zisťovať odpoveď horných dýchacích ciest na prirodzenú expozíciu alergénom, či iným dráždidlám,

- B) študovať patofyziológiu ochorení horných dýchacích ciest,
- C) odpovedať na otázky, či je nosová dutina „senzitívna“ na príslušné dráždidlo, determinovať stupeň senzitivity a študovať faktory, ktoré túto senzitivitu ovplyvňujú.

Pri testovaní reaktivity nosovej sliznice je možné hodnotiť reaktivitu nosovej dutiny ako celku s prihliadnutím na jednotlivé formy jej manifestácie (kongescia, sekrécia, kýchanie). Existuje však aj pohľad, ktorý uvažuje o zmenách reaktivity jednotlivých kompartmentov sliznice nosovej dutiny a ich účasti na vzniku ochorení horných dýchacích ciest. Takto je možné definovať niekoľko kompartmentov so špecifickou štruktúrou a vlastnosťami:

- mikrocirkulácia,
- epitel,
- žliazky,
- senzitivne nervy.

Rôznymi metodickými prístupmi je možné selektívne sledovať odpoveď príslušného kompartmentu na stimuláciu. Lokálne podanie metacholínu indukuje zvýšenie sekrécie v žliazkach, topické pôsobenie kapsaicínu stimuluje senzitivne nervy, histamín indukuje exsudáciu plazmy zo subepiteliálnych ciev.

Na testovanie tejto hyperreaktivity boli použité ako jedny z prvých testovacích látok rôzne alergény dispergované v určitom uzatvorenom objeme vzduchu, ktorý dýchala testovaná osoba. Neskôr sa provokačné testy realizovali prostredníctvom lokálneho podania provokačnej látky v roztoku, napríklad pipetou priamo na sliznicu nosovej dutiny, roztok absorbovaný v kúsku bavlnenej tkaniny, či disku filtračného papiera a podobne. Podanie tkaniny alebo disku z filtračného papiera vedie aj k mechanickému podráždeniu nosovej sliznice, a preto je vhodnejšie podávať provokačné látky vo forme aerosólu.

Okrem alergénov sú pri provokačných nazálnych testoch využívané metodiky používajúce podanie metacholínu a histamínu. Aplikácia histamínu do nosovej dutiny vedie k zvýšeniu prietokového odporu nosovej dutiny, zvýšeniu sekrécie a vyvolá kýchanie, metacholín spôsobí predovšetkým sekrečnú odpoveď. Podaním alergénu je možné odlíšiť pacientov s alergickou rinitídou, pričom senzibilizácia na príslušný antigén sa dá dokázať súčasne kožným prick testom.

Reaktivitu sliznice nosovej dutiny možno v experimentálnych štúdiách sledovať aj u anestézovaných morčiat meraním zmien nosového prietokového odporu po stimulácii sliznice nosových dutín histamínom so zvyšujúcou sa koncentráciou.

Problematickou sa stala diagnostika nealergickej neinfekčnej rinitídy (NANIR). Táto diagnóza sa zväčša stanovuje *per exclusionem*. V patogenéze NANIR zohrávajú dôležitú úlohu zmeny fyzikálnych vlastností vdychovaného vzduchu. Vdychovaním studeného suchého vzduchu je možné vyvolať rinitídu. Odpoveď nosovej sliznice na tento druh stimulu je predovšetkým zvýšenie prúdového odporu nosovej dutiny. Štandardizácia provokácie prostredníctvom studeného suchého vzduchu je vhodnejšia ako podanie histamínu na rozpoznanie prítomnosti a stupňa NANIR.

Možnosti hodnotenia vzniku symptómov po provokácii je nasledovné (Tab.č. 3). Okrem príznakov ochorenia nosovej dutiny, ktoré je možné objektívne sledovať (sekrécia, počet kýchnutí, atď.) vznikajú pri podaní dráždidiel do nosovej dutiny i subjektívne zmeny – pocity, ktoré probandi interpretujú ako rôzne pocity lokalizované do oblasti nosa, napríklad svrbenie, šteklenie, pálenie, prípadne i bolestivé pocity spojené so silnou stimuláciou aferentných nervových zakončení v sliznici nosovej dutiny. Tieto symptómy je tiež možné hodnotiť, najvhodnejšie pomocou vizuálnej analógovej škály.

Kýchanie sa hodnotí na základe jednoduchého sledovania počtu kýchnutí za časovú jednotku, kedy počet kýchnutí zaznamenáva nezávislý pozorovateľ. Obvykle u alergickej rinitídy vzniká po provokácii viac ako 5 kýchnutí v porovnaní s nešpecifickou reaktivitou, pre ktorú je charakteristický nižší počet kýchnutí.

Hypersekrécia po podaní alergénu alebo histamínu do jednej nosovej dutiny je zvýšená bilaterálne, po podaní metacholínu len monolaterálne. Množstvo sekrétu je možné vyhodnotiť na základe zisťovania objemu (subjekt sedí v predklone a sekrét sa hromadí v zbernej nádobe), zisťovania hmotnosti sekrétu (napr. zistenie hmotnosti papierovej vreckovky pred a po vyčistení nosovej dutiny), prípadne filtračného papiera. Oba spôsoby je možné realizovať aj po odsatí nahromadeného sekrétu z nosovej dutiny. Sekrét vyprodukovaný počas stimulácie je možné vyšetriť i kvalitatívne so zameraním na prítomnosť a množstvo jednotlivých zápalových buniek alebo mediátorov.

Ďalším problémom je hodnotenie obštrukcie respektíve priechodnosti nosovej dutiny. Je potrebné uviesť, že **nosová obštrukcia predstavuje dyskomfort spojený s pocitom nedostatočného prúdenia vzduchu cez nosovú dutinu, čo znamená, že ide skôr o subjektívne interpretovaný znak nosovej reaktivity**. Pre objektívne posúdenie priechodnosti nosovej dutiny je vhodnejší termín – *nasal patency* (priechodnosť nosovej dutiny). Priechodnosť nosovej dutiny je možné posudzovať na základe získania informácií o prúdovom odpore nosovej dutiny.



Objektívne hodnotenie zmien prietokového odporu nosovej dutiny je najobtiažnejšie. Je možné ho realizovať pomocou zadnej rinomanometrie, kedy sa zaznamenáva krivka prietok – objem počas dýchania cez nosovú dutinu. Táto metóda je náročná, tak pre pacienta ako i pre lekára. Pri zisťovaní zmien nosovej rezistencie je možné použiť i prednú rinomanometriu a nazálnu spiometriu. Inou možnosťou je sledovanie rýchlostí maximálneho inspiračného a maximálneho expiračného prietoku cez nosovú dutinu. Najmenej presnou je metóda subjektívneho hodnotenia priechodnosti nosovej dutiny samotným pacientom.

**Tabuľka 3:** *Prehľad postupov vhodných na hodnotenie reaktivity nosovej sliznice*

Testovacie látky	Spôsob podania	Spôsob hodnotenia	
histamín	pipetou na povrch sliznice	Kýchanie	počet kýchnutí za jednotku času
metacholín	katétrom	Sekrécia	kvantitatívne
kapsaicín	kvapkadlom		určenie objemu sekrétu
alergény	na disku filtračného papiera		určenie hmotnosti sekrétu
nikotín	na disku tkaniny	Prietokový odpor	kvalitatívne
SO <sub>2</sub>	spray		hodnotenie prítomnosti buniek, alebo zápalových mediátorov v sekréte
studený vzduch	inhalácia aerosólu		objektívne predná rinomanometria zadná rinomanometria
		Subjektívne pocity	subjektívne hodnotí sám pacient verbálne vizuálna škála

### 3.4 Metodické problémy provokačných testov nosovej sliznice v experimentálnych podmienkach

Nosová dutina je anatomicky i funkčne súčasťou dýchacieho systému. Pri niektorých metodikách stimulácie nosovej dutiny (inhalácia aerosólov, podávanie chemických dráždidiel vo forme roztokov) môže dochádzať aj k ovplyvneniu ďalších častí dýchacieho systému.

#### 3.4.1 Mechanické dráždenie aferentných nervových zakončení

Tento postup je veľmi jednoduchý, stimulácia je realizovaná prostredníctvom jemného opakovaného zasúvania tenkého nylonového vlákna s priemerom 0,3 mm cez vonkajšie orifícium nosovej dutiny u anestézovaného zvieraťa. Mechanický podnet dráždi mechanoreceptory v sliznici nosovej dutiny, ktoré patria do skupiny „irritant“ alebo aj dráždivých receptorov. Pri tomto spôsobe stimulácie dochádza k tzv. bodovému dráždeniu, teda k dráždeniu malej plochy sliznice, zároveň je tu nízke riziko adaptácie receptorov na tento podnet, pretože stimulovaná plocha je malá a opakované podráždenie tých istých miest pri opakovanej stimulácii je málo pravdepodobné.

Ďalšou alternatívou je možnosť iritácie „drive“ receptorov v nosovej sliznici prúdom vzduchu izbovej teploty a vlhkosti. Tieto nervové zakončenia sú normálne aktívne počas vdychu a výdychu, preto prietok vzduchu vhláňaný do nosovej dutiny musí niekoľkonásobne prevyšovať prietok vzduchu v dýchacích cestách pri spontánnom dýchaní.

Uvedené spôsoby mechanickej iritácie nosovej sliznice predstavujú postupy, ktoré nevedú k podráždeniu aferentných nervových zakončení v iných lokalitách, len v nosovej dutine a sú preto vhodné pre separátne dráždenie sliznice nosovej dutiny.

#### 3.4.2 Chemické dráždenie aferentných nervových zakončení

Ide o najčastejšie používaný spôsob stimulácie sliznice nosovej dutiny v experimentálnych ako i klinických podmienkach. Na našom pracovisku máme už skúsenosti s intranazálnym podaním roztoku kapsaicínu bdelým morčatám. Ak chceme ovplyvniť podaním chemickej látky len nervové zakončenia v nosovej sliznici, je potrebné zvoliť vhodný spôsob jej podania.

- 1) Aerosól generovaný nebulizátorom nie je vhodný pre separátne dráždenie nosovej dutiny. U bdelých spontánne dýchajúcich zvierat pri expozícii aerosólu chemickej

dráždivéj látky môže dôjsť k jeho vdýchnutiu do laryngu a tracheobronchiálneho stromu v závislosti od mediánu veľkostného priemeru častíc aerosólu. Nervové zakončenia v laryngu a dolných dýchacích cestách by týmto spôsobom mohli byť taktiež stimulované.

- 2) Podanie sprejom na nosovú sliznicu - zabezpečuje veľmi dobrú intranazálnu distribúciu dráždidla, ale vyžaduje koordináciu dýchania a časovania podania dávky. Počas podania pri inšpirii je tu možnosť vdýchnutia, pri expírii vydýchnutia dráždidla. Tento spôsob je vhodný u probandov v humánnych klinických a klinicko-fyziologických štúdiách, ktorí dokážu cielene upraviť dýchanie a tak optimalizovať podmienky pre podanie chemického dráždidla vo forme spreja.
- 3) Podanie roztoku chemického dráždidla absorbovaného na malom disku filtračného papiera alebo tkaniny. Tento postup je jednoduchý, avšak vyžaduje opakovanú manipuláciu inštrumentáriom v nosovej dutine (vloženie média, jeho odstránenie). Pri tomto postupe dochádza aj k mechanickej iritácii sliznice nosovej dutiny prítomnosťou média, na ktorom je chemická látka absorbovaná. Je vhodný v humánnych štúdiách, a pre jeho použitie v štúdiách u laboratórnych zvierat je limitujúcim faktorom veľkosť nosovej dutiny zvierat a i mohutnejší systém lastúr v nosovej dutine zvierat, čo by zhoršovalo možnosti manipulácie.
- 4) Podanie roztoku katétrom, alebo mikropipetou na sliznicu nosovej dutiny – spôsob podania zabezpečuje podanie presne definovaného množstva chemického dráždidla na malú plochu sliznice nosovej dutiny a nevyžaduje si koordináciu dýchania a podania roztoku, takže je ho možné použiť aj v experimentálnych štúdiách.

Ak podávame roztok do nosovej dutiny spontánne dýchajúceho zvierat'a, ktoré nie je anestézované a tracheotomizované, je potrebné zvážiť nasledovné faktory:

- Za fyziologických podmienok je prúdenie vzduchu v nosovej dutine laminárne. Podaný roztok sa môže stať súčasťou aerosólu tvoreného nosovou dutinou pri dýchaní a môže byť vdýchnutý do dolných dýchacích ciest.
- Neprimerane veľký objem podaného roztoku môže zatiecť do nosohltana a hltana a dráždiť štruktúry laryngálneho vstupu.
- Aj malé množstvo chemickej látky môže byť transportované distálne prostredníctvom mukociliárneho transportu.

- Chemická látka podaná do nosovej dutiny obvykle vedie k obranným reakciám sliznice a tieto sú nezávislé od druhu dráždidla pomerne uniformné (zvýšenie sekrécie v snahe zriediť koncentráciu iritanta, transudácia plazmy, edém sliznice).

Na základe uvedených poznámok je zrejmé, že limitujúcimi faktormi sú v tomto prípade objem podanej látky, časový faktor (čas od podania látky po rozvoj nazálnych symptómov, trvanie mukocilárneho transportu cez nosovú dutinu) a anatomické prepojenie nosovej dutiny s ďalšími časťami dýchacieho systému. Najvhodnejší model lokálneho dráždenia nosovej sliznice chemickou látkou bez ovplyvnenia ďalších častí dýchacieho systému je:

- anestézované laboratórne zviera so separovanými hornými a dolnými dýchacím cestami
- spontánne dýchajúce zviera cez tracheotómiu
- stimulácia nosovej sliznice podaním roztoku chemického dráždidla mikropipetou alebo tenkým katétrom
- malý objem podanej látky, ktorý nie je transpotrovaný do dolných dýchacích ciest

### 3.5 Najčastejšie ochorenia nosovej dutiny, ich príčiny a dôsledky

Práve skutočnosť, že nosová sliznica je exponovaná množstvu škodlivín a mikrobiálnych agens vo vdychovanom vzduchu, jeho teplotným výkyvom, či zmenám vlhkosti sa považuje za rizikový faktor pre častý vznik ochorení nosovej dutiny a prinosových dutín. Podľa najnovšej klasifikácie zápalových ochorení nosovej sliznice sa rozlišujú tri základné skupiny ochorení a to **infekčné rinitídy**, **alergická**, obvykle sezónna rinitída a skupina nealergických neinfekčných rinitíd, z nich je štatisticky najčastejšia tzv. **vazomotorická rinitída**.

Hoci rinitída nie je ochorenie so život ohrozujúcimi dôsledkami a komplikáciami, ide o problém, ktorý značne ovplyvňuje kvalitu života pacientov a má aj socio–ekonomický rozmer (priame finančné náklady na liečbu, ako aj nepriame finančné náklady z dôvodu práceneschopnosti a podobne).

#### 3.5.1 Infekčná (vírusová/bakteriálna) rinitída

Zimné obdobie, sprevádzané výraznými zmenami teploty vdychovaného vzduchu, pobytom v teplých prekurých priestoroch a zvýšený pobyt jednotlivcov v spoločných priestoroch (pracovné kolektívy, školy, škôlky, v rámci rodiny), signifikantne napomáha

zvýšenému výskytu respiračných infekcií v zimných mesiacoch. Uvedené faktory, ako aj antigénna variabilita tisícov respiračných vírusov vedie k ich recirkulácii v komunite a následne aj vyššej chorobnosti dýchacích ciest v zimnom období.

Hoci dýchací systém disponuje množstvom obranných a ochranných mechanizmov reflexného i nereflexného charakteru voči faktorom pochádzajúcim z vonkajšieho prostredia, tieto nie sú vždy efektívne natoľko, aby zabránili vzniku respiračných ochorení.

Dospelí prekonajú v priemere dve až štyri infekčné ochorenia horných dýchacích ciest v priebehu roka, u detí začlenených do kolektívu môže byť výskyt respiračných infekcií horných dýchacích ciest vyšší. K trendu zvýšenej chorobnosti HDC prispievajú aj demografické faktory (populácia seniorov, veľa malých detí začlenených včas do kolektívu, imunodeficientní pacienti) ako i existencia nových rezistentných patogénov.

Najčastejšími príčinami infekcií v horných dýchacích cestách sú vírusy a to **hlavne rinovírusy, vírus parainfluenzy, koronavírus, adenovírus, respiračný syncytiálny vírus a coxsackie vírusy**. Ako bakteriálne agens sa v teréne horných dýchacích ciest uplatňujú ***β-hemolytické streptokoky***, spôsobujúce 5% až 10% prípadov rinofaryngitídy a z klinického hľadiska významé časté exacerbácie chronickej tonzilitídy u dospelých, ďalej sú to ***Streptococcus pneumoniae, Streptococcus pyogenes, Haemophilus influenzae a Moraxella catarrhalis***, ktoré sa uplatňujú ako najčastejší pôvodcovia sekundárnych bakteriálnych infekcií po vírusovej primoinfekcii. Okrem nich sa môžu na infekciách horných dýchacích ciest podieľať aj iní bakteriálni pôvodcovia.

V patogenéze infekcií horných dýchacích ciest je zahrnutá **priama invázia etiologického agens** na sliznicu dýchacích ciest, pričom prenos pôvodcov z osoby na osobu sa uskutočňuje predovšetkým prostredníctvom kvapôčkovej nákazy. Ide o priamu inhaláciu čistočiek kontaminovaného hlienu pochádzajúceho z dýchacích ciest nakazenej osoby. Tieto sa dostávajú do vzduchu pri kašli alebo kýchaní a taktiež aj pri kontakte s hlienom infikovanej osoby, ktorý môže byť na rukách v prípade, že sa dotýkame nosa alebo úst. Táto cesta prenosu je charakteristická pre kolektívy s nižším hygienickým štandardom – napríklad malé deti v škôlke, či škole, ktoré nemajú ešte dostatočne zafixované hygienické návyky jednak pri čistení nosa do vreckovky (používanie jednorazových vreckoviek) a častejšie umývanie rúk v prípade infekcie.

Po prenose pôvodcu infekcie je potrebné, aby virulencia a patogenita príslušných pôvodcov bola dostatočne vysoká na prekonanie niekoľkých **obranných “bariér”**, a to jednak **fyzikálnych a mechanických** (elektrostatické interakcie, tekutina na povrchu dýchacích ciest

a mukociliárny transport), ako aj **humorálnych** (antibakteriálne látky prítomné na sliznici dýchacích ciest, dieméry IgA) a **celulárnych** imunitných mechanizmov.

Ak došlo k prekonaniu obranných mechanizmov, počas inkubačnej doby sa pôvodca ochorenia rozmnožuje v dýchacích cestách, pričom je potrebné uviesť, že pôvodcovia respiračných infekcií majú rôzne inkubačné doby, od 1-4 dní pre vírusy influenzy a parainfluenzy, 1-7 dní pre bakteriálnych pôvodcov, ale aj 4-6 týždňov pre infekciu spôsobenú Epstein – Barr vírusom. Následne sa ochorenie klinicky manifestuje vznikom a postupným zhoršovaním lokálnych a celkových symptómov, ktoré sú determinované lokalizáciou patologického procesu.

**Nie všetci jedinci sú rovnako vnímaví** na vznik infektov v horných dýchacích cestách, existujú tu lokálne a celkové predispozičné faktory. K lokálnym patrí deviácia nosovej prepážky, zmeny na konchách či iné anatomicke variácie, sinonazálne alergie a z celkových stavov sú to hlavne vrodené a získané imunodeficientné stavy.

V klinickej manifestácii infekcií horných dýchacích ciest vidíme pravidelne prekrývanie symptómov. Infekcia má tendenciu sa šíriť aj na ďalšie časti dýchacieho systému. Ako príklad je možné uviesť sinusitídu – len zriedkavo je postihnutá izolovane sliznica prinosových dutín, často býva asociovaná so zápalom nosovej sliznice a preto hovoríme o rinosinusitíde. Alebo faryngolaryngitíde v prípade postihnutia faryngu aj laryngu.

Často sa k „symptómom“ z horných dýchacích ciest pridáva kašeľ, ktorý mnohí pacienti môžu považovať za symptóm postihnutia dolných dýchacích ciest a pľúc, pričom takáto interpretácia nemusí byť vždy správna a je potrebné sa zamerať primárne na horné dýchacie cesty ako primárny zdroj problémov. Môže ísť o tzv. „kašeľ asociovaný ochoreniam horných dýchacích ciest“ (upper airway cough syndrome). V minulosti sa považoval za dôsledok zatekania hlienu z nosa do faryngu (postnasal drip syndróm, zadná nádcha), dnes však vieme, že jeho patogenéza je komplexná (kapitola 4).

### 3.5.2 Alergická rinitída

Alergická rinitída je ochorenie podmienené zápalom nosovej sliznice a prinosových dutín, pričom tento zápalový proces je dôsledkom **neprimerane silnej hyperergickej reakcie imunitného systému** senzibilizovaných jedincov voči antigénnej stimulácii. V prípade, že určitý antigén vyvoláva alergickú reakciu, nazývame ho alergénom. Pri tomto type reakcie dochádza k vzniku lokálnych symptómov a znakov, ako sú kýchanie, zvýšenie nosovej sekrécie, opuch a kongescia nosovej sliznice vedúca k zníženiu priechodnosti nosovej dutiny,

svrbenie nosa, ako aj očí, často býva zápalom postihnutá aj Eustachova trubica, stredné ucho a sliznica nosohltana a ústnej časti hltana.

Je to ochorenie veľmi časté, ktoré postihuje približne 20% dospeljej populácie, u detských pacientov je situácia závažnejšia, nakoľko až 40% detských pacientov má skúsenosti s alergickou rinitídou a je známe, že počet detí s alergickými ochoreniami respiračného systému stúpa. Alergická rinitída nie je banálne ochorenie. Pri chronickom priebehu môže viesť ku **komplikáciám** ako sú sinusitídy, poruchy čuchu, nosové polypy, zápaly stredného ucha, poruchy sluchu, poruchy dýchania v spánku, ortodontické problémy a v konečnom dôsledku má negatívny vplyv na fyziológiu dolných dýchacích ciest.

Alergická rinitída sa klasifikuje spravidla na dva základné typy podľa času výskytu a to na **sezónnu alergickú rinitídu** a **celoročnú**.

**Sezónna alergická rinitída** (polinóza, senná nádcha). V našich podmienkach sa peľová sezóna začína už vo februári a marci, kedy začínajú kvitnúť jelše a liesky. V máji až júni je najsilnejším alergénom peľ brezy, nasledovaný v letnom období peľmi tráv ako sú palina, či ambrózia. Sezónnym vplyvom podlieha aj alergická na spóry (*Cladosporidium* a *Alternaria*) s minimom v zime a maximom v lete a na jeseň. Je potrebné uviesť, že každý pacient je individuálne senzitívny na uvedené alergény a preto spektrum klinických prejavov u jednotlivcov závisí nielen na období, kedy sú alergénu exponovaní, ale aj ich individuálnej reaktivity.

**Celoročná – pereniálna rinitída** je ochorenie, pri ktorom sú alergény, na ktoré je pacient citlivý v jeho okolí počas celého roka. Ide predovšetkým o alergény roztočov, domácich zvierat ako aj alergény plesní, ktoré sú prítomné v bytovom prachu a podobne. Podľa prítomnosti symptómov a znakov môže byť alergická rinitída **intermitentná** (vyskytuje sa menej ako 4 dni v týždni, menej ako 4 týždne) alebo **perzistujúca** (vyskytuje sa viac ako 4 dni v týždni, viac ako 4 týždne). Podľa závažnosti rozlišujeme miernu (nezávažné prejavy), stredne ťažkú až ťažkú formu alergickej rinitídy, pri ktorej je intenzita symptómov vysoká a ochorenie ovplyvňuje svojou prítomnosťou zásadne kvalitu života pacientov (poruchy spánku, narušenie bežnej dennej aktivity a podobne).

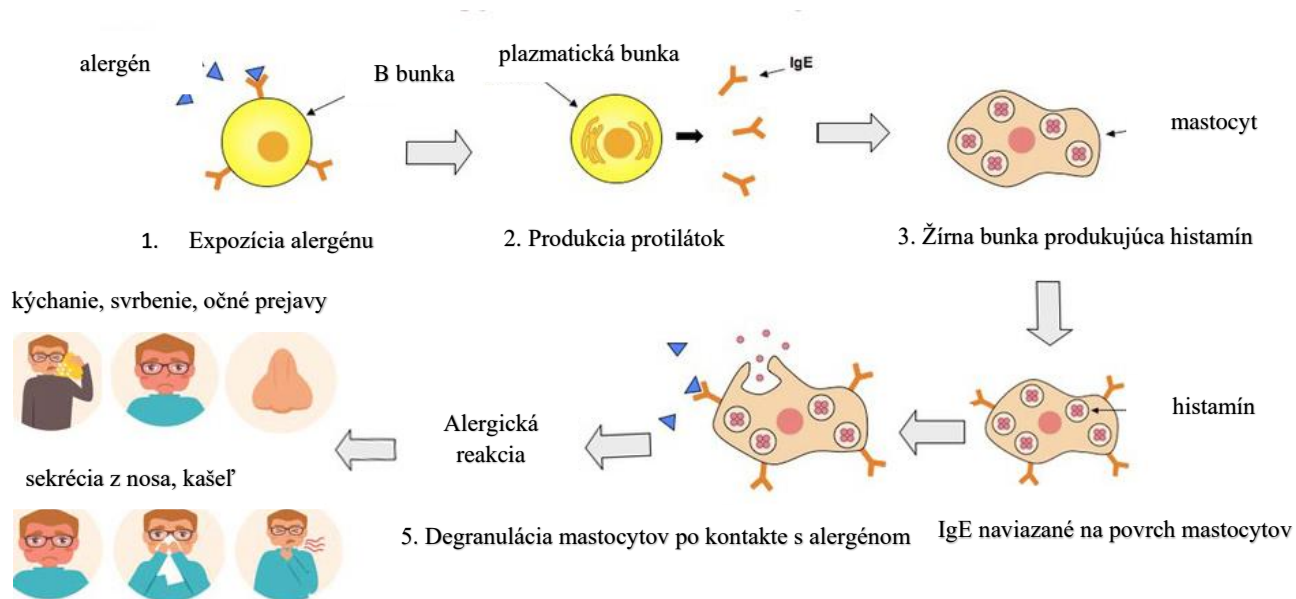
Ako už bolo uvedené, alergická rinitída je **hypersenzitívna reakcia nosovej sliznice na kontakt s alergénom u senzibilizovaných jedincov**. K senzibilizácii dochádza u jedincov s predispozíciou k hyperergickým reakciám (**atopikom**) pri opakovanom kontakte s alergénmi prítomnými vo vdychovanom vzduchu. V etiopatogenéze alergickej rinitídy zohráva dôležitú úlohu atopia. Bolo dokázané, že aj u atopických detí existujú faktory, ktoré môžu priaznivo

ovplyvniť tento stav a to je napríklad dojčenie a postupné zavádzanie príkrmov u dojčiat, ktoré limituje výskyt alergických reakcií. Ale existujú aj faktory, ktoré ovplyvňujú vývoj a maturáciu imunitného systému nepriaznivo a to je „**prílišná čistota**“ v okolí dojčaťa, ktorá vedie k nedostatočnej antigénnej stimulácii. Preto imunitný systém nedokáže reagovať správne pri neskoršom styku s antigénmi, napríklad po začlenení dieťaťa do predškolského zariadenia je náhle exponovaný množstvu antigénov, preto reaguje neprimerane silno a vytvára sa základ pre hyperergické reakcie (*Obr. č. 15*).

Keďže sliznica nosovej dutiny je prvou časťou dýchacieho systému, ktorá je exponovaná alergénom, je alergická rinitída zvyčajne prvým z prejavov respiračných alergií.

U jedincov predisponovaných k alergickým reakciám dochádza pri styku s cudzorodými bielkovinami k tvorbe **špecifických IgE** voči určitým bielkovinám – v tomto prípade vzdušným alergénom. IgE je naviazaný svojim Fc fragmentom na povrch mastocytov a bazofilov prítomných v nosovej sliznici a pri vytvorení komplexu antigén – protilátka dochádza k aktivácii vnútrobunkových signálnych dráh v uvedených imunokompetentných bunkách. Následne dochádza k narušeniu ich bunkovej membrány a degranulácii – uvoľneniu zápalových mediátorov zodpovedných za iniciovanie zápalovej odpovede – hlavne **histamínu, tryptázy, chymázy a heparínu**. Dominantné postavenie má v tejto reakcii histamín, okrem neho však dochádza aj k tvorbe metabolitov kyseliny arachidonovej – prostaglandínov a leukotriénov. Uvedené mediátory priamo, ale aj prostredníctvom neurohumorálnych interakcií podmieňujú vznik a rozvoj symptómov charakteristických pre alergickú rinitídu – svrbenie nosa, očí, kýchanie, opuch nosovej sliznice a zvýšenie produkcie sekrétu. Vazodilatácia, kongescia lokálneho cievneho systému, sekrécia hlienu a podráždenie aferentných senzitívnych vlákien exprimujúcich histamínové receptory so vznikom svrbenia sú reakcie, ktoré vznikajú veľmi rýchlo po expozícii alergénom, preto sa táto fáza nazýva aj **včasná fáza alergickej reakcie**.





**Obrázok 16:** Rozvoj alergickej reakcie pri vzdušných alergénoch. Expozícia vzdušným alergénom – peľom tráv, kvetov a stromov vyvoláva vznik alergickej reakcie, s postupným rozvojom symptómov a znakov alergickej rinitídy, ako sú kýchanie, svrbenie nosa a očí, opuch sliznice a zvýšená produkcia riedkeho vodnatého sekrétu.

Po 4-8 hodinách dochádza cestou komplexných imunitných procesov k aktivácii neutrofilov, eozinofilov, lymfocytov i makrofágov, ktoré prestupujú z ciev pri lokálne zvýšenej permeabilite cievnej steny v nosovej sliznici. Tento proces sa nazýva **neskorá fáza alergickej reakcie** a pretrváva hodiny až dni. Mechanizmy neskej fázy alergickej reakcie sa podieľajú na pretrvavaní alergického zápalu v nosovej sliznici. Symptómy ako svrbenie a kýchanie ustupujú, kým sekrécia, opuch a kongescia cievneho systému pretrvávajú.

Alergická rinitída môže byť sprevádzaná aj výskytom celkových prejavov, ako je únava, slabosť, malátnosť, bolesti hlavy či zvýšená telesná teplota. Tieto prejavy sú dôsledkom systémovej zápalovej odpovede organizmu a dosahujú rôznu intenzitu v závislosti od individuálnej reaktivity jedinca.

### 3.5.3 Nealergické neinfekčné rinitídy – vazomotorická rinitída

Skupina nealergických rinitíd je pomerne heterogénna skupina ochorení, pričom v ich patogenéze nefiguruje hypersenzitívna reakcia mediovaná protilátkami typu IgE ani invázia infekčného agens. K vzniku symptómov rinitídy dochádza v tomto prípade po expozícii nosovej sliznice **nešpecifickým podnetom**. Často sa pojem nealergická neinfekčná rinitída

zamieňa alebo voľne používa ako synonymum pre **vazomotorickú rinitídu**, čo však nie je celkom správne. V rámci nešpecifických podnetov, ktoré môžu vyvolať takúto reakciu patrí chlad (**chladom indukovaná rinitída**), pálivé dráždivé jedlá (**gustatórna rinitída**), stres (**emocionálna rinitída**), hormonálne vplyvy (**rinitída u gravidných**), iritanty v pracovnom prostredí (**profesionálna rinitída**) a iné (Obr. č. 16).



**Obrázok 17:** Prehľad najčastejších rizikových a etiologických faktorov vyvolávajúcich ochorenia nosovej sliznice.

Veľmi zjednodušene by sme mohli vymedziť patomechanizmy, ktoré sa podieľajú na vzniku tejto formy rinitídy nasledovne:

- dysfunkcia autonómneho systému
- hyperreaktivita aferentných nervových zakončení v sliznici nosovej dutiny
- neuro-humorálne a neuro-imunitné vzťahy na lokálnej úrovni nosovej sliznice

Nosová sliznica je bohato cievne zásobená, ako už bolo uvedené a obsahuje niekoľko typov cievnych štruktúr: arterioly – rezistenčné cievy, ktoré dokážu efektívne regulovať prítok krvi do sliznice, periglandulárnu a subepiteliálnu kapilárnu sieť, venuly, ale aj cievne sínusoidy. Tieto štruktúry majú charakter kapacitných ciev a dokážu sa v krátkom čase rýchlo naplniť, prípadne vyprázdniť a tak ovplyvňujú priechodnosť nosovej dutiny. Za normálnych okolností je v rovnováhe inervácia týchto cievnych štruktúr zo strany sympatika a parasympatika, pričom pravdepodobne sa pri **vazomotorickej rinitíde uplatňuje prevaha parasympatického systému so zvýšeným prekrvením sliznice a kongesciou cievnych štruktúr**. Okrem toho,

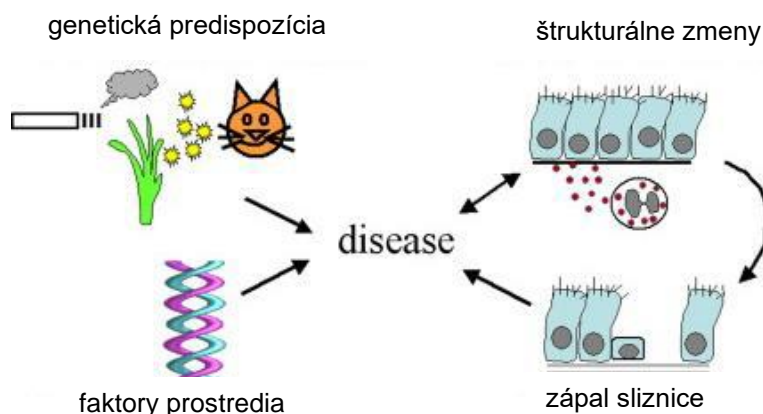
prevaha parasympatickej inervácie vedie aj k **zvýšenej produkcii hlienu** nosovou sliznicou. Zvýšenie produkcie hlienu je fyziologickou reakciou sliznice v prípade, že je exponovaná dráždidlám s tendenciou znížiť ich koncentráciu. V prípade vazomotorickej rinitídy táto dysregulácia spôsobuje, že nadprodukcia hlienu pretrváva, pričom sa k nej pridáva aj množstvo tekutín, ktoré pochádza z cievneho systému (transudácia). O pôvode sekrétu nosovej sliznice sa môžeme presvedčiť na základe prítomnosti markerov jednak žliazkovej aktivity (laktoferín), ako aj transudácie plazmy (albumín).

Akú úlohu zohráva hypersenzitivita aferentných nervových zakončení? Ako už bolo uvedené, pri podráždení aferentných nervov v sliznici nosovej dutiny dochádza nielen k šíreniu podráždenia smerom do centrálného nervového systému, ale aj retrográdne – čo nazývame axónový reflex. Tento sa týka predovšetkým aktivácie nemyelinizovaných C vlákien a vedie k produkcii látok s proinflamačným potenciálom – **neurokinínov**. Najznámejšie neurokiníny sú **substancia P** a **neurokinín A a B**. Uvedené látky majú potenciál dilatovať cievy a modulovať činnosť žliazok v zmysle hyperkrínie a dyskrínie.

Je pochopiteľné, že aj u zdravých jedincov reaguje nosová sliznica na podnety ako je chlad či dráždivé chemické látky, avšak u jedincov s hypersenzitivitou a hyperreaktivitou nervového systému tieto mechanizmy pretrvávajú a nie sú časovo ohraničené len na expozíciu uvedeným noxám, prípadne obdobie nasledujúce bezprostredne po tejto expozícii.

Hypersenzitivita a hyperreaktivita nervov v nosovej sliznici je teda dôsledkom zmenených neurofyziologických vlastností vplyvom opakovaných zápalov, expozícií znečistenému vzduchu a podobne, ktoré spôsobujú zvýšenie produkcie tzv. neurotrofických faktorov a tieto ďalej môžu viesť k nadmernému vetveniu nervov a modulácii nervovej aktivácie.

Zaujímavým faktorom v patogenéze nealergických rinitíd je aj interakcia medzi **nervovým systémom a imunitnými bunkami** – lokálne na úrovni nosovej sliznice. Bolo dokázané, že u niektorých pacientov s vazomotorickou rinitídou sú v terapii účinné lokálne kortikosteroidy, či antihistaminiká ako je tomu v prípade alergických procesov. Štúdie týchto vzťahov naznačujú, že k uvoľneniu histamínu zo žírnych buniek nemusí dochádzať jedine v prípade ich antigénnej stimulácie a tvorbou komplexov alergénov s IgE, ale aj po stimulácii aferentných nervových zakončení v sliznici nosovej dutiny nešpecifickými podnetmi (konkrétne táto štúdia bola zameraná na aplikáciu chladových podnetov a následné stanovenie hladín histamínu v lavážnej tekutine). K liberácii histamínu dochádza aj pri prevahe parasympatického tonusu a to priamo pôsobením neuromediátorov parasympatika na mastocyty.



**Obrázok 18:** Koncept vzniku chronických ochorení dýchacieho systému, či už v prípade alergickej rinitídy alebo dlhodobej expozície nepriaznivým (noxickým) podnetom, napríklad chladu alebo vzdušným nečistotám. Genetická predispozícia spolu s faktormi prostredia vyvoláva zápal sliznice (alergický, neurogénny) a neskôr vedie nielen k funkčným dôsledkom, ale aj morfológickým zmenám.

Ako vyplýva z tohto krátkeho prehľadu najčastejších zápalových procesov nosovej sliznice, jej štruktúry reagujú na podráždenie rôznymi druhmi stimulov pomerne uniformnou reakciou, ktorá v sebe zahŕňa infiltráciu sliznice eozinofilmi, lymfocytmi, neutrofilmi a mastocytmi, uvoľnenie veľkého množstva zápalových mediátorov, či už produkovaných špecifickými bunkami, poškodenými epitéliami alebo vytvorených v extracelulárnom priestore. Mediátory pôsobia na cieľové štruktúry priamo i nepriamo prostredníctvom nervových mechanizmov, ako sú centrálné nervové reflexy i axónové reflexy. Výsledkom je **zvýšenie sekrécie hlienu, kýchanie a vaskulárna kongescia**, ktorá vedie k transudácii tekutiny z cievnych štruktúr a k edému.

Pretože je objem nosovej dutiny limitovaný skeletom, tieto pochody vyúsťujú do **blokády prietoku vzduchu nosovou dutinou. Zvýšená sekrécia, kýchanie a upchatý nos** sú potom typickými symptómami a príznakmi ochorení nosovej dutiny. V niektorých prípadoch sa k nim môže pripojiť subjektívne nepríjemný pocit šteklenia alebo svrbenia nosa, hltana, očných spojiviek a zvýšené slzenie. Lokálne symptómy môžu byť nasledované aj vznikom celkových symptómov a znakov, ako je horúčka, bolesť hlavy, svalov a kĺbov, či svetloplachosť.

## Literatúra

**Abbas AK a kol.:** Allergy. In: *Cellular and molecular immunology*, 9th edition, Elsevier, New York 2017. s.437.

**Arnal JF a kol.:** Nasal nitric oxide is increased in allergic rhinitis. *Clin Exp Allergy* 1997; 27:358.

**Banov C a kol.:** Double blind trial of Astelin nasal spray in the treatment of vasomotor rhinitis. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2000; 84:138.

**Baroody FM a kol.:** Relationship between histamine and physiological changes during the early response to nasal antigen provocation. *J Appl Physiol* (1985) 1999; 86:659.

**Baroody FM a Naclerio RM:** Allergic rhinitis. In: *Clinical immunology. Principles and practice*, 2nd ed, Rich RR, Fleisher TA, Shearer WT, et al (Eds), Mosby, London 2001. p.481.

**Benediktsdottir B:** Upper airway infections in preschool children-frequency and risk factors. *Scandinavian Journal of Primary* 1993, Vol. 11, No. 3, Pages 197-201.

**Borish L:** Allergic rhinitis: systemic inflammation and implications for management. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 112:1021.

**Braunstahl GJ:** The unified immune system: respiratory tract-nasobronchial interaction mechanisms in allergic airway disease. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 115:142.

**Broide DH a kol.:** Eosinophils express interleukin 5 and granulocyte macrophage-colony-stimulating factor mRNA at sites of allergic inflammation in asthmatics. *J Clin Invest* 1992; 90:1414.

**Brook I:** Bacteriology and beta-lactamase activity in acute and chronic maxillary sinusitis. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1996;122;418-23.7: 1586.

**Cates EC a kol.:** Effect of GM-CSF on immune, inflammatory, and clinical responses to ragweed in a novel mouse model of mucosal sensitization. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 111:1076.

**Cauwenberge PB a kol.:** The adenoid as a key factor in upper airway infections. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology* 1995, 32: 71-80.

**Corren J:** Allergic rhinitis and asthma: How important is the link? *J Allergy Clin Immunol* 1997, 99: 781-786.

**De Lalla F:** Oral cephalosporins for airway infections. *Clin Microbiol Infect*, 2000, 6, 3: 70-72

**Dockhorn R a kol.:** Ipratropium bromide nasal spray 0,03% and beclometasone nasal spray alone and in combination for the treatment of rhinorrhea in vasomotor rhinitis. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1992, 82: 349-359.

**Dunagan DP a Georgitis JW:** Intranasal disease and provocation. In: Diagnostic testing of allergic disease, Kemp SF, Lockey RF (Eds), Marcel Dekker, 151 2000.

**Dykewicz MS a kol.:** Diagnosis and management of rhinitis: complete guidelines of the Joint Task Force on Practice Parameters in Allergy, Asthma and Immunology. American Academy of Allergy, Asthma, and Immunology. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1998; 81:478.

**Eifan AO a Durham SR:** Pathogenesis of rhinitis. *Clin Exp Allergy* 2016; 46:1139.

**Fokkens WJ a Scadding GK:** Perennial rhinitis in children under 4 yrs. *Pediatr Allergy Immunol* 2004, 15, 261-266.

**Haberal I a Corey JP:** The role of leukotrienes in nasal allergy. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2003; 129:274.

**Hanazawa T a kol.:** Intranasal administration of eotaxin increases nasal eosinophils and nitric oxide in patients with allergic rhinitis. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 105:58.

**Hansen I a kol.:** Mediators of inflammation in the early and the late phase of allergic rhinitis. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2004; 4:159.

**Hrubisko M a Barta T:** Moderný pohľad na diagnostiku a liečbu alergickej nádchy. Bratislava, GlaxoSmithKline, 2002, s 27-35.

**Christodoulopoulos P a kol.:** Molecular pathology of allergic disease. II: Upper airway disease. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 105:211.

**Iwasaki M a kol.:** TNF-alpha contributes to the development of allergic rhinitis in mice. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 112:134.

**Naclerio RM a kol.:** Inflammatory mediators in late antigen-induced rhinitis. *N Engl J Med* 1985; 313:65.

**Ng ML a kol.:** Preliminary criteria for the definition of allergic rhinitis: a systematic evaluation of clinical parameters in a disease cohort (I). *Clin Exp Allergy* 2000; 30:1314.

**Oettgen HC a Geha RS:** IgE in asthma and atopy: cellular and molecular connections. *J Clin Invest* 1999; 104:829.

**Orban NT a kol.:** Allergic and non-allergic rhinitis. In: Middleton's allergy: Principles and practice, 7th ed, Adkinson NF, Bochner BS, Busse WW, et al (Eds), Mosby, St. Louis 2009. p.973.

**Plevkova J a Mokry J:** Použitie kortikosteroidov v liečbe nealergickej rinitídy. *Revue medicíny v praxi*, 6, 2008, 13-16.

**Plevkova J a Tatar M:** Fyziológia a patofyziológia nosovej dutiny, nazálna hyperreaktivita. *Československá fyziologie*. vol. 51, no. 1 (2002), pp. 28-36.

- Ponikau JU a kol.:** Striking deposition of toxic eosinophil major basic protein in mucus: implications for chronic rhinosinusitis. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 116:362.
- Salib RJ a kol.:** Mechanisms and mediators in non allergic rhinitis. *Clin Exp Allergy* 2008, 38:393-404.
- Salib RJ a kol.:** Nasal mucosal immunoexpression of the mast cell chemoattractants TGF-beta, eotaxin, and stem cell factor and their receptors in allergic rhinitis. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 114:799.
- Sargi Z a Younis R :** Acute and Chronic Rhinosinusitis, *Pediatric Otolaryngology for the Clinician* 2009, Part 3, 121-125.
- Senior BA a Kennedy DW.** Management of sinusitis in the asthmatic patient *AAAI J*, 1996;77:6-15.
- Settipane RA a Lieberman P:** Update on nonallergic rhinitis. *Ann Allergy Asdtma Immunol* 2001, 97: 123-129.
- Šebová I a Siváček J:** Chronická rinosinuitída. *Via pract.*, 2005, roč. 2 (11): 469–471.
- Taylor-Clark TE:** Insight into the mechanism of histamine induced inflammation of the nasal mucosa. *Pulm Pharmacol Ther* 2008, 21, 455-460.
- Togias A a kol.:** Studies on the allergic and nonallergic nasal inflammation. *J Allergy Clin Immunol*, 2002, 86, 494-507.
- Wallace DV a kol.:** The diagnosis and management of rhinitis: an updated practice parameter. *J Allergy Clin Immunol* 2008; 122:S1.
- Walls AF a kol.:** Roles of the mast cell and basophil in asthma. *Clin Exp Allergy Rev* 2001; 1:68.
- West JW:** Acute upper airway infections. *Br Med Bull* (2002) 61 (1): 215-230.
- Wheeler PW a Wheeler SF:** Vasomotor rhinitis. *American family physician* 2005, 72, 1057-1062.
- Worm M a Henz BM:** Molecular regulation of human IgE synthesis. *J Mol Med (Berl)* 1997; 75:440.

## 4 DYSFUNKCIA NOSA A JEJ VPLYV NA DOLNÉ DÝCHACIE CESTY

Ochorenia nosa a prínosových dutín, predovšetkým pri ich chronickom priebehu ovplyvňujú významne funkcie dolných dýchacích ciest. Tieto vzťahy sú známe v prípade **alergickej rinitídy a prieduškovej astmy a rinosinusopatií rôznej etiológie a syndrómu chronického kašľa**.

Priedušková astma je chronické zápalové ochorenie dýchacieho systému s účasťou eozinofilov, mastocytov, Th2 lymfocytov a ďalších imunokompetentných buniek. Zápal v dýchacích cestách vedie k vzniku hyperreaktivity, ktorá sa prejavuje záchvatovou, spravidla reverzibilnou obštrukciou periférnych dýchacích ciest. Priedušková astma sa prejavuje klinicky v rôznych fenotypoch (kašľový variant, klasická astma, astma bez eozinofilov), čo môže komplikovať diagnostiku ochorenia.

Na limitovaní prietoku vzduchu sa podieľajú mechanizmy ako **bronchokonstrikcia, opuch steny priedušiek, nadprodukcia viskózneho hlienu s tvorbou hlienových zátok**. V neskoršom priebehu sa na limitovaní prietoku vzduchu podieľa **remodelácia steny priedušiek**.

Vzťahy medzi alergickou rinitídou a prieduškovou astmou sú intenzívne študované, o čom svedčí množstvo odbornej literatúry na túto tému. Približne 40% pacientov s alergickou rinitídou má súčasne aj problémy s dolnými dýchacími cestami, a keď sa detailne anamnesticky pátra v populácii astmatikov, zistí sa až v **80% súčasné postihnutie nosovej sliznice**. Na základe bilaterálnych vzťahov existujúcich medzi alergickou rinitídou a astmou sa väčšina autorov prikláňa k názoru, že v oboch prípadoch ide v skutočnosti o jedno **ochorenie (united airway concept)**, pričom u rinitikov sa manifestuje primárne v horných dýchacích cestách a u astmatikov je postihnutie viac v dolných dýchacích cestách.

Syndróm kašľa asociovaného ochoreniam horných dýchacích ciest (upper airway cough syndrome) patrí do kategórie ochorení v rámci syndrómu chronického kašľa. Ide o ochorenie, kde **kašeľ je jediným, prípadne vedúcim symptómom, je suchý, dráždivý, trvá viac ako 3-8 týždňov a svojou prítomnosťou znižuje kvalitu života pacienta**. Pri fyzikálnom vyšetrení sa **nezistí prítomnosť patologických nálezov na hrudníku a natívna snímka hrudníka je tiež negatívna**.

V minulosti existovali názory, že kašeľ vzniká prostredníctvom podráždenia aferentných nervových zakončení v nosovej sliznici. Dodnes neexistuje relevantný dôkaz pre toto tvrdenie. Z experimentálnych a klinických štúdií vyplýva, že nie je možné vyvolať kašeľ



z nosovej sliznice, avšak existujú mechanizmy, ktoré sa podieľajú na modulácii kašľa v prípade, že patologický proces je lokalizovaný v nose, prípadne prinosových dutinách.

Ťažisko tejto kapitoly spočíva predovšetkým v analýze mechanizmov, ktoré sa môžu podieľať na poškodení dolných dýchacích ciest u pacientov s rinosinusopatiami.

Ochorenia nosovej sliznice môžu v zásade ovplyvňovať funkciu dolných dýchacích ciest prostredníctvom vzájomnej komunikácie a to jednak:

1. **prostredníctvom dýchacích ciest** samotných – anatomické spojenie predisponuje k šíreniu patologického procesu *per continuitatem*
2. **prostredníctvom cirkulácie** – zápalové mediátory a iné proinflamačné a regulačné faktory sa dostávajú z postihnutej sliznice horných dýchacích ciest do systémovej cirkulácie a vyvolávajú rekritáciu imunitných buniek nielen v horných, ale aj dolných dýchacích cestách (fenomén známy ako „homing of immune cells“)
3. **prostredníctvom nervového systému** – reflexné interakcie, neuroplastické zmeny vyvolané patologickým procesom v horných dýchacích cestách, ako aj neuroimunitné vzťahy.

**Dôležitú úlohu v komunikácii horných a dolných dýchacích ciest zohráva imunitný systém, či už v podobe ovplyvnenia dolných dýchacích ciest mediátormi resorbovanými v nose do systémovej cirkulácie alebo cestou neuroimunitných vzťahov.**

#### 4.1 Syndróm zatekania hlienu do hypofaryngu a laryngu (post nasal drip syndróm)

Jedným z najčastejšie diskutovaných mechanizmov, ktorý sa pokladá za dôležitý pri ovplyvnení dolných dýchacích ciest u pacientov s rinosinopatiami, je post nasal drip syndróm – **syndróm zatekania hlienu z nosa po zadnej stene hltana a hrtana**. Problémom je, že len málokedy sa podarí objektívne dokázať pri otorinolaryngologickom vyšetrení prítomnosť hlienu na sliznici. Pri vyšetrení sa zistí hypertrofická lesklá sliznica nosohltana, niekedy jej povrch pripomína „dlažobné kocky“, pretože sa striedajú hypertrofické ostrovčeky sliznice s fisúrami medzi nimi. Hoci pacienti udávajú pocit prítomnosti hlienu a zvýšeného nutkania k prehĺtaniu alebo „odfňaniu“ v snahe eliminovať tento hlien, jeho prítomnosť na sliznici hltana v makroskopických množstvách sa potvrdí len zriedka. Problémom tiež môže byť, že post nasal drip syndróm ako taký nie je presne klinicky definovaný.

Pomerne mechanistická teória predpokladá, že hlien vyprodukovaný v nosovej dutine, ktorý zatiekol do hltana a hrtana, môže svojou prítomnosťou mechanicky dráždiť štruktúry laryngálneho vstupu a tak vyvolať kašeľ. Okrem toho, že prítomnosť nahromadeného hlienu na sliznici predstavuje **mechanický tusigénny podnet**, zápalový sekret pochádzajúci z nosovej dutiny obsahuje množstvo zápalových mediátorov, buniek a ich produktov, ktoré sa môžu podieľať na **chemickom dráždení nervových zakončení** zodpovedných za vznik kašľa. Týmto spôsobom môže dochádzať k ovplyvneniu citlivosti nervových zakončení exponovaných „chemickému podnetu vo forme zápalových mediátorov“ a k ich následnej senzibilizácii. Senzibilizácia nervových zakončení v dolných dýchacích cestách zodpovedných za vznik kašľa je dôležitým patogenetickým mechanizmom vzniku kašľa pri rinosinutíde. Tieto nervové zakončenia zabezpečujúce kašeľ sa nachádzajú v laryngu a tracheobronchiálnom strome. Okrem toho tento mechanizmus významne **potencuje šírenie zápalu** z nosovej dutiny do dolných dýchacích ciest a okrem **kašľa** môže ovplyvňovať aj **bronchiálnu reaktivitu**.

V prospech zatekania hlienu a jeho vplyvu na dolné dýchacie cesty svedčia výsledky štúdie realizovanej na modeli sinusitídy u zvierat. V polohe „hore hlavou“ dochádzalo k signifikantnému ovplyvneniu prieduškovej reaktivity, avšak zmena polohy zvierat „hlavou dolu“, ktorá neumožňovala zatekanie hlienu zo sínusov neovplyvnila prieduškovú reaktivitu v experimente na králikoch.

Ďalej existuje štúdia, ktorá sa pokúšala dokumentovať prítomnosť nosového sekretu v dolných dýchacích cestách. Rádiofarmakum bolo podané probandom do prinosových dutín pomocou špeciálneho endoskopického prístupu. Neskôr, v priebehu 24 hodín bola opakovane vyšetrená prítomnosť rádiofarmaka, pričom sa predpokladalo, že bude prítomná v dolných dýchacích cestách. Prítomnosť značeného farmaka bola zistená v tráviacom trakte a pretrvávala aj v prinosových dutinách, pričom nebola prítomná v dolných dýchacích cestách.

Vysvetlenie výsledkov tejto štúdie bolo pomerne mechanistické a tvrdí, že hlien z nosa a sínusov sa do dolných dýchacích ciest nedostáva, ale že je predovšetkým prehltávaný do tráviaceho systému. Táto štúdia neberie do úvahy **obranné mechanizmy dolných dýchacích ciest a dynamiku procesu** – čo ak tento hlien zatiekol, ale bol efektívne z dolných dýchacích ciest eliminovaný? Predpokladaný mechanizmus zvýšenia citlivosti kašľového reflexu u pacientov s post nasal drip syndrómom nie je jednoznačne potvrdený a preto sa stále uvažuje aj o ďalších patomechanizmoch.

## 4.2 Mikroaspirácia nosového sekrétu pri nekompletnej obštrukcii nosovej dutiny

Keď sa študoval účinok rôznych liečiv na kašeľ u pacientov s rinosinusopatiami, ukázalo sa, že dekongestíva a antihistaminiká výrazne redukujú výskyt kašľa u týchto pacientov. Subjekty s uvedenou liečbou uvádzali zníženie produkcie a zatekania sekrétu a zlepšenie dýchania nosom. Nie všetci z opýtaných pacientov s rinitídou popisujú prítomnosť hlienu na zadnej stene hltana, preto sa uvažuje, že hlien sa môže do dolných dýchacích ciest presúvať v zásade aj iným spôsobom a to jeho **mikroaspiráciou**.

Štúdie ďalej ukazujú, že kašeľ súvisí so stavom obštrukcie horných dýchacích ciest. Oba tieto faktory (produkcia sekrétu i obštrukcia nosovej dutiny) sú redukované podaním antihistaminík a dekongestív. Ich účinkom je zníženie produkcie sekrétu a obnovenie priechodnosti nosovej dutiny.

Je potrebné si uvedomiť, že už za fyziologických podmienok je prúdenie vzduchu v zadnej časti nosovej dutiny **turbulentné**, čo je výhodné pre efektívne zohrievanie, saturáciu a filtráciu vdychovaného vzduchu. Pri ochoreniach, ktoré sú spojené so vznikom obštrukcie takého stupňa, ktorý ešte umožňuje prúdenie vzduchu, dochádza k **zvýšeniu prietokového odporu nosovej dutiny**, rýchlosti prúdenia vzduchu a tým priamoúmerne i zvýšeniu turbulencií. Ak je na sliznici prítomné i zvýšené množstvo exsudátu, dávajú uvedené podmienky možnosť vzniku **hrubo disperzného aerosólu**, ktorý môže byť vdýchnutý do dolných dýchacích ciest a tak ovplyvniť nervové zakončenia zodpovedné za vznik a moduláciu kašľa, prípadne ovplyvniť bronchiálnu reaktivitu u subjektov s astmou.

Tento mechanizmus sme študovali aj na našom pracovisku u zvierat aj dobrovoľníkov. Môžeme potvrdiť že, **intenzívne nadychovanie nosom v prípade rinitídy, keď sme modelovali možnosť mikroaspirácie nosového sekrétu, napomáha jednak šíreniu zápalu do dolných dýchacích ciest, moduluje neurofyziologické vlastnosti nervových zakončení relevantných pre vznik kašľa s posunom kašľového prahu smerom k nižším hodnotám a ovplyvňuje aj bronchiálnu reaktivitu**.

Podobný mechanizmus – **mikroaspirácia** - sa môže uplatňovať aj pri kašli, ktorý je asociovaný s gastroezofágovým refluxom. V súčasnosti sa upúšťa od teórie makroaspirácie žalúdočného obsahu do dýchacích ciest, avšak dôkaz prítomnosti pepsínu v lavážnej tekutine len potvrdzuje, že žalúdočný obsah sa do dýchacích ciest dostáva či už pri distálnom alebo proximálnom refluxe vo forme **hrubodisperzného aerosólu**.

#### 4.3 Kompletná obštrukcia nosovej dutiny – neadekvátne úprava vdychovaného vzduchu

Obštrukcia nosovej dutiny má dva aspekty a to subjektívny a objektívny. Subjektívne sa prejavuje ako pocit nedostatočného prúdenia vzduchu nosom, prípadne zvýšeného úsilia, ktoré je potrebné na dýchanie cez nos. Tento pocit – jeho subjektívna interpretácia nemusí vždy korelovať s objektívne zisteným prietokom nosovou dutinou nameraným rinomanometricky.

Opuch sliznice, kongescia cievnych štruktúr a nadprodukcia hlienu vedú veľmi rýchlo k obštrukcii a limitovaniu prietoku vzduchu nosovými prieduchmi pri zápalových ochoreniach. Ak dochádza k obštrukcii nosovej dutiny, zvyšuje sa jej prietokový odpor a je potrebné vynakladať vyššie úsilie (prácu dýchacích svalov) na jeho prekonanie. Preto dochádza pri zvýšení prietokového odporu nosových prieduchov k orálnemu nadychovaniu – dýchaniu otvorenými ústami, ktoré často vidíme u detí s hypertrofickými adenoidnými vegetáciami. Tým dochádza k vyradeniu nosovej dutiny z procesu úpravy vdychovaného vzduchu. Dokáže nádych cez ústa zohriať, saturovať a filtrovať vdychovaný vzduch tak, ako je to pri prechode cez nos? Tak, ako bolo vysvetlené v kapitole o funkciách nosa, úprava vdychovaného vzduchu pri dýchaní ústami nie je dostatočná, **mechanizmy zvlhčovania a zohrievania vzduchu v ústach sú značne limitované** a to predovšetkým pri dlhodobom dýchaní cez ústa.

Mechanizmom, ktorý ovplyvňuje v tomto prípade dolné dýchacie cesty, je **neadekvátne úprava vdychovaného vzduchu v zmysle jeho ohrievania, zvlhčovania a filtrácie**. Z literárnych zdrojov je známy efekt inhalácie studeného suchého a nedostatočne filtrovaného vzduchu na dolné dýchacie cesty. Poškodenie sliznice dýchacích ciest uvedenými noxami vedie k zoslabeniu bariérovej funkcie epitelu, zvýšenej expozícii nervových zakončení chladu a hypertonicite povrchovej tekutiny a pri dlhotrvajúcej expozícii chladu aj k štrukturálnym zmenám v dolných dýchacích cestách.

Pri nedostatočnej filtrácii vdychovaného vzduchu dochádza aj k zvýšeniu depozície alergénov, ale i iných korpuskulárnych znečistenín z ovzdušia, ktoré sú za normálnych okolností v závislosti od veľkosti častíc pri prechode cez nosové prieduchy. Zachytené alergény aktivujú **imunopatologické procesy – iniciujú alergický zápal v dolných dýchacích cestách**. Bežne sa vyskytujúce nečistoty v ovzduší môžu iniciovať tzv. **neurogénny zápal, ktorý začína prostredníctvom axónových reflexov a môže v tkanive pretrvávajúť dlhodobo činnosťou neuropeptidov a tachykinínov, ktoré vznikom bludných kruhov vedú k pretrvávaniu zápalovej aktivity v tkanive**.

#### 4.3.1 Dôsledky vdychovania studeného a suchého vzduchu

Expozícia studenému vzduchu vyvoláva rôzne reakcie reflexnej aj nereflexnej povahy, pričom ich hlavným cieľom je pôsobiť protektívne vo vzťahu k dýchaciemu systému a minimalizovať teplotné rozdiely medzi vzduchom a sliznicou.

Reakcie dýchacieho systému na chlad závisia od viacerých faktorov:

- od teploty vzduchu, ktorý jedinec vdychuje,
- od spôsobu nádychu (nazálne versus orálne),
- od fyzickej aktivity, ak je sprevádzaná hyperventiláciou, ktorá vplyv chladu v dýchacích cestách ešte zhoršuje,
- od dĺžky expozície (jednorazová versus opakovaná expozícia chladnému vzduchu).

V horných dýchacích cestách expozícia studenému vzduchu vedie k naplneniu venózných sínusov a kongescii sliznice nosovej dutiny, zvýšeniu sekrécie z nosa v snahe kompenzovať stratu tekutiny z povrchu sliznice, ktorá bola použitá na saturovanie a zohrievanie vdychovaného vzduchu. Tieto reakcie sú výraznejšie u pacientov trpiacich alergickou ako aj nealergickou rinitídou v porovnaní so zdravými jedincami bez trigeminálnej hypersenzitivity/hyperreaktivity.

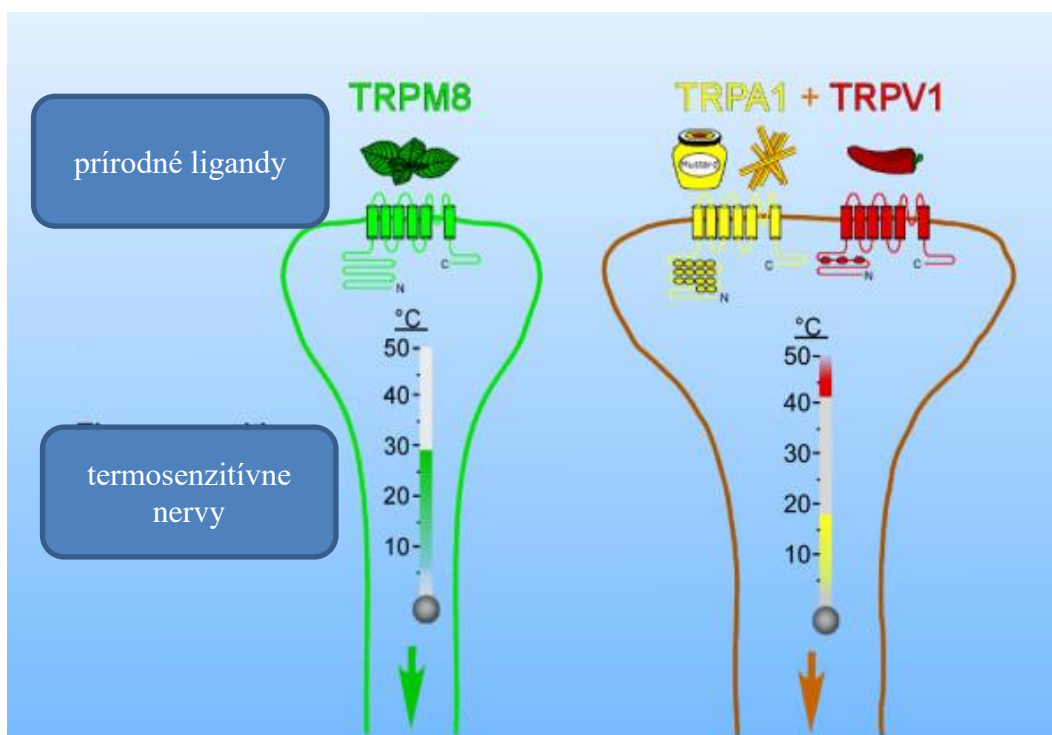
Vdychovanie studeného vzduchu bez jeho predchádzajúcej úpravy môže spôsobiť silné autonómne odpovede v oblasti dolných dýchacích ciest a pľúc, vrátane **kašľa, zúženia priedušiek, hypersekrécie hlienu a pocitu dýchavice**. Tieto prejavy sa nemusia vyskytovať u všetkých jedincov, ale predovšetkým u osôb s **bronchiálnou hyperreaktivitou**. Napríklad u pacientov s prieduškovou astmou alebo CHOCHP sú reakcie na „chlad“ často faktorom, ktorý vedie k exacerbácii týchto chronických respiračných ochorení.

Z klinickej praxe sú známe patologické procesy v dýchacích cestách, kde chlad je tzv. triggerom – spúšťačom patologického procesu – **napríklad chladom indukovaná nádcha, či chladom indukovaná astma**. Kým chladom vyvolaná astma sa dáva do súvislosti so súčasnou hyperventiláciou v dôsledku fyzickej námahy (izokapnickou hyperventiláciou), pri rinosinusopatii indukovanej chladom je tento jediným etiologickým faktorom.

Len pomerne nedávno bola identifikovaná skupina iónových kanálov, ktoré patria do skupiny termoreceptorov a sú zodpovedné za pociťovanie tepla, prípadne chladu. Ide o kanály zo superrodiny TRP (Transient Receptor Potential) kanálov (*Obr. č. 18*), ktoré sú bohato

exprimované na nervových zakončeníach, či už trojklanného nervu, ale aj blúdivého nervu. Tieto kanály – termosenzory reagujú na rôzne teplotné intervaly, pričom kanály reagujúce na príliš nízku alebo príliš vysokú teplotu sú súčasne aj **nociceptormi**, pretože extrémne odchýlky teploty figurujú vo vzťahu k organizmu ako **potenciálne nebezpečné a vedú k aktivácii nociceptorov**.

Ako príklad je možné uviesť kanál TRPM8 – melastínový kanál TRP superrodiny. Tento kanál je exprimovaný na aferentných nervoch v dýchacom systéme a je aktivovaný teplotami v intervale 24-28°C a jeho aktivácia vedie k vzniku pocitu príjemného chladenia. Ďalej kanál TRPA1, ktorý reaguje na nízke teploty a TRPV1, ktorý reaguje na teploty príliš vysoké – približne 40°C.



**Obrázok 19:** Prehľad transemembránových iónových kanálov rodiny TRP a ich prírodných ligandov.

Tieto kanály sú okrem teploty aktivované aj prírodnými ligandmi. Napríklad TRPM8 kanál je aktivovaný mentolom, eukalyptolom a látkami podobnej chemickej štruktúry, ktorých aplikácia na kožu a sliznice vyvoláva pocit príjemného chladenia. Na druhej strane, ligandom termoreceptora TRPV1 je kapsaicín – pálivý extrakt z papriky, ktorý navodzuje pocit pálenia, keď sa aplikuje na kožu alebo sliznice respiračného systému.

Prekrývanie teplotných intervalov jednotlivých termosenzitívnych kanálov, ako aj ich variabilná expresia a koexpresia sú zodpovedné za komplexný vnem teploty.

Okrem aktivácie termosenzitívnych kanálov v dýchacích cestách chlad účinkuje aj prostredníctvom iných mechanizmov. Fenomén ochladzovania kože je zosilnený nielen nízkou teplotou okolitého vzduchu, ale aj jeho **prúdením**. V dýchacích cestách je analógiou tohto fenoménu hyperpnoe – zrýchlené prúdenie vzduchu, kedy **ochladzovanie a vysušovanie sliznice je potenciované súčasným zvyšovaním prietoku vzduchu**. Sliznica dýchacích ciest je pokrytá tenkou vrstvou tekutiny a zvýšenie ventilácie spôsobuje evaporáciu tejto tekutiny rýchlejšie, než je čas potrebný na jej doplnenie. To vedie k **vysušeniu a hypertonicite povrchových vrstiev sliznice**.

Jednou z reakcií, ktorej vznik sa dáva do súvislosti s pôsobením chladu a súčasným **rozvojom hypertonicity v dýchacích cestách, je bronchokonstrikcia**. Chladom indukovaná astma je charakteristická pre športovcov, ktorí sa venujú tzv. **zimným športom** a pri vykonávaní fyzickej aktivity spojenej s hyperventiláciou sú súčasne exponovaní aj studenému vzduchu, bez jeho adekvátnej úpravy, ako aj športovcov v tzv. vytrvalostných disciplínach. **Spúšťačov bronchokonstrikcie** pri expozícii chladu môže byť niekoľko. V prípade, že pôsobeniu chladu sú exponované časti tváre nezakryté odevom alebo sliznica nosovej dutiny, môže k zúženiu priedušiek dochádzať na základe reflexných interakcií – **tzv. trigemino-vágových reflexov**. Existencia nasobronchiálneho reflexu – ako sa tento reflexný dej zvykne nazývať, bola opakovane potvrdená v experimentálnych i klinických štúdiách.

Spúšťač bronchokonstrikcie sa môže nachádzať aj priamo v dolných dýchacích cestách. Experimenty ukázali, že u zvierat dýchajúcich cez tracheostómiu studený suchý vzduch došlo do 10 sekúnd k vzostupu rezistencie dýchacích ciest. Mechanizmus vzniku bronchokonstrikcie vyvolanej chladom je dlho diskutovanou témou. Štúdie sledujúce priamy efekt chladu na bunky hladkého svalu priedušiek poskytli kontroverzné výsledky bez definovania jednoznačného efektu vplyvu chladu na hladký sval.

Najviac pertraktovanou hypotézou vysvetľujúcou vznik bronchokonstrikcie po expozícii chladu, je vznik **hyperosmolarity povrchovej tekutiny** pokrývajúcej sliznicu, ktorá indukuje **tvorbu a uvoľnenie mediátorov (hlavne histamínu)** z rôznych typov buniek prítomných v sliznici dýchacích ciest a ich následného účinku na hladký sval dýchacích ciest.

Ďalším mechanizmom, ktorý môže ovplyvniť odpor malých dýchacích ciest, je **opuch ich steny**. Ochladenie sliznice priedušiek môže viesť ku vzniku vazokonstrikcie v sliznici, ktoré je nasledované **reaktívnou hyperémiou a edémom steny priedušiek**, čo môže viesť k limitovaniu prietoku vzduchu v periférnych dýchacích cestách.

Ako bolo v experimentálnych prácach opakovane ukázané, pôsobenie chladu na sliznicu dýchacieho systému vedie k zvýšeniu koncentrácie niektorých mediátorov – konkrétne

histamínu, kinínov a PGD<sub>2</sub>, pričom uvoľnenie týchto látok pravdepodobne súvisí s aktiváciou mastocytov (neuro-imunitné prepojenie).

V sliznici respiračného systému boli identifikované neuro-imunitné vzťahy, ktoré sú charakterizované zvýšenou aktiváciou a náborom zápalových buniek a zvýšením expresie prozápalových cytokínov v dôsledku stimulácie zakončení aferentných nervov v sliznici, prevažne charakteru nociceptorov. Mobilizáciu a akumuláciu zápalových buniek v respiračnom systéme potvrdzujú viaceré práce, avšak v uvedených prípadoch išlo o opakovanú expozíciu chladu.

Pri dlhodobej alebo opakovanej expozícii chladu dochádza okrem funkčných zmien aj k štrukturálnym zmenám v dolných dýchacích cestách a to k postupnej deskvamácii epitelu, ako to ukázali dáta získané z analýzy nazálneho sekrétu a bronchoalveolárnej lavážnej tekutiny po expozícii chladu. Ochladzovanie a vysušovanie periférnych dýchacích ciest vedie k strate riasinkového epitelu, zhrubnutiu lamina propria so zvýšením prítomnosti zápalových buniek.

#### 4.3.2 Nedostatočná filtrácia nečistôt v horných dýchacích cestách

Prechod prúdu vzduchu nosovými prieduchmi vedie k jeho filtrácii a zachyteniu významného množstva vzdušných nečistôt na sliznici horných dýchacích ciest, odkiaľ sú ďalej eliminované pomocou mukociliárneho transportu, aj reflexných obranných mechanizmov. V prípade, že je nosová dutina nepriechodná, dochádza k tomu, že **inspiračný prúd vzduchu prechádza ústnou dutinou**, kde nie je dostatočne zbavený vzdušných nečistôt a tieto sa dostávajú do dolných dýchacích ciest.

Znečistenie ovzdušia je pritom významným faktorom, ktorý prispieva k zvyšovaniu chorobnosti dýchacích ciest a pľúc.

Znečistenie ovzdušia, ktoré bolo v minulosti spôsobené **hlavne vplyvom vykurovania domácností**, je dnes nahradené inými zdrojmi, akými sú narastajúce **množstvo automobilov, doprava a priemysel**. Ide hlavne o oxidy dusíka, ozón, oxidy síry, prchavé organické chemické látky a respirabilné častice s priemerom menším ako 10 µm, nazývané aj korpuskulárne znečisteniny.

Podľa Svetovej zdravotníckej organizácie je znečistenie ovzdušia hlavným environmentálnym rizikovým faktorom, ktorý prispieva k zhoršeniu zdravotného stavu obyvateľstva. Až 1,3 miliónov úmrtí ročne je spôsobených znečistením ovzdušia v mestských aglomeráciách. Znečistenie ovzdušia v obytných priestoroch a budovách, tzv. indoor air



pollution je príčinou takmer 2 miliónov predčasných úmrtí predovšetkým v rozvojových krajinách.

Asi polovica týchto úmrtí je u detí do piatich rokov veku, kde príčinou úmrtia je najčastejšie pneumónia. Znížením koncentrácie nečistôt v ovzduší dokážeme redukovať počet ochorení respiračného systému vrátane rakoviny pľúc a kardiovaskulárnych chorôb.

Znečisteným ovzduším sú ohrozované najmä deti a staršie osoby, ďalej ľudia trpiaci chronickými ochoreniami dýchacích ciest ako astma, CHOCHP a ochoreniami srdca. Rozsah klinických prejavov je závislý od trvania expozície a od koncentrácie daných chemických látok v ovzduší.

Znečisteniny ovzdušia vznikajú buď činnosťou človeka (priemysel, vykurovanie, doprava), alebo vznikajú v dôsledku prírodných dejov (požiare, erupcie sopiek). Dôležité je aj podotknúť, že znečisteniny v ovzduší môžu byť ďalej modifikované napríklad vlhkosťou vzduchu, alebo ultrafialovým žiarením, pričom často z nich vznikajú ešte nebezpečnejšie molekuly, ako boli primárne znečisteniny.

Prehľad najčastejších znečisťujúcich látok sa nachádza v tabuľke. č. 4.

**Tabuľka 4:** Znečisťujúce látky

Plynné a kvapalné	Zlúčeniny síry	<u>Anorganické</u> : SO <sub>x</sub> , SO <sub>2</sub> , H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , H <sub>2</sub> S, CS <sub>2</sub> a iné
		<u>Organické</u> : merkaptán, dimetylsulfid a iné
	Zlúčeniny dusíka	<u>Anorganické</u> : NO <sub>x</sub> , NO, NO <sub>2</sub> , HNO <sub>3</sub> , NH <sub>3</sub> , HCN a iné
		<u>Organické</u> : amíny, peroxidusičnany, dusitany, peroxyacetylnitrát, dietylformamid a iné
	Halogénové zlúčeniny	<u>Anorganické</u> : F <sub>2</sub> , Cl <sub>2</sub> , Br <sub>2</sub> , HF, SiF <sub>4</sub> a iné
		<u>Organické</u> : chlórované uhl'ovodíky, trifluórmétán a iné
	Zlúčeniny uhlíka	<u>Anorganické</u> : CO, CO <sub>2</sub>
		<u>Organické</u> : uhl'ovodíky, alkoholy, fenoly, étery, estery, aldehydy, ketóny, organické kyseliny, benzén a jeho deriváty a iné
Tuhé	Zlúčeniny kovov	Obsahujú škodlivé látky vo významnejšom podiele (napr. As <sub>2</sub> O <sub>3</sub> , H <sub>3</sub> As, zlúčeniny Pb)

	Neživé	Neobsahujú škodlivé látky vo významnejšom podiele Obsahujú vyše 20% voľného SiO <sub>2</sub> a vyše 50% sadzí Obsahujú vo významnejšom množstve škodlivé látky (Pb, As, F <sub>2</sub> a jeho zlúčeniny, Mn, Hg, Be, Ge, CN <sup>-</sup> a iné toxické látky, rádionuklidy) Azbestové vlákna a azbestový prach
	Živé	Peľ rastlín a stromov, vírusy, baktérie, riasy, sinice, prvoky, trusy húb a plesní, kvasinky, hmyz, časti tel živočíchov a hmyzu, atď.)

Účinky vdychovania znečisteného vzduchu na zdravie sú **krátkodobé** alebo naopak **dlhodobé**. Najčastejšie krátkodobé účinky zahŕňajú **iritáciu očí, nosa, hrdla a infekcie dýchacieho systému, ako sú bronchitídy a pneumónie**. Popisované sú aj **bolesti hlavy, nauzea a alergické reakcie**. Zároveň dochádza k zhoršeniu zdravotného stavu u osôb s chronickými ochoreniami dýchacích ciest.

Z dlhodobého hľadiska znečistenie ovzdušia môže viesť ku chronickým ochoreniam - **CHOCHP, nádorom v dýchacích cestách, k ochoreniam srdca, popísané je aj poškodenie obličiek, mozgu, nervov a pečene**.

Okrem znečistenia ovzdušia vo vonkajšom prostredí je závažným fenoménom aj znečistenie ovzdušia v **obytných priestoroch a budovách**. V posledných desaťročiach sa značná pozornosť odbornej verejnosti aj nadnárodných a celosvetových inštitúcií venuje problematike znečistenia ovzdušia v obytných priestoroch a budovách a jeho vplyvu na zdravotný stav obyvateľstva. Svetová zdravotnícka organizácia vypracovala program pre hodnotenie vplyvu na zdravie obyvateľstva a možnosti boja proti „indoor“ znečisteninám. Predovšetkým v rozvojových krajinách sa ukazuje, že „indoor“ znečistenie predstavuje jeden z hlavných environmentálnych vplyvov na zdravie predovšetkým žien a detí. „Indoor“ znečistením rozumieme prítomnosť chemických, fyzikálnych a biologických znečistenín vo vnútri obytných priestorov a budov. Ide o látky pochádzajúce predovšetkým **z cigaretového dymu, čistiacich prostriedkov, zo stavebných materiálov, náterov, farieb, pesticídov a zlúčeniny, ktoré vznikajú pri spaľovaní biomás a uhlia používaných na varenie**

**a vykurovanie v domácnostiach. Je to však aj problém moderných domácností pri varení na zemnom plyne bez spustenia digestora.**

Z chemického hľadiska sú znečisteniny heterogénnou skupinou chemických zlúčenín: oxidy uhlíka, oxidy dusíka, oxidy síry, formaldehyd, benzén a benzopyrény, z ktorých mnohé sú dokázané karcinogény. Únava, bolesti hlavy, poruchy koncentrácie a iné zdravotné ťažkosti, ktoré sú spôsobené pobytom v „kontaminovaných“ priestoroch, boli nazvané ako „sick building syndrome“.

„Indoor“ znečistenie patrí k rizikovým faktorom pre rozvoj chronickej bronchitídy, chronickej obštrukčnej bronchopulmonálnej choroby (CHOCHP) a vzniku rakoviny pľúc (najmä produkty spaľovania pevných palív v domácnostiach). Predpokladá sa, že predovšetkým v rozvojových krajinách prispieva k vyššiemu výskytu aj ďalších ochorení – astmy, zápalov stredného ucha, infekcií horných dýchacích ciest, tuberkulózy, rakoviny laryngu a nazofaryngu, kardiovaskulárnych ochorení, katarakty a slepoty, ako aj nízkej pôrodnej hmotnosti a vyššej perinatálnej mortality.

#### 4.3.3 Charakteristika najčastejších vzdušných znečistenín

##### *Zlúčeniny uhlíka*

Uhlík sa v atmosfére vyskytuje najmä vo forme oxidu uhličitého ( $\text{CO}_2$ ), oxidu uhoľnatého ( $\text{CO}$ ) a vo forme organických zlúčenín - uhl'ovodíkov. Prevažná časť zlúčenín uhlíka sa do ovzdušia dostáva z prírodných zdrojov. V znečistenom ovzduší bolo identifikovaných niekoľko skupín uhl'ovodíkov – alkány, alkény, alkíny, aldehydy, ketóny, alkoholy aj aromatické uhl'ovodíky - toluén, benzén, xylén.

Veľká pozornosť z hľadiska znečistenia ovzdušia sa venuje halogénovým derivátom uhl'ovodíkov - chlórované deriváty metánu a etylénu. Fluorované uhl'ovodíky, najmä fluórchlórmetán a freón sú málo reaktívne a nie sú známe biologické procesy, ktoré by ich eliminovali z atmosféry. Postupne difundujú do stratosféry, kde fotodisociačnými reakciami redukujú ozónovú vrstvu. Pri produkcii uhl'ovodíkov do ovzdušia dochádza v atmosfére k ich reakciám s ďalšími chemikáliami alebo k fotooxidácii, výsledkom čoho je vznik fotooxidačného smogu.

##### *Zlúčeniny síry*

Ďalšími emisiami podieľajúcimi sa na znečisťovaní atmosféry sú zlúčeniny síry a to najmä oxid siričitý ( $\text{SO}_2$ ), oxid sírový ( $\text{SO}_3$ ), kyselina sírová ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ), sulfán ( $\text{H}_2\text{S}$ ), sírouhlík

(CS<sub>2</sub>) a organické zlúčeniny síry. Pochádzajú najmä zo spaľovania fosílnych palív a priemyselnej činnosti.

Oxid siričitý v ovzduší oxiduje na kyselinu siričitú a sírovú a už pri bežne sa vyskytujúcich koncentráciách pôsobí veľmi dráždivo na sliznicu dýchacích ciest. Ešte dráždivejšie účinky má hmla kyseliny sírovej a siričitej, ktorá priamo potencuje vznik spazmov v dýchacích cestách. Ak sa zlúčeniny síry vyskytnú v ovzduší vo veľmi vysokých koncentráciách, bývajú príčinou prudkých otráv, poškodzujú dýchací systém a spôsobujú pľúcny edém. Znečistenie ovzdušia s masívnou prevahou zlúčenín síry sa nazýva aj **londýnsky typ znečistenia**, pretože tento typ znečistenia sa vyskytoval vo zvýšenej miere v Británii – v Londýne, pri vykurovaní domácností uhlím.

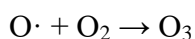
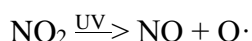
### ***Zlúčeniny dusíka***

Najdôležitejšie emisie dusíka v atmosfére sú oxidy - oxid dusný (N<sub>2</sub>O), oxid dusnatý (NO), oxid dusičitý (NO<sub>2</sub>), amoniak (NH<sub>3</sub>), amónny kation (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>), dusičný anión (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>), organické zlúčeniny dusíka a tiež kyselina kyanovodíková (HCN) a kyanometán (CH<sub>3</sub>CN).

Prevažným zdrojom dusíkatých emisií sú prírodné procesy, kde dusík a jeho zlúčeniny vznikajú ako odpadový produkt biologických aktivít. Z antropogénnych zdrojov sú to najmä spaľovacie procesy z energetiky, komunálnych zdrojov a dopravy. Oxidy dusíka sú typickou súčasťou ovzdušia veľkých mestských aglomerácií a sú prekursorom vzniku fotochemického smogu. Toxické účinky na organizmus človeka má hlavne peroxiacetylitrát (PAN), ktorý je jeho súčasťou.

### ***Fotochemický smog***

Fotochemický smog (tiež nazývaný losangeleský smog, oxidačný smog) vzniká vo veľkých mestských aglomeráciách najmä vplyvom dopravy, slnečného žiarenia a ich reakcií s oxidmi dusíka. Jeho súčasťou sú aj vysoké koncentrácie prízemného ozónu, ktorý pôsobí ako silné oxidačné činidlo, ďalej zmes uhlíkovodíkov a už spomínaných oxidov dusíka a uhlíka. Z chemického hľadiska ide o rozpad NO<sub>2</sub> pomocou ultrafialového slnečného žiarenia na NO a kyslíkové radikály, z ktorých v ďalších reakciách vzniká ozón (O<sub>3</sub>).



Ozón patrí k najzávažnejším problémom znečistenia ovzdušia v Európe. Nebezpečné sú jeho dráždivé účinky najmä na sliznice dýchacích ciest a očí. Ovplyvňuje však aj imunitné mechanizmy. Okrem ozónu sa na negatívnych účinkoch fotochemického smogu podieľajú aj prachové častice nachádzajúce sa v atmosfére, CO a organické zlúčeniny dusíka. Ako hlavný indikátor smogovej situácie sa používa peroxyacetylnitrát (PAN). Práve PAN patrí medzi najtoxickejšie zlúčeniny fotochemického smogu. Vyznačuje sa výraznou cytotoxicitou a dráždivým efektom na dýchacie cesty a oči. Chemicky je to síce nestála zlúčenina, ktorá sa pôsobením tepla rozkladá, ale jej rozpad nie je dostatočne rýchly, preto je detekovateľný aj v „čistých“ oblastiach, ktoré sú značne vzdialené od veľkých mestských aglomerácií.

### *Cigaretový dym*

Cigaretový dym je jedným z najčastejších zdrojov znečistenia ovzdušia v obytných priestoroch. Spotreba tabakových výrobkov celosvetovo stúpa, aj keď vyspelé krajiny čoraz častejšie prijímajú legislatívne opatrenia na ochranu zdravia nefajčiarov a zníženia spotreby tabaku. Je produktom spaľovania tabaku, cigaretového papiera a množstva prísad, ktoré slúžia na zlepšenie vône, rovnomerného horenia cigarety a zabránenie samozhášania. Cigaretový dym je koncentrovaný aerosól, kde 8% tvorí hmotná fáza (pevné a kvapalné častice) a zvyšných 92% tvorí plynná fáza. Chemicky je to komplex viac než 4000 látok a to cytotoxických, antigénnych, mutagénnych, karcinogénnych, kokarcinogénnych a dráždivých.

Medzi najškodlivejšie zložky patrí nikotín, u ktorého je dokázaný škodlivý vplyv na kardiovaskulárny systém (poškodenie endotelu, vznik aterosklerózy, spazmy ciev, poruchy rytmu) a je zodpovedný tiež za vznik závislosti na fajčení. Bola dokázaná súvislosť medzi koncentráciou CO prítomného v cigaretovom dyme s kardiovaskulárnymi ochoreniami. Veľmi nebezpečné sú dechty, ktoré obsahujú viac než 60 chemických zlúčenín s potvrdenými karcinogénnymi účinkami.

#### 4.3.4 Syndróm reaktívnej dysfunkcie dýchacích ciest a iritantmi vyvolaná astma

RADS a IIA (reactive airway dysfunction syndrome a irritant induced asthma) boli po prvýkrát opísané Brooksom a kol. v roku 1985. V oboch prípadoch ide o ochorenia podobné astme alebo forme **astmy neimunologického charakteru**, ktoré vznikajú po expozícii iritačným substanciami. Najčastejšie znečisteniny zodpovedné za vznik syndrómu reaktívnej dysfunkcie a iritantmi indukovanej astmy sú chlór, plyny rozpustné vo vode s následným poklesom pH, ako sú oxidy síry a dusíka, NH<sub>3</sub>, rôzne chemikálie ako formaldehyd,

paraformaldehyd, izokyanáty, organické prchavé látky (rozpúšťadlá), dezinfekčné, čistiace prostriedky a iné.

Na základe zhodnotenia dostupných literárnych údajov a kazuistík bolo zistené, že najčastejšími agensmi, ktoré viedli ku vzniku RADS boli chlór, toluén diizokyanát a oxidy dusíka. K expozícii iritantom došlo prevažne na pracovisku a v 60% boli postihnutí muži. Najčastejšími príznakmi RADS boli dýchavica (71%) a kašeľ (65%), medián trvania symptómov bol 13 mesiacov (6,5-43,5 mesiaca).

RADS je definovaný ako vznik symptómov podobných astme - **kašeľ, pískanie na hrudníku, pocit tlaku na hrudníku a dýchavica, ktoré vzniknú do 24 hodín od expozície iritantom u pacientov bez predchádzajúcej anamnézy respiračných ochorení**. Pri pľúcnom funkčnom vyšetrení je dokázaná obštrukcia v dýchacích cestách. U týchto pacientov býva pozitívny metacholínový bronchoprovokačný test pri súčasnom vylúčení iného závažného pľúcneho ochorenia. Definícia IIA, teda astmy indukovanej iritantmi je podobná ako u RADS s tým rozdielom, že prvé symptómy tohto ochorenia sa objavujú až po opakovaných expozíciách iritantom, zvyčajne až v priebehu niekoľkých dní, týždňov, prípadne mesiacov.

#### 4.3.5 Pôsobenie vzdušných znečistenín – úloha neurogénneho zápalu

Dýchacie cesty sú aferentne inervované vláknami trojklanného a vagového nervu a niektoré z ich aferentných zakončení majú charakter **chemosenzorov** – detegujú prítomnosť chemických látok v ich bezprostrednom okolí.

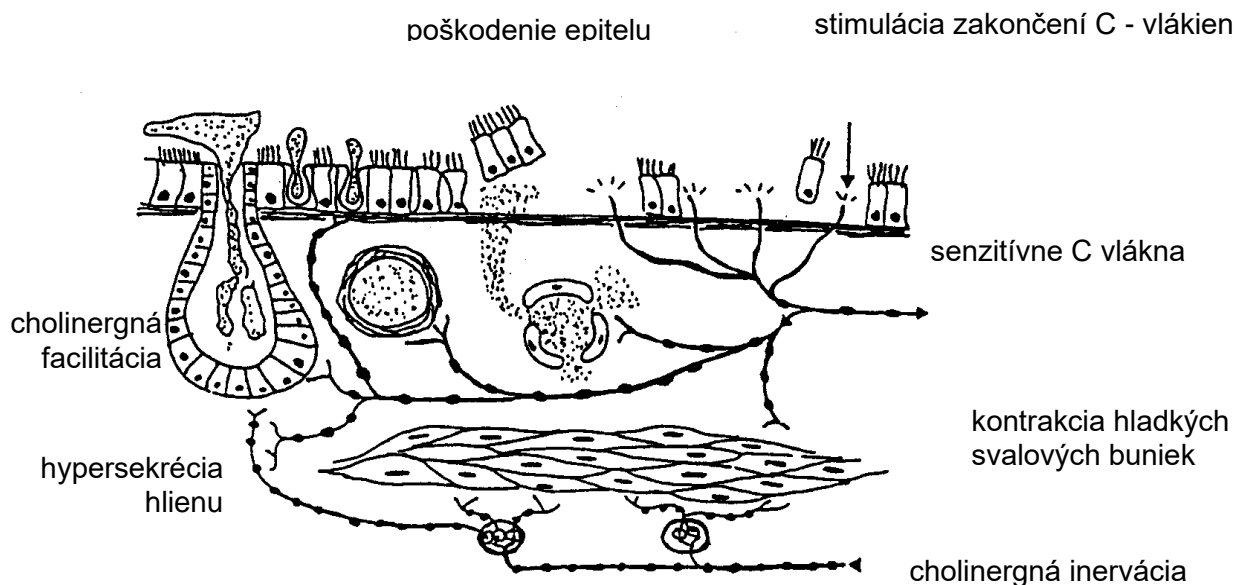
Okrem tejto skupiny nervových zakončení sa v dýchacích cestách nachádzajú aj vlákna, ktoré je možné charakterizovať ako **polymodálne nociceptory** (PMNs). Tieto nemyelinizované vlákna sú zodpovedné za generovanie signálov interpretovaných ako **iritácia/podráždenie a/alebo bolesť** v prípade potenciálneho poškodenia tkaniva **termickými, mechanickými a chemickými podnetmi**. Ich aktivácia vedie k iniciovaniu obranných a ochranných reflexov dýchacieho systému. Najčastejším typom nociceptorov sú tie, ktoré sú aktivované kapsaicínom prostredníctvom jeho receptora – transmembránového viacdoménového kationového kanála TRPV1.

V prípade nedostatočnej filtrácie znečistenín v horných dýchacích cestách sa tieto dostávajú do dolných dýchacích ciest, ktorých inerváciu zabezpečujú vagové neuróny lokalizované v nodózných a jugulárnych gangliách. Stimulácia **aferentných nodózných a jugulárnych vlákien typu C** znečisteninami, chemickými látkami, chladom, hypertonicitou, zmenou pH a podobne vedie k vzniku generátorového potenciálu a neskôr akčného potenciálu,

ktorý sa šíri centrálnym smerom. Súčasne ale dochádza k retrográdnemu šíreniu vzruchov po iných vetvách príslušných vlákien, pričom toto retrográdne šírenie (nazývané aj axónový reflex) (*Obr. č. 19*) vedie k uvoľneniu neuromediátorov nazývaných **neurokiníny**. Najznámejšími neurokinínmi sú substancia P (SP), neurokinín A, neurokinín B, CGRP (calcitonin gene related peptid), VIP (vazoaktívny intestinálny peptid) a mnohé ďalšie. Dôležité je uviesť, že tieto látky majú **silný proinflamačný potenciál** a vedú k **dilatácii ciev** a **zvýšeniu permeability cievnej steny v okolí podráždenia**, ďalej **zvyšujú aktivitu žliazok** a zasahujú ako **prohyperreaktívne faktory do regulácie bronchiálnych hladkých svalov**.

Neurokiníny majú účinky aj na imunitné bunky, pričom aktivujú imunitné bunky asociované sliznici dýchacích ciest, ktoré ďalej produkujú cytokíny a iné signálne molekuly relevantné pre zápalovú odpoveď. Niektoré z týchto látok – **neurotrofiny** - majú účinok na nervové tkanivo a pri dlhodobom zvýšení ich hladín v tkanive môže dochádzať k nadmernému rastu a vetveniu už existujúcich nervov, čím sa zvyšuje denzita nervových zakončení v tkanive, ďalej dochádza k zmene ich neurofyziológických vlastností, čo sa prejaví napríklad zvýšenou reaktivitou nervov na podnety, ktoré boli predtým podprahové.

Pri opakovanom dráždení aferentných nervov napríklad aj znečisteninami ovzdušia dochádza k vzniku tzv. **neurogénneho zápalu v tkanive** (iniciovaného nervami), ktorý má tendenciu pretrvávať, môže viesť k vzniku **hyperreaktivity dýchacích ciest, zmene ich funkcie, ako aj zmene ich štruktúry procesom remodelácie**. Neurogénny zápal je súčasťou patogenézy takých ochorení ako astma, alergická rinitída, CHOCHP, ale aj iných syndrémov (syndróm dráždivého kašľa), ktoré sú charakterizované vznikom hypersenzitivity a hyperreaktivity dýchacích ciest.



**Obrázok 20:** Neurogénny zápal. Neurogénny zápal sa aktivuje prostredníctvom podráždenia aferentných nervových zakončení v sliznici dýchacích ciest a tie následne uvoľňujú neuropeptidy – tachykiníny, ktoré majú proinflamačný potenciál a navodzujú hypersekréciu hlienu, vazodilatáciu, bronchiálnu hyperreaktivitu (bronchokonstrikciu) a aktiváciu imunokompetentných buniek.

#### 4.3.6 Molekulárne mechanizmy účinku vzdušných znečistenín

Znečistenie ovzdušia zahŕňa heterogénnu skupinu látok, pričom všetky majú podobný efekt na dýchacie cesty. A to je **pocit iritácie, podráždenia, kašeľ, hypersekrécia a u vnímavějších jedincov môže viesť k vzniku dýchavice, či pocitu tlaku na hrudníku.** Nedávno bol pomocou farmakologických experimentov identifikovaný receptor – iónový kanál, ktorý je relevantný pre väčšinu vzdušných znečistenín.

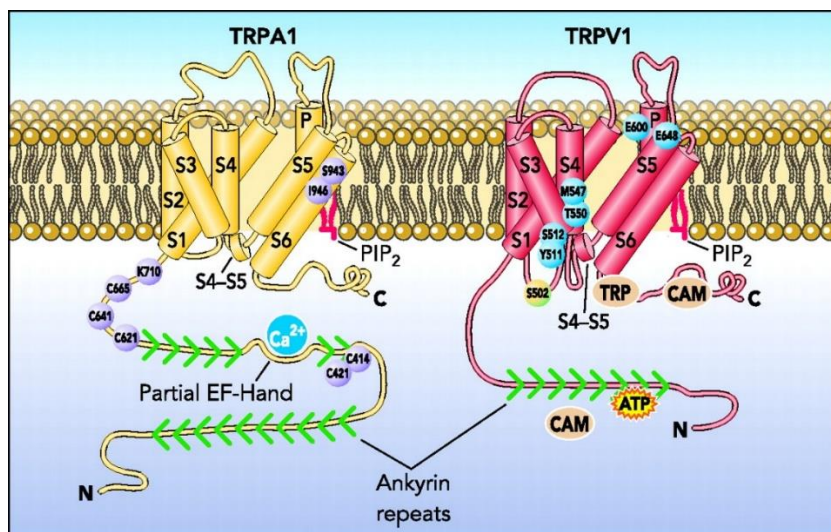
Tento iónový kanál patrí do rodiny TRP kationových kanálov, člen A1 (TRPA1). TRPA1 je podobne ako TRPV1 exprimovaný na aferentných senzitivných neurónoch, vrátane neurónov inervujúcich dýchacie cesty. To znamená, že aktivácia TRPA1 má podobné účinky ako stimulácia TRPV1 receptorov. Ich spoločným agonistom je alicin – pálivý výťažok z cesnaku, inak je TRPA1 kanál aktivovaný prostredníctvom svojich selektívnych agonistov, ako sú napríklad **cinamonaldehyd** (obsiahnutý v škoricí), **allylizotiokyanát** (obsiahnutý v horčici alebo chrene). Ďalšími agonistami TRPA1 kanála sú lipidy, chlór, akroleín a niektoré endogénne produkty ako leukotriény a prostaglandíny. Vlastnosti, ktoré má TRPA1 kanál,



vyhovujú požiadavkám na **receptor pre iritanty v dýchacích cestách**, ako to dokázali imunohistochemické a elektrofyzologické štúdie. TRPA1 nie je citlivý len na elektrofilné molekuly, ale je tiež aktivovaný látkami s oxidačným potenciálom ako chlórany či chlór, čo je bežná chemikália používaná v priemysle, ale aj na dezinfekčné účely. Ďalej TRPA1 aktivuje peroxid vodíka, iné kyslíkové a dusíkové radikály, produkty oxidačného stresu (2-oxononenal, 4-oxononenal) ako aj ďalšie reaktívne molekuly, napríklad akroleín pochádzajúci z cigaretového dymu, organické rozpúšťadlá, izotiokyanáty, formaldehyd, paraformaldehyd a iné. Ako je možné, že jeden receptor dokáže pokryť také široké spektrum molekúl?

Nové štúdie zamerané na štruktúru tohto receptora vysvetľujú diverzitu receptora a jeho schopnosť sa aktivovať v prítomnosti širokého spektra molekúl. Tieto štúdie uvádzajú, že TRPA1 je aktivovaný prostredníctvom **kovalentnej modifikácie proteínu, tvoriaceho kanál**. Ako je zrejmé z prehľadu agonistov TRPA1 kanála, všetko sú to pomerne nestabilné látky, vysoko reaktívne v prostredí, v ktorom sa vyskytujú a reagujú veľmi rýchlo s lipidmi, proteínmi, či nukleovými kyselinami. Pre každú jednotlivú molekulu agonistická aktivita závisí od jej schopnosti kovalentne modifikovať bielkovinu tvoriacu TRPA1 kanál (*Obr. č. 20*).

V prípade vzdušných nečistôt, ktoré sa dostávajú do dýchacieho systému, pri každom ďalšom nádychu sa dostáva do dýchacích ciest vyššie množstvo znečistenín a tento kumulatívny efekt vedie k robustnej aktivácii TRPA1 a vzniku pocitu podráždenia, iritácie dýchacích ciest aj pri nízkych koncentráciách vzdušných nečistôt v pracovných, či obytných priestoroch. Keď už je raz kanál kovalentne modifikovaný, môže jeho aktivita pretrvávať aj v prípade, že príslušný iritant už nie je vo vzduchu prítomný.

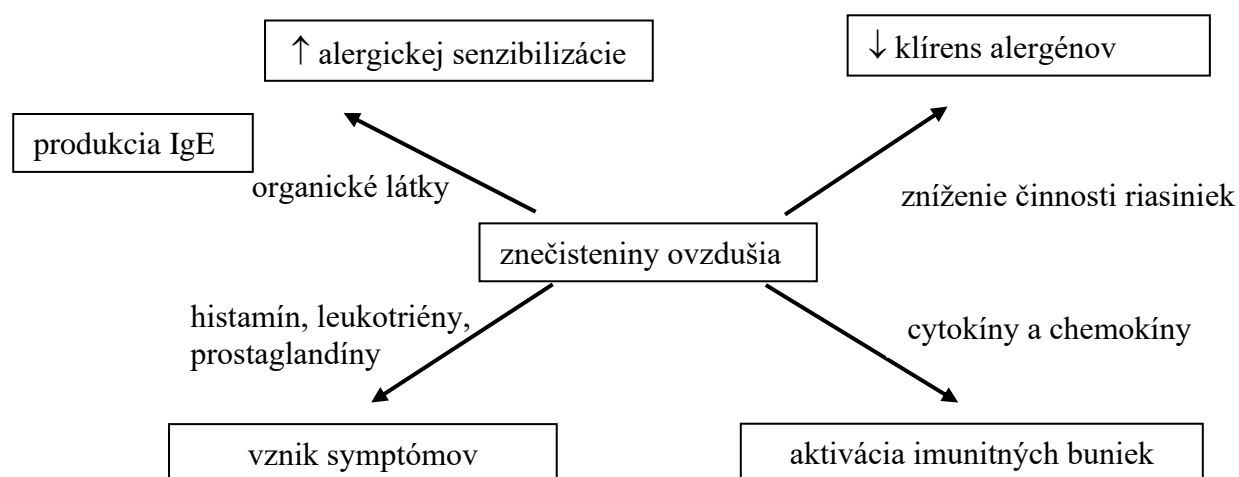


**Obrázok 21:** Štruktúra a transmembránové usporiadanie TRPA1 a TRPV1 kanála.

#### 4.3.7 Dôsledky inhalácie škodlivín pre respiračný systém

Senzitívne nervy v dýchacích cestách reagujúce na prítomnosť vzdušných znečistenín vyvolávajú celý rad reakcií.

1. V prvom rade je potrebné zdôrazniť, že expozícia škodlivinám prítomným vo vdychovanom vzduchu vedie k iniciovaniu **obránných a ochranných reflexov dýchacích ciest**, ako je apnoe, kýchanie, či kašeľ.
2. Ďalej dochádza na základe aktivácie senzitívnych nervov k retrográdnemu vyplaveniu tachykinínov (**aktivácii neurogénneho zápalu**) a nakoniec zvýšeniu toku parasympatikových cholinergných eferentných impulzov. Uvedené mechanizmy sú zodpovedné za vznik väčšiny symptómov nasledujúcich expozíciu znečisteninám, ako pocit iritácie, niekedy až dýchavice, kýchanie, kašeľ, slzenie a zvýšenie sekrécie v dýchacích cestách.
3. Bolo dokázané, že následkom expozície znečisteninám dochádza v dýchacích cestách k **náboru a aktivácii imunokompetentných buniek**, neutrofilov, ale aj eozinofilov.
4. Ďalej dochádza k zníženiu riasinkovej aktivity, čo môže byť nebezpečné hlavne v prípade, že súčasne dochádza k nadprodukcii hlienu so zhoršenými viskoelastickými vlastnosťami. Tým sa závažne naruší mukociliárny transport v dýchacích cestách, ktorý je dôležitým nereflexným obranným mechanizmom dýchacích ciest.
5. Dlhodobá expozícia môže viesť k poškodeniu epitelu a jeho metaplázii.
6. Tiež bol dokázaný vzťah medzi znečistením ovzdušia a incidenciou alergických ochorení dýchacieho systému ako aj všeobecne respiračnou morbiditou.



#### 4.4 Nazobronchiálny reflex

Ďalším mechanizmom, ktorý môže ovplyvniť funkciu dolných dýchacích ciest u pacientov s rinosinusopatiami, je **nazobronchiálny reflex**. Ide o neprimeranú bronchomotorickú odpoveď hladkého svalu priedušiek na stimuláciu aferentných nervových zakončení v nosovej sliznici rôznymi druhmi podnetov.

Existencia a klinické aplikácie nazobronchiálneho reflexu sú zdrojom mnohých názorových rozdielností. Tento trigemino–vagový mechanizmus bol študovaný viacerými autormi, pričom niektorí autori zaznamenali po stimulácii aferentných nervových zakončení v nose vznik **bronchokonstrikcie**, iní **bronchodilatácie**, prípadne žiadnej zmeny v celkovom odpore dýchacích ciest. Typický je vznik bronchokonstrikcie ako súčasti ponáracieho (Kratschmerovho) reflexu. Niektorí autori paradoxne uvádzajú výsledky, ktoré spochybňujú možnosť akýchkoľvek reflexných trigemino–vagových interakcií.

Ak stimulácia trigeminálnych nervových zakončení pôsobí v dolných dýchacích cestách bronchokonstrikčne, tento proces sa nemusí klinicky prejavovať u zdravých jedincov, avšak mohol by mať dôsledky u pacientov s prieduškovou hyperreaktivitou, pacientov s astmou, či CHOCHP. Bronchokonstrikcia na úrovni periférnych dýchacích ciest môže viesť k hypoventilácii príslušných alveolárnych jednotiek, pocitu tlaku na hrudi a dyspnoe. V literatúre nie sú údaje priamo o tom, že by stimulácia trigeminálnych zakončení v nosovej sliznici vyvolala závažnú bronchokonstrikciu manifestujúcu sa ťažkým dýchaním u dospelých, či detí.

Môže existencia nazobronchiálneho reflexu ovplyvniť prítomnosť kašľa, respektíve ho vyvolať? Je známe, že zmena tonusu hladkej svaloviny dýchacích ciest nemení prah dráždivosti nervových zakončení zodpovedných za vznik kašľa. Nepredpokladá sa, že by bronchokonstrikcia bola primárne príčinou kašľa, je však pravdepodobné, že oba uvedené reflexné mechanizmy sa môžu navzájom ovplyvňovať **na periférnej ako aj centrálnej úrovni**.

Pri zúžení dýchacích ciest môže dochádzať k modulácii aktivity aferentných nervových zakončení v tracheobronchiálnom strome, ktoré sa podieľajú na vzniku kašľa a taktiež je tu možnosť pre synergistické účinky na úrovni **nucleus tractus solitarii**, kde dochádza ku konvergencii vlákien zodpovedných za bronchokonstrikciu a kašeľ.

Niektorí autori hľadajú vysvetlenie zvýšenia bronchiálnej reaktivity pri ochoreniach nosovej dutiny a prínosových dutín v kombináciách pôsobiacich patomechanizmov. Brugman a spolupracovníci v štúdiu na zvieracom modeli demonštrovali vzostup bronchiálnej reaktivity na inhaláciu histamínu u králikov s patologickým procesom lokalizovaným v nosovej dutine

a prinosových dutinách len v tom prípade, ak bol králik obrátený hlavou hore. V polohe, ktorá neumožňovala zatečenie sekrétu z nosovej dutiny do dýchacích ciest (dolu hlavou) k zmenám reaktivity nedochádzalo.

Z výsledkov niektorých štúdií vyplýva, že v ovplyvnení bronchiálneho tonusu z nosovej dutiny má dôležité miesto larynx. *Postnasal dripping* môže permanentne stimulovať receptory laryngu, pričom odpoveďou na toto dráždenie je bronchokonstrikcia. Prečo však k zmenám celkovej pľúcnej rezistencie dochádza aj u laryngektomovaných pacientov, táto hypotéza nevysvetľuje.

Z klinických štúdií je známe, že pacienti s alergickou rinosinusopatiou majú zvýšenú bronchiálnu reaktivitu, čo môže byť dôsledkom propagácie zápalu z nosa do dolných dýchacích ciest tak, že tieto zápalové zmeny v dolných dýchacích cestách nie sú zatiaľ klinicky rozpoznateľné. Hovoríme, že **prebiehajú na subklinickej úrovni**, avšak dajú sa odhaliť špecializovanými vyšetrovacími postupmi, ako je bronchoprovokačný test alebo bronchoalveolárna laváž, či vyšetrenie indukovaného spúta, ktoré odhalí prítomnosť zápalových buniek v dolných dýchacích cestách bez klinických symptómov a znakov zápalu.

#### 4.5 Propagácia zápalu z nosovej dutiny

Ochorenia nosovej dutiny alergickej etiológie predstavujú veľmi silný rizikový faktor pre neskorší vznik prieduškovej astmy. Popri astme môže byť pre týchto pacientov problémom i chronický kašeľ. Asociácia alergickej rinitídy a astmy vedie často k úvahám o tom, že ide o jeden patologický proces, ktorý postihuje rozdielne časti respiračného systému – nosovú dutinu s manifestáciou alergickej rinitídy a priedušky s manifestáciou eozinofilnej bronchitídy alebo prieduškovej astmy. Tento predpoklad však nebol definitívne potvrdený, hoci obe tieto ochorenia sú silne podmienené rodinnou anamnézou, asociované s eozinofiliou v krvi, zvýšenou hladinou plazmatických hladín IgE a potenciované expozíciou rôznym aeroalergénom.

Okrem zápalu alergickej etiológie tu môže zohrávať úlohu i neurogénny zápal v dýchacích cestách ako i pretrvávajúce určitého stupňa zápalovej aktivity po prekonaní infekčného ochorenia dýchacieho systému (postinfekčný kašeľ). Zmeny, svedčiace pre zápalový proces v dolných dýchacích cestách pacientov s ochorením nosa a prinosových dutín sa môžu v krátkom časovom horizonte klinicky manifestovať (kašeľ, produkcia nadmerného množstva spúta s následnou expektoráciou), ale môžu prebiehať aj na subklinickej úrovni – neprejavujú sa subjektívnou symptomatológiou a objektívnymi znakmi a je možné ich zistiť len

špeciálnymi vyšetровacími postupmi (BAL, vyšetrením indukovaného spúta, atď.) V tomto prípade kašeľ môže vznikáť dráždením nervových zakončení v laryngu a dolných dýchacích cestách diskretnými zápalovými zmenami v sliznici pacienta s klinicky manifestnou rinitídou alergickej, či inej etiológie.

Propagácia zápalu z nosovej dutiny do dolných dýchacích ciest je možná dvoma spôsobmi. Prvý z nich je propagácia zápalu cestou dýchacieho stromu. Predstava, často evokovaná lekármi 1. kontaktu i pacientom samotným, že zápalové bunky sa dostávajú distálnejšie do dýchacích ciest vplyvom gravitácie je veľmi častá a v podstate logická. Pritom nemusí ísť o presun hlienu (postnasal drip). Táto zápalová aktivita sa klinicky môže prejavíť ako zmenená citlivosť kašľového reflexu.

Druhou možnosťou je propagácia zápalu z nosovej dutiny cestou systémovej cirkulácie. Pri zápale nosovej dutiny môže dochádzať v nosovej sliznici k resorpcii látok, ktoré pôsobia ako spazmogény na hladkú svalovinu dolných dýchacích ciest (napríklad histamín) alebo môže dôjsť k infiltrácii sliznice dolných dýchacích ciest stimulovanými imunokompetentnými bunkami v rámci SIRS (systemic inflammatory response syndrome) (hlavne eozinofilmi), čo je sprevádzané aj eozinofiliou.

#### 4.6 Nervové mechanizmy podieľajúce sa na modulácii kašľa u subjektov s rinosinusopatiou

Principiálne, všetky doteraz uvedené mechanizmy – aspirácia, šírenie zápalu systémovou cestou, nasobronchiálny reflex, či nedostatočná filtrácia škodlivín môžu svojím vplyvom na dolné dýchacie cesty ovplyvniť aj kašľový reflex, ktorého „receptory“ sa nachádzajú v sliznici laryngu a dýchacích ciest. Ide o nervové zakončenia neurónov vagového nervu, ktorých telá sú lokalizované v nodóznom a jugulárnom vagovom gangliu. Tieto nervové zakončenia sú citlivé na exogénne látky s iritačným účinkom (chemikálie), ale aj endogénne produkované látky ako zápalové mediátory a tachykiníny. Okrem týchto mechanizmov – vplyvov na dolné dýchacie cesty a larynx, existujú aj poznatky, ktoré poukazujú na možné centrálné interakcie medzi aferentnými vstupmi z trigeminálnych aferentných neurónov a „generátora kašľového vzoru“ v mozgovom kmeni.

Viacere štúdie potvrdzujú, že nie je možné vyvolať kašeľ stimuláciou aferentných nervových zakončení v sliznici nosa, avšak stimulácia nociceptorov nosovej sliznice výrazne zasahuje do modulácie kašľového reflexu. Konkrétne stimulácia nociceptívnych nervových zakončení v nosovej sliznici kapsaicínom alebo agonistami TRPA1 kanála (nociceptívny

podnet) vedie k zosilneniu kašľovej odpovede. V experimente na zvierati sa zvyšuje počet kašľových nárazov a sila kašľového exspíria a v štúdiách u dobrovoľníkov sa znižuje kašľový prah a zvyšuje sa celkový počet zakašľaní, ktoré vyšetrovaní dosiahnu počas kašľového provokačného testu. Táto **up-regulácia má svoj logický význam** – v prípade, že aferentné nervové zakončenia v nose sú dráždené noxickými podnetmi – môže to znamenať, že vo vdychovanom vzduchu sa nachádza potenciálne škodlivá noxa a preto je potrebné zvýšiť pohotovosť – vybaviteľnosť a silu ďalších obranných mechanizmov (vrátane kašľa).

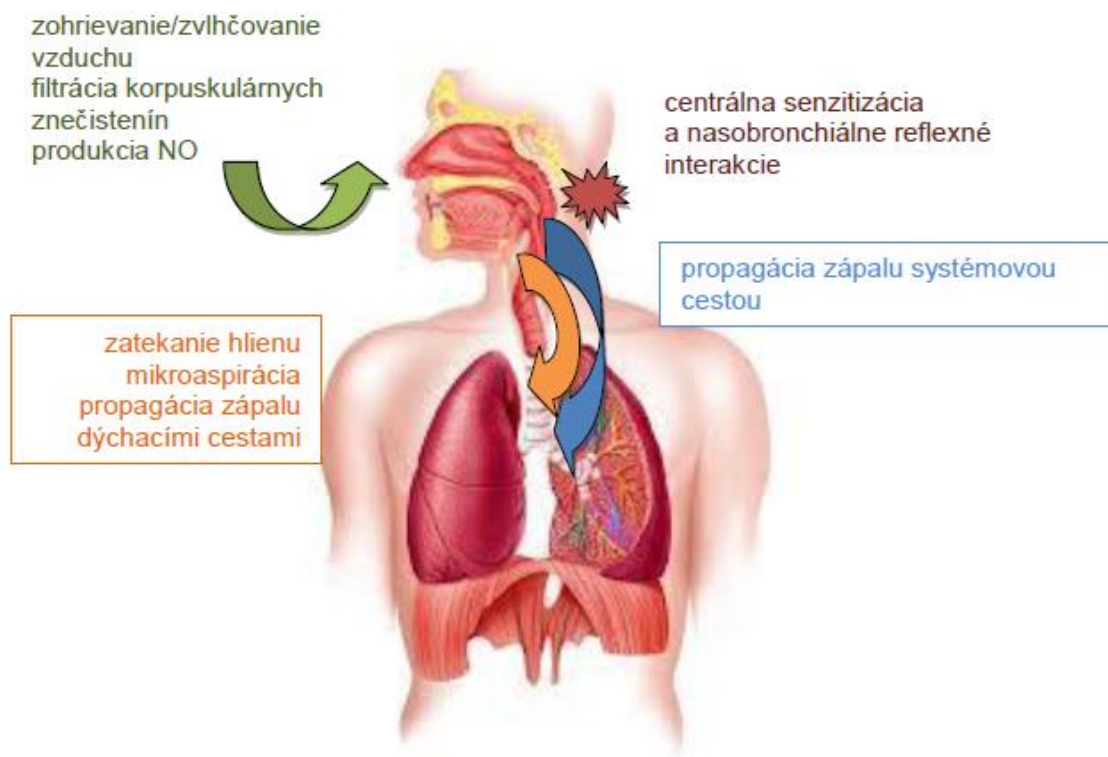
Na druhej strane, akumulujú sa poznatky, že kašeľ môže byť aj inhibovaný počas stimulácie iných typov aferentných nervových zakončení v nosovej sliznici. Napríklad intranazálne podanie mentolu, eukalyptolu alebo tymolu (čo sú zložky bežne dostupných prípravkov na symptomatickú liečbu bežného prechladnutia a kašľa) inhibuje kašľovú odpoveď.

Látky aplikované do nosovej dutiny, ktoré majú aj potenciál stimulovať olfaktorický systém, pravdepodobne tiež zasahujú do tejto regulácie. Príjemné vône – mentol, eukalyptol, tymol **inhibujú nutkanie na kašeľ** v štúdiu u probandov a nepríjemné vône (alylizotiokaynat – z horčice, chrenu a wasabi) modulujú kašľovú odpoveď opačne.

Pri zápalových ochoreniach nosovej sliznice dochádza k produkcii celého radu mediátorov ako je histamín, bradykinín, prostaglandíny či leukotriény, ktoré sú potentnými aktivátormi aferentných nervov v nosovej sliznici. Rovnako expozícia nosovej sliznice vzdušným nečistotám stimuluje aferentné trigeminálne vlákna prostredníctvom TRPA1 receptora, ale aj iné mechanizmy. V dôsledku aktivácie nervov táto aferentná informácia prechádza do *ncl. spinalis n. trigemini* – senzitívneho trigeminálneho jadra, avšak časť týchto vlákien končí aj v nTS – čo predstavuje „vstup“ do generátora kašľového vzoru. Pri **konvergencii (zbiehaní)** aferentných vstupov dochádza k tomu, že kašeľ, ktorý vzniká, je silnejší, častejší a vzniká aj na podnety, ktoré sú u inak zdravých jedincov podprahové. **Zvýšenie frekvencie kašľa, sily kašľového exspíria a posunu prahu pre kašeľ je odrazom tzv. neuroplasticity.**

Takto je možné vysvetliť vznik kašľa u pacientov, ktorí majú patologický proces lokalizovaný primárne mimo dolných dýchacích ciest, napríklad u pacientov s ochoreniami pažeráka.





**Obrázok 22:** Sumarizácia vzájomných vzťahov horných a dolných dýchacích ciest. Rozdielne mechanizmy dysfunkcie nosovej dutiny, ktoré môžu ovplyvňovať funkciu dolných dýchacích ciest.

## Literatúra

**Bardin PG a kol.:** Absence of pulmonary aspiration of sinus contents in patients with asthma and sinusitis. *J Allergy Clin Immunol* 1990, 86: 82-88.

**Barnes PJ:** Neurogenic inflammation in the airways. *Respir Physiol* 2001, 125: 145-154.

**Bautista DM a kol.:** TRPA1 mediates the inflammatory action of environmental irritants and proalgesic agents. 2006; *Cell*, 124:1269-1282.

**Benninger MS:** The impact of cigarette smoking and environmental tobacco smoke on nasal and sinus disease: review of the literature. *Am J Rhinol* 1999; 13: 435- 437.

**Bessac BF a kol.:** TRPA1 is a major oxidant sensor in murine airway sensory neurons. *J Clin Invest* 2008; 118: 1899-1910.

**Bonham AC a kol.:** Lung C – fiber CNS reflex: role in the respiratory consequence of extended environmental tobacco smoke exposure in guinea pigs. *Environ Health Aspect* 2001, 109 (suppl 4): 573- 578.

**Braat JPM a kol.:** Intranasal cold air is superior to histamine challenge in determining the presence and degree of nasal hyperreactivity. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;157: 1748-1755.

**Braat JPM a kol.:** Intranasal cold dry air is superior to histamine challenge in determining the presence and degree of nasal hyperreactivity in nonallergic noninfectious perennial rhinitis. *Am J Respir Crit Care Med* 1998, 157: 1748-1755.

**Braman SS a kol.:** Airway hyperresponsiveness in allergic rhinitis. A risk factor for asthma. *Chest*, 1987, 91: 824-830.

**Brugman SM a kol.:** Increased lower airway responsiveness associated with sinusitis in a rabbit model. *Am Rev Respir Dis* 1993, 147(2): 314-20.

**Busse W:** Epidemiology of rhinitis and asthma. *Eur Respir Rev* 1997, 7:47: 284-285.

**Canning BJ a kol.:** Multiple mechanisms of reflex bronchospasm in Guinea pigs. *J Appl Physiol* 2001, 91: 2642-2653.

**Carr MJ a kol.:** Expression of tachykinins in nonnociceptive vagal afferent neurons during respiratory viral infection in guinea pigs. *Am J Respir Crit Care Med* 2002, 165: 1071-1075.

**Cole P:** Physiology of the nose and paranasal sinuses. *Clin Rev Allergy Immunol* 1998,16: 33-51.

**Corren J:** Allergic rhinitis and asthma: how important is the link? *J Allergy Clin Immunol* 1997, 99: 781-786.

**Cruzz AA a Togias A:** Upper airway reaction to cold air. *Current allergy and asthma reports* 2008; 8 (2):111-117.

**Curley FJ a kol.:** Cough and the common cold. *Am Rev Respir Dis* 1988, 138: 305 – 311.

**Gaga M a kol.:** Upper and lower airways: similarities and differences. *Eur Respir Mon* 2001, 18: 1-15.

**Gerhold KA a Bautista DM.** TRPA1: irritant receptor of the airways. *J Physiol* 2008, 586.14, 3303.

**Hinman A a kol.:** TRP channel activation by reversible covalent modification. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103:19564-19568.

**Chen CY a kol.:** Extended allergen exposure in asthmatic monkeys induces neuroplasticity in nucleus tractus solitarius. *J Allergy Clin Immunol* 2001, 108: 557-562.

**Irwin RS a Richter JE:** Gastroesophageal reflux and chronic cough. *Am J Gastroenterol* 2000, 95(suppl 8): 9-14.

**Johansson A a kol.:** Nasobronchial relationship after cold air provocation. *Respir Med* 2000;94:1119-1122.



**Koren HS a Devlin RB.** Human upper respiratory tract responses to inhaled pollutants with emphasis on nasal lavage. *Ann NY Acad Sci* 1992; 641: 215-224.

**Koskela H a Tukiainen H.** Facial cooling, but not nasal breathing of cold air, induces bronchoconstriction: a study in asthmatic and healthy subjects. *Eur Respir J* 1995;8: 2088-93.

**Kotaru C a kol.:** Influence of hyperpnea on airway surface fluid volume and osmolarity in normal humans. *J Appl Physiol* 2002; 93:154-160.

**Lamblin C a kol.:** Long – term follow up of pulmonary function in patients with nasal polyposis. *Am J Respir Crit Care Med* 2000, 161: 406-413.

**Leopold DA:** Pollution, the nose and sinuses. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1992; 106: 713-719.

**Levi LR a kol.:** Lack of airway response to nasal irritation in normal and asthmatic subjects. *Aus Nz J Med* 1990, 20:578-582.

**Lipman M a Schlesinger RB.** Toxicological bases for the setting of health- related air pollution standards. *Annu Rev Public health* 2000; 21:309-333.

**Littel NT a kol.:** Changes in airway resistance following nasal provocation. *Am Rev Respir Dis* 1990, 141:580-583.

**Mazzone SB a Canning BJ:** Plasticity of the cough reflex. *Eur Respir Rev* 2002a, 12:236-242.

**McKemy DD.** How cold is it? TRPM8 and TRPA1 in molecular logic of cold sensation. *Mol Pain* 2005, 1:16.doi:10.1186/1744-8069-1-16.

**O'Connel F a kol.:** Capsaicine cough sensitivity increases during upper respiratory infection. *Respir Med* 1996, 90:279-286.

**Plaschke PP a kol.:** Onset and remission of allergic rhinitis and asthma and relationships with atopic sensitization and smoking. *Am J Respir Crit Care Med* 2000, 162: 920-924.

**Xing H a kol.:** TRPM8 mechanisms of autonomic nerve response to cold in respiratory airways. *Mol Pain* 2008; 4:22. doi: 10.1186/1744-8069-4-22.

## 5 MOŽNOSTI VYUŽITIA ZVIERACÍCH MODELOV NA ŠTÚDIUM FUNKCIE A DYSFUNKCIE HORNÝCH DÝCHACÍCH CIEST

### 5.1 Základné princípy pri práci s laboratórnymi zvieratami

Výrazné pokroky v medicíne, používanie nových liečiv, liečebných postupov, nových diagnostických a preventívnych metód je spojené s vykonávaním výskumu za pomoci rôznych zvieracích modelov. Použitie zvierat v experimentoch má veľmi dlhú a bohatú históriu. Pitvy a experimenty na zvieratách boli v minulosti jediným zdrojom významných poznatkov o anatómii a fyziológii, ktoré mali vplyv aj na rozvoj medicíny ako vedy a samozrejme aj na rozvoj ďalších prírodných vied.

Približne do 19. storočia sa laboratórne zvieratá používali bez toho, aby bol zdôraznený ich význam pre ďalší rozvoj vedy a v konečnom dôsledku pre človeka. Väčšie rozšírenie experimentov sa začalo v ďalšom období, a mnohé z týchto pokusov boli však vykonávané ešte pred objavením anestézie, čo by sa v súčasnosti považovalo za neetické a kruté. Pozornosť výskumníkov sa postupne obracala na rôzne živočíšne druhy, ktoré žili v blízkosti človeka a tak sa do laboratórií dostali hlodavce (myši, potkany, morčatá). Do konca prvej svetovej vojny bol počet biomedicínskych laboratórií malý a experimenty na zvieratách sa uskutočňovali v obmedzenom množstve. V medzivojnovom období sa začali používať druhy a kmene zvierat, ktoré už boli primárne vyšľachtené a chované práve pre experimentálne účely – na použitie v laboratóriách. Mohutný rozvoj chovu experimentálnych zvierat nastal po druhej svetovej vojne v dôsledku prudkého rozvoja výskumu a investícií do farmaceutického priemyslu a biomedicínskych vied.

Experimenty na zvieratách sú aj naďalej dôležitým zdrojom nových informácií v biomedicínskych vedách, predovšetkým pre zlepšenie prevencie, diagnostiky a liečby nielen ľudí, ale aj samotných zvierat. Cieľom experimentálnych štúdií na zvieratách je napodobnenie určitého ochorenia alebo niektorých jeho zložiek, skúšanie účinnosti a bezpečnosti rôznych liečiv a biologických látok použiteľných v humánnej a veterinárnej medicíne. Rozsiahle využitie zvierat človekom, aj keď má svoje zdôvodnenie, prináša so sebou etické a právne problémy, ktoré sa vzťahujú nielen na vedecké použitie.

Pri chove a používaní zvierat na medicínsky výskum je nevyhnutné vychádzať z toho, že každé zviera je živou bytosťou. Výskumy na zvieratách sa v odbornej spoločnosti považujú za oprávnené, avšak stále sa objavujú kritické výhrady vhodnosti ich použitia na experimentálne účely. Laická verejnosť a médiá sa zaujímajú predovšetkým o bolesť a

nepohodu laboratórnych zvierat pri ich experimentálnom použití. Do popredia sa dostávajú výhrady etické, pričom veľmi aktívne vystupujú rôzne spolky na ochranu zvierat, ktoré žiadajú okamžité a úplné zastavenie takýchto experimentov. Prvá zmienka o uzákonení etických princípov pri experimentoch na zvieratách pochádza z Veľkej Británie, keď už v roku 1876 prijali ako prvá krajina na svete zákon na ochranu pokusných zvierat pod názvom „Cruelty to Animals Act“. Aj napriek tomu, že povedomie odbornej verejnosti sa zvýšilo vďaka prijatiu zákonov a smerníc na ochranu zvierat pri experimentálnych štúdiách, v súčasnej dobe stále existujú dve rôzne názorové skupiny týkajúce sa etického postoja k problematike experimentov na zvieratách.

Prvá skupina podporuje využitie zvierat v medicínskom výskume za podmienok, že utrpenie pokusných zvierat je počas celého experimentu minimalizované a získaný prospech pre ľudí nie je možné dosiahnuť inou alternatívnou metódou. Druhá skupina neakceptuje použitie zvierat za žiadnych okolností, pretože experiment spôsobuje zvieratám utrpenie, prospech pre ľudí nie je vopred dokázateľný a akýkoľvek výsledok experimentu sa dá dosiahnuť aj inou cestou.

Vo vývoji základného a biomedicínskeho výskumu je možné pozorovať 3 základné smery.

**Prvý smer** predstavuje snahu o získavanie jednoduchších experimentálnych modelov na úrovni bunkových a tkanivových kultúr. Jeho prínos je nesporný, pretože ušetril zvieratá, avšak tento smer vyvolal nesprávne závery, že zvieratá budú kompletne vytlačené systémom *in vitro*. Musíme si uvedomiť, že odpoveď živého systému s neurohumorálnou reguláciou a všetkými mechanizmami spätnej väzby nie je možné nahradiť, aj keď tkanivové kultúry zohrávajú významnú úlohu pri štúdiu mechanizmov na bunkovej úrovni.

**Druhý smer** bol charakterizovaný snahou o vylepšenie experimentálneho dizajnu zavádzaním nových druhov zvierat (fretka, škrečok, mačka, prasa, opica, prepelica a ďalšie).

**Tretí smer** je charakterizovaný rozvojom inbredných a outbredných kmeňov a zároveň bolo pozorované úsilie o zlepšenie celkového zdravotného stavu zvierat v chovných zariadeniach zlepšením ich životných podmienok, zlepšením úrovne výživy, zoohygieny, neskôr bol zaznamenaný rozvoj gnotobiológie a chovu SPF (specific pathogen free) zvierat.

Ako bolo uvedené, experimentálne zvieratá sú dôležitým objektom základného výskumu a dôležitým zdrojom nových medicínskych informácií, ktoré v konečnom dôsledku vedú k skvalitneniu poskytovania zdravotnej starostlivosti. Avšak musíme si uvedomiť, že žiadny zvierací model nenahrádza v plnom rozsahu modelovaný objekt (človeka) a preto je potrebná určitá opatrnosť pri extrapolácii výsledkov na ľudskú populáciu.

***Podľa smernice 2010/63/EÚ testovanie na zvieratách je schválené len pri postupoch, ktorého účelom je:***

- základný výskum,
- translačný alebo aplikovaný výskum zameraný na prevenciu, diagnostiku alebo liečbu chorôb ľudí alebo zvierat,
- vývoj, výroba alebo testovanie kvality, účinnosti a bezpečnosti liekov, potravín, krmív, chemických látok,
- ochrana prirodzeného prostredia v záujme ľudí alebo zvierat,
- výskum zameraný na ochranu druhov,
- testovanie chemických látok z hľadiska ich neškodnosti pre zdravie človeka a životné prostredie,
- vysokoškolské vzdelávanie alebo odborné vzdelávanie,
- súdne vyšetrowanie.

***Hlavné smery využitia experimentálnych zvierat:***

- toxikologické a farmakologické štúdie,
- diagnostika (mikrobiológia, toxikológia),
- izolácia mikroorganizmov (napr. vírusov, mykobaktérií),
- modelovanie ochorení, terapeutických postupov,
- príprava biologických preparátov (séra, antigény, lieky, očkovacie látky),
- objekt získania a udržiavania technickej zručnosti (mikrochirurgia).

Pri samotnom výbere experimentálneho zvierat'a je potrebné nielen určiť, ale aj dodržiavať určité kritériá, ktoré závisia od cieľa výskumu, druhu zvierat, podmienok chovu, genetických, resp. imunologických, kvalitatívnych a ďalších špeciálnych požiadaviek.

***Z hľadiska mikrobiálneho osídlenia je možné zvieratá rozdeliť na:***

- **Konvenčné** (držané v otvorenom chove bez bariéry, osídlené bežnou mikroflórou),
- **SPF** (*specific pathogen free*, zbavené špecifických patogénov, chované s vyšším hygienickým štandardom – za bariérou),
- **Gnotobiotické** (osídlené s definovanou mikrobiálnou flórou, zvyčajne s 1, 2 alebo tromi mikróbmami, chované v sterilných podmienkach v izolátore),

- **Germ-free** (zbavené mikróbov, vírusov a parazitov, žijúce v aseptických podmienkach v izolátoroch).

***Z hľadiska genetického sa zvieratá rozlišujú na:***

- divoké, resp. uličné kmene,
- outbredné (geneticky neidentické a randombredné populácie),
- inbredné kmene (príbuzenská plemenitba s genetickou zhodou),
- izogénne (transgénne zvieratá – inbredné zvieratá s identickým genotypom),
- kongénne (inbredné línie, líšia sa len v 1 lokuse),
- mutantné (inbredné so špecifikovanou mutáciou 1 alebo viac génov),
- knock-out (vyradenie génu alebo zníženie expresie génu – knock down)

V snahe byť v experimente úspešný, je dôležité stanovenie jednoznačných pravidiel, medzi ktoré patrí:

- pravidlo pevného cieľa,
- pravidlo štandardných podmienok v experimente,
- pravidlo jednej neznámej v experimente,
- pravidlo potreby kontrolnej skupiny zvierat,
- pravidlo náhodného výberu zvierat na experiment,
- pravidlo použitia adekvátnych metód – praktická uskutočniteľnosť, dostatočná citlivosť, dostatočná presnosť a vhodnosť na sledovanie zmien v biologickom materiáli,
- pravidlo predbežných experimentov,
- pravidlo konfrontácie s cieľom,
- pravidlo reprodukovateľnosti výsledkov,
- pravidlo maximálnej koncentrácie v priebehu experimentu,
- pravidlo presného vedenia protokolu (správna laboratórna prax a jej zásady).

V posledných rokoch sa v základnom výskume preferujú malé laboratórne zvieratá ako sú myši a potkany, ktoré predstavujú až 90% zo všetkých experimentálnych štúdií.

Benefity výberu malých laboratórnych zvierat (myši, potkany, morčatá) v biomedicínskom výskume sú nasledovné:

- sú ľahko komerčne dostupné,
- využitie vo vedách ako je respirológia, imunológia, virológia, genetika, fyziológia, onkológia, gerontológia a mnoho ďalších,
- selektívnym krížením vznikli línie a kmene, ktoré vyhovujú požiadavkám na modelovanie rôznych druhov ochorení,
- pozitívom je, že existuje pomerne veľká databáza údajov o anatómii, fyziológii, genetike, imunológii, neurológii malých laboratórnych zvierat,
- zahŕňajú veľké množstvo inbredných kmeňov, ako aj rôzne genetické mutácie vhodné na modelovanie ľudských ochorení,
- sú málo náročné vzhľadom na veľkosť a hmotnosť, rýchlo sa adaptujú, sú nenáročné na starostlivosť a nevyžadujú špeciálnu opateru,
- nevyžadujú vysoké finančné náklady a môžu sa držať aj vo väčšom počte v chovných klietkach,
- ďalšou výhodou je, že interval reprodukcie je pomerne krátky a na druhej strane majú vysoký reprodukčný potenciál, čo zvyšuje ekonomiku chovu,
- sú vhodné pre SPF chov – v presne určených chovných podmienkach, čím sa znižuje riziko odchýlok,
- v porovnaní s človekom je veľká podobnosť aferentnej a centrálnej inervácie viscerálnych orgánov, podobnosť neuromodulácie, podobnosť receptorovej expresie, podobnosť senzitivity a reaktivity, ako aj podobnosť behaviorálnej odpovede.

Osoba vykonávajúca experimenty na zvieratách, podieľajúca sa na experimentálnej štúdií, dohliadajúca na vykonávanie postupu projektu, zodpovedná za starostlivosť o zvieratá musí byť dostatočne vzdelaná a pravidelne školená, musí byť zručná v manipulácii so zvieratami a v poskytovaní starostlivosti zvieratám. Každá takáto osoba musí absolvovať školenie, aby získala osvedčenie spôsobilosti navrhovať a vykonávať experimenty. Inštitút vzdelávania veterinárnych lekárov v Košiciach je akreditovaný na vykonávanie takéhoto vzdelávania.

Pred samotnou realizáciou experimentálnych štúdií s použitím zvieracích modelov je veľmi dôležité vypracovať literárnu rešerž študovanej problematiky, overiť si použitie a výsledky experimentálnych štúdií v danej problematike aj v iných laboratóriách s cieľom

vyhnúť sa duplicite výskumu. Vedecko-výskumní a vedecko-pedagogickí pracovníci následne plánujú, organizujú a vykonávajú postupy na zvieratách s dodržiavaním aktuálnej medzinárodnej a národnej legislatívy. Pri príprave projektu je dôležité stanoviť správnu hypotézu, zohľadniť ekonomické a časové parametre a nakoniec zabezpečiť najvhodnejší druh experimentálneho zvieratá. Ďalšou podmienkou je použitie čo najmenšieho počtu vybraných zvierat, avšak zároveň tak, aby získané výsledky boli relevantné a mali validitu. Etické princípy a dilemy súvisiace s ochranou zvierat pri medicínskom výskume sú neustále prediskutované, pričom dôležitou sa stáva aj legislatívna úprava tejto problematiky.

Je dôležité dodržiavanie 23 medzinárodne stanovených zásad uvedených v Smernici 86/609/EC prijatej v roku 1986 na ochranu zvierat pre experimentálne a vedecké účely a v jej aktuálnej verzii – Smernica 2010/63/EU. Medzi neetické zaobchádzanie patrí zbytočná krutosť, zbytočné vystavovanie zvierat stresu, zbytočné opakovanie experimentov bez nových výsledkov, experimenty vykonávané z dôvodu publicity, experimenty už boli vykonané inými vedcami, ale výsledky neboli publikované, či zlé a neprimerané vybavenie laboratórií. Medzi etický problém patrí aj používanie zvierat v rámci výučby (v USA 7–8 miliónov zvierat ročne). Medzi formy vedeckého týrania z pohľadu etiky patrí napr. operačný výkon bez anestézie alebo dlhodobá imobilizácia. Zo strany výskumníka si každý experiment vyžaduje zabezpečenie takých podmienok, ktoré minimalizujú bolesť, poškodenie, strach a utrpenie zvierat. Samozrejmosťou je používanie anestetík alebo analgetík, iných účinných spôsobov na odstránenie úzkosti, bolesti, utrpenia prípadne trvalého poškodenia zvierat.

Je eticky správne dodržanie požiadaviek na zabezpečenie chovu, prísunu potravy a vody, hygieny, teploty prostredia či ošetrovania rán súvisiacich s experimentom. Dôležité je aj ukončenie života zvierat humánnym spôsobom. Výskumný pracovník musí preto využívať najmä tie modely na zvieratách, pri ktorých si môže cielene a aktívnymi zásahmi sám upraviť podmienky na výskum s dodržaním zásad bioetiky.

Je nevyhnutné, aby každý výskumný projekt zahrňujúci experimenty na zvieratách bol posúdený etickou komisiou inštitúcie, ktorá poskytne nezávisle stanovisko týkajúce sa etických aspektov predkladaného projektu. Zároveň etická komisia posudzuje opodstatnenosť pripravovaného projektu a použitie zvierat v projekte. Na zabezpečenie etických podmienok experimentálnych zvierat bol stanovený súbor etických princípov, ktoré je odporúčané dodržiavať s cieľom eliminovať negatívny dopad na zvieratá zapojené do výskumu. Štáty Európskej únie sa v rámci *European Consensus Platform on Alternatives* dohodli na platnosti princípu 3R – *Replacement, Reduction, Refinement*, ktoré boli navrhnuté Russellom a Burchem už v roku 1959.

**Replacement (náhrada)** znamená snahu o nahradenie zvieracích modelov zaradených do niekoľkých širších kategórií:

a) použitie živých systémov – *in vitro* techniky (bunkové a tkanivové kultúry – línie, vytvorené z primárnej kultúry za krátku dobu: dni až týždne)

b) použitie neživých systémov – chemické techniky (najrozšírenejší neživý model vyžadujúci použitie moderných chemických techník (analytické, imunochemické apod.), fyzikálne a/alebo mechanické systémy (najvyššia výzva pre aplikáciu vo výučbe špecifických zručností),

c) využitie počítačovej simulácie (alternatívna technika, ktorá by prakticky mohla nahradiť používanie živých zvierat, jedná sa však o veľmi kontroverzné tvrdenie).

**Reduction (zníženie)** vyjadruje potrebu minimalizácie počtu použitých experimentálnych zvierat. Poznáme štyri hlavné kategórie na zníženie počtu použitých zvierat – zdieľanie zvierat, fylogenetická redukcia, lepšia kvalita zvierat, zlepšenie štatistického dizajnu.

**Refinement (zjemnenie)** predpokladá použitie nebolestivých procedúr a techník na tlmenie, resp. predchádzanie bolesti, použitie vhodných anestetík a aseptických chirurgických výkonov, ako aj zabránenie zbytočnej traumatizácie experimentálneho zvieraťa. Tieto techniky teda môžeme zadeliť do týchto širokých kategórií: zlepšenie kontroly bolesti (Animal Welfare Act) si vyžaduje, aby povinnosťou vedúceho experimentu bolo overenie si všetkých možností na zníženie bolesti, resp. utrpenie zvierať, zlepšenie inštrumentácie, zníženie invazivity (monitoring zvierat, analýza vzoriek apod.), zlepšenie kontroly techniky (zručnosť, jemnosť, skúsenosť a cit pri zaobchádzaní so zvieratami).

Z dôvodu ešte väčšej eliminácie negatívnych dopadov pri experimentoch so zvieratami je odporúčané dodržiavať pravidlo 4R, ktoré zahŕňa aj **princíp zodpovednosti – Responsibility**.

Cieľom týchto opatrení je chrániť laboratórne zvieratá a umožniť ďalší pokrok vo výskume s obmedzením testovania na zvieratách na absolútne minimum a stanoviť povinné normy týkajúce sa ich používania a chovu. Prísne normy pre dobré životné podmienky zvierat (welfare) sú prospešné nielen pre zvieratá ale aj pre vedu. V konečnom dôsledku dobrý zdravotný stav a kondícia zvierat odráža aj kvalitu výsledkov výskumu.



V podmienkach Slovenskej republiky je problematika ochrany zvierat zakotvená v právnych normách:

- Zákon NR SR č. 39/2007 Z. z. o veterinárnej starostlivosti v znení neskorších predpisov
- Nariadenie vlády SR č. 377/2012 Z. z., ktorým sa ustanovujú požiadavky na ochranu zvierat používaných na vedecké účely alebo vzdelávacie účely
- Vyhláška Ministerstva pôdohospodárstva a rozvoja vidieka SR č. 436/2012 Z. z., ktorou sa ustanovujú podrobnosti o požiadavkách na ochranu zvierat používaných na vedecké účely alebo vzdelávacie účely.

Orgánmi ochrany zvierat sú Ministerstvo pôdohospodárstva SR, Štátna veterinárna a potravinová správa SR (ŠVPS) a regionálne veterinárne a potravinové správy. Každý výskumný projekt musí byť posúdený a schválený kompetentnou autoritou ŠVPS SR s vydaním rozhodnutia na vykonávanie štúdie. Orgány ochrany zvierat priebežne vykonávajú úradné kontroly.

Etická a právna problematika medicínskych experimentov na zvieratách je a bude stále aktuálna. Aj keď na Slovensku pôsobia organizácie na propagáciu a implementáciu alternatívnych metód v rámci SNP 3R (Slovenská národná platforma 3R) v spojení s krajinami EU, výskum zahŕňujúci zvieracie modely je nezastupiteľný a je základom biomedicínskeho výskumu a s tým súvisiace následné skvalitnenie diagnostiky a liečby mnohých ochorení.

## 5.2 Modely experimentálnej alergickej rinitídy

Alergická rinitída je celosvetový problém a keďže jej incidencia a prevalencia stúpa, je potrebné tento problém riešiť. Kľúčom k správnej liečbe akéhokoľvek medicínskeho problému a nielen alergickej rinitídy je dôkladné spoznanie patogenézy a patofyziológie. Poznanie patogenézy a patofyziológie alergickej rinitídy závisí aj od možnosti vytvoriť model ochorenia na laboratórnych zvieratách.

Ochorenie, ktoré sa vytvára u laboratórnych zvierat, by sa malo čo najviac podobáť ochoreniu u človeka čo sa týka spôsobu senzibilizácie, vyvolaných symptómov a znakov, zvýšených hladín cirkulujúcich interleukínov, odpoveďou na liečivá – napríklad antihistaminiká, či histologickými zmenami nosovej sliznice.

V nasledujúcej kapitole chceme študentom predstaviť rôzne modely rinitídy, ktoré sa v súčasnosti používajú v experimentálnych podmienkach s dôrazom na tie, ktoré sa používajú v našom laboratóriu.

### ***Metodológia a nazálny provokačný test***

Existujú rôzne metódy na provokáciu a meranie nosovej odpovede, avšak každá technika má svoje benefity ale aj reštrikcie. Pre klinické účely techniky na kvalitatívne merania môžu byť náležité, ale pre experimentálny výskum kvantitatívne merania s vysokou reprodučibilitou sú nevyhnutné. V súčasnosti sa využíva široká škála provokačných látok.

Alergény, ktoré sú vo forme roztoku sa zvyčajne ľahko aplikujú do nostríl, avšak táto metodika má určité obmedzenia. Extrakt alergénu nie je vždy štandardizovaný a tak nemôže reprezentovať prirodzený alergén. Potencia takéhoto roztoku rýchlo stráca svoju účinnosť, a preto sa pre výskumné projekty odporúča používať štandardizované a lyofilizované extrakty čerstvo pripravené v deň testovania. Avšak prídavné látky ako je glycerol, benzalkonium chlorid alebo fenol môžu vyvolať nešpecifickú nosovú reakciu. Teplota, pH a osmolarita roztoku musí byť takisto dôsledne kontrolovaná. Množstvo vdýchnutého alergénu touto technikou je vyššie než prirodzenou peľovou expozíciou.

Alergény môžu byť aplikované vo forme prášku alebo roztoku absorbované na papierovom disku alebo vo forme peľového zrnka mixované s laktózou v kapsuliach. Tieto posledné techniky sú veľmi vhodné a pripomínajú prirodzenú expozíciu. Spôsob podania testovaných látok do nosa je zvyčajne jednoduchý a to buď inhalátorom alebo pomocou pipety, ale musíme byť opatrní, aby nedošlo k mechanickému podráždeniu nosovej sliznice a vyvolaniu nešpecifickej reakcie.

Nešpecifická nazálna hyperreaktivita je bežne pozorovaná u pacientov s alergickou rinitídou. Provokačné testy s metacholínom a histamínom sú široko využívané, kde je pozorované zvýšenie sekrécie v závislosti od dávky. Histamín vyvoláva kontralaterálny reflex a pri opakovanej stimulácii sa navodzuje tachyfylaxia.

Je niekoľko metód na vyhodnotenie alergickej odpovede na provokačný test nosa. Vyhodnocujú sa symptómy ako je kýchanie, rinorea, obštrukcia nosa, prípadne slzenie. Z časového hľadiska testovaní jedinci môžu reagovať rozdielne počas testovacích dní a intenzita symptómov koreluje s uvoľnením mediátorov. Nosová obštrukcia je kardinálnym symptómom alergickej reakcie nielen počas včasnej, ale aj neskorej fázy. Preto meranie rezistencie dýchacích ciest sa používa na zhodnotenie pozitivity provokačného testu.

Model alergickej rinitídy sa najčastejšie vyvoláva senzibilizáciou laboratórnych zvierat, podávaním alergénu. Ako modelové zviera sa preferuje morča domácej vzhľadom k tomu, že neurohumorálna a biologická odpoveď je porovnateľná s človekom. Niektoré postupy si vyžadujú podanie alergénu intraperitoneálne (napríklad podanie ovalbumínu), pričom spoločne s alergénom sa podáva aj adjuvans – v tomto prípade hydroxid hlinitý, aby došlo k zvýšeniu

imunogénneho potenciálu podaného komplexu alergénu s adjuvansom. Niektoré senzibilizačné schémy využívajú aj intradermálne podanie alergénu. Hoci oba tieto postupy môžu v konečnom dôsledku viesť k vytvoreniu hypersensitivity u experimentálnych jedincov, nezohľadňujú prirodzený spôsob senzibilizácie pri alergickej rinitíde, ktorý je predovšetkým spojený s lokálnou depozíciou alergénov na nosovú sliznicu pri dýchaní. Napriek tomu sa inhalačné spôsoby podania alergénov v experimente neodporúčajú, pretože inhalačným podaním by mohlo dôjsť aj k prenosu alergénu do dolných dýchacích ciest a v procese vytvárania modelu by došlo k vzniku nielen alergickej rinitídy so zápalom lokalizovaným v horných dýchacích cestách, ale aj k hyperreaktivite dolných dýchacích ciest.

Aj na základe týchto poznatkov sa za najvhodnejší spôsob senzibilizácie pre vyvolanie alergickej rinitídy považuje lokálne intranazálne podanie alergénu v niekoľkých opakovaniach podľa senzibilizačných schém.

Pri vytváraní modelu je dôležité aj časové hľadisko. Napríklad, niektoré modely je možné pripraviť už aj za týždeň, avšak na niektorých vedci pracujú aj niekoľko mesiacov. Závisí to od cieľa experimentu. Ak sa vedci sústreďujú predovšetkým na tzv. včasnú fázu alergickej reakcie, tak postačujú krátke senzibilizačné schémy, kde sa u zvierat opakovane sledujú procesy prebiehajúce vo včasnej fáze. Ak je potrebné sledovať aj procesy v neskorej fáze alergickej reakcie, musí sa model vytvárať dlhšie.

Na senzibilizáciu sa najčastejšie využíva podanie ovalbumínu, čo je proteín vaječného bielka – tu je hneď potrebné poznamenať, že bielkovina vaječného bielka nie je alergénom, ktorý by bežne vyvolával respiračné alergie u ľudí. Avšak je výborným antigénom a po opakovanom podaní u senzibilizovaných jedincov vyvoláva presvedčivé, objektivizovateľné a reproducibilné symptómy a znaky alergickej rinitídy so zodpovedajúcou systémovou odpoveďou. Z tohto pohľadu sú vhodnejšími alergénmi napríklad antigény bytových roztočov, ktoré sú jednými z najčastejších alergénov u pacientov s celoročnou alergickou rinitídou alebo toxín produkovaný baktériou *Staphylococcus aureus*, ktorý je veľmi častým komenzálom na koži a slizniciach u ľudí. Až 50% kmeňov *Staphylococcus aureus* produkuje tento superantigén, čo zvyšuje riziko vzniku alergickej rinitídy u atopických jedincov.

### 5.2.1 Model rinitídy využívajúci ovalbumín

Ovalbumín - proteín vaječného bielka sa využíva vo výskume alergického zápalu dýchacieho systému už niekoľko desaťročí. V minulosti sa využíval predovšetkým na vytvorenie modelu astmy u myší. Existuje niekoľko druhov laboratórnych myší, ktoré majú vyššiu predispozíciu na Th2 odpovede (napríklad C75BL/6 majú vyššiu predispozíciu na vznik

alergických ochorení ako BALB/c myši). U týchto zvierat bolo možné po počiatočnej intraperitoneálnej senzibilizácii a opakovaných inhalačných podaniach alergénu vytvoriť model prieduškovej astmy, ktorý sa veľmi úspešne používal vo výskume s menšími či väčšími modifikáciami senzibilizačných schém a ich dĺžkou trvania.

Neskôr sa začala pozornosť venovať aj možnosti vytvorenia modelu alergickej rinitídy. Na našom pracovisku sme začali používať metodiku podľa Underwooda, ktorú sme v priebehu rokov na základe našich skúseností prispôbili našim potrebám a tieto postupy sme validovali.

Na vytvorenie modelu využívame morčatá kmeňov Trik a Dunkin Hartley. V prvej fáze sa zvieratá senzibilizujú podaním suspenzie ovalbumínu a hydroxidu hlinitého v 1 ml fyziologického roztoku. Suspenzia sa podáva intraperitoneálne a reakcie morčiat sa veľmi starostlivo monitorujú. Zriedkavo môže dôjsť k vzniku anafylaktickej reakcii.

Po troch týždňoch úspešná senzibilizácia je potvrdená kožným testom – intradermálnym podaním ovalbumínu, kde sme sledovali kožnú reakciu ako začervenanie, opuch v akútnej fáze a neskôr sa objaví infiltrácia okolia.

V druhej fáze experimentálneho modelu eozinofilnej alergickej rinitídy zvieratá boli senzitizedované opakovanou intranazálnou instiláciou 0,5% ovalbumínu do oboch nostríl použitím tenkého katétra. Interval medzi jednotlivými intranazálnymi provokáciami bol týždeň a doba testovania trvala od 6 – 9 týždňov. V priebehu 5 minút od podania alergénu sa objavujú typické symptómy a znaky alergickej reakcie. Zvieratá začínajú kýchať, pociťujú svrbenie a opakovane si šúchajú nos prednými labkami, začína sa objavovať sekrét z nosa a tým, že nosová sliznica opúcha a zhoršuje sa prúdenie vzduchu v nose, vznikajú typické zvukové fenomény. Rovnako sa môže prejaviť aj slzenie. Tento komplex symptómov a znakov sa pozoruje skúsenými a trénovanými pracovníkmi, ktorí hodnotia prítomnosť príznakov pomocou skóre - numerickej škály, kedy sa určitej intenzite prejavov prideluje numerická hodnota. Táto sa na záver sčíta a udáva tzv. výsledné skóre nosových príznakov. Skóre symptómov sa hodnotí pomocou 4-bodovej škály. Každý stupeň má priradené skóre v rozsahu 0 až 3. Obe získané skóre (z hodnotenia stavu očí a spojivky a nazálnych fenoménov) sa sumujú do jednej hodnoty a maximálne výsledné skóre je 8 bodov.

### **Očné príznaky - skóre**

0 - bez zmien

1 - sklený pohľad

2 - viditeľné intenzívne slzenie

3 - prejavy konjunktivitídy

### **Nosové fenomény - skóre**

0 - bez zvukových prejavov

1 - sťažené dýchanie

2 - počuteľné zvukové prejavy (chrapot pri dýchaní)

3 - intenzívne zvukové prejavy, výrazne sťažené dýchanie

### **Sekrécia z nosa - skóre**

0 - bez sekrécie

1 - slabá až mierna sekrécia (sekrét prítomný v okolí nosových otvorov)

2 - silná sekrécia z nosa (kvapky sekrétu tečú z nosa)

Keďže je známe, že okrem sinusitíd, postnasal drip syndrómu, alergická rinitída je jednou z najčastejších príčin chronického kašľa, v našom usporiadaní experimentov sme sa sústredili na štúdium reflexného kašľa a zisťovanie korelácie medzi eozinofilným zápalom dýchacích ciest a chemicky-indukovanom kašli vo včasnej a neskorej fáze alergickej rinitídy. Včasná fáza je sprevádzaná hlavne aktiváciou mediátorov mastocytov a neskorá fáza zahŕňa nábor a aktiváciu zápalových buniek, najviac eozinofilov, ktoré uvoľňujú celú plejádu prozápalových mediátorov ako sú cysteinyl leukotriény, eozinofilný kationový proteín (ECP), eozinofilné peroxidázy (EPO), hlavný bazický proteín (MBP), ktoré sa zúčastňujú na propagácii zápalu a dysfunkcii dýchacích ciest.

Výsledky našich štúdií opakovane ukázali zvýšenú hypersenzitivitu a hyperraktivitu dýchacích ciest v modeli zvierat. Zistili sme signifikantne zvýšenú citlivosť kašľového reflexu vo včasnej fáze modelovej alergickej rinitídy po opakovanej stimulácii nosovej sliznice ovalbumínom, zároveň sme zaznamenali koreláciu medzi počtom eozinofilov v nosovej sliznici a intenzitou kašľového reflexu. Na rozdiel od akútnej fázy alergickej rinitídy, ktorá je sprevádzaná akútnou zápalovou odpoveďou so zvýšenou sekréciou, kašeľ testovaný v neskorej fáze nebol významne zmenený. Chronická rinitída je často sprevádzaná hypersenzitivitou kašľového reflexu a najpravdepodobnejším mechanizmom je zvýšená senzitivita senzorického nervového systému vplyvom zápalových zmien dýchacích ciest.

Na zvieracích modeloch sme následne študovali účinnosť rôznych druhov liečiv, napríklad antihistaminiká, antileukotriény, inhalačné kortikoidy a ďalšie látky, o ktorých sa predpokladá, že zasahujú do patogenézy alergickej rinitídy.

### 5.2.2 Model rinitídy využívajúci antigény roztočov

Ako bolo uvedené v predchádzajúcej kapitole, jednou z foriem alergickej rinitídy je celoročná rinitída, pri ktorej je vyvolávajúcim faktorom senzibilizácia a následná expozícia antigénom roztočov.

Roztoče (angl. house dust mites - HDM) predstavujú najdôležitejší zdroj bytových alergénov pre ľudí, ktoré vyvolávajú astmu, alergickú rinitídu, dermatitídu a iné ochorenia. Roztoče patria do radu *Acari*, kde bolo doteraz identifikovaných viac ako 50 000 druhov. Pre výskumné účely, patogenitu pre človeka a ako zdroj celoročných bytových alergénov sú najdôležitejšie dva druhy, a to *Dermatophagoides pteronyssius* a *Dermatophagoides farinae*. Okrem týchto dvoch druhov môžu byť dôležité v miernom pásme *Euroglyphus maynei* a v tropickom a subtropickom pásme *Blomia tropicalis*. Potenciál na stimuláciu imunitného systému spočíva v roztočoch samotných, ale aj v ich výlučkoch.

HDM vyvolávajú reakciu imunitného systému prostredníctvom špecifických CD4<sup>+</sup> Th2 lymfocytov, avšak úloha nešpecifickej imunity je takisto dôležitá. Toto môže byť dôvodom, prečo niektoré terapeutické prístupy cielené smerom Th2 lymfocytov neboli účinné v klinických skúškach, pretože nejaký iný mechanizmus (mimo Th2 polarizácie) môže hrať dôležitú úlohu.

Podrobným štúdiám boli podrobené najmä dve veľké skupiny HDM alergénov – 25 kDa cysteínová proteáza (skupina 1 – Der p1, resp. Der f1) a 14 kDa epididymálny proteín (skupina 2). Viac ako 80% ľudí s alergiou na roztoče vytvárajú protilátkovú odpoveď v triede IgE na prvú skupinu a viac ako 90% na druhú skupinu. Avšak u približne 20% pacientov sa nevytvára IgE odpoveď ani na jednu z prvých dvoch skupín. Existuje veľa ďalších HDM alergénov, ktoré obsahujú väzobné miesto pre protilátky IgE – avšak tieto sa v extraktoch z roztočov vyskytujú v malých a variabilných koncentráciách, zvyčajne menej ako 1% z koncentrácie alergénov skupiny 1 a 2 – preto sa nazývajú „menšinové alergény“.

Sliznica dýchacích ciest odpovedá na prítomnosť častíc HDM a odpoveď v podstate začína rozpoznaním imunogenických epitopov imunokompetentnými bunkami v tkanive, najmä dendritickými bunkami.

Epitelové bunky trachei a bronchov vysielajú signály dendritickým bunkám na indukciu Th2 imunitnej odpovede na vdýchnuté častice HDM skrz uvoľnenie nešpecifických pro-Th2 cytokínov (napr. GM-CSF, TSLP, IL-25 a IL-33). Nábor eozinofilov a IL-4 kompetentných bazofilov do dýchacích ciest, ktoré spolu s aktivovanými dendritickými bunkami môžu putovať do mediastinálnych lymfatických uzlín je výsledkom inhalácie alergénov pochádzajúcich

z HDM. Iba nedávno bolo ukázané, že FcεRI+ dendritické bunky sú nevyhnutné na začatie Th2 imunitnej odpovede v modeli slizničnej senzibilizácie inhalovanými HDM alergénmi a takisto obmedzenie úlohy bazofilov na zosilnenie odpovede pri astme.

Proteázová aktivita je veľmi bežná, spoločná vlastnosť mnohým ľudským alergénom, ako napríklad plesniam, peľu, zvieracej srsti alebo včeliemu jedu. HDM, ako aj ich fekálne pelety takisto obsahujú proteolytické enzýmy skupiny 1 (Der p 1 a Der f 1) známe ako cysteínové proteázy a skupiny 3, 6 a 9 (Der p 3, Der p 6, Der p 9, Der f 3, Der f 6 a Der f 9) sú serínové proteázy. Spolu sú zodpovedné za 79% proteolytickej aktivity alergénov roztočov. Der p 1, resp. Der f 1 narušuje medzibunkové tesné spojenia (proteíny okcludín a claudin-1), čo umožňuje styk antigénov spolu s podslizničnými antigén-prezentujúcimi bunkami, zatiaľ čo serínové proteázy aktivujú intracelulárnu degradáciu okcludínu a ZO-1. Toto narušenie bariérovej funkcie epitelu nebolo zopakované v *in vivo* myšacom modeli po jedinej dávke HDM ako aj u astmatických pacientov s nízkou poddajnosťou, čo poukazuje na fakt, že toto poškodenie je výsledkom chronickej expozície HDM časticiam a nie jednorazového inzultu.

Proteázy nachádzajúce sa v HDM časticích sú okrem toho schopné reagovať s proteázami aktivovanými receptormi (PARs – protease-activated receptors) v epiteli dýchacích ciest za účelom vytvorenia leukocytovej infiltrácie a zosilnenie odpovede na alergény. Aktivácia týchto receptorov na eozinofiloch a mastocytoch vedie k ich degranulácii.

Extrakty pripravené z roztočov obsahujú endotoxín. Symbiotické, gram-negatívne baktérie druhu *Bartonella* sp. sú považované za zdroj endotoxínu v týchto extraktoch. Endotoxín môže aktivovať priamo TLR2 a TLR4 – tieto receptory sú exprimované na epitelových a dendritických bunkách dýchacích ciest. Navyše expresia TLR4 je zvýšená po expozícii HDM na epiteliách bronchov. TLR4 signalizácia epitelu indukovaná prostredníctvom HDM aktivuje NF-κB a indukuje GM-CSF, ktoré spôsobuje dozrievanie alveolárnych makrofágov a up-reguláciu kostimulačných molekúl CD40 a CD86. Medzi expresiou epiteliálnych TLR4 receptorov a expresiou kostimulačných molekúl na makrofágoch existuje korelácia.

TLR aktivácia na epitelových bunkách takisto vedie k transaktivácii EGFR, čo ústi do migrácie buniek a syntéze proteínov zahrnutých v nešpecifickej imunitnej odpovedi (napr. cytokíny a mucíny).

Na povrchu roztočov sa nachádzajú spóry plesní a takisto tieto plesne symbioticky prežívajú v ich črevách. Lektínové receptory typu C (dectin-1 a dectin-2) sa nachádzajú na povrchu myeloidných buniek. Ich funkcia je klasická funkcia PRRs (pattern recognition receptors) – väzbou s betaglukánmi, ktoré sú prítomné v bunkovej stene húb a baktérii,

vytvárajú spojenie medzi nešpecifickou a špecifickou imunitnou odpoveďou. Expozícia epitelu *in vivo* dýchacích ciest vedie k produkcii CCL20 závislej na prítomnosti betaglukánov, čo je chemokín pre nezrelé dendritické bunky. Extrakt pripravený z HDM je špecifickým stimulom pre tento chemokín a jeho hladiny nie sú ovplyvňované bunkovou liečbou, či už s použitím purifikovaného antigénu Der p 1, alebo chitínu, endotoxínu alebo iného purifikovaného antigénu.

Chitín je hlavnou zložkou bunkovej steny húb. Takisto poskytuje štrukturálnu pevnosť exoskeletu mnohých druhov (článkonožce, helminty, hmyz, pavúkovce). Chitín je relatívne silným adjuvanciom, ktoré reguluje nešpecifickú ako aj špecifickú (Th1, Th2 a Th17) imunitnú odpoveď. Takisto slúži ako faktor rozpoznania tkanivovej infiltrácie bunkami zodpovednými za nešpecifickú imunitnú odpoveď a takisto indukuje akumuláciu bazofilov, ktoré v myšacom modeli exprimujú IL-4. Exogénny chitín môže stimulovať makrofágy interakciou s rôznymi receptormi (napr. TLR2 a dectin-1), čím poskytujú ďalšiu dráhu, cez ktorú môže HDM vyvolať odpoveď imunitného systému. Alergény Der p 15 a Der p 18 sú chitinázy. Tieto antigény vykazujú vysokú početnosť naviazania na protilátky triedy IgE v ľudských sérach – sú detegované v cca. 70% pacientov s diagnostikovanou alergiou na roztoče.

Fekálne pelety roztočov majú tvar guľôčok, ktoré obsahujú nestrávené zvyšky potravy, tkanivový detritus a proteolytické enzýmy spojené hlienom a pokryté chitínovou membránou. Počas doby života roztoča (cca. 10 týždňov) ich jeden roztoč vyprodukuje zhruba 2000 s priemerom od 10 do 40  $\mu\text{m}$  a ešte viac čiastočne natrávených a enzýmami pokrytých častíc prachu, ktoré môžu byť vdýchnuté a uložené v dýchacích cestách.

Zvieratá sa antigénmi roztočov senzibilizujú inhalačnou cestou. Sú exponované aerosólu, ktorý je pripravený z 0,25 a 0,5% roztoku daných alergénov. Exponujú sa denne v priebehu 14 dní počas 5 minút. Počas inhalácie sa zvieratá starostlivo pozorujú, či nedochádza k problémom s dýchaním. Ak by pozorovateľ zistil prítomnosť problémov, expozícia sa preruší a zvieratá sa podá inhalačný bornchodilatátor na zmiernenie bronchokonstrikcie. Senzibilizácia sa potvrdí pomocou kožného testu – podaním 0,5% roztoku alergénov HDM intradermálne a prítomnosť senzibilizácie sa zisťuje rovnako ako pri intradermálnom podaní ovalbumínu.

Rinitída sa vyvoláva intranazálnym podaním 15  $\mu\text{l}$  0,5% roztoku alergénov HDM tenkým katétrom, a magnitúda symptómov sa sleduje rovnako ako pri modeli rinitídy vyvolanej podaním ovalbumínu.



Štúdie na myšacích modeloch, najmä na transgénnych a knokautovaných kmeňoch, boli dôležité pre pochopenie úlohy cytokínov, adhezívnych molekúl a bunkových receptorov v alergických zápalových odpovediach.

Predklinický výskum alergického zápalu dýchacích ciest je zameraný najmä na dolné dýchacie cesty a astmu bronchiale – zvieracie modely alergickej rinitídy sú v porovnaní s uvedenými vyvinuté a preštudované relatívne málo. Donedávna sa modely alergickej rinitídy spoliehali na krátkodobé protokoly, čo predstavovalo ich slabinu – zameriavali sa najmä na akútnu fázu zápalovej odpovede a menej pozornosti sa venovalo na prestavbu dýchacích ciest. Avšak do vytvorenia chronických modelov na výskum nosovej obštrukcie, nosovej sekrécie a remodelácie, ktoré definujú alergickú rinitídu u ľudí, je vkladáných čoraz viac úsilia.

Primárnymi laboratórnymi zvieratami, ktoré sú používané na popis reakcie nosovej sliznice na alergický podnet sú morčatá domáce (kmeň Dunkin Hartley) a v menšej miere potkany (Brown Norway) a myši (BALB/c myši).

Obštrukcia nosových priechodov ako odpoveď na alergický stimul je charakterizovaná skorou a neskorou fázou zápalovej odpovede. Okamžitá a prechodná epizóda svrbenia a kýchania nastupuje do niekoľkých sekúnd po expozícii alergénu a trvá v rozmedzí 5 až 30 minút. Neskorá fáza je charakteristická rhinoreou a obštrukciou dýchacích ciest, ktorá môže pretrvávať niekoľko hodín.

Počiatkové podráždenie a reflex kýchania je sprostredkovaný mediátormi uvoľnenými z mastocytov a bazofilov (histamín, tryptáza, cysteinyl-leukotriény, trombocyty aktivujúci faktor – PAF). Hypersekrécia hlienu spojená s obštrukciou dýchacích ciest v neskorej fáze je spojená s progresiou slizničného opuchu, tkanivovej infiltrácie eozinofilmi, neutrofilmi, syntézou a uvoľňovaním prostaglandínov, interleukínov a reaktívnych foriem kyslíka.

V modeli alergickej rinitídy u morčiat je počítanie „škrabania“ nosa subjektívne, avšak je to užitočné meranie, najmä pri testovaní mechanizmov skorej fázy zápalovej odpovede a terapeutických stratégií, ktoré zahŕňajú histamín-dependentné a leukotrién-dependentné dráhy. Histopatológia skorej a neskorej fázy alergickej rinitídy žiaľ nebola podrobnejšie preštudovaná. Tento fakt je v ostrom kontraste s podrobným popisom remodelácie a patologických procesov všeobecne, ktoré sú analogickými odpoveďami v dolných dýchacích cestách (skorá a neskorá fáza bronchokonstrikcie), ktoré sú v myšacom modeli veľmi dobre preštudované.

### 5.2.3 Model využívajúci aktiváciu TRP kanálov nervového systému nosovej sliznice

Ako bolo uvedené v kapitole o inervácii nosovej sliznice, aferentné nervy, ktorých úlohou je detegovať prítomnosť potenciálne škodlivých látok, sú vybavené celým radom receptorov, či iónových kanálov tak, aby dochádzalo k ich aktivácii v prítomnosti endogénnych i exogénnych dráždivých látok (vzdušných znečistenín a látok, ktoré sa tvoria lokálne v nosovej sliznici pri jej zápale).

Je známe, že nečistoty prítomné vo vdychovanom vzduchu sa dostávajú do dýchacích ciest pri dýchaní, avšak pri nádychu nosom (čo je preferovaný spôsob nádychu v pokoji a miernej fyzickej námahe) dochádza k depozícii významnej časti nečistôt práve na sliznicu nosovej dutiny, kde pôsobia. Preto jedným z vhodných spôsobov ako modelovať podmienky hyperreaktivity nosovej sliznice na štúdium či už funkcie nervového systému alebo iných procesov v horných dýchacích cestách pri expozícii vzdušným znečisteninám pri zápale je aktivácia uvedených iónových kanálov, predovšetkým tých, ktoré sú určené na detekciu noxických podnetov a to TRPV1 a TRPA1.

Podanie agonistov TRPV1 a TRPA1 kanálov na nosovú sliznicu vedie z krátkodobého aspektu k iniciovaniu obranných reflexných procesov horných dýchacích ciest a to predovšetkým kýchania. Následne sa aktivujú či už priamo alebo nepriamo prostredníctvom nervov aj ďalšie súčasti reaktivity (vaskulárna a glandulárna) a prostredníctvom extravazácie tekutiny z ciev a zvýšením sekrécie žliazok dochádza k zvýšeniu produkcie nosového sekrétu. Jeho cieľom je rozriediť podané dráždidlo a následne ho pomocou mukociliárneho transportu odstrániť. Z dlhodobého hľadiska po takejto stimulácii nervov je možné vyvolať neurogénny zápal nosovej sliznice.

Na takéto účely je možné použiť intranazálne podanie agonistu TRPV1 kanála kapsaicínu alebo intranazálne podanie agonistov TRPA1 kanálov alylizotiokyanátu (AITC) a cinamonaldehydu pomocou tenkého flexibilného katétra, ktorý umožňuje lokalizované podanie študovanej látky. Ako vyplýva z analýzy rôznych metodických postupov a vzhľadom na komplikované anatomické pomery v nosovej dutine, je tento spôsob najvhodnejší. V prípade, že cieľom štúdie je sledovanie len lokálneho podania daných látok bez ovplyvnenia ďalších častí respiračného systému nie je vhodné používať aerosóly, či spreje, pretože je tu vždy riziko vdýchnutia daných látok do ďalších častí dýchacieho systému.

Hoci podanie katétrom na sliznicu nosovej dutiny nie je absolútnym zabezpečením, že látka bude pôsobiť lokálne (mukociliárny transport) pomocou podania farbiva Evansovej modrej bolo zistené, že malé objemy (0,15; 0,25 ml) pôsobia prevažne lokálne.

Ako príklad uvádzame štúdiu, v ktorej sa sledoval vplyv lokálne podaného AITC (3mM a 10mM; 0,1 ml) a cinamonaldehydu (3mM a 10mM; 0,1 ml) u laboratórnych zvierat (morčiat) intranazálne pomocou tenkého polyetylénového katétra s vonkajším priemerom 1mm približne do hĺbky 0,5-1cm od vonkajších nosových otvorov bilaterálne. Orientácia katétra bola vzhľadom k nosovému septu smerovaná mediálne a dorzálne, tak, aby nedošlo k poškodeniu sliznice na nosových mušliach, ktorý je u morčiat, podobne ako aj u iných hlodavcov veľmi dobre vyvinutý. V takýchto štúdiách sa ako kontrola vždy podáva intranazálne aj fyziologický roztok 0,1ml bilaterálne a sledovaný testovaný účinok sa porovnáva voči účinku fyziologického roztoku.

V tomto modeli je možné sledovať odpoveď nosovej sliznice na intranazálne podanie agonistov TRPA1 kanála AITC a cinamonaldehydu a hodnotiť ich schopnosť navodiť hyperreaktivitu a vznik “nosových symptómov” ako kýchanie, sekrécia a obštrukcia nosa. Na kvantifikáciu týchto prejavov používame škálu, kde sa hodnotí počet kýchnutí, prítomnosť očných prejavov (slzenie), sekrécie z nosa a obštrukcie nosa, pričom sa jednotlivým nálezom pripisuje numerická hodnota ako v predchádzajúcich modeloch.

## Literatúra

**An a kol.:** Dermatophagoides farinae Allergens Diversity Identification by Proteomics. *Molecular & Cellular Proteomics*, 12, 1818-1828, 2013.

**Barret a kol.:** Dectin-2 Recognition of House Dust Mite Triggers Cysteinyl Leukotriene Generation by Dendritic Cells. *The Journal of Immunology*, 182, 1119-1128, 2009.

**Belvisi MG a Bolser DC.:** Summary: Animal Models for Cough. *Pulmonary Pharmacology & Therapeutics*, 15, 249-250, 2002.

**Bhure UN a kol.:** Lung Epithelial Permeability and Inhaled Furosemide: Added Dimensions in Asthmatics. *Annals of Nuclear Medicine*, 23, 549-557, 2009.

**Birrell MA a kol.:** Do the Current House Dust Mite-Driven Models Really Mimic Allergic Asthma? *European Respiratory Journal*, 36, 1220-1223, 2010.

**Brozmanova M a kol.:** Cough Reflex Sensitivity Is Increased in the Guinea Pig Model of Allergic Rhinitis. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 59, 153-161, 2008.

**Campbell A a kol.:** Medical Ethics. New York: Oxford University Press, 2001. 297 s. ISBN 0-19-558445-7.

**Canning BJ a Chou YL.:** Cough Sensors. I. Physiological and Pharmacological Properties of the Afferent Nerves Regulating Cough. *Handbook of Experimental Pharmacology*, 187, 23-47, 2009.

**Cimboláková I:** Experimentálny algoritmus riešenia antioxidačnej ochrany po intoxikácii ortuťou. *Bakalárska práca. Košice: Technická univerzita, 2005. 37 s.*

**Čižnár J a kol.:** Základy vedeckovýskumnej práce. *Učebný text pre I. (Bc) a II. (Mgr.) stupeň univerzitného vzdelávania. Bratislava: Slovenská zdravotnícka univerzita, 2012. 143 s. ISBN 978-80-89352-68-5.*

**Demoly a kol.:** Experimental model in rhinitis. *Clinical and Experimental Allergy*. 29(sup 3): 72-76, 1999.

**Directive 2010/63/EU** on the protection of animals used for scientific purposes.

**Directive 86/609/EEC** on the protection of animals used for experimental and other scientific purposes.

**Dixon JR a kol.:** Chromatin architecture reorganization during stem cell differentiation. In: *Nature* 2015, 518: 331-336. ISSN0028-0836.

**Dzúrik R a Brixová E:** Helsinská Deklarácia – Novela WMA Edimburg. In: *Medicínsky Monitor*. 2001, 1: 39 -40. ISSN1335-0951.

**Ftáčniková S.:** Správna vedecká prax. *Odporúčania Rady APVT. Bratislava: Agentúra na podporu vedy a techniky, 2004. 31 s. ISSN1801-3252.*

**Glasa J.:** Etické komisie abiomedicínsky výskum. Vybrané inštitucionálne etické aspekty. *Doktorská dizertačná práca. Brno: Masarykova Univerzita, 2006. 89 s.*

**Glasa J.:** Etika vo výskume a vede a kandidátske krajiny Európskej únie. In: *Medicínska Etika a Bioetika*. 2002,4: 16-19. ISSN1335-0560.

**Glasa J.:** Stručný prehľad biomedicínskej etiky pre pracovníkov vo verejnom zdravotníctve. In: *Medicínska Etika a Bioetika*. 2009, 16 (1-2): 17-27, ISSN1335-0560.

**Gregory LG a kol.:** Orchestrating House Dust Mite-Associated Allergy in the Lung. *Trends in Immunology*, 32, 402-411, 2011.

**Hammad H a kol.:** House Dust Mite Allergen Induces Asthma via Toll-Like Receptor 4 Triggering of Airway Structural Cells. *Nature Medicine*, 15, 410-416, 2009.

**Hammad H a kol.:** Inflammatory Dendritic Cells—Not Basophils—Are Necessary and Sufficient for Induction of Th2 Immunity to Inhaled House Dust Mite Allergen. *The Journal of Experimental Medicine*, 207, 2097-2111, 2010.

**Hammad H a Lambrecht BN.:** Dendritic Cells and Epithelial Cells: Linking Innate and Adaptive Immunity in Asthma. *Nature Reviews Immunology*, 8, 193-204, 2008.

**Hay DB a kol.:** How Relevant Are House Dust Mite-Fungal Interactions in Laboratory Culture to the Natural Dust System? *Experimental and Applied Acarology*, 16, 37-47, 1992.

**Hongjia L a kol.:** House Dust Mite Regulate the Lung Inflammation of Asthmatic Mice through TLR4 Pathway in Airway Epithelial Cells. *Cell Biochemistry and Function*, 28, 597-603, 2010.

**Hori A a kol.:** Involvement of Nitric Oxide (NO) in Cough Reflex Sensitivity between Non-Sensitized and OVA-Sensitized Guinea Pigs. *Cough*, 7, 5, 2011.

**Howells DW a kol.:** Can Animal Models of Disease Reliably Inform Human Studies? *PLoS Medicine*, 7, e1000245, 2008.

**Chapman MD a kol.:** Proteases as Th2 Adjuvants. *Current Allergy and Asthma Reports*, 7, 363-367, 2007.

**Chen CY a kol.:** Central Mechanisms I: Plasticity of Central Pathways. *Handbook of Experimental Pharmacology*, 187, 187-201, 2009.

**Chow PKH a kol.:** Using Animal Models in Biomedical Research: A Primer for the Investigator. *World Scientific, Hackensack*, 2008.

**Koff JL a kol.:** Multiple TLRs Activate EGFR via a Signaling Cascade to Produce Innate Immune Responses in Airway Epithelium. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, 294, L1068-L1075, 2008.

**Kolektív autorov:** Ochrana, chov a využití pokusných zvířat. *Společnost pro vědu o laboratorních zvířatech, Brno 2014, 454s., ISBN 978-80-213-2486-2.*

**Kumar RK a kol.:** The “Classical” Ovalbumin Challenge Model of Asthma in Mice. *Current Drug Targets*, 9, 485-494, 2008.

**Lambrecht BN a Hammad H.:** Biology of Lung Dendritic Cells at the Origin of Asthma. *Immunity*, 31, 412- 424, 2009.

**Lee CG a kol.:** Role of Chitin and Chitinase/Chitinase-Like Proteins in Inflammation, Tissue Remodeling, and Injury. *Annual Review of Physiology*, 73, 479-501, 2011.

**Lieu T a Undem BJ.:** Neuroplasticity in Vagal Afferent Neurons Involved in Cough. *Pulmonary Pharmacology & Therapeutics*, 24, 276-279, 2011.

**Málek P:** Cestou za poznáním lékařské vědy. *Praha: Avicenum, 1979. 392 s.ISBN978-80-89171-52-1.*

**Mazzone SB a Canning BJ:** Synergistic Interactions between Airway Afferent Nerve Subtypes Mediating Reflex Bronchospasm in Guinea Pigs. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 283, R86-R98, 2002.

**McGarvey LP.:** Does Idiopathic Cough Exist? *Lung*, 186, S78-S81, 2008.

- Mokry J. a kol.:** Effects of Selective Inhibition of PDE4 and PDE7 on Airway Reactivity and Cough in Healthy and Ovalbumin-Sensitized Guinea Pigs. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 756, 57-64, 2013.
- Morice AH.:** Chronic Cough Hypersensitivity Syndrome. *Cough*, 9, 14, 2013
- Munzarova M.:** Lékařský výzkum a etika. *Praga: Grada*, 2005. 120 s. ISBN 8024709244.
- Nariadenie vlády SR č. 377/2012 Z. z.,** ktorým sa ustanovujú požiadavky na ochranu zvierat používaných na vedecké účely alebo vzdelávacie účely.
- Nathan AT a kol.:** Innate Immune Responses of Airway Epithelium to House Dust Mite Are Mediated through Beta-Glucan-Dependent Pathways. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 123: 612-618, 2009.
- Nials AT a Uddin S.:** Mouse Models of Allergic Asthma: Acute and Chronic Allergen Challenge. *Disease Models Mechanisms*, 1, 213-220, 2008.
- Nišiar F a kol.:** Quo vadis pokusy na zvieratách vo vysokoškolskej edukácii avýskume? In: *Slovenský veterinársky časopis*. 2006, 31: 289 –291. ISSN 1335-0099.
- Nišitiar F a kol.:** Metodológia vedeckej práce. 17s. Dostupné na: [http://patfyz.medic.upjs.sk/nifran/vedaaetika\\_komp2.pdf](http://patfyz.medic.upjs.sk/nifran/vedaaetika_komp2.pdf).
- Novotný J.:** Etika a autorstvo vo vedeckých publikáciách. In: *Kontakt*. 2005 1-2 (7): 59-65. ISSN 1212-4117.
- O'Neil SE a kol.:** The Chitinase Allergens Der p 15 and Der p 18 from *Dermatophagoides pteronyssinus*. *Clinical & Experimental Allergy*, 36, 831-839, 2006.
- Phipps S a kol.:** Toll/IL-1 Signaling Is Critical for House Dust Mite-Specific Helper T Cell Type 2 and Type 17 [Corrected] Responses. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 179, 883-893, 2009.
- Reed CE a kol.:** The Role of Protease Activation of Inflammation in Allergic Respiratory Diseases. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 114, 997-1008, 2004.
- Reese TA a kol.:** Chitin Induces Accumulation in Tissue of Innate Immune Cells Associated with Allergy. *Nature*, 447, 92-96, 2007.
- Shin YS a kol.:** Understanding Asthma Using Animal Models. *Allergy, Asthma Immunology Research*, 1, 10-18., 2009.
- Stewart GA a kol.:** Immunobiology of the Serine Protease Allergens from House Dust Mites. *American Journal of Industrial Medicine*, 25, 105-107, 1994.
- Sutovska M a kol.:** CRAC Ion Channels and Airway Defense Reflexes in Experimental Allergic Inflammation. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 756, 39-48, 2013.

**Številová N a Ondová M:** Zásady vedeckej práce. *Modul základné znaky výskumnej metódy a klasifikácia výskumných metód.* Košice: Technická Univerzita, 2015. 39 s.

**Internatinal commitee of medical journal editors:** Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals: Writing and editing for biomedical publication. In: *J Pharmacol Pharmather.* 2010, 1(1): 42-58. ISSN 0976-500X.

**Thomas WR a Smith W:** House-Dust-Mite Allergens. *Allergy*, 53, 821-832, 1998.

**Turi GJ a kol.:** The Effects of Inhaled House Dust Mite on Airway Barrier Function and Sensitivity to Inhaled Methacholine in Mice. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, 300, L185-L190, 2011.

**Valerio CR a kol.:** Bacterial 16S Ribosomal DNA in House Dust Mite Cultures. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 116, 1296-1300., 2005.

**Vyhláška MP RV SR č. 436/2012 Z. z.,** ktorou sa ustanovujú podrobnosti o požiadavkách na ochranu zvierat používaných na vedecké účely alebo vzdelávacie účely.

**Vyhláška MZ SR č. 239/2004 Z. z.** o klinickom skúšaní liečiv a požiadavkách na správnu klinickú prax.

**Wagner JG a Harkema JR:** From Mouse to Man: Translational Value of Animal Models of Allergic Rhinitis. In: Kowalski, M., Ed., *Allergic Rhinitis, InTech*, 7-11, 2012.

**Wan H a kol.:** Der p 1 Facilitates Transepithelial Allergen Delivery by Disruption of Tight Junctions. *Journal of Clinical Investigation*, 104, 123-133, 1999.

**Wan H a kol.:** The Transmembrane Protein Occludin of Epithelial Tight Junctions Is a Functional Target for Serine Peptidases from Faecal Pellets of *Dermatophagoides Pteronyssinus*. *Clinical & Experimental Allergy*, 31, 279- 294, 2001.

**Zákon NR SR č. 140/1998 Z. z.** o liekoch a zdravotníckych pomôckach v znení neskorších predpisov.

**Zákon NR SR č. 39/2007 Z. z.** o veterinárnej starostlivosti v znení neskorších predpisov.

**Zákon NR SR č. 576/2004 Z. z.** o zdravotnej starostlivosti, službách súvisiacich s poskytovaním zdravotnej starostlivosti a o zmene a doplnení niektorých predpisov.

**Zelinková Z.:** Úvod do vedeckej práce pre študentov medicíny a doktorandov medicínskych odborov. *Bratislava: Univerzita Komenského*, 2012. 66 s. ISBN 978-80-223-3311-5.

## Zoznam a zdroje použitých obrázkov

**Obr. č. 1. Pohľad na laterálnu stenu nosovej dutiny, zdroj:**

<http://www.edoctoronline.com/medical-atlas.asp?c=4&id=21657&m=1&p=3&cid=1050&s=>

**Obr. č. 2. Frontálny a laterálny pohľad na nosovú dutinu a prinosové dutiny, zdroj:**

[https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Paranasal\\_sinuses\\_numbers.svg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Paranasal_sinuses_numbers.svg)

**Obr. č. 3. Štruktúra respiračného epitelu nosovej sliznice, zdroj:**

[https://www.researchgate.net/publication/49601002\\_Nasal\\_drug\\_delivery\\_system\\_-\\_an\\_overview](https://www.researchgate.net/publication/49601002_Nasal_drug_delivery_system_-_an_overview)

**Obr. č. 4. Priebeh vlákien trojkľaného nervu, zdroj:**

<http://www.guardian.co.uk/lifeandstyle/2011/oct/17/mapping-the-body-trigeminal-nerve>

**Obr. č. 5. Inervácia nosovej sliznice, zdroj:**

Widdicombe et al., Nasal Physiology, *Clin Chest Med.* 1986;7(2):159-70.

**Obr. č. 6. Schematické znázornenie jednotlivých skupín termosenzitívnych kanálov, zdroj:**

[https://www.researchgate.net/publication/265421645\\_Trafficking\\_of\\_Thermo\\_TRP\\_channels/figures?lo=1&utm\\_source=google&utm\\_medium=organic](https://www.researchgate.net/publication/265421645_Trafficking_of_Thermo_TRP_channels/figures?lo=1&utm_source=google&utm_medium=organic)

**Obr. č. 7. Jednotlivé typy cievnych štruktúr nosovej sliznice, zdroj:**

<http://www.oganatomy.org/projanat/gross/26/four.htm>

**Obr. č. 8. Schéma - mechanizmy vedúce k zvýšeniu žliazkovej sekrécie za fyziologických a patologických podmienok, zdroj:**

Lacroix JS, Stjärne P, Anggård A, Lundberg JM : Sympathetic vascular control of the pig nasal mucosa: *Acta Physiol Scand.*1988;132(1):83-90.

**Obr. č. 9. Schéma - rozdelenie nosovej dutiny septom na dve polovice a následne odstup lastúr z laterálnych stien na priechody so súčasným znázornením prúdu vzduchu v týchto priestoroch, zdroj:**

<http://www.studyblue.com/notes/note/n/an3-07-nasal-cavity-parasinoses-and-nasopharynx/deck/1201048>

**Obr. č. 10. Zohrievanie vzduchu v horných dýchacích cestách, zdroj:**

[http://openi.nlm.nih.gov/detailedresult.php?img=3199825\\_CTO-09-08-g-001&query=the&fields=all&favor=none&it=none&sub=none&uniq=0&sp=none&req=4&simCollection=3151997\\_e-67-o1643-fig1&npos=5&ppt=3](http://openi.nlm.nih.gov/detailedresult.php?img=3199825_CTO-09-08-g-001&query=the&fields=all&favor=none&it=none&sub=none&uniq=0&sp=none&req=4&simCollection=3151997_e-67-o1643-fig1&npos=5&ppt=3)

**Obr. č. 11. Sliznica, bilaminárna vrstva povrchovej tekutiny a jej význam pri zohrievaní a saturácii vdychovaného vzduchu, zdroj:**

[http://www.emptynosesyndrome.org/turbيناتes\\_tutorial7.php](http://www.emptynosesyndrome.org/turbيناتes_tutorial7.php)

**Obr. č. 12. Fyzikálne princípy impakcie vzdušných korpuskulárnych znečistenín na sliznici horných dýchacích ciest, zdroj:**

[http://www.emptynosesyndrome.org/turbيناتes\\_tutorial8.php](http://www.emptynosesyndrome.org/turbيناتes_tutorial8.php)



**Obr. č. 13. Princíp mukociliárneho transportu, zdroj:**

[http://cmulnx4.unige.ch/sites\\_hotes/dm/kartagener/The\\_disease.html](http://cmulnx4.unige.ch/sites_hotes/dm/kartagener/The_disease.html)

**Obr. č. 14. Schematické znázornenie úlohy aferentného nervového systému pri vzniku nosovej hyperreaktivity, zdroj:**

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/all.13453>

**Obr.č. 15. Schematické znázornenie úlohy aferentného i eferentného nervového systému pri vzniku hyperreaktivity nosovej sliznice, zdroj:**

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/all.13453>

**Obr.č. 16. Rozvoj alergickej reakcie pri vzdušných alergénoch, zdroj:**

<https://www.multicarehomeopathy.com/diseases/6-best-homeopathic-medicines-for-allergic-rhinitis-treatment>

**Obr.č. 17. Prehľad najčastejších rizikových a etiologických faktorov vyvolávajúcich ochorenia nosovej sliznice.**

**Obr.č. 18. Koncept vzniku chronických ochorení dýchacieho systému, zdroj:**

<http://www.umm.edu/patiented/articles/000624.htm>

**Obr.č. 19. Prehľad transemembránových iónových kanálov rodiny TRP a ich prírodných ligandov, zdroj:**

[http://www.nature.com/nrd/journal/v6/n5/fig\\_tab/nrd2280\\_F3.html](http://www.nature.com/nrd/journal/v6/n5/fig_tab/nrd2280_F3.html)

**Obr.č. 20. Neurogénny zápal, zdroj:**

Barnes P. Neurogenic inflammation in the airways. *Respir Physiol Neurobiol* 2001; 125(1-2):145-54.

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0034568700002103>

**Obrázok 21. Štruktúra a transmembránové usporiadanie TRPA1a TRPV1 kanála, zdroj:**

<http://www.nature.com/nature/journal/v445/n7127/images/nature05565-f2.2.jpg>

**Obr.č. 22. Sumarizácia vzájomných vzťahov horných a dolných dýchacích ciest.**