

I. Streszczenie

Wprowadzenie: Oskrzelowy test prowokacyjny z alergenem jest uznanym narzędziem badawczym. Pozwala po jednorazowej ekspozycji wywołać kontrolowaną reakcję alergiczną w układzie oddechowym. Po inhalacji alergenu, przez osoby uczulone, u części z nich rozwija się reakcja bronchospastyczna, której intensywność ocenia się przy użyciu wskaźników spirometrycznych. Najczęściej wykorzystywanym wskaźnikiem jest FEV_1 tj. objętość powietrza wydychana w ciągu pierwszej sekundy natężonego wydechu. Umownie przyjmuje się, że wynik testu jest uznawany za dodatni, gdy stwierdza się przynajmniej 20% obniżenie FEV_1 w stosunku do wartości wyjściowej (zmierzonej po inhalacji soli fizjologicznej). U osób atopowych możemy obserwować dwa typy reakcji (mierzonej spirometrycznie) tj. reakcję wczesną (już po 15 minutach od inhalacji alergenu), oraz późną, której początek obserwuje się ok. 4-5 godziny po zakończeniu inhalacji alergenem. Zazwyczaj pomiary spirometryczne trwają do 8 godzin po zakończeniu podawania alergenu, natomiast reakcja bronchospastyczna trwa dłużej, ale nie wiadomo jak długo. Reakcjom alergicznym towarzyszy obecność stanu zapalnego. Dotychczas nie monitorowano dalszego przebiegu reakcji bronchospastycznej. Dostępność na rynku mini-spirometrów personalnych pozwala taką ocenę przeprowadzić. Oprócz zmian obserwowanych w badaniu spirometrycznym możliwa jest ocena on-line tlenku azotu w powietrzu wydychanym.

Cel pracy: Celem pracy była ocena czasu trwania zmian w zakresie FEV_1 i PEF po jednorazowej ekspozycji oskrzeli i płuc na alergen, na który osoba badana jest uczulona. Dodatkowym celem było sprawdzenie jak zachowuje się FENO 8h, 2, 4 i 14 dni po prowokacji w stosunku do wartości wyjściowej. Oczekiwano, że 14 dniowy czas obserwacji jest wystarczająco długi, aby stwierdzić, jak długo trwa skurcz oskrzeli po jednorazowej ekspozycji na alergen. Kolejnym założeniem badania była ocena związku stężenia sIgE z wielkością reakcji skurczowej oskrzeli.

Materiał i metody: W badaniu wzięło udział 50 osób, 24 kobiety oraz 26 mężczyzn. Od wszystkich z nich uzyskano świadomą zgodę na udział w badaniu. Uczestnicy zostali podzieleni na dwie grupy: badaną (35 osób) oraz kontrolną (15 osób). Mediana wieku w grupie badanej wynosiła 25 lat, natomiast w kontrolnej 33 lata. Do grupy badanej zakwalifikowano osoby z rozpoznaną atopią. Kwalifikacja odbywała się po wykonaniu testów oceniających obecność w surowicy swoistych przeciwciał IgE przeciwko pospolitym alergenom wziewnym. Alergeny, jakie zostały przewidziane do prowokacji to: pyłki traw,

pyłek brzozy oraz roztocza kurzu domowego - *Dermatophagoides pteronyssinus*. Swoiste IgE przeciwko wyżej wymienionym alergenom oceniano testem immunoenzymatycznym Polycheck® (Niemcy). Do grupy kontrolnej zostały zakwalifikowane osoby ze stężeniem sIgE < 0,35 kU/l. W dniu prowokacji oskrzelowej przeprowadzono ocenę wyjściową stężenia tlenu azotu w powietrzu wydychanym (FENO). Do badania użyto przenośnego analizatora Niox®Mino (Szwecja). Przed rozpoczęciem próby prowokacyjnej zostało wykonane wyjściowe badanie spirometryczne. Testy prowokacji oskrzelowej zostały przeprowadzone wg. zmodyfikowanej metody Rayan'a. Urządzenie Koko DigiDoser® (PDS-USA) użyte do prowokacji pełniło rolę zarówno dozymetru, jak i spirometru. Do wytwarzania mgły prowokującej alergenu zastosowano nebulizatory dyszowe DeVilbiss 646. Do prowokacji użyto komercyjnych wyciągów alergenowych (Allergopharma, Niemcy). Alergen prowokujący podawano we wzrastających stężeniach. Uczestnik badania inhalując alergen wykonywał 10 wdechów trwających 3 sekundy z każdym stężeniem. Piętnaście minut po inhalacji jednego stężenia wykonywane były badania spirometryczne najpierw przy użyciu Koko DigiDosera, a ok. 1 minutę później mini-spirometru PIKO-1. Po osiągnięciu przynajmniej 20% spadku FEV₁ przy pomiarze na spirometrze stacjonarnym test uznawano za dodatni i odstępowano od dalszego podawania alergenu. Następnie jeszcze ośmiokrotnie co godzinę wykonywano pomiary spirometryczne. Przed ostatnią spirometrią w tym dniu mierzono FENO. Następnie przez okres 14 dni każdy uczestnik w domu mierzył rano FEV₁ oraz PEF za pomocą PIKO-1. Ocena FENO odbywała się w ośrodku kolejno w drugiej, czwartej oraz czternastej dobie po prowokacji. Analiza statystyczna uzyskanych wyników została przeprowadzona za pomocą programów Statistica 13.3 oraz Medcalc 9.2.0.2.

Wyniki: Najpierw przeanalizowano zmiany FEV₁ zmierzone za pomocą spirometru stacjonarnego w dniu testu prowokacyjnego i porównano je z wartościami wyjściowymi zarówno w grupie kontrolnej, jak i badanej, a także dokonano analizy istotności różnic między grupami. W grupie badanej stwierdzono istotne statystycznie obniżenie FEV₁ począwszy od wartości zmierzonej po inhalacji alergenu w stężeniu 1,6 kU/l aż do 8h po zakończeniu jego podawania. W grupie kontrolnej zmiany były małe, zaledwie kilkuprocentowe i nieistotne statystycznie. Różnice zanotowane między grupami w poszczególnych punktach czasowych począwszy od stężenia 1,6 SBU/ml były istotne statystycznie.

Następnie przy pomocy analizy Blanda i Altmana porównano wyniki FEV₁ z obu spirometrów w kilku punktach czasowych i stwierdzono, że wartości średnie różnią się o 60-70 ml, a prawie wszystkie pomiary mieszczą się w przedziale -1,96SD i +1,96SD, co

oznacza dopuszczalną zmienność 5%. Wyniki były bardzo zbliżone dla kilku analizowanych punktów czasowych. To usprawiedliwiało użycie mini-spirometru do obserwacji domowej.

Dalsza analiza wyników FEV_1 , ale zmierzonych za pomocą PIKO-1 dotyczących grupy kontrolnej i badanej wypadła podobnie jak tych ze spirometru stacjonarnego.

W grupie badanej wśród osób, u których stwierdzono najwyższe wartości sIgE (klasa 4-6), wpływ prowokacji na wartość FEV_1 był bardziej znaczący. Natomiast w grupie kontrolnej nie obserwowano istotnych różnic.

Po dokonaniu analizy wyników z 14 dni pomiarów FEV_1 za pomocą mini-spirometrów PIKO-1 wynika, że zmiany te utrzymują się dłużej niż 8h. Różnice istotne statystycznie pomiędzy całą grupą badaną, a kontrolną były widoczne do 3 dni po teście prowokacyjnym.

Przeprowadzono jeszcze analizę statystyczną zmian FEV_1 między podgrupami z grupy badanej różniącymi się stężeniem sIgE < 4 klasy (niski stopień atopii) i > 3 klasy (wysoki stopień atopii) oraz grupą kontrolną. Przebieg krzywych zmian w grupie kontrolnej i osób z niskim stopniem atopii miały podobny kształt, natomiast krzywa zmian FEV_1 w grupie z wysokim sIgE miała wyraźny przebieg dwufazowy. Pewnym zaskoczeniem był fakt, że w grupie kontrolnej w ciągu 2 tygodni dochodziło do stopniowego obniżenia FEV_1 w stosunku do wartości wyjściowej i od 3 dnia obserwacji były one istotne statystycznie chociaż nie przekraczały 7 %.

Po inhalacji alergenów, tak jak oczekiwano stwierdzono 4 typy reakcji ocenianej badaniem spirometrycznym: izolowaną reakcję wczesną (EAR+LAR-), izolowaną reakcję późną (EAR-LAR+), reakcję dwufazową (EAR+LAR+) oraz brak zmian bronchospastycznej (EAR-LAR-). W zależności od rodzaju użytego spirometru i wybranego wskaźnika (1. FEV_1 z Koko DigiDoser, 2. FEV_1 z PIKO-1, 3. PEF z PIKO-1) podziały na typy odpowiedzi różniły się ilościowo między grupami.

Na koniec przeprowadzono jeszcze analizę statystyczną wyników FEV_1 z PIKO-1 między grupami EAR-LAR- i EAR+LAR+. Pomiary FEV_1 w różnych punktach czasowych w stosunku do wartości wyjściowej w grupie z odpowiedzią dwufazową były istotnie obniżone przez 14 dni, a między wyżej wymienionymi grupami różniły się istotnie do 6 dnia obserwacji.

Wnioski:

1. Po oskrzelowym teście prowokacyjnym z alergenem czas trwania obniżenia wartości FEV_1 zależy od typu odpowiedzi skurczowej oskrzeli. Najdłużej trwa u osób demonstrujących

odpowieź dwufazową EAR+LAR+.

- a. Piętnastoprocentowe obniżenie w tej grupie trwa do 6 doby po prowokacji
 - b. Do czternastego dnia FEV_1 nie wraca do wartości wyjściowych. To obniżenie cały czas jest istotne statystycznie.
 - c. U osób z izolowaną reakcją wczesną istotne obniżenie FEV_1 utrzymuje się do 1h po zakończeniu podawania alergenów.
2. Wysokie wyjściowe stężenie sIgE w surowicy zwiększa prawdopodobieństwo wystąpienia reakcji późnej, długo utrzymującej się.
3. Oskrzelowy test prowokacyjny z alergenem stymuluje wzrost FENO, którego istotność potwierdzono w dniach 2, 4 i 14 po inhalacji alergenów w grupie badanych z atopią z sIgE>3 klasy .